

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2008-512984

(P2008-512984A)

(43) 公表日 平成20年5月1日(2008.5.1)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	2 G O 4 5
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	4 B O 2 4
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	4 B O 6 3
C O 7 K 14/47 (2006.01)	C O 7 K 14/47	4 C O 7 6
C O 7 K 16/18 (2006.01)	C O 7 K 16/18	4 C O 8 4
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 129 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2007-515423 (P2007-515423)	(71) 出願人	502206795
(86) (22) 出願日	平成17年5月27日 (2005.5.27)		ダナーファーバー キャンサー インステ
(85) 翻訳文提出日	平成19年1月24日 (2007.1.24)		ィチュート, インコーポレイテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2005/018850		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O
(87) 国際公開番号	W02005/118869		2 1 1 5 ポストン ビンネイ ストリー
(87) 国際公開日	平成17年12月15日 (2005.12.15)		ト 4 4
(31) 優先権主張番号	60/575,795	(74) 代理人	100078282
(32) 優先日	平成16年5月28日 (2004.5.28)		弁理士 山本 秀策
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100062409
(31) 優先権主張番号	60/580,337		弁理士 安村 高明
(32) 優先日	平成16年6月15日 (2004.6.15)	(74) 代理人	100113413
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 森下 夏樹
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 癌の同定、評価、予防および治療のための組成物、キットおよび方法

(57) 【要約】

本発明はヒト癌を検出、特徴付け、予防、および治療するための組成物、キット、および方法に関する。種々の染色体の領域 (M C R) およびそれに対応するマーカーを提供し、ここで、M C R の 1 以上のコピー数の変化、および／またはマーカーの 1 以上の量、構造、および／または活性の変化が癌の存在に関連付けられる。本発明は、少なくとも部分的には、ある種の染色体領域 (遺伝子座) 内に含まれ、癌に関連する再発コピー数の変化の、ゲノムの特異的領域の同定に基づく。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

被験体が癌に罹っているか、または癌を発症する危険性があるかどうかを評価する方法であって、該方法は被験体サンプル中の最小共通領域（M C R）のコピー数を M C R の正常なコピー数と比較する工程を包含し、ここで、該 M C R は表 1 に列挙された M C R からなる群より選択され、そしてここで、サンプル中の M C R のコピー数の変化は、被験体が癌に罹っているか、または癌を発症する危険性があることを示す、方法。

【請求項 2】

前記コピー数が蛍光インサイチュハイブリダイゼーション（F I S H）によって評価される、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

前記コピー数が定量的 P C R（q P C R）によって評価される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記正常なコピー数がコントロールサンプルから得られる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

被験体が癌に罹っているか、または癌を発症する危険性があるかどうかを評価する方法であって、該方法は：

a) 被験体サンプル中のマーカーの量、構造および／または活性と、

b) 該マーカーの正常な量、構造および／または活性

を比較する工程を包含し、

20

ここで、該マーカーは表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーであり

ここで、該サンプル中のマーカーの量、構造および／または活性と、該正常な量、構造および／または活性との間の有意な差は、被験体が癌に罹っているか、または癌を発症する危険性があることを示す、方法。

【請求項 6】

前記マーカーが表 4 または表 5 に列挙されたマーカーからなる群より選択される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記マーカーの量が比較される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 8】

前記マーカーの構造が比較される、請求項 5 に記載の方法。

30

【請求項 9】

前記マーカーの活性が比較される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 10】

前記マーカーの量が、該マーカーの発現のレベルを測定することによって決定される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 11】

前記マーカーの量が、該マーカーのコピー数を測定することによって決定される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 12】

前記正常な量／構造、および／または活性がコントロールサンプルから得られる、請求項 5 に記載の方法。

40

【請求項 13】

前記サンプルが組織、全血、血清、血漿、頬搔取物、唾液、脳脊髄液、尿、糞、胆汁、腓液および脾臓組織からなる群より選択される、請求項 1 または 5 に記載の方法。

【請求項 14】

前記コピー数が比較ゲノムハイブリダイゼーション（C G H）によって評価される、請求項 1 または 11 に記載の方法。

【請求項 15】

前記 C G H がアレイで行われる、請求項 14 に記載の方法。

50

【請求項 16】

前記サンプル中の前記マーカの発現レベルが、該マーカに対応するタンパク質のサンプル中での存在を検出することによって評価される、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 17】

前記タンパク質の存在が、該タンパク質に特異的に結合する試薬を用いて検出される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記試薬が、抗体、抗体誘導体、および抗体フラグメントからなる群より選択される、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記サンプル中の前記マーカの発現レベルが、転写されたポリヌクレオチドまたはその一部のサンプル中での存在を検出することによって評価され、ここで、該転写されたポリヌクレオチドが該マーカを含む、請求項 10 に記載の方法。

10

【請求項 20】

前記転写されたポリヌクレオチドが mRNA である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記転写されたポリヌクレオチドが cDNA である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 22】

前記検出する工程が、さらに、前記転写されたポリヌクレオチドを増幅することを含む、請求項 19 に記載の方法。

20

【請求項 23】

前記サンプル中の前記マーカの発現レベルが、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、該マーカとアニールするか、またはポリヌクレオチドの一部とアニールする転写されたポリヌクレオチドの、サンプル中での存在を検出することによって評価され、ここで、該ポリヌクレオチドが該マーカを含む、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 24】

被験体における癌の進行をモニタリングする方法であって、該方法は：

a) 第 1 の時点で、被験体サンプルにおいてマーカの量および／または活性を検出する工程であって、ここで、該マーカは表 1 に列挙された MCR に存在する、工程；

b) その後の時点で工程 a) を反復する工程；ならびに

c) 工程 a) および b) で検出された量および／または活性を比較し、それから、該被験体における癌の進行をモニタリングする工程
を包含する、方法。

30

【請求項 25】

前記マーカが表 4 または表 5 に列挙されたマーカからなる群より選択される、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記サンプルが組織、全血、血清、血漿、頬搔取物、唾液、脳脊髄液、尿、糞、胆汁、脾液および脾臓組織からなる群より選択される、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 27】

前記マーカの活性が測定される、請求項 24 に記載の方法。

40

【請求項 28】

前記マーカの量が測定される、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 29】

前記マーカの量が、該マーカの発現のレベルを測定することによって決定される、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記サンプル中の前記マーカの発現レベルが、該マーカに対応するタンパク質のサンプル中での存在を検出することによって評価される、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 31】

50

前記タンパク質の存在が、該タンパク質と特異的に結合する試薬を用いて検出される、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

前記試薬が抗体、抗体誘導体、および抗体フラグメントからなる群より選択される、請求項 31 に記載の方法。

【請求項 33】

前記サンプル中の前記マーカの発現レベルが、転写されたポリヌクレオチドまたはその一部の該サンプル中での存在を測定することによって評価され、ここで、該転写されたポリヌクレオチドがマーカを含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 34】

前記転写されたポリヌクレオチドが mRNA である、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

前記転写されたポリヌクレオチドが cDNA である、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 36】

前記検出する工程が、さらに、前記転写されたポリヌクレオチドを増幅することを含む、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 37】

前記サンプル中の前記マーカの発現レベルが、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、該マーカとアニールするか、またはポリヌクレオチドの一部とアニールする転写されたポリヌクレオチドの、サンプル中での存在を検出することによって評価され、ここで、該ポリヌクレオチドが該マーカを含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 38】

前記サンプルが前記被験体から得られた細胞を含む、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 39】

前記第 1 の時点と前記その後の時点との間に、前記被験体が癌の治療を受けており、癌の治療を完了しており、そして／または寛解期である、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 40】

被験体において癌を阻害するための試験化合物の効力を評価する方法であって、該方法は：

a) 該被験体から得られ、かつ該試験化合物の存在下で維持された第 1 のサンプル中のマーカの量および／または活性と、

b) 該被験体から得られ、かつ該試験化合物の非存在下で維持された第 2 のサンプル中のマーカの量および／または活性とを比較する工程を包含し、

ここで、該マーカは表 1 に列挙された MCR に存在するマーカであり、

ここで、該第 2 のサンプルに対して、癌において欠失される MCR に存在する該第 1 のサンプル中のマーカの有意に高い量および／または活性は、該試験化合物が癌を阻害するのに有効であることを示し、そしてここで、該第 2 のサンプルに対して、癌において増幅される MCR に存在する該第 1 のサンプル中のマーカの有意に低い量および／または活性は、該試験化合物が被験体において癌を阻害するのに有効であることを示す、方法。

【請求項 41】

前記マーカが表 4 または表 5 に列挙されたマーカからなる群より選択される、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 42】

前記第 1 のサンプルおよび第 2 のサンプルが前記被験体から得られた単一サンプルの一部である、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 43】

前記第 1 のサンプルおよび第 2 のサンプルが前記被験体から得られたプールされたサンプルの一部である、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 44】

10

20

30

40

50

被験体において癌を阻害するための治療の効力を評価する方法であって、該方法は：

a) 該被験体に対して該治療の少なくとも一部を提供する前に、該被験体から得られた第 1 のサンプル中のマーカーの量および／または活性と、

b) 該治療の一部を提供した後に、該被験体から得られた第 2 のサンプル中の該マーカーの量および／または活性；

とを比較する工程を包含し、

ここで、該マーカーは表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーであり、

ここで、該第 2 のサンプルに対して、癌において欠失される M C R に存在する該第 1 のサンプル中のマーカーの有意に高い量および／または活性は、該試験化合物が癌を阻害するのに有効であることを示し、そしてここで、該第 2 のサンプルに対して、癌において増幅される M C R に存在する該第 1 のサンプル中のマーカーの有意に低い量および／または活性は、該治療が被験体において癌を阻害するのに有効であることを示す、方法。

10

【請求項 4 5】

前記マーカーが表 4 または表 5 に列挙されたマーカーからなる群より選択される、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

癌を調節し得る組成物を選択する方法であって、該方法は：

a) 癌細胞を含むサンプルを得る工程；

b) 該細胞を試験化合物と接触させる工程；ならびに

c) 該試験化合物がマーカーの量および／または活性を調節する能力を決定し、それによって、癌のモジュレータを同定する工程であって、ここで、該マーカーは表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーである、工程を包含する、方法。

20

【請求項 4 7】

前記マーカーが表 4 または表 5 に列挙されたマーカーからなる群より選択される、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記細胞が癌の動物モデルから単離される、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記細胞が癌細胞株からのものである、請求項 4 6 に記載の方法。

30

【請求項 5 0】

前記細胞が癌に罹った被験体からのものである、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記細胞が膵臓腫瘍に由来する膵臓癌細胞株からのものである、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 2】

癌を調節し得る組成物を選択する方法であって、該方法は：

a) 表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーを試験化合物と接触させる工程；ならびに

b) 該試験化合物が、表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーの量および／または活性を調節する能力を決定し、それによって、癌を調節し得る組成物を同定する工程を包含する、方法。

40

【請求項 5 3】

前記マーカーが表 4 または表 5 に列挙されたマーカーからなる群より選択される、請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 4】

前記試験化合物を癌の動物モデルに投与する工程をさらに包含する、請求項 4 6 または 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記モジュレータが、表 5 に列挙されたマーカーから選択されるマーカーに対応する遺伝

50

子またはタンパク質の量および／または活性を阻害する、請求項 4 6 または 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記モジュレータが、表 4 に列挙されたマーカーから選択されるマーカーに対応する遺伝子またはタンパク質の量および／または活性を増加させる、請求項 4 6 または 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 7】

化合物が癌を阻害する能力を評価するためのキットであって、該キットは、表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーの量、構造および／または活性を評価するための試薬を備える、キット。

10

【請求項 5 8】

被験体が癌に罹っているかどうかを評価するためのキットであって、該キットは、表 1 に列挙された M C R からなる群より選択される M C R のコピー数を評価するための試薬を備える、キット。

【請求項 5 9】

被験体が癌に罹っているかどうかを評価するためのキットであって、該キットは、表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーの量、構造および／または活性を評価するための試薬を備える、キット。

【請求項 6 0】

ヒト癌細胞の存在を評価するためのキットであって、該キットは、抗体またはそのフラグメントを含み、ここで、該抗体またはそのフラグメントは、表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーに対応するタンパク質に特異的に結合する、キット。

20

【請求項 6 1】

癌細胞の存在を評価するためのキットであって、該キットは核酸プローブを含み、ここで、該プローブは、表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーに対応する転写されたポリヌクレオチドに特異的に結合する、キット。

【請求項 6 2】

前記核酸プローブが分子ビーコンプローブである、請求項 6 1 に記載のキット。

【請求項 6 3】

前記マーカーが表 4 または表 5 に列挙されたマーカーからなる群より選択される、請求項 5 7、5 9、6 0 または 6 1 のいずれか 1 項に記載のキット。

30

【請求項 6 4】

癌に罹った被験体を処置する方法であって、該方法は、表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーに対応する遺伝子またはタンパク質の量および／または活性のモジュレータを該被験体に投与し、それによって、癌に罹った被験体を処置する工程を包含する、方法。

【請求項 6 5】

前記マーカーが表 4 または表 5 に列挙されたマーカーからなる群より選択される、請求項 6 4 に記載の方法。

【請求項 6 6】

癌に罹った被験体を処置する方法であって、該方法は、癌において増幅される表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーに対応する遺伝子またはタンパク質の量および／または活性を阻害する化合物を該被験体に投与し、それによって、癌に罹った被験体を処置する工程を包含する、方法。

40

【請求項 6 7】

前記化合物が薬学的に受容可能な処方で投与される、請求項 6 6 に記載の方法。

【請求項 6 8】

前記化合物が、前記マーカーに対応するタンパク質に特異的に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントである、請求項 6 6 に記載の方法。

【請求項 6 9】

前記抗体がトキシンに結合される、請求項 6 8 に記載の方法。

50

【請求項 70】

前記抗体が化学治療剤に結合される、請求項 68 に記載の方法。

【請求項 71】

前記化合物が、前記マーカーに対応する遺伝子の発現を阻害する RNA 干渉因子である、請求項 66 に記載の方法。

【請求項 72】

前記 RNA 干渉因子が、 siRNA 分子または shRNA 分子である、請求項 71 に記載の方法。

【請求項 73】

前記化合物が、前記マーカーに対応する遺伝子に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドである、請求項 66 に記載の方法。

10

【請求項 74】

前記化合物がペプチドまたはペプチド模倣物である、請求項 66 に記載の方法。

【請求項 75】

前記化合物が前記マーカーの活性を阻害する低分子である、請求項 66 に記載の方法。

【請求項 76】

前記低分子がマーカーと標的タンパク質との間のタンパク質-タンパク質相互作用を阻害する、請求項 75 に記載の方法。

【請求項 77】

前記化合物が前記マーカーの発現または活性を阻害するアプタマーである、請求項 66 に記載の方法。

20

【請求項 78】

前記マーカーが表 5 に列挙されたマーカーからなる群より選択される、請求項 66 に記載の方法。

【請求項 79】

癌に罹った被験体を処置する方法であって、該方法は、癌において欠失される表 1 に列挙された MCR に存在するマーカーに対応する遺伝子またはタンパク質の発現または活性を増加させる化合物を該被験体に投与し、それによって、癌に罹った被験体を処置する工程を包含する、方法。

【請求項 80】

癌に罹った被験体を処置する方法であって、該方法は、癌において欠失される表 1 に列挙された MCR に存在するマーカーに対応するタンパク質を該被験体に投与し、それによって、癌に罹った被験体を処置する工程を包含する、方法。

30

【請求項 81】

前記マーカーが表 4 に列挙されたマーカーからなる群より選択される、請求項 79 または 80 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 82】

前記タンパク質が、該タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含むベクターによって、前記被験体の細胞に提供される、請求項 80 に記載の方法。

【請求項 83】

前記化合物が薬学的に受容可能な処方投与される、請求項 79 に記載の方法。

40

【請求項 84】

表 4 または表 5 に列挙されたマーカーから選択されるマーカーに対応する単離されたタンパク質またはそのフラグメント。

【請求項 85】

表 4 または表 5 に列挙されたマーカーから選択されるマーカーに対応する単離された核酸分子またはそのフラグメント。

【請求項 86】

表 4 または表 5 に列挙されたマーカーから選択されるマーカーに対応するタンパク質に特異的に結合する単離された抗体またはそのフラグメント。

50

【請求項 87】

表 1 に列挙された M C R から選択される M C R 内に含まれる単離された核酸分子またはそのフラグメントであって、ここで、該核酸分子は癌において変化した量、構造、および／または活性を有する、核酸分子またはそのフラグメント。

【請求項 88】

請求項 87 に記載の核酸分子によってコードされる単離されたポリペプチド。

【請求項 89】

癌に関連するマーカーを同定するための方法であって、該方法は：

- a) 癌細胞のゲノムのプロファイリングを行う工程；
 - b) 工程 a) で同定されたプロファイルのセグメント化分析を行う工程；
 - c) 遺伝子座を同定する工程；
 - d) 該同定された遺伝子座で優先順位を決める工程；ならびに
 - e) 該同定された遺伝子座における遺伝子を問い合わせ、それによって、癌に関連するマーカーを同定する工程
- を包含する、方法。

10

【請求項 90】

癌に関連する遺伝子座を同定するための方法であって、該方法は：

- a) 癌細胞のゲノムのプロファイリングを行う工程；
 - b) 工程 a) で同定されたプロファイルのセグメント化分析を行う工程；
 - c) 遺伝子座を同定する工程；ならびに
 - d) 該同定された遺伝子座を優先順位を決め、それによって、癌に関連する遺伝子座を同定する工程
- を包含する、方法。

20

【請求項 91】

前記同定された遺伝子座における遺伝子の前記問い合わせが、遺伝子発現データに基づく、請求項 89 に記載の方法。

【請求項 92】

前記同定された遺伝子座における遺伝子の前記問い合わせが、インビトロスクリーニングアッセイに基づく、請求項 89 に記載の方法。

30

【請求項 93】

前記プロファイリングが、比較ゲノムハイブリダイゼーション（C G H）を用いて行われる、請求項 89 または 90 に記載の方法。

【請求項 94】

前記癌細胞が癌細胞株または腫瘍に由来する、請求項 89 または 90 に記載の方法。

【請求項 95】

請求項 89 に記載の方法によって同定されたマーカー。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

（関連出願の相互参照）

40

本出願は、2004 年 5 月 28 日に提出された米国仮出願第 60/575,795 号、および 2004 年 6 月 15 日に提出された米国仮出願第 60/580,337 号に対する優先権を主張する。その両方はその全体が本明細書に参考として援用される。

（政府の補助金）

本明細書中に記載された仕事は、少なくとも部分的には、基金 R O 1 C A 9 9 0 4 1、R O 1 C A 8 6 3 7 9、R O 1 C A 8 4 6 2 8、および T 3 2 C A 0 9 3 8 2 下で N a t i o n a l I n s t i t u t e s o f H e a l t h（N I H）によって支持される。従って、政府は本発明に対して一定の権利を有する。

【背景技術】

【0002】

50

(発明の背景)

癌は、腫瘍形成に必要な十分な範囲の生物学的特性を細胞に付与する複数の遺伝的病変の表現型評価項目を表す。事実、例えば、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、および結腸癌を含めた多くの癌のホールマークゲノム特徴は、非逆転座、増幅および欠失を含めた多数の複雑な染色体の構造的な異常の存在である。

【0003】

核型分析（非特許文献1；非特許文献2；非特許文献3；非特許文献4；非特許文献5；非特許文献6）、染色体CGHおよびアレイCGH（非特許文献7；非特許文献8；非特許文献9；非特許文献10；非特許文献11；非特許文献12；非特許文献13；非特許文献14；非特許文献15；非特許文献16）、蛍光インサイチュハイブリダイゼーション（FISH）分析（非特許文献17；非特許文献18）およびヘテロ接合性（LOH）マッピングの喪失（非特許文献19；非特許文献20；非特許文献21；非特許文献22）は、種々の癌におけるコピー数の変化または対立遺伝子喪失の再発領域を同定した。例えば、膵臓癌において、頻繁な獲得が3q、5p、7p、8q、11q、12p、17qおよび20qにマッピングされており、および喪失は3p、4q、6q、8p、9p、10q、12q、13q、17p、18qおよび21qおよび22qにマッピングされている。いくつかの例において、これらの遺伝子座内に存在する確認された癌遺伝子および腫瘍抑制遺伝子が同定されており、MYC（8q24）、p16^{INK4A}（9p21）、p53（17p13）、SMAD4（18q21）およびAKT2（19q13）を含む。しかしながら増幅されたおよび欠失された遺伝子座および存在する遺伝子の大部分について、推定された癌関連標的は依然として発見されるべきである。

【非特許文献1】Johansson, B., ら, Cancer, 1992年, 69, p. 1674-81

【非特許文献2】Bardi, G., ら, Br J Cancer, 1993年, 67, p. 1106-12

【非特許文献3】Griffin, C. A., ら, Genes Chromosomes Cancer, 1994年, 9, p. 93-100

【非特許文献4】Griffin, C. A., ら, Cancer Res, 1995年, 55, p. 2394-9

【非特許文献5】Gorunova, L., ら, Genes Chromosomes Cancer, 1995年, 14, p. 259-66

【非特許文献6】Gorunova, L., ら, Genes Chromosomes Cancer, 1998年, 23, p. 81-99

【非特許文献7】Wolf M, ら, Neoplasia, 2004年, 6(3), p. 240

【非特許文献8】Kimura Y, ら, Mod. Pathol., 2004年, 21 May (epub)

【非特許文献9】Pinkel, ら, Nature Genetics, 1998年, 20, p. 211

【非特許文献10】Solinas-Toldo, S., ら, Cancer Res, 1996年, 56, p. 3803-7

【非特許文献11】Mahlamaki, E. H., ら, Genes Chromosomes Cancer, 1997年, 20, p. 383-91

【非特許文献12】Mahlamaki, E. H., ら, Genes Chromosomes Cancer, 2002年, 35, p. 353-8

【非特許文献13】Fukushige, S., ら, Genes Chromosomes Cancer, 1997年, 19, p. 161-9

【非特許文献14】Curtis, L. J., ら, Genomics, 1998年, 53, p. 42-55

【非特許文献15】Ghadimi, B. M., ら, Am J Pathol, 1999

10

20

30

40

50

年, 154, p. 525-36

【非特許文献16】Armengol, G., ら, Cancer Genet Cytogenet, 2000年, 116, p. 133-41

【非特許文献17】Nilsson M ら, Int J Cancer, 2004年, 109 (3), p. 363-9

【非特許文献18】Kawasaki K ら, Int J Mol Med. 2003年, 12 (5), p. 723-31

【非特許文献19】Wang ZC ら, Cancer Res, 2004年, 64 (1), p. 64-71

【非特許文献20】Seymour, A. B., ら, Cancer Res, 1994年, 54, p. 2761-4 10

【非特許文献21】Hahn, S. A., ら, Cancer Res, 1995年, 55, p. 4670-5

【非特許文献22】Kimura, M., ら, Genes Chromosomes Cancer, 1996年, 17, p. 88-93

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0004】

(発明の要旨)

本発明は、少なくとも部分的には、ある種の染色体領域（遺伝子座）内に含まれ、癌に関連する再発コピー数の変化の、（本明細書中においては最小共通領域（MCR）と称される）ゲノムの特異的領域の同定に基づく。これらのMCRは、膵臓腺癌ゲノムにおけるコピー数の変化の高分解能特徴付けを可能とした新規なcDNAまたはオリゴマーベースのプラットフォームおよびバイオインフォマティクスツールを用いて同定された（実施例1参照）。本発明はまた部分的には、やはり癌に関連する、本発明のMCR内に存在するマーカーの同定に基づく。 20

【0005】

従って、一局面において、本発明は、被験体サンプル中のMCRのコピー数を、該MCRの正常なコピー数と比較する工程を包含し、ここで、該MCRは表1に列挙されたMCRからなる群より選択され、ここで、該サンプル中のMCRのコピー数の変化は、被験体が癌に罹った、あるいは癌を発症する危険性があることを示すことを特徴とする、被験体が癌に罹っているか、または癌を発症する危険性があるかを評価する方法を提供する。一実施形態において、コピー数は蛍光インサイチュハイブリダイゼーション（FISH）によって評価される。別の実施形態において、コピー数は定量的PCR（qPCR）によって評価される。さらに別の実施形態において、正常なコピー数はコントロールサンプルから得られる。なお別の実施形態において、サンプルは組織、全血、血清、血漿、頬搔取物、唾液、脳脊髄液、尿、糞、胆汁、膵液、および膵臓組織からなる群より選択される。 30

【0006】

別の局面において、本発明は、当該マーカーが表1に列挙されたMCRに存在するマーカーである被験体サンプル中のマーカーの量、構造および／または活性を、該マーカーの正常な量、構造および／または活性と比較する工程を包含し、ここで、サンプル中のマーカーの量、構造、および／または活性、および正常な量、構造、および／または活性の間の有意な差は被験体が癌に罹っているか、あるいは癌を発症する危険性があることを示すことを特徴とする、被験体が癌に罹っているか、または癌を発症する危険性があるかを評価する方法を提供する。1つの実施形態においてマーカーは表4または表5に列挙されたマーカーからなる群より選択される。別の実施形態において、マーカーの量は、マーカーの発現のレベルを測定することによって決定される。なお別の実施形態において、サンプル中のマーカーの発現のレベルは、マーカーに対応するタンパク質のサンプル中での存在を検出することによって評価される。タンパク質の存在は、タンパク質に特異的に結合する試薬を用いて検出することができる。一実施形態において、試薬は抗体、抗体誘導体、 40 50

および抗体フラグメントからなる群より選択される。別の実施形態において、サンプル中のマーカーの発現のレベルは、転写されたポリヌクレオチドまたはその一部のサンプル中での存在を検出することによって評価される。一実施形態において、転写されたポリヌクレオチドはmRNAまたはcDNAである。サンプル中でのマーカーの発現のレベルは、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、マーカーとアニールする、またはポリヌクレオチドの一部とアニールする転写されたポリヌクレオチドのサンプル中での存在を検出することによって評価することもでき、ここで、ポリヌクレオチドはマーカーを含む。

【0007】

別の実施形態において、マーカーの量は、マーカーのコピー数を測定することによって決定される。MCRまたはマーカーのコピー数は、比較ゲノムハイブリダイゼーション（CGH）、例えば、アレイCGHによって評価することができる。さらに別の実施形態において、正常な量、構造、および／または活性はコントロールサンプルから得られる。なお別の実施形態において、サンプルは組織、全血、血清、血漿、頬搔取物、唾液、脳脊髄液、尿、糞、胆汁、腓液、および腓臓組織からなる群より選択される。

【0008】

別の局面において、本発明は、a) 第1の時点に被験体サンプルにおいて、マーカーの量および／または活性を検出し、ここで、該マーカーは表1に列挙されたMCRに存在するマーカーであり；b) その後の時点に工程a) を反復し；次いで、c) 工程a) およびb) で検出された量および／または活性を比較し、それから、被験体における癌の進行をモニタリングすることを特徴とする、被験体において癌の進行をモニタリングする方法を提供する。一実施形態において、マーカーは表4または表5に列挙されたマーカーからなる群より選択される。別の実施形態において、サンプルは組織、全血、血清、血漿、頬搔取物、唾液、脳脊髄液、尿、糞、胆汁、腓液、および腓臓組織からなる群より選択される。なお別の実施形態において、サンプルは被験体から得られる細胞を含む。なお別の実施形態において、第1の時点およびその後の時点の間に、被験体は癌の治療を受けており、癌についての治療を完了しており、および／または寛解している。

【0009】

さらに別の局面において、本発明は、被験体から得られ、試験化合物の存在下で維持された第1のサンプル中のマーカーの量および／または活性を、ここで、該マーカーは表1に列挙されたMCRに存在するマーカーであり、被験体から得られ、試験化合物の非存在下で維持された第2のサンプル中のマーカーの量および／または活性と比較する工程を包含し、ここで、第2のサンプルに対する、癌において欠失された第1のサンプル中のマーカーの有意により高い量および／または活性は、試験化合物が癌を阻害するのに効果的であることを示し、そしてここで、第2のサンプルに対する癌で増幅される第1のサンプル中のマーカーの有意により低い量および／または活性は、試験化合物が、被験体において癌を阻害するのに効果的であることを示すことを特徴とする、被験体において癌を阻害するについて試験化合物の効率を評価する方法を提供する。一実施形態において、第1および第2のサンプルは被験体から得られる単一のサンプルの一部である。別の実施形態において、第1および第2のサンプルは、被験体から得られたプールされたサンプルの一部である。一実施形態において、マーカーは表4または表5に列挙されたマーカーからなる群より選択される。

【0010】

なお別の局面において、本発明は、被験体へ治療の少なくとも一部を提供する前に被験体から得られた第1のサンプル中のマーカーの量および／または活性を、ここで、該マーカーは表1に列挙されたMCRに存在するマーカーであり、該治療の一部の提供に続いて被験体から得られた第2のサンプル中のマーカーの量および／または活性と比較する工程を包含し、ここで、第2のサンプルに対する癌において欠失された第1のサンプル中のマーカーの有意により高い量および／または活性は、試験化合物が癌を阻害するのに効果的であることを示し、そしてここで、第2のサンプルに対する癌において増幅された第1の

10

20

30

40

50

サンプル中のマーカーの有意により低い量および／または活性は、被験体において癌を阻害するのに該治療は効果的であることを示すことを特徴とする、被験体において癌を阻害するための治療の効率を評価する方法を提供する。一実施形態において、マーカーは表 4 または表 5 に列挙されたマーカーからなる群より選択される。

【0011】

本発明の別の局面は、癌細胞を含むサンプルを入手し；該細胞を試験化合物と接触させ；次いで、マーカーの量および／または活性を調節する試験化合物の能力を測定する工程を包含し、ここで、マーカーは表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーであり、それによって、癌のモジュレータを同定することを特徴とする、癌を調節できる組成物を選択する方法を提供する。一実施形態において、マーカーは表 4 または表 5 に列挙されたマーカーからなる群より選択される。細胞は、例えば、癌の動物モデル、癌細胞株、例えば、膵臓腫瘍に由来する膵臓癌細胞株から、あるいは癌に罹った被験体から単離することができる。

10

【0012】

本発明のなお別の局面は、マーカーを試験化合物と接触させ；次いで、マーカーの量および／または活性を調節する試験化合物の能力を測定する工程を包含し、ここで、マーカーは表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーであり、それによって、癌を調節できる化合物を同定することを特徴とする、癌を調節することができる組成物を選択する方法を提供する。一実施形態において、マーカーは表 4 または表 5 に列挙されたマーカーからなる群より選択される。別の実施形態において、該方法は、さらに、試験化合物を癌の動物モデルに投与することを含む。さらに別の実施形態において、モジュレータは、増幅された表 1 に記載されたマーカー、例えば、表 5 に列挙されたマーカーから選択されたマーカーに対応する遺伝子またはタンパク質の量および／または活性を阻害する。なお別の実施形態において、モジュレータは、欠失された表 1 に記載されたマーカー、例えば、表 4 に列挙されたマーカーから選択されるマーカーに対応する遺伝子またはタンパク質の量および／または活性を増加させる。

20

【0013】

別の局面において、本発明は、マーカーの量、構造、および／または活性を評価するための試薬を含み、ここで、該マーカーは表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーであることを特徴とする、癌を阻害する化合物の能力を評価するためのキットを提供する。一実施形態において、マーカーは表 4 または表 5 に列挙されたマーカーからなる群より選択される。

30

【0014】

本発明はまた、表 1 に列挙された M C R からなる群より選択される M C R のコピー数を評価するための試薬を含む、被験体が癌に罹っているかどうかを評価するためのキット、ならびに被験体が癌に罹っているかどうかを評価するためのキットを提供し、該キットはマーカーの量、構造、および／または活性を評価するための試薬を含む。一実施形態において、マーカーは表 4 または表 5 に列挙されたマーカーからなる群より選択される。

【0015】

別の局面において、本発明は、抗体またはそのフラグメントを含むヒト癌細胞の存在を評価するためのキットを提供し、ここで、該抗体またはそのフラグメントはマーカーに対応するタンパク質に特異的に結合し、ここで、該マーカーは表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーである。一実施形態において、マーカーは表 4 または表 5 に列挙されたマーカーからなる群より選択される。

40

【0016】

さらに別の局面において、本発明は、核酸プローブを含む癌細胞の存在を評価するためのキットを提供し、ここで、該プローブはマーカーに対応する転写されたポリヌクレオチドに特異的に結合し、ここで、該マーカーは表 1 に列挙された M C R に存在するマーカーである。一実施形態において、マーカーは表 4 または表 5 に列挙されたマーカーからなる群より選択される。

50

【0017】

なお別の局面において、本発明は、マーカーに対応する遺伝子またはタンパク質の量および／または活性のモジュレータを被験体に投与することを含む、癌に罹った被験体を治療する方法を提供し、ここで、該マーカーは表1に列举されたMCRに存在するマーカーである。一実施形態において、マーカーは表4または表5に列举されたマーカーからなる群より選択される。

【0018】

本発明はまた、癌において増幅される表1に列举されたMCRに存在するマーカー、例えば、表5に列举されたマーカーから選択されたマーカーに対応する遺伝子またはタンパク質の量および／または活性を阻害し、それによって、癌に罹った被験体を治療する化合物を被験体に投与することの特徴とする、癌に罹った被験体を治療する方法を提供する。一実施形態において、化合物は薬学的に受容可能な処方にて投与される。別の実施形態において、化合物は、マーカーに対応するタンパク質に特異的に結合する、抗体またはその抗原結合フラグメントである。例えば、抗体はトキシシンまたは化学治療剤に結合することができる。さらに別の実施形態において、化合物は、マーカーに対応する遺伝子の発現を阻害するRNA干渉因子、例えば、siRNA分子またはshRNA分子である。なお別の実施形態において、化合物はマーカーに対応する遺伝子に対して相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドである。さらに別の実施形態において、化合物はペプチドまたはペプチド模倣物、マーカーの活性を阻害する低分子、例えば、マーカーおよび標的タンパク質の間のタンパク質-タンパク質相互作用を阻害する低分子、またはマーカーの発現または活性を阻害するアプタマーである。

【0019】

別の局面において、本発明は、癌において欠失された表1に列举されたMCRに存在するマーカー、例えば、表4に列举されたマーカーから選択されるマーカーに対応する遺伝子またはタンパク質の発現または活性を増加させる化合物を被験体に投与し、それによって、癌に罹った被験体を治療することの特徴とする、癌に罹った被験体を治療する方法を提供する。一実施形態において、化合物は低分子である。

【0020】

本発明はまた、マーカー、例えば、表4に列举されたマーカーから選択されるマーカーに対応するタンパク質を被験体に投与し、それによって、癌に罹った被験体を治療することの特徴とする、癌に罹った被験体を治療する方法も含む。一実施形態において、タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含むベクターによって、タンパク質は被験体の細胞に提供される。さらに別の実施形態において、化合物は薬学的に受容可能な処方にて投与される。

【0021】

本発明はまた、表4または表5に列举されたマーカーから選択されるマーカーに対応する、単離されたタンパク質、またはそのフラグメントも提供する。

【0022】

別の局面において、本発明は、表4または表5に列举されたマーカーから選択されるマーカーに対応する、単離された核酸分子、またはそのフラグメントを提供する。

【0023】

さらに別の局面において、本発明は、表4または表5に列举されたマーカーから選択されるマーカーに対応するタンパク質に特異的に結合する、単離された抗体、またはそのフラグメントを提供する。

【0024】

なお別の局面において、本発明は、表1に列举されたMCRから選択されるMCR内に含まれる、単離された核酸分子、またはそのフラグメントを提供し、ここで、該核酸分子は癌において改変された量、構造、および／または活性を有する。本発明はまた、核酸分子によってコードされた単離されたポリペプチドも提供する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0025】

(発明の詳細な説明)

本発明は、ある種の染色体領域（遺伝子座）内に含まれ、かつ癌に関連する再発コピー数変化の、（本明細書中においては最小共通領域（MCR）という）ゲノムの特異的領域の同定に少なくとも部分的には基づく。これらのMCRは、新規なcDNAまたはオリゴマーベースのプラットフォーム、および膵臓腺癌ゲノムにおけるコピー数の変化の高分解能特徴付けを可能とするバイオインフォマティクスツールを用いて同定した（実施例1）。

【0026】

同定された遺伝子座およびMCRに到達するためには、アレイ比較ゲノムハイブリダイゼーション（アレイ-CGH）を利用して、膵臓腺癌細胞株および腫瘍検体におけるコピー数の変化（CNA）（染色体領域の獲得および喪失）を規定した。

【0027】

データセット（Olshen and Venkatraman, Olshen, A. B., and Venkatraman, E. S. (2002) ASA Proceedings of the Joint Statistical Meetings 2530-2535; Ginzinger, D. G. (2002) Exp Hematol 30, 503-12; Golub, T. R., et al. (1999) Science 286, 531-7; Hyman, E., et al. (2002) Cancer Res 62, 6240-5; Lucito, R., et al. (2003) Genome Res 13, 2291-305に記載された）からノイズを濾過するための生のプロファイルのセグメント化分析を行い、これを用いて、データ中の統計学的に有意な変化点を同定した。

【0028】

遺伝子座の同定は、以下のように、いくつかの基本的な基準を利用する自動コンピュータアルゴリズムに基づくものであった：1）ある百分位数を超えるまたはそれ未満のセグメントを変化しと同定し；2）もし2以上の変化したセグメントは、500KB未満だけ離れた単一プロファイルにおいて隣接するならば、セグメントにわたる全領域は変化したスパンと考えた；3）20MBよりも短い高度に変化したセグメントまたはスパンを、区別される遺伝子座境界を規定するために「情報的スパン」として保有した。より長い領域は捨てなかったが、遺伝子座境界を規定するのに含めなかった；4）情報的スパンをサンプル間で比較して、正一値または負一値セグメントの重複する群を同定し；各群は遺伝子座を規定し；および5）MCRは、高度に変化したセグメントの発生をカウントすることによって計算された少なくとも75%のピーク再発を有する連続スパンとして定義された。もし2つのMCRが唯一つのプローブ位置のギャップだけ離れているならば、それらは連結されていた。もし遺伝子座において3を超えるMCRがあれば、全領域を単一複合体MCRとして報告した。

【0029】

サイズ、および変化の振幅に対する高い有意性閾値の達成に基づいて情報的なCNAを規定する遺伝子座同定アルゴリズムを用いた。次いで、複数のプロファイルからの重複するCNAを自動的に融合させて、その境界が、これらの重複するCNAへの組み合わせられた物理的延長を表す、領域的コピー数の変化の区別される「遺伝子座」を規定した（図1C）。各遺伝子座は、その遺伝子座についてのもっとも顕著な増幅または欠失の輪郭を反映するもののピークプロファイル、幅および振幅によって特徴付けられた。さらに、各遺伝子座内で、1以上の最小共通領域（MCR）を複数の腫瘍サンプル間同定し（図1C）、各MCRは、潜在的にサンプル組をわたるコピー数の変化について標的化された区別される癌関連遺伝子を保有する。

【0030】

遺伝子座同定アルゴリズムは、細胞株および原発性腫瘍両方における再発、変化の振幅、および表示の点で注釈されたデータセット内の区別されるMCRを規定した。これらの

区別されるM C Rは、原発性腫瘍および細胞株両方における再発高閾値変化を強調する4つの基準に基づいて順位をつけた（実施例1参照）。この順位付けスキームの実施により、4つの基準の内少なくとも3つを満足する54の独立した遺伝子座内に本発明の64のM C Rを生じた（表1参照）。

【0031】

リアルタイム定量P C R（Q P C R）によって、これらの順位付けされた遺伝子座に帰せられる信頼性レベルをさらに確認し、これは、アレイC G Hによって規定される16の選択されたM C Rに関して100%の一致を示した。表1におけるM C Rを、4つの基準の内2つを満足する（66の区別される遺伝子座内の）さらなる81のM C Rと組み合わせた場合、このゲノム特徴付けは121の独立した遺伝子座内に145のM C Rの組を生じた（表3）。

10

【0032】

ここに同定されたM C Rは2.7 Mbのメジアンサイズを保有し、21の（33%）M C Rは1 Mb以下にわたり（0.33 Mbのメジアン）、15の注釈された遺伝子の平均を保有する。表1は、54の独立した遺伝子座の各々についての細胞遺伝バンド、ならびに遺伝子座の境界（Mb）および遺伝子座のピークプロフィールをリストする。同定されたM C Rの各々の位置、ならびに各々についてのサイズおよび再発もまた表1にリストする。例えば、遺伝子座#3は5 q 3 1.1-q 3 1.1の染色体領域を表し、1 3 3.5 1-1 3 4.33の遺伝子座境界を有する。この遺伝子座は位置1 3 3.5 3-1 3 3.5 6においてM C Rを含有する。

20

【0033】

また、表1において、遺伝子座およびM C Rは「獲得および増幅」または「喪失および欠失」いずれかを有するものとして示され、これは各遺伝子座およびM C Rが、癌において、（1）増大したコピー数および／または発現、または（2）減少したコピー数および／または発現、または欠失いずれかを有することを示す。膵臓腺癌の病因において重要な役割を演じることが知られている遺伝子（p 1 6¹ N K⁴ AおよびT P 5 3腫瘍抑制因子、およびM Y C、K R A S 2およびA K T 2癌遺伝子）は、遺伝子座内に存在し、やはり表1に記載する。

【0034】

本発明のM C R内に存在する遺伝子の有意な割合の相補性発現プロフィール分析は、遺伝子量およびm R N A発現の間の統計学的に有意な関連性と共にマーカーのサブセットを提供した。表4は、欠失のM C Rに存在し、かつ膵臓癌細胞株をわたる比較によって結果的に減少した発現を呈する本発明のマーカーをリストする。表5は、膵臓癌細胞株をわたっての、比較による過剰発現される増幅のM C Rに存在する本発明のマーカーをリストする。まだ注釈されていないM C R内のさらなるマーカーもまた本明細書中で記載される癌に対するマーカーとして用いることもでき、本発明に含まれる。

30

【0035】

本明細書中に記載されるように、コピー数の変化の染色体領域を同定するための新規な方法を、限定されるものではないが、癌を含めた種々の病気についての種々のデータセットに適用することができる。限定されるものではないが、オリゴヌクレオチドベースのマ
イクロアレイ（Brennan, et al. (2004) In Press; Lucito, et al. (2003) Genome Res. 13:2291-2305; Bignelli et al. (2004) Genome Res. 14:287-295; Zhao, et al. (2004) Cancer Research, In Press）、および例えばハイブリダイゼーション方法（FISH）を含めた本明細書中に記載された他の方法を含めた、当該分野で知られているように、コピー数の異常を測定することができる。

40

【0036】

ここに同定されたM C Rの増幅または欠失は、癌、例えば、膵臓癌および他の上皮癌の存在に相関する。さらに、各M C R内に存在する遺伝子のコピー数および／または発現レ

50

ベルの分析が、個々のマーカーの同定、および本明細書中に記載されたマーカーの組合せに導き、その増大したおよび減少した発現および／または増大したおよび減少したコピー数は、例えば、被験体における癌、例えば、膵臓癌の存在に相関する。

【0037】

従って、マーカーの量、構造、および／または活性の変化を評価することによって、サンプル中の癌の存在、サンプル中の癌の不存在、および被験体における癌の予防、診断、特徴付け、および治療に関連する癌の他の特徴を検出するための方法が本明細書中で提供される。例えば、本明細書中で同定される、あるいはマーカーの活性、またはMCR内のマーカーのいずれかの1以上のマーカー（例えば、表4および5に記載したマーカー）メチル化状態に影響するコピー数、発現レベル、タンパク質レベル、タンパク質活性、突然変異（例えば、置換、欠失または付加突然変異）の存在を評価することによるMCRの存在、不存在またはコピー数の評価は本発明の範囲内のものである。

10

【0038】

被験体における癌を阻害することができる化合物を同定するための、および本発明の遺伝子またはタンパク質マーカーのモジュレータ、例えば、アゴニストまたはアンタゴニストを用いる癌の治療、予防、および／または阻害のための方法も本明細書中で提供される。

【0039】

本明細書中に記載されるMCRおよびマーカーは膵臓癌サンプルにおいて同定されたが、本発明の方法は、膵臓癌の予防、診断、特徴付け、治療および予防で用いるのに断じて制限されず、例えば、本発明の方法は本明細書中に記載したようにいずれの癌にも適用することができる。

20

【0040】

本発明の種々の態様を以下のサブセクションにおいてさらに詳細に記載する：

（I. 定義）

本明細書中で使用される場合、以下の用語の各々は本セクションにおいてそれに関連する意味を有する。

【0041】

冠詞「ある」とは、1または1を超える（すなわち、少なくとも1つの）冠詞の文法的目的物をいうのに本明細書中で用いる。例えば、「あるエレメント」は、1つのエレメントまたは1を超えるエレメントを意味する。

30

【0042】

用語「腫瘍」または「癌」とは、制御できない増殖、不滅、転移性能力、迅速な成長および増殖速度、およびある種の特徴的な形態学的特徴のような癌を引き起こす細胞に典型的な特徴を保有する細胞の存在をいう。癌細胞はしばしば腫瘍の形態にあるが、そのような細胞は動物内で単独に存在し得るか、あるいは白血病細胞のような非腫瘍形成性癌細胞であり得る。本明細書中で使用される場合、用語「癌」はプレ悪性ならびに悪性癌を含む。癌は、限定されるものではないが、膵臓癌、例えば、膵臓腺癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、気管支癌、結直腸癌、前立腺癌、膵臓癌、胃癌、卵巣癌、泌尿膀胱癌、脳または中枢神経系癌、末梢神経系癌、食道癌、頸癌、子宮または子宮内膜癌、口腔または咽頭の癌、肝臓癌、腎臓癌、精巣癌、胆道癌、小腸または虫垂癌、唾液腺癌、甲状腺癌、副腎癌、骨肉種、軟骨肉腫、血液学的組織の癌等を含む。

40

【0043】

本明細書中で用いる用語「膵臓癌」または「新形成」は膵臓の膵臓上皮内新形成（Pan In）、アデノーマ、腺癌、ガストリノーマ、ソマトスタチノーマ、インスリノーマおよびグルカゴノーマを含む。

【0044】

本明細書中で使用される場合、用語「腺癌」は、器官のライニングまたは内表面に発生し、腺組織に由来し、あるいは腫瘍細胞が認識可能な腺構造を形成する癌腫である。

【0045】

50

本明細書中において相互交換的に用いるように、用語「膵臓腺癌」または「膵臓管腺癌」は膵臓の腺癌である。一実施形態において、膵臓の腺癌は膵臓の管に起こるプレ悪性の病巣の進行から生起する（本明細書中においては「PanIN」ともいう膵臓上皮内新形成）。本明細書中に記載する方法を用いて、プレ悪性癌、例えば、PanIn、ならびに悪性癌を検出することができる。

【0046】

本明細書中で用いる「最小共通領域（MCR）」とは、癌のゲノムにおける獲得および増幅（増大したコピー数）または喪失および欠失（減少したコピー数）いずれかを呈する連続染色体領域をいう。MCRは、増加したまたは減少したコピー数を有し、かつ癌に関連する少なくとも1つの核酸配列を含む。本発明のMCRは、限定されるものではないが、表1に記載されたものを含む。

10

【0047】

「マーカー」は、改変することができる遺伝子またはタンパク質であり、ここで、該改変は癌に関連する。該改変は正常なまたは健康な組織または細胞（例えば、コントロール）におけるその量、構造および／または活性と比較した、癌組織または癌細胞における量、構造および／または活性におけるものであってよく、癌のような病気状態に関連する。例えば、癌に関連する本発明のマーカーは、正常な、健康な組織または細胞と比較して、癌組織または癌細胞における改変されたコピー数、発現レベル、タンパク質レベル、タンパク質活性またはメチル化状態を有することができる。さらに、「マーカー」は、その構造が改変された、例えば、突然変異した（対立遺伝子変種を含有する）、例えば、癌のよう

20

【0048】

用語、マーカーの「改変された量」またはマーカーの「改変されたレベル」とは、コントロールサンプル中のマーカーの発現レベルまたはコピー数と比較して、マーカーまたは染色体領域、例えば、MCRの増加したまたは減少したコピー数、および／または癌サンプル中の特定マーカー遺伝子または複数遺伝子の増加したまたは減少した発現レベルをいう。用語、マーカーの「改変された量」もまた、正常なコントロールサンプル中のマーカーのタンパク質レベルと比較した、サンプル、例えば、癌サンプル中のマーカーの増加したまたは減少したタンパク質レベルを含む。さらに、マーカーの改変された量は、マーカーの発現または活性に影響し得る、本明細書中に記載されたような、マーカーのメチル化状態を検出することによって測定することができる。

30

【0049】

被験体における、マーカーの量、例えば、マーカーまたはMCRの発現またはコピー数、またはマーカーのタンパク質レベルは、もし、マーカーの量が量を評価するのに使用したアッセイの標準誤差よりも大きな量だけ正常レベルよりも、各々、より大きい、またはそれ未満である場合、好ましくは、その量の少なくとも2倍、より好ましくは3倍、4倍、5倍、10倍またはそれ以上大きいまたは未満であれば、マーカーまたはMCRの正常な量よりも「有意に」より高いまたはより低い。あるいは、被験体におけるマーカーまたはMCRの量は、もし該量がマーカーまたはMCRの正常な量よりも、各々、少なくとも約2倍、好ましくは少なくとも約3倍、4倍、5倍より高い、またはより低ければ、正常な量よりも「有意に」より高い、またはより低いと考えることができる。

40

【0050】

「遺伝子のコピー数」または「マーカーのコピー数」とは、特定の遺伝子産物をコードする細胞におけるDNA配列の数をいう。一般に、与えられた遺伝子に対して、哺乳動物は各遺伝子の2つのコピーを有する。コピー数は、しかしながら、遺伝子増幅または複製によって増加することができ、または欠失によって減少させることができる。

【0051】

マーカーまたはMCRの「正常な」コピー数、またはマーカーの発現の「正常な」レベルは、癌に罹っていない被験体、例えば、ヒトからの、生物学的サンプル、例えば、組織

50

、全血、血清、血漿、頬搔取物、唾液、脳脊髄液、尿、糞、胆汁、腽液、および腽臓組織を含有するサンプル中の、発現のレベル、マーカーのコピー数、またはM C Rのコピー数である。

【0052】

用語、マーカーまたはM C Rの「発現の改変されたレベル」とは、コントロールサンプル（例えば、関連した病気を有しない健康な被験体からのサンプル）における、マーカーまたはM C Rの発現またはコピー数を評価するのに使用されるアッセイの標準誤差よりも大きい、またはそれ未満、好ましくは、マーカーまたはM C Rの発現レベルまたはコピー数の少なくとも2倍、より好ましくは3倍、4倍、5倍または10倍以上、好ましくは、いくつかのコントロールサンプル中のマーカーまたはM C Rの平均発現レベルまたはコピー数である、試験サンプル、例えば、癌に罹った患者に由来するサンプル中のマーカーの発現レベルまたはコピー数をいう。発現の改変されたレベルは、発現またはコピー数を評価するのに使用したアッセイの標準誤差よりも大きい、またはそれ未満であり、コントロールサンプル（例えば、関連する病気を有しない健康な被験体からのサンプル）におけるマーカーまたはM C Rの発現レベルまたはコピー数の好ましくは少なくとも2倍、より好ましくは3倍、4倍、5倍または10倍以上であり、好ましくは、いくつかのコントロールサンプル中のマーカーまたはM C Rの平均の発現レベルまたはコピー数である。

【0053】

マーカーまたはM C Rの「過剰発現」または「発現またはコピー数の有意により高いレベル」とは、発現またはコピー数を評価するのに使用されるアッセイの標準誤差よりも大きな、コントロールサンプル（例えば、癌にかかっていない健康な被験体からのサンプル）におけるマーカーまたはM C Rの発現レベルまたはコピー数の好ましくは少なくとも2倍、より好ましくは3倍、4倍、5倍または10倍以上の発現レベルまたはコピー数、好ましくは、いくつかのコントロールサンプル中のマーカーまたはM C Rの平均発現レベルまたはコピー数である発現レベルまたはコピー数をいう。

【0054】

マーカーの「メチル化状態」とは、メチル化パターン、例えば、プロモーターのメチル化、および／またはマーカーのメチル化レベルをいう。DNAメチル化は遺伝可能で、可逆的かつ後成変化である。しかし、DNAメチル化は、発生および遺伝的結果を有する遺伝子発現を改変する能力を有する。DNAメチル化は、例えば、その内容をここに引用して援用する、Laird, et al. (1994) Human Molecular Genetics 3:1487-1495 およびLaird, P. (2003) Nature 3:253-266に記載されているように、癌に関連付けられている。例えば、腫瘍サプレッサー遺伝子のプロモーターにおけるCpGオリゴヌクレオチドのメチル化は、それらの不活化に導き得る。加えて、正常なメチル化プロセスにおける改変はゲノムの不安定性に関連付けられる(Lengauer et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:2545-2550, 1997)。そのような異常な後成変化は多くのタイプの癌で見出すことができ、従って、癌形成性形質転換のための潜在的マーカーとして働くことができる。

【0055】

メチル化を決定するための方法は制限ランドマークゲノム走査(Kawai et al., Mol. Cell. Biol. 14:7421-7427, 1994)、メチル化一感受性任意起点PCR(Gonzalgo et al., Cancer Res. 57:594-599, 1997);メチル化一感受性制限酵素でのゲノムDNAの消化、続いての注目する領域のサザン分析(消化一サザン方法);PCR増幅に先立ってのメチル化一感受性制限酵素でのゲノムDNAの消化を含むPCRベースのプロセス(Singer-Sam et al., Nucl. Acids Res. 18:687, 1997);ビスルファイト処理を用いるゲノム配列決定(Frommer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:1827-1831, 1992);メチル化特異的PCR(MSP)(Herman et al. Proc. Natl

10

20

30

40

50

. Acad. Sci. USA 93:9821-9826, 1992); およびビスルファイト変換DNAから増幅されたPCR産物の制限酵素消化 (Sadri and Hornsby, Nucl. Acids. Res. 24:5058-5059, 1996; およびXiong and Laird, Nucl. Acids. Res. 25:2532-2534, 1997); 遺伝子突然変異の検出のためのPCR技術 (Kuppusamy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1143-1147, 1991) および対立遺伝子特異的発現の定量 (Szabo and Mann, Genes Dev. 9:3097-3108, 1995; およびSinger-Sam et al., PCR Methods Appl. 1:160-163, 1992); およびその内容をここに引用して援用する米国特許第6, 251, 594号に記載された方法を含む。Zardo, et al. (2000) Nature Genetics 32:453-458に記載された統合されたゲノムおよび後成分析を用いることもできる。

10

【0056】

用語、マーカーの「改変された活性」とは、正常なコントロールサンプル中のマーカーの活性と比較した、病気状態において、例えば、癌サンプルにおいて増加したまたは減少したマーカーの活性をいう。マーカーの改変された活性は、例えば、マーカーの改変された発現、マーカーの改変されたタンパク質レベル、マーカーの改変された構造、または例えば、マーカーと同一または異なる経路に関連する他のタンパク質との改変された相互作用、または転写アクチベーターまたは阻害剤との改変された相互作用、あるいは改変されたメチル化状態の結果であり得る。

20

【0057】

用語、マーカーの「改変された構造」とは、正常なまたは野生型遺伝子またはタンパク質と比較した、マーカー遺伝子またはマーカータンパク質内の突然変異または対立遺伝子変種、例えば、マーカーの発現または活性に影響する突然変異の存在をいう。例えば、突然変異は、限定されるものではないが、置換、欠失、または付加突然変異を含む。突然変異はマーカーのコーディングまたは非コーディング領域に存在し得る。

【0058】

「マーカー核酸」は、本発明のマーカーによってコードされる、または該マーカーに対応する核酸（例えば、DNA、mRNA、cDNA）である。例えば、そのようなマーカー核酸分子は、表4または5に記載された核酸配列のいずれかの全または部分的配列を含むDNA（例えば、cDNA）、またはそのような配列の相補体またはハイブリダイジングフラグメントを含む。マーカー核酸分子は、表4または5に記載された核酸配列のいずれかの全または部分的配列を含むRNA、またはそのような配列の相補体も含み、ここで、全てのチミジン残基はウリジン残基で置き換えられている。「マーカータンパク質」は、本発明のマーカーによってコードされる、またはマーカーに対応するタンパク質である。マーカータンパク質は表4または5に記載された配列のいずれかによってコードされたタンパク質の全または部分的配列、あるいはそのフラグメントを含む。用語「タンパク質」および「ポリペプチド」は本明細書中においては相互交換的に用いられる。

30

【0059】

本明細書中で使用される場合、「マーカー」は、表1に記載されたMCRに存在するいずれかの核酸配列、またはそのような配列によってコードされるタンパク質を含む。

40

【0060】

本明細書中で確認されるマーカーは診断または治療マーカーを含む。単一のマーカーは診断マーカー、治療マーカー、診断および治療両方のマーカーであり得る。

【0061】

本明細書中で使用される場合、用語「治療マーカー」はマーカー、例えば、表4および5に記載されたマーカーを含み、これは癌の（維持、進行、脈管形成および／または転移を含めた）発生に関連すると考えられる。治療マーカーの癌関連機能は、例えば、（1）（例えば、インサイチュハイブリダイゼーション（FISH）または定量的PCR（qP

50

C R)における蛍光による)増大したまたは減少したコピー数、または(例えば、配列決定による)突然変異、(例えば、インサイチュハイブリダイゼーション(I S H)、ノーザンブロット、またはq P C Rによる)過剰発現または過少発現、(例えば、免疫組織化学(I H C)による)増加したまたは減少したタンパク質レベル、または例えば、ヒト癌の約5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、またはそれ以上を超えるにおける、(例えば、マーカーが関連する経路の調節によって測定された)増加したまたは減少したタンパク質活性；(2)例えば、マーカーのR N A干渉(「R N A i」)による、例えば、軟寒天における、癌細胞増殖および成長の阻害；(3)癌遺伝子、例えば、M y cおよびR A Sによる、あるいはR A S単独によるマウス胚線維芽細胞(M E F)の形質転換を促進するマーカーの能力；(4)例えば、軟寒天における腫瘍細胞株の増殖を増強または減少させるマーカーの能力；(5)S C I D外植における一次マウス細胞を形質転換するマーカーの能力；および/または(6)マーカーを阻害または活性化することによる、腫瘍、例えば、動物においてデ・ノボで生起する腫瘍、またはヒト癌細胞株に由来する腫瘍の維持または形成の防止によって確認することができる。一実施形態において、治療マーカーは診断マーカーとして用いることができる。

10

【0062】

本明細書中で使用される場合、用語「診断マーカー」は、癌の診断で有用なマーカー、例えば、表4および5に記載されたマーカー、例えば、治療の前、間または後における、腫瘍の過剰—または過少—活性の出現、発現、成長、寛解、再発または抵抗性を含む。マーカーの予測機能は、例えば、(1)例えば、ヒト癌の約5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%以上を超えるにおける、(例えば、F I S Hまたはq P C Rによる)増加したまたは減少したコピー数、(例えば、I S H、ノーザンブロット、またはq P C Rによる)過剰発現または過少発現、(例えば、I H Cによる)増大したまたは減少したタンパク質レベル、または(例えば、マーカーが関連する経路の調節によって測定された)増加したまたは減少した活性；(2)被験体、例えば、癌に罹ったヒトからの生物学的サンプル、例えば、組織、全血、血清、血漿、頬搔取物、唾液、脳脊髄液、尿、糞、胆汁、腓液、および腓臓組織を含有するサンプル中のその存在または不存在；(3)癌を持つ患者(例えば、特定の治療に応答する患者、または抵抗性を発生する患者)の臨床サブセットにおけるその存在または不存在によって確認することができる。診断マーカーは「代理マーカー」、例えば、病気進行の間接的マーカーであるマーカーも含む。

20

30

【0063】

用語「プローブ」とは、特別に意図した標的分子、例えば、本発明のマーカーに選択的に結合することができるいずれの分子もいう。プローブは当業者によって合成できるか、あるいは適切な生物学的調製物に由来することができる。標的分子の検出の目的では、本明細書中に記載したように、プローブを標識されるように特別に設計されることができる。プローブとして利用することができる分子の例は、限定されるものではないがR N A、D N A、タンパク質、抗体、および有機モノマーを含む。

【0064】

本明細書中で使用される場合、用語「プロモーター／調節配列」は、該プロモーター／調節配列に操作可能に連結された遺伝子産物の発現に必要な核酸配列を意味する。いくつかの例において、この配列はコアプロモーター配列であってよく、他の例においては、この配列はエンハンサー配列、および遺伝子産物の発現に必要な他の調節エレメントも含むことができる。プロモーター／調節配列は、例えば、組織特異的に遺伝子産物を発現するものであり得る。

40

【0065】

本明細書中で使用される場合、「R N A干渉因子」は、R N A干渉(R N A i)によって、標的遺伝子、例えば、本発明のマーカーの発現に干渉する、またはそれを阻害するいずれかの剤と定義される。そのようなR N A干渉因子は、限定されるものではないが、標

50

的遺伝子、例えば、本発明のマーカと相異なるRNA分子を含めた核酸分子、またはそのフラグメント、短い干渉RNA (siRNA) およびRNA干渉 (RNAi) による標的遺伝子の発現に干渉する、またはそれを阻害する低分子を含む。

【0066】

「RNA干渉 (RNAi)」は、進化的に保存されたプロセスであり、それによって、標的遺伝子と同一な、または高度に類似する配列のRNAの発現または導入の結果、標的化遺伝子から転写されたメッセンジャーRNA (mRNA) の配列特異的分解または特異的転写後遺伝子サイレンシング (PTGS) がもたらされ (Coburn, G. and Cullen, B. (2002) J. of Virology 76 (18): 9225 参照)、それによって、標的遺伝子の発現を阻害する。一実施形態において、該RNAは二本鎖RNA (dsRNA) である。このプロセスは植物、無脊椎動物、および哺乳動物細胞において記載されている。天然においては、RNAiは、長いdsRNAの、siRNAといわれる二本鎖フラグメントへのプロセシング的切断を促進するdsRNA特異的エンドヌクレアーゼダイサーによって開始される。siRNAは、標的mRNAを認識し、それを切断するタンパク質複合体に一体化される。RNAiは、核酸分子、例えば、合成siRNAまたはRNA干渉因子を導入して、標的遺伝子の発現を阻害し、またはそれをサイレントとすることによって開始することもできる。本明細書中で使用される場合、「標的遺伝子発現の阻害」または「マーカ遺伝子発現の阻害」は、標的遺伝子 (例えば、本発明のマーカ遺伝子)、または標的遺伝子によってコードされるタンパク質、例えば、本発明のマーカタンパク質の発現またはタンパク質活性もしくはレベルのいずれかの減少を含む。該減少は、標的遺伝子の発現、あるいはRNA干渉因子によって標的化されたことがない標的遺伝子によってコードされるタンパク質の活性またはレベルと比較して、少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%または99%以上であり得る。

【0067】

「小干渉RNA」とも本明細書中においていわれる「短干渉RNA」 (siRNA) は、例えば、RNAiによって、標的遺伝子の発現を阻害するように機能する剤と定義される。siRNAは化学的に合成することができ、インビトロ転写によって生産することができるか、あるいは宿主細胞内で生産することができる。一実施形態において、siRNAは長さが約15ないし約40ヌクレオチド、好ましくは長さが約15ないし約28ヌクレオチド、より好ましくは約19ないし約25ヌクレオチド、より好ましくは長さが約19、20、21、または22ヌクレオチドである二本鎖RNA (dsRNA) であり、約0、1、2、3、4または5ヌクレオチドの長さを有する各ストランド上に3'および/または5'突出を含有することができる。該突出の長さは2つのストランドの間で独立しており、すなわち、1つのストランド上の突出の長さは第2のストランド上の突出の長さに依存しない。好ましくは、siRNAは、標的メッセンジャーRNA (mRNA) の分解または特異的翻訳後遺伝子サイレンシング (PTGS) を通じてRNA干渉を促進することができる。

【0068】

別の実施形態において、siRNAは (ステムループとも呼ばれる) 小さなヘアピンRNA (shRNA) である。一実施形態において、これらのshRNAは短い (例えば、19ないし25ヌクレオチド) アンチセンスストランド、続いての5ないし9ヌクレオチドループ、および同様なセンスストランドから合成される。あるいは、センスストランドがヌクレオチドループ構造に先行し得、アンチセンスストランドがそれに続き得る。これらのshRNAはプラスミド、レトロウイルス、およびレンチウイルスに含有され得、例えば、pol III U6プロモーター、または別のプロモーターから発現され得る (例えば、ここに引用して援用するStewart, et al. (2003) RNA A pr; 9 (4): 493-501 参照)。

【0069】

RNA干渉因子、例えば、siRNA分子は癌を有する、または有する危険性がある患

者に投与して、本発明のマーカー遺伝子、例えば、（表5に列挙されたマーカーのような）癌で過剰発現されるマーカー遺伝子の発現を阻害し、それによって、被験体における癌を治療し、予防し、または阻害することができる。

【0070】

「構成的」プロモーターは、遺伝子産物をコードし、または特定するポリヌクレオチドと操作可能に連結した場合に、遺伝子産物が生きたヒト細胞において該細胞のほとんどまたは全ての生理学的条件下で生産されるようにするヌクレオチド配列である。

【0071】

「誘導性」プロモーターは、遺伝子産物をコードする、または特定するポリヌクレオチドと操作可能に連結した場合に、該遺伝子産物が、実質的に、プロモーターに対応するインデューサーが細胞に存在する場合にのみ生きたヒト細胞で生産されるようにするヌクレオチド配列である。

【0072】

「組織特異的」プロモーターは、遺伝子産物をコードし、またはそれを特定するポリヌクレオチドと操作可能に連結した場合、遺伝子産物が、生きたヒト細胞において、実質的に、もし該細胞がプロモーターに対応する組織型の細胞である場合にのみ生産されるようにするヌクレオチド配列である。

【0073】

「転写されたポリヌクレオチド」は、本発明のマーカーの転写、およびもしあれば、転写体の正常な転写後プロセッシング（例えば、スプライシング）、および転写体の逆転写によって生じる成熟RNAの全部または部分に相補的な、またはそれに相同なポリヌクレオチド（例えば、RNA、cDNA、またはRNAもしくはcDNAのもののアナログ）である。

【0074】

「相補的」とは、2つの核酸ストランドの領域の間の、あるいは同一核酸ストランドの2つの領域の間の配列相同性の広い概念をいう。第1の核酸領域のアデニン残基は、もし該残基がチミンまたはウラシルであれば第1の領域に対して反平行である第2の核酸領域の残基とで特異的水素結合を形成することができる（「塩基対合」）ことが公知である。同様に、第1の核酸ストランドのシトシン残基は、もし該残基がグアニンであれば第1のストランドに対して反平行である第2の核酸ストランドの残基とで塩基対合できることが公知である。核酸の第1の領域は、もし2つの領域が反平行に整列させた場合に、第1の領域の少なくとも1つのヌクレオチド残基が第2の領域の残基とで塩基対合できれば、同一または異なる核酸の第2の領域に対して相補的である。好ましくは、第1の領域は第1の部分を含み、第2の領域は第2の部分を含み、それによって、第1および第2の部分は反平行に成立させた場合に、第1の部分のヌクレオチド残基の少なくとも約50%、好ましくは少なくとも約75%、少なくとも約90%、または少なくとも約95%は第2の部分におけるヌクレオチド残基とで塩基対合することができる。より好ましくは、第1の部分の全てのヌクレオチド残基は、第2の部分におけるヌクレオチド残基とで塩基対合することができる。

【0075】

本明細書中で相互交換的に用いる、用語「相同性」または「同一性」とは、2つのポリヌクレオチド配列の間の、または2つのポリペプチド配列の間の配列同様性をいい、同一性はより厳しい比較である。フレーズ「同一性パーセントまたは相同性」および「同一性%または相同性」とは、2以上のポリヌクレオチド配列、または2以上のポリペプチド配列の比較で見出される配列同様性のパーセンテージをいう。「配列同様性」とは、2以上のポリヌクレオチド配列の間の（いずれかの適切な方法によって測定された）塩基対配列におけるパーセント同様性をいう。2以上の配列は0ないし100%同様のいずれか、あるいはそれらの間のいずれかの整数値であり得る。同一性または同様性は、比較目的で整列させることができる各配列における位置を比較することによって決定することができる。比較される配列における位置が同一のヌクレオチド塩基またはアミノ酸によって占めら

10

20

30

40

50

れる場合、分子はその位置において同一である。ポリヌクレオチド配列の間の同様性または同一性の程度は、ポリヌクレオチド配列によって共有される位置における同一またはマッチするヌクレオチドの数の関数である。ポリペプチド配列の同一性の程度は、ポリペプチド配列によって共有される位置における同一のアミノ酸の数の関数である。ポリペプチド配列の相同性または同様性の程度は、ポリペプチド配列によって共有される位置におけるアミノ酸の数の関数である。本明細書中で用いられるように、用語「実質的相同性」とは、少なくとも50%、より好ましくは60%、70%、80%、90%、95%以上の相同性をいう。

【0076】

マーカーは、もしそれが基質と共有結合、または非共有結合すれば、基質は「固定」され、そのような基質は基質から解離するマーカーの実質的割合なくして流体（例えば、標準セーラインシトレート、pH7.4）ですすぐことができる。

【0077】

本明細書中で使用される場合、「天然に生じる」核酸分子とは、天然で起こる（例えば、天然タンパク質をコードする）ヌクレオチド配列を有するRNAまたはDNA分子をいう。

【0078】

癌は、もし該癌の少なくとも1つの兆候が軽減され、停止され、遅くされ、または妨げられれば、「阻害」される。本明細書中で使用される場合、癌は、もし該癌の再発または転移が低下し、遅くされ、遅延され、または妨げられるならば、やはり「阻害」される。

【0079】

キットは、本発明のマーカーを特異的に検出するための、少なくとも1つの試薬、例えば、プローブを含むいずれかの製品（例えば、パッケージまたは容器）であり、該製品は本発明の方法を実行するためのユニットとして促進され、配布され、または販売される。

【0080】

（II. 本発明の使用）

本発明は、部分的には、正常な（すなわち、非癌性）細胞と比較して、癌細胞における異なるコピー数に導く構造的に改変された染色体領域（MCR）の同定に基づく。さらに、本発明は、部分的には、正常な（すなわち、非癌性）細胞と比較して、癌細胞における改変された量、構造および／または活性を有するマーカー、例えば、本発明のMCRに存在するマーカーの同定に基づく。本発明のマーカーは、正常および癌性細胞の一方または両方で検出することができるDNA、cDNA、RNA、およびポリペプチド分子に対応する。

【0081】

サンプル、例えば、組織、全血、血清、血漿、頬搔取物、唾液、脳脊髄液、尿、糞、胆汁、膵液、および膵臓組織を含有するサンプル中のこれらのマーカーの1以上の、量、構造、および／または活性、例えば、存在、不存在、コピー数、発現レベル、タンパク質レベル、タンパク質活性、突然変異、例えば、マーカーの活性に影響する突然変異（例えば、置換、欠失、付加突然変異）の存在、および／またはメチル化状態が、組織の癌性状態と相関する。加えて、サンプル中の本発明のMCRの1以上の存在、不存在、および／またはコピー数もまた組織の癌性状態と相関する。本発明は、したがって、細胞（例えば、非ヒト、培養した非ヒト細胞、およびインビボ細胞から得られた細胞）の癌性状態を評価するための組成物、キット、および方法、ならびに本発明のマーカーのモジュレータ、例えば、アゴニストまたはアンタゴニストを用いる癌の治療、予防および／または阻害のための方法を提供する。

【0082】

本発明の組成物、キット、および方法はとりわけ、以下の用途を有する：

- 1) 被験体が癌に罹ったか否かの評価；
- 2) ヒト被験体における癌の段階の評価；
- 3) 被験体における癌のグレードの評価；

10

20

30

40

50

- 4) 被験体における癌の良性または悪性性質の評価；
- 5) 被験体における癌の転移能力の評価；
- 6) 被験体における癌と関連した新生物の組織学的タイプの評価；
- 7) 癌を治療し、および／または被験体が癌に罹っているかどうかを評価するのに有用な抗体、抗体フラグメントまたは抗体誘導体の作成；
- 8) 癌細胞の存在の評価；
- 9) 被験体において癌を阻害するための1以上の試験化合物の効力の評価；
- 10) 被験体において癌を阻害するための治療の効力の評価；
- 11) 被験体における癌の進行のモニタリング；
- 12) 例えば、被験体において癌を阻害するための組成物または治療の選択；
- 13) 癌に罹った被験体の治療；
- 14) 被験体における癌の阻害；
- 15) 試験化合物の癌形成能力の評価；および
- 16) 癌を発症する危険性がある被験体における癌の開始の予防。

10

【0083】

本発明は、したがって、被験体が癌に罹った、または癌を発症する危険性があるか否かを評価する方法を含む。該方法は、被験体サンプル中のマーカーの、量、構造、および／または活性、例えば、存在、不存在、コピー数、発現レベル、タンパク質レベル、タンパク質活性、突然変異、例えば、マーカーの活性に影響する突然変異（例えば、置換、欠失、または付加突然変異）の存在、および／またはメチル化状態を正常なレベルと比較することを含む。被験体サンプル中のマーカーの量、構造、または活性および正常レベルとの間の有意な差は、被験体が癌に罹っていることを示すものである。本発明はまた、癌サンプル中の、MCR内のマーカーの発現のレベル、またはMCRのコピー数を、正常なコントロールサンプル中の、MCR内のマーカーの発現のレベル、またはMCRのコピー数と比較することによって、被験体が癌に罹ったか、または癌を発症する危険性があるかを評価するための方法も提供する。被験体サンプル中の、MCR内のマーカーの発現のレベル、またはMCRのコピー数、および正常レベルの間の有意な差は、被験体が癌に罹っていることを示すものである。MCRは表1にリストしたもののからなる群より選択される。

20

【0084】

該マーカーは、表4および5にリストしたマーカーからなる群より選択される。表4は、遺伝子発現および遺伝子量の間に高度に有意な相関を有するマーカーをリストする（p、0.05）。これらのマーカーの発現のレベルまたはコピー数は、膵臓癌、例えば、膵臓腺癌として組織学的に同定されるサンプルにおいて減少する。表4はマーカーの各々についての、各UniGeneID、Genebank Accession No.（すなわち、「GI」番号）、および配列番号に対応する、染色体、Mbにおける物理的位置、遺伝子重量、p値、AffymetrixTMプローブ番号もリストする。表4にリストされるマーカーに対応する1以上の分子は他のものによって記載することもできるが、細胞の癌性状態に関するこれらのマーカーの重要性はこれまで同定されてこなかった。

30

【0085】

表5もまた遺伝子発現および遺伝子量の間に高度に有意な相関を有するマーカーをリストする（p、0.05）。これらのマーカーの発現のレベルまたはコピー数は膵臓癌、例えば、膵臓腺癌として組織学的に同定されるサンプルにおいて増加する。表5もまたこれらのマーカーの各々についての、各UniGeneID、Genebank Accession No.（すなわち、「GI」番号）、および配列番号に対応する、染色体、Mbにおける物理的位置、遺伝子重量、p値、AffymetrixTMプローブ番号もリストする。表5にリストされるマーカーに対応する1以上の分子は他のものによって記載することもできるが、細胞の癌性状態に関するこれらのマーカーの重要性はこれまで同定されてこなかった。

40

【0086】

表4または5に列挙されたいずれかのマーカーまたはマーカーの組合せ、あるいは表1

50

に列挙されたいずれかのM C RまたはM C Rの組合せは、本発明の組成物、キット、および方法で用いることができる。一般に、それについて、癌細胞におけるマーカーまたはM C Rの量、例えば、発現のレベルまたはコピー数、および／または活性、および正常な細胞における同一マーカーの量、例えば、発現のレベルまたはコピー数、および／または活性の間の差ができる限り大きいマーカーを用いるのが好ましい。この差は、マーカーの量および／または活性を評価するための方法の検出の限界と同程度に小さくすることができるが、該差は、評価方法の標準誤差よりも少なくとも大きい、好ましくは、正常な組織における同一バイオマーカーの量、例えば、発現のレベルまたはコピー数および／または活性よりも少なくとも2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、25倍、100倍、500倍、1000倍以上の差であるのが好ましい。

10

【0087】

本発明の1以上のマーカーを用いるさらなる被験体サンプルのルーチンのスクリーニングによって、ある種のマーカーは、具体的膵臓癌、ならびに他の癌、例えば、その例は、限定されるものではないが、メラノーマ、乳癌、肺癌、気管支癌、結直腸癌、前立腺癌、膵臓癌、胃癌、卵巣癌、泌尿膀胱癌、脳または中枢神経形癌、末梢神経系癌、食道癌、頸癌、子宮または子宮内膜癌、口腔または咽頭の癌、肝臓癌、腎臓癌、精巣癌、胆管癌、小腸または虫垂癌、唾液腺癌、甲状腺癌、副腎癌、骨肉腫、軟骨肉腫、血液学的組織の癌等を含む癌腫、肉腫、リンパ腫または白血病を含めた種々のタイプの癌において改変された量、構造、および／または活性を有することが認識されるであろうと理解される。

【0088】

例えば、本発明のマーカーのいくつかは癌、例えば、膵臓癌のいくらか、すなわち、10%、20%、30%または40%、またはほとんど（すなわち50%以上、または実質的に全て（すなわち、80%以上）において改変された量、構造、および／または活性を有することが確認されるであろう。さらに、本発明のある種のマーカーは種々の組織学的サブタイプの癌に関連付けられることが確認されるであろう。

20

【0089】

加えて、より大きな数の被験体サンプルを、マーカーの改変された数、構造、および／または活性、あるいは本発明のM C Rの改変された発現またはコピー数について評価し、かつそれからサンプルが得られた個々の被験体の結果が関連付けられるので、マーカーは該マーカーのある種のものの改変された量、構造、および／または活性を有し、あるいは本発明のM C Rの改変された発現またはコピー数は悪性癌と強く相関し、および本発明の他のマーカーの改変された発現は良性腫瘍またはプレ悪性状態と強く相関することも確認されるであろう。本発明の組成物、キットおよび方法は、したがって、被験体における癌の段階、グレード、組織学的タイプ、および良性／プレ悪性、悪性性質の1以上を特徴付けるのに有用である。

30

【0090】

本発明の組成物、キット、および方法を被験体における癌の段階、グレード、組織学的タイプおよび良性／プレ悪性／悪性性質の1以上を特徴付けるのに用いる場合、本発明のマーカーまたはM C R、あるいはマーカーまたはM C Rのパネルは、対応する段階、グレード、組織学的タイプ、また良性／プレ悪性／悪性性質の、癌に罹った被験体の少なくとも約20%、好ましくは少なくとも約40%、60%、または80%、より好ましくは実質的に全てにおいて陽性結果が得られるように選択される。好ましくは、本発明のマーカーまたはマーカーのパネルは、約10%を超えるP P V（陽性予測値）が、（より好ましくは、99.5%を超えるアッセイ特異性とカップリングさせて）一般的集団について得られるように選択される。

40

【0091】

本発明の複数のマーカーまたはM C Rを本発明の組成物、キット、および方法で用いる場合、各マーカーの量、構造、および／または活性、あるいは発現のレベルまたはコピー数を、単一反応混合物（すなわち、各マーカーについて異なる蛍光プローブのような試薬を使用）、あるいは1以上のマーカーまたはM C Rに対応する個々の反応混合物いずれか

50

において、同一タイプの非癌性サンプル中の、複数のマーカーの各々の正常な量、構造、および／または活性、あるいは発現のレベルまたはコピー数と比較することができる。

【0092】

一実施形態において、対応する正常なレベルに対する、サンプル中における、複数のマーカーのうちの1を超えるものの有意に改変された量、構造、および／または活性、あるいはMCRの1以上の有意に改変されたコピー数は、被験体が癌に罹っていることを示すものである。例えば、対応する正常なレベルまたはコピー数に対して、複数のマーカーまたはMCRの各々のサンプル中の有意に低いコピー数は、被験体が癌に罹っていることを示すものである。なお別の実施形態において、対応する正常なレベルに対するサンプル中の、1以上のマーカーまたはMCRの有意に増強されたコピー数、および1以上のマーカーまたはMCRの発現またはコピー数の有意に低いレベルが、被験体が癌に罹っていることを示すものである。また、例えば、対応する正常なコピー数に対する、複数のマーカーまたはMCRの各々のサンプル中の有意に増強されたコピー数は、被験体が癌に罹っていることを示すものである。なお別の実施形態において、対応する正常なレベルに対する、サンプル中の、1以上のマーカーまたはMCRの有意に増強されたコピー数、および1以上のマーカーまたはMCRの有意に低いコピー数は、被験体が癌に罹っていることを示すものである。

10

【0093】

複数のマーカーまたはMCRを用いる場合、2、3、4、5、8、10、12、15、20、30、または50以上の個々のマーカーまたはMCRを用い、または同定するのが好ましい、ここで、より少数のマーカーまたはMCRが好ましい。

20

【0094】

ごく少数のマーカーが、例えば、膵臓癌と関連することが知られている（例えば、AKT2、p16^{INK4a}、c-MYC、SMAD4およびTP53；Lynch, supra）。これらのマーカー、あるいは他のタイプの癌に関連することが知られている他のマーカーを、例えば、マーカーのパネル中の本発明の1以上のマーカーと一緒に使用することができる。加えて、膵臓癌において、頻繁な獲得が3q、5p、7p、8q、11q、12p、17qおよび20qにマッピングされており、喪失が3p、4q、6q、8p、9p、10q、12q、13q、17p、18qおよび21q、および22qにマッピングされている。いくつかの例において、MYC（8q24）、p16^{INK4A}（9p21）、p53（17p13）、SMAD4（18q21）、およびAKT2（19q13）を含めた、これらの遺伝子座内に含まれる確認された癌遺伝子および腫瘍抑制遺伝子が同定されている。癌遺伝子、腫瘍抑制遺伝子、成長因子様遺伝子、プロテアーゼ様遺伝子、およびプロテインキナーゼ様遺伝子のようなある種のタイプの遺伝子は、しばしば、種々のタイプの癌の発生に関連付けられていることがよく知られている。したがって、本発明のマーカーのうち、公知の癌遺伝子および腫瘍抑制遺伝子によってコードされる公知のタンパク質に似たタンパク質に対応するもの、および成長因子、プロテアーゼ、およびプロテインキナーゼに似たタンパク質に対応するものの使用が好ましい。

30

【0095】

本発明の組成物、キットおよび方法は、癌を発生する高まった危険性を有する被験体、および彼らの医療アドバイザーに対して特に利用性があるものであることが認識される。癌を発症する高まった危険性を有すると認識される被験体は、例えば、癌の家族歴を有する被験体、突然変異体癌遺伝子（すなわち、少なくとも1つの対立遺伝子）を有すると同定された被験体、および老齢の被験体を含む。

40

【0096】

正常な（すなわち、非癌性）ヒト組織におけるマーカーの改変、例えば、コピー数、量、構造、および／または活性を種々の方法で評価することができる。一実施形態において、発現またはコピー数の正常なレベルは、非癌性であると見える細胞の部分におけるマーカーまたはMCRの発現および／またはコピー数のレベルを評価することによって、およ

50

び発現またはコピー数のこの正常なレベルを、癌性であることが疑われる細胞の部分における発現またはコピー数のレベルと比較することによって評価される。例えば、腹腔鏡検査法または他の医療的手法が器官の1つの部分上での主要の存在を明らかにする場合、マーカーまたはM C Rの発現またはコピー数の正常なレベルは該器官の非患部を用いて評価することができ、発現またはコピー数のこの正常なレベルを、該器官の患部（すなわち、腫瘍）における同一マーカーの発現またはコピー数のレベルと比較することができる。あるいは、特に、さらなる情報が本明細書中に記載された方法のルーチンの性能の結果として利用できるようになるに従い、本発明のマーカーまたはM C Rの「正常な」コピー数、量、構造、および／または活性に対する集団平均値を用いることができる。他の実施形態において、マーカーまたはM C Rの「正常な」コピー数、量、構造、および／または活性は、非癌罹患者被験体から得られた被験体サンプルにおいて、被験体における癌の疑われる開始前の被験体から得られた被験体サンプルからの、保管された被験体サンプル等からの、マーカーまたはM C Rのコピー数、量、構造および／または活性を評価することによって決定することができる。

10

【0097】

本発明はサンプル（例えば、保管された組織サンプル、または被験体から得られたサンプル）中での癌細胞での存在を評価するための組成物、キット、および方法を含む。これらの組成物、キット、および方法は、適切であれば、該組成物、キットおよび方法がある種のタイプのサンプルでの使用に適合させる以外は、上記のものと実質的に同一である。例えば、サンプルをパラフィン処理した保管されたヒト組織サンプルである場合、本発明の組成物における、本発明のキットにおける、または用いる方法における化合物の比率を調整する必要がある。そのような方法は当該分野でよく知られており、当業者の技量内のものである。

20

【0098】

本発明は、したがって、（例えば、被験体サンプルのようなサンプル中での）癌細胞の存在を評価するためのキットを含む。該キットは、例えば、本発明のマーカーまたはM C Rに対応する核酸またはポリペプチドに特異的に結合する本発明のマーカーまたはM C Rを同定することができる1以上の試薬を含むことができる。本発明のマーカーに対応するポリペプチドと結合させるための適切な試薬を抗体、抗体誘導体、抗体フラグメント等を含む。核酸（例えば、ゲノムDNA、mRNA、スプライスドmRNA、cDNA等）と結合するのに適した試薬は、相補的な核酸を含む。例えば、核酸試薬は基質に固定された（標識されたまたは標識されていない）オリゴヌクレオチド、基材に結合していない標識されたオリゴヌクレオチド、P C Rプライマーの対、分子ビーコンプローブ等を含むことができる。

30

【0099】

本発明のキットは、所望により、本発明の方法を行うのに有用なさらなる成分を含むことができる。その例として、該キットは、相補的核酸にアニールするのに、あるいは抗体を、それが特異的に結合するタンパク質と結合させるのに適した流体（例えば、S S C緩衝液）、1以上のサンプル区画、本発明の方法の実行を記載する指令書、正常な細胞のサンプル、癌細胞のサンプル等を含むことができる。

40

【0100】

本発明のキットは、タンパク質レベル、またはマーカーのタンパク質活性を測定するのに有用な試薬を含むことができる。別の実施形態において、本発明のキットはマーカーのメチル化状態を測定するための試薬を含むことができ、あるいはマーカーの構造の改変、例えば、突然変異の存在を測定するための試薬を含むことができる。

【0101】

本発明はまた、本発明の方法およびキットで有用な抗体を生産する単離されたハイブリドーマの作成方法も含む。本発明のマーカーに対応するタンパク質を（例えば、そこでそれが発現される細胞からの精製によって、あるいは公知の方法を用いるインビボまたはインビトロにおけるタンパク質をコードする核酸の転写または翻訳によって）単離すること

50

ができ、脊椎動物、好ましくはマウス、ラット、ウサギ、またはヒツジのような哺乳動物を該単離されたタンパク質を用いて免疫化する。該脊椎動物は、該脊椎動物がタンパク質に対して頑強な免疫応答を呈するように、単離されたタンパク質で少なくともさらに1回所望により（かつ好ましくは）免疫化することができる。当該分野で良く知られた種々の方法のいずれかを用いて、脾臓細胞を免疫化された脊椎動物から単離し、不滅化細胞株を融合させて、ハイブリドーマを形成させる。標準的な方法を用いて、次いで、このようにして形成されたハイブリドーマをスクリーニングして、タンパク質に特異的に結合する抗体を生産する1以上のハイブリドーマを同定する。本発明はまた、この方法によって作成されたハイブリドーマ、およびそのようなハイブリドーマを用いて作成された抗体を含む。

10

【0102】

本発明はまた、癌細胞を阻害するにつき試験化合物の効力を評価する方法も含む。上記のように、本発明のマーカーの量、構造、および／または活性、あるいは本発明のMCRの発現またはコピー数のレベルの差は細胞の癌状態と相関する。ある種のマーカーの量、例えば、発現またはコピー数、構造および／または活性のレベル、あるいは本発明のMCRの発現またはコピー数の変化は細胞の癌状態に由来するらしいと認識されているが、同様に、該量の変化は癌状態を誘導し、維持し、促進し得ると認識されている。したがって、被験体において癌を阻害する化合物は変化、例えば、本発明の1以上のマーカーの発現および／または活性の、そのマーカーについての正常なレベル（例えば、非癌性細胞におけるマーカーについての量、例えば、発現、および／または活性）近くのレベルまでの変化を引き起こし得る。

20

【0103】

この方法は、したがって、第1の細胞サンプル中の、かつ試験化合物の存在下で維持されるマーカーの量、例えば、発現、および／または活性、および第2の細胞サンプル中の、かつ試験化合物の非存在下で維持されたマーカーの量、例えば、発現、および／または活性を比較することを含む。表4に列举されたマーカー（例えば、癌において減少することが示されたマーカー）の量、例えば、発現、および／または活性の有意な増加、表5に列举されたマーカー（例えば、癌において増加することが示されたマーカー）の量、例えば、発現、および／または活性の有意な減少は、試験化合物が癌を阻害することを示すものである。細胞サンプルは、例えば、被験体から得られた正常細胞の単一サンプルのアリコット、被験体から得られた正常細胞のプールされたサンプル、正常な細胞株の細胞、癌の単一サンプルのアリコット、被験体から得られた細胞、癌のプールされたサンプル、被験体から得られた細胞、癌細胞株の細胞、癌の動物モデルからの細胞、などであり得る。一実施形態において、サンプルは被験体から得られた癌細胞であり、種々の癌を阻害するのに効果的であることが知られている複数の化合物を試験して、被験体における癌を最良に阻害するようである化合物を同定する。

30

【0104】

この方法は、同様に、治療、例えば、化学治療、放射線治療、外科的処置あるいは被験体において癌を阻害するのに有用ないずれかの他の治療的アプローチの効力を評価するのに用いることができる。この方法においては、サンプルの対（一方は治療に付され、他方は治療に付されない）中での本発明の1以上のマーカーの量、例えば、発現、および／または活性を評価する。試験化合物の効力を評価する方法に関しては、もし該治療が表5に列举されたマーカー（例えば、癌において増加することが示されたマーカー）の量、例えば、発現、および／または活性の有意な減少を誘導し、表5に列举されたマーカー（例えば、癌において増加することが示されたマーカー）の誘導をブロックするならば、あるいはもし該治療が、表4に列举されたマーカー（例えば、癌において減少することが示されたマーカー）の量、例えば、発現、および／または活性の有意な増強を誘導するならば、該治療は癌を阻害するのに有効である。上記のように、もし選択された被験体からのサンプルをこの方法で用いるならば、代替治療をインビトロで評価して、被験体において癌を阻害するのに最も有効であるらしい治療を選択することができる。

40

50

【0105】

この方法を同様に用いて、被験体における癌の進行をモニタリングすることができ、ここで、もし被験体におけるサンプルが、癌の進行の間に、例えば、第1の時点において、およびその後の時点において、表5に列挙されたマーカー（例えば、癌において増加することが示されたマーカー）の量、例えば、発現、および／または活性の有意な減少を有し、あるいは表5に列挙されたマーカー（例えば、癌において増加することが示されたマーカー）の誘導、または表4に列挙されたマーカー（例えば、癌において減少することが示されたマーカー）の量、例えば、発現、および／または活性の有意な増強をブロックするならば、癌は改良されている。なお別の実施形態において、第1の時点およびその後の時点の間に、被験体は治療、例えば、化学治療、放射線治療、外科的処置あるいは癌を阻害するのに有用ないずれかの他の治療アプローチを受けており、治療を完了しており、あるいは寛解期である。

10

【0106】

本明細書中で記載するように、被験体における癌は、表5に列挙された1以上のマーカー（例えば、癌において増加することが示されたマーカー）の量、例えば、発現、および／または活性の増加、および／または表4に列挙された1以上のマーカー（例えば、癌において減少することが示されたマーカー）の量、例えば、発現、および／または活性の減少に関連づけられる。上記のように、量、例えば、発現、および／または活性数のこれらの変化のいくつかは癌の発生に由来するが、これらの変化の他のものは癌細胞の癌状態を誘導し、維持し、促進する。したがって、表5に列挙された1以上のマーカー（例えば、癌において増大することが示されたマーカー）の量、例えば、発現、および／または活性の増加によって特徴付けられる癌は、それらのマーカーの量、例えば、発現、および／または活性を阻害することによって阻害することができる。同様に、表4に列挙された1以上のマーカー（例えば、癌において減少することが示されたマーカー）の量、例えば、発現、および／または活性の減少によって特徴付けられる癌は、それらのマーカーの量、例えば、発現、および／または活性を増強することによって阻害することができる。

20

【0107】

表5に列挙されたマーカー（例えば、癌において増加することが示されたマーカー）の量および／または活性は、一般に当該分野で公知の多数の方法で阻害することができる。例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドを癌細胞に提供して、マーカーの転写、翻訳、または両方を阻害することができる。表5に列挙されたマーカーに標的化されるRNA干渉因子、例えば、siRNA分子を癌細胞に提供して、例えば、標的マーカーのメッセンジャーRNA（mRNA）の分解または特異的転写後遺伝子サイレンシング（PTGS）を介して、標的マーカーの発現を阻害することができる。あるいは、抗体、抗体誘導体、または抗体フラグメント、例えば、抗原に結合することができ、かつ適切なプロモーターまたはレギュレータ領域に操作可能に連結したフラグメントをコードするポリヌクレオチドを細胞に提供して、マーカーに対応するタンパク質の機能、量、および／または活性を阻害するであろう細胞内抗体を生じさせることができる。複合抗体またはそのフラグメント、例えば、化学標識された抗体、放射性標識された抗体、または本発明のマーカーを標的化するイムノトキシンを投与して、癌を治療し、予防しまたは阻害することもできる。

30

40

【0108】

低分子を用いて、表5に列挙されたマーカーの発現および／または活性を調節し、例えば、阻害することもできる。一実施形態において、低分子は、本発明のマーカーおよび標的分子およびリガンドの間のタンパク質-タンパク質相互作用を破壊し、それによって、マーカーの活性を調節し、例えば、増加または減少させるように機能する。

【0109】

本明細書中で用いた方法を用い、特に、細胞膜をわたることができるのに十分に小さな分子を含めた種々の分子をスクリーニングして、マーカーの量および／または活性を阻害する分子を同定することができる。そのように同定された化合物を被験体に提供して、被験体の癌細胞におけるマーカーの量および／または活性を阻害することができる。

50

【0110】

表4に列挙されたマーカー（例えば、癌において減少することが示されているマーカー）の量および／または活性を一般的に当該分野で知られた多数の方法で増強させることができる。例えば、マーカーをコードし、かつ適切なプロモーター／レギュレータ領域に操作可能に連結したポリヌクレオチドを被験体の細胞に提供して、その中のマーカーに対応するタンパク質（およびmRNA）の増強した発現および／または活性を誘導することができる。あるいは、もしタンパク質が細胞膜を横断し、それ自体を細胞膜に挿入することができるか、あるいは通常は分泌されるタンパク質であれば、タンパク質の量および／または活性を、タンパク質を被験体における癌細胞へ（例えば、直接的に、あるいは血流によって）提供することによって促進することができる。低分子を用いて、表4に列挙されたマーカーの発現または活性を調節し、例えば、増加させることもできる。さらに、別の実施形態において、本発明のマーカーのモジュレータ、例えば、低分子を使用して、例えば、サイレンスド遺伝子、例えば、腫瘍サプレッサーを再度発現させて、癌を治療または予防することができる。例えば、そのようなモジュレータはDNA結合エレメントまたはメチルトランスフェラーゼに干渉することができる。

10

【0111】

上記のように、ヒト細胞の癌状態を、本発明のマーカーの量および／または活性の変化に相関させる。したがって、表5に列挙された1以上のマーカー（例えば、癌で増加することが示されたマーカー）の増大した発現または活性、表4に列挙された1以上のマーカー（例えば、癌で減少することが示されたマーカー）の減少した量および／または活性を誘導する化合物は細胞癌形成を誘導することができる。本発明はまた、試験化合物のヒト細胞癌形成能力を評価する方法も含む。この方法は、試験化合物の存在下および非存在下においてヒト細胞の別々のアリコットを維持することを含む。アリコットの各々における本発明のマーカーの発現または活性を比較する。（試験化合物の非存在下で維持されたアリコットに対する）試験化合物の存在下で維持されたアリコットにおける、表5に列挙されたマーカー（例えば、癌において増加することが示されたマーカー）の量および／または活性の有意な増加、または表4に列挙されたマーカー（例えば、癌において減少することが示されたマーカー）の量および／または活性は、試験化合物がヒト細胞癌形成能力を保有することを示すものである。種々の試験化合物の相対的な癌形成能力は、関連マーカーの量および／または活性の増強または阻害の程度を比較することによって、量および／または活性が増強または阻害されたマーカーの数を比較することによって、または両方を比較することによって評価することができる。

20

30

【0112】

本発明の種々の態様を以下のサブセクションにおいてさらに詳細に記載する。

【0113】

(III. 単離された核酸分子)

本発明の一面は、本発明のマーカーに対応するポリペプチド、またはそのようなポリペプチドの部分をコードする核酸を含めた、本発明のマーカーに対応する単離された核酸分子に関する。本発明の核酸分子は、本明細書中で同定されたMCRに存在する核酸分子を含む。本発明の単離された核酸分子は、本発明のマーカーに対応するポリペプチドをコードする核酸分子、およびそのような核酸分子のフラグメントを含めた、本発明のマーカーに対応する核酸分子を同定するためにハイブリダイゼーションプローブとして用いるのに十分な核酸分子、例えば、核酸分子の増幅または突然変異のためのPCRプライマーとして用いられるのに適したものを含む。本明細書中で使用される場合、用語「核酸分子」は、DNA分子（例えば、cDNAまたはゲノムDNA）およびRNA分子（例えば、mRNA）、およびヌクレオチドアナログを用いて生じさせたDNAまたはRNAのアナログを含むことを意図する。核酸分子は一本鎖または二本鎖であり得るが、好ましくは二本鎖DNAである。

40

【0114】

「単離された」核酸分子は、核酸分子の天然源に存在する他の核酸分子から分離された

50

ものである。好ましくは、「単離された」核酸分子は、それから核酸分子が由来する生物のゲノムDNA中の核酸に天然で近接する配列（すなわち、核酸の5'および3'末端に位置する配列）（好ましくはタンパク質—コーディング配列）を含まない。例えば、種々の実施形態において、単離された核酸分子は、それから核酸分子が由来する細胞のゲノムDNA中の核酸分子に天然で近接するヌクレオチド配列の約5 k B、4 k B、3 k B、2 k B、1 k B、0.5 k Bまたは0.1 k B未満を含むことができる。さらに、cDNA分子のような「単離された」核酸分子は、組換え技術によって生産された場合に他の細胞物質または培養培地を実質的に含まないようにできるか、あるいは化学的に合成された場合に化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まないようにできる。

【0115】

本発明の核酸分子、例えば、表4または5に列举されたマーカーに対応するタンパク質をコードする核酸分子は、標準的な分子生物学技術および本明細書中に記載されたデータベース記録中の配列情報を用いて単離することができる。そのような核酸配列の全部または一部を用い、（例えば、Sambrook et al., ed. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, NY, 1989に記載された）標準的なハイブリダイゼーションおよびクロニング技術を用いて単離することができる。

【0116】

本発明の核酸分子は、標準的なPCR増幅技術に従って、鋳型としてのcDNA、mRNAまたは、ゲノムDNA、および適切なオリゴヌクレオチドプライマーを用いて増幅することができる。そのように増幅された核酸分子を適切なベクターにクローン化し、DNA配列分析によって特徴付けることができる。さらに、本発明の核酸分子の全てまたは部分に対応するオリゴヌクレオチドは、標準的な合成技術によって、例えば、自動DNA合成器を用いて調製することができる。

【0117】

別の好ましい実施形態において、本発明の単離された核酸分子は、本発明のマーカーに対応する核酸のヌクレオチド配列にまたは本発明のマーカーに対応するタンパク質をコードする核酸のヌクレオチド配列に対してヌクレオチド配列相補性を有する核酸分子を含む。与えられたヌクレオチド配列に対して相補的な核酸分子は、与えられたヌクレオチド配列にそれがハイブリダイズでき、それによって、安定な二重鎖を形成する、与えられたヌクレオチド配列に対して十分に相補的であるものである。

【0118】

さらに、本発明の核酸分子は核酸配列の一部のみを含むことができ、ここで、全長核酸配列は本発明のマーカーを含むあるいはそれは本発明のマーカーに対応するポリペプチドをコードする。そのような核酸分子は、例えば、プローブまたはプライマーとして用いることができる。プローブ／プライマーは典型的には、1以上の実質的に精製されたオリゴヌクレオチドとして用いられる。オリゴヌクレオチドは、典型的には、ストリンジェントな条件下で、本発明の核酸の少なくとも約7、好ましくは約15、より好ましくは約25、50、75、100、125、150、175、200、250、300、350、400以上の連続ヌクレオチドにハイブリダイズするヌクレオチド配列の領域を含む。

【0119】

本発明の核酸分子の配列に基づくプローブを用いて、本発明の1以上のマーカーに対応する転写体またはゲノム配列を検出することができる。プローブはそれに結合した標識基、例えば、放射性同位体、蛍光化合物、酵素、または酵素補因子を含む。そのようなプローブは、被験体からの細胞のサンプル中のタンパク質をコードする、核酸分子のレベルを測定し、例えば、mRNAレベルを検出し、あるいはタンパク質をコードする遺伝子が突然変異したか、あるいは欠失したかを決定することによるなどして、タンパク質を誤発現する細胞または組織を同定するための診断試験キットの一部として用いることができる。

【0120】

本発明は、さらに、本発明のマーカーに対応するタンパク質をコードする核酸分子のヌクレオチド配列とは、遺伝暗号の縮重により異なり、したがって同一タンパク質をコードする核酸分子を含む。

【0121】

表4または5に記載されたヌクレオチド配列に加えて、アミノ酸配列の変化に導くDNA配列多形が集団（例えば、ヒト集団）内に存在し得ることは当業者によって認識されるであろう。そのような遺伝的多形は、天然の対立遺伝子変異により、集団内の個体間で存在し得る。対立遺伝子は与えられた遺伝子座に選択的に起こる遺伝子の群の1つである。加えて、RNA発現レベルに影響するDNA多形もまた存在することができ、これが（例えば、調節または分解に影響することによって）その遺伝子の全発現レベルに影響し得ることは認識されるであろう。

10

【0122】

本明細書中で使用される場合、フレーズ「対立遺伝子変種」とは、与えられた遺伝子座で起こるヌクレオチド配列、あるいはヌクレオチド配列によってコードされたポリペプチドをいう。

【0123】

本明細書中で使用される場合、用語「遺伝子」および「組換え遺伝子」とは、本発明のマーカーに対応するポリペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含む核酸分子をいう。そのような天然対立遺伝子変異は、典型的には、与えられた遺伝子のヌクレオチド配列における1ないし5%変異をもたらすことができる。別の対立遺伝子は多数の異なる個体における注目する遺伝子を配列決定することによって同定することができる。これは、種々の個体において同一の遺伝子座を同定するのにハイブリダイゼーションプロトコルを用いて容易に行うことができる。いずれかのおよび全てのそのようなヌクレオチド変異、および天然の対立遺伝子変異の結果であるおよび機能的活性を変化させない得られたアミノ酸多形または変異は、本発明の範囲内であることを意図する。

20

【0124】

別の実施形態において、本発明の単離された核酸分子は、長さが少なくとも7、15、20、25、30、40、60、80、100、150、200、250、300、350、400、450、550、650、700、800、900、1000、1200、1400、1600、1800、2000、2200、2400、2600、2800、3000、3500、4000、4500以上のヌクレオチドであり、ストリンジェントな条件下で、本発明のマーカーに対応する核酸分子に、あるいは本発明のマーカーに対応するタンパク質をコードする核酸分子にハイブリダイズする。本明細書で用いるように、用語「ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする」は、相互に少なくとも60%（65%、70%、好ましくは75%）同一であるヌクレオチド配列が典型的には相互にハイブリダイズしたままであるハイブリダイゼーションおよび洗浄についての条件を記載することを意図する。そのようなストリンジェントな条件は当業者に知られており、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N. Y. (1989)のセクション6.3.1-6.3.6に見出すことができる。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の非限定的例は約45℃における6×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（SSC）中でのハイブリダイゼーション、続いての、50ないし65℃における0.2×SSC 0.1% SDS中での1回以上の洗浄である。

30

40

【0125】

集団に存在し得る本発明の核酸分子の天然に生じる対立遺伝子変種に加えて、当業者であれば、配列の変化を突然変異によって導入することができ、それによって、それによりコードされるタンパク質の生物学的活性を変化させることなく、コードされるタンパク質のアミノ酸配列の変化に導くことをさらに認識するであろう。例えば、「非必須」アミノ酸残基におけるアミノ酸置換に導くヌクレオチド置換をなすことができる。「非必須」アミノ酸残基は、生物学的活性を変化させることなく野生型配列から変化させ得る残基であ

50

り、他方「必須」アミノ酸残基は生物学的活性に必要である。例えば、種々の種のホモログの間で保存されていない、または半保存されているに過ぎないアミノ酸残基は活性にとって非必須であり得、したがって、変化についての標的となろう。あるいは、種々の種（例えば、ネズミおよびヒト）のホモログの間で保存されたアミノ酸残基は活性に必須であり得、したがって、変化について標的とはならないであろう。

【0126】

したがって、本発明の別の局面は、活性にとって必須でないアミノ酸残基の変化を含む本発明のポリペプチドをコードする核酸分子に関する。そのようなポリペプチドは、本発明のマーカーに対応する天然に生じるタンパク質とはアミノ酸配列が異なる、生物学的活性を保有する。一実施形態において、そのようなタンパク質は本発明のマーカーに対応するタンパク質の1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約40%同一、50%、60%、70%、80%、90%、95%、または98%同一であるアミノ酸配列を有する。

【0127】

変種タンパク質をコードする単離された核酸分子は、1以上のアミノ酸残基の置換、付加、または欠失がコードされたタンパク質に導入されるように、1以上のヌクレオチドの置換、付加または欠失を本発明の核酸のヌクレオチド配列に導入することによって創生することができる。突然変異は、部位特異的突然変異誘発およびPCR媒介性突然変異誘発のような標準的な技術によって導入することができる。好ましくは、保存的なアミノ酸置換は1以上の予測される非必須アミノ酸残基においてなされる。「保存的なアミノ酸置換」は、アミノ酸残基が同様な側鎖を有するアミノ酸残基で置き換えられたものである。同様な側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは当該分野で規定されている。これらのファミリーは塩基性側鎖（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、ベーター分岐側鎖（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）および芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を持つアミノ酸を含む。あるいは、突然変異は、飽和突然変異誘発によるなどして、コーディング配列の全てまたは一部に沿ってランダムに導入することができ、得られた突然変異体を生物学的活性についてスクリーニングして、活性を保有する突然変異体を同定することができる。突然変異誘発に続いて、コードされたタンパク質を組換えにより発現させることができ、タンパク質の活性を測定することができる。

【0128】

本発明は、アンチセンス核酸分子、すなわち、本発明のセンス核酸に対して相補的な、例えば、本発明のマーカーに対応する二本鎖cDNA分子のコーディングストランドに対して相補的な、または本発明のマーカーに対応するmRNA配列に対して相補的な分子を含む。従って、本発明のアンチセンス核酸分子は本発明のセンス核酸に水素結合（すなわち、それにアニール）することができる。アンチセンス核酸は全コーディングストランドに対して、あるいはその一部のみに対して、例えば、タンパク質コーディング領域（またはオープンリーディングフレーム）の全てまたは一部に対して相補的であり得る。アンチセンス核酸分子は、本発明のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列のコーディングストランドの非コーディング領域の全てまたは一部に対してアンチセンスであり得る。非コーディング領域（「5'および3'非翻訳領域」）は、コーディング領域に近接し、アミノ酸に翻訳されない5'および3'配列である。

【0129】

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、例えば、長さが約5、10、15、20、25、30、35、40、45、または50以上のヌクレオチドであり得る。本発明のアンチセンス核酸は、当該分野で公知の手法を用いる化学合成および酵素的連結反応を用いて構築することができる。例えば、アンチセンス核酸（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）は、天然に生じるヌクレオチド、あるいは分子の生物学的安定性を増加させるように

、あるいはアンチセンスおよびセンス核酸の間で形成される二重鎖の物理的安定性を増加させるように設計された種々に修飾されたヌクレオチドを用いて化学合成することができ、例えば、ホスホロチオエート誘導体およびアクリジン置換ヌクレオチドを用いることができる。アンチセンス核酸を生じさせるのに用いることができる修飾されたヌクレオチドの例は5-フルオロウラシル、5-ブロモウラシル、5-クロロウラシル、5-ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4-アセチルシトシン、5-(カルボキシヒドロキシメチル)ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、ベータ-D-ガラクトシルケオシン、イノシン、N6-イソペンテニルアデニン、1-メチルグアニン、1-メチルイノシン、2, 2-ジメチルグアニン、2-メチルアデニン、2-メチルグアニン、3-メチルシトシン、5-メチルシトシン、N6-アデニン、7-メチルグアニン、5-メチルアミノメチルウラシル、5-メトキシアミノメチル-2-チオウラシル、ベータ-D-マンノシルケオシン、5'-メトキシカルボキシメチルウラシル、5-メトキシウラシル、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸(v)、ウイブトキソシン、プソイドウラシル、ケオシン、2-チオシトシン、5-メチル-2-チオウラシル、2-チオウラシル、4-チオウラシル、5-メチルウラシル、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル-5-オキシ酢酸(v)、5-メチル-2-チオウラシル、3-(3-アミノ-3-N-2-カルボキシプロピル)ウラシル、(acp3)w、および2, 6-ジアミノプリンを含む。あるいは、アンチセンス核酸がアンチセンス向きにサブクロンされている発現ベクターを用いて生物学的に生産することができる(すなわち、挿入された核酸から転写されたRNAは、以下のサブセクションにさらに記載する注目する標的核酸に対してアンチセンス向きにあらう)。

【0130】

本発明のアンチセンス核酸分子は、典型的には、それらは本発明の選択されたマーカに対応するポリペプチドをコードする細胞mRNAおよび/またはゲノムDNAにハイブリダイズし、またはそれに結合して、それによって、例えば、転写および/または翻訳を阻害することによってマーカの発現を阻害するように、被験体に投与され、またはインサイチュにて作り出される。ハイブリダイゼーションは、例えば、二重ラセンの主要溝における特異的相互作用を介して、DNA二重鎖に結合するアンチセンス核酸分子の場合には、安定な二重鎖を形成するための慣用的なヌクレオチド相補性によることができる。本発明のアンチセンス核酸分子の投与経路の例は、組織部位における直接的注射、または卵巣関連体液へのアンチセンス核酸の注入を含む。あるいは、アンチセンス核酸分子を、選択された細胞を標的とするように修飾し、次いで、全身投与することができる。例えば、全身投与では、アンチセンス分子は、それらは、例えば、アンチセンス核酸分子を、細胞表面レセプターまたは抗原に結合するペプチドまたは抗体に連結することによって、選択された細胞表面に発現されるレセプターまたは抗原に特異的に結合するように修飾することができる。アンチセンス核酸分子は、本明細書中に記載されたベクターを用い、細胞に送達することもできる。アンチセンス分子の十分な細胞内濃度を達成するためには、アンチセンス核酸分子が強力pol I Iまたはpol I I Iプロモーターの制御下におかれるベクター構築体が好ましい。

【0131】

本発明のアンチセンス核酸分子は α -アノマー核酸分子であり得る。 α -アノマー核酸分子は、通常の α -ユニットとはコントロール的にストランドは相互に対して平行に走る相補的RNAとで特異的二本鎖ハイブリッドを形成する(Gaultier et al., 1987, Nucleic Acids Res. 15: 6625-6641)。アンチセンス核酸分子は2'-O-メチルリボヌクレオチド(Inoue et al., 1987, Nucleic Acids Res. 15: 6131-6148)またはキメラRNA-DNAアナログ(Inoue et al., 1987, FEBS Lett. 215: 327-330)を含むこともできる。

【0132】

10

20

30

40

50

本発明はリボザイムも包含する。リボザイムは、それに対してそれらが相補的領域を有するmRNAのような一本鎖核酸を切断することができるリボヌクレアーゼ活性を持つ触媒RNA分子である。したがって、リボザイム（例えば、Haselhoff and Gerlach, 1988, Nature 334: 585-591に記載されたようなハンマーヘッドリボザイム）を用いて、触媒的にmRNA転写体を切断して、それによって、該mRNAによってコードされたタンパク質の転写を阻害することができる。本発明のマーカに対応するポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異性を有するリボザイムは、マーカに対応するcDNAのヌクレオチド配列に基づいて設計することができる。例えば、テトラヒメナL-19 IVS RNAの誘導体を構築することができ、ここで、活性な部位のヌクレオチド配列は、切断すべきヌクレオチド配列に対して相補的である（Cech et al., 米国特許第4, 987, 071号；およびCech et al., 米国特許第5, 116, 742号参照）。あるいは、本発明のポリペプチドをコードするmRNAを用いて、RNA分子のプールからの特異的リボヌクレアーゼ活性を有する触媒RNAを選択することができる（例えば、Bartel and Szostak, 1993, Science 261: 1411-1418）。

10

【0133】

本発明は、三重らせん構造を形成する核酸分子も含む。例えば、本発明のポリペプチドの発現は、該ポリペプチドをコードする遺伝子の調節領域に相補的なヌクレオチド配列（例えば、プロモーターおよび／またはエンハンサー）を標的化して、標的細胞において遺伝子の転写を妨げる三重らせん構造を形成することによって阻害することができる。一般に、Helene (1991) Anti Cancer Drug Des. 6 (6): 569-84; Helene (1992) Ann. N. Y. Acad. Sci. 660: 27-36; およびMaher (1992) Bioassays 14 (12): 807-15) 参照。

20

【0134】

種々の実施形態において、本発明の核酸分子は、塩基部、糖部またはリン酸骨格において修飾して、例えば、分子の安定性、ハイブリダイゼーションまたは溶解性を改良することができる。例えば、核酸分子のデオキシリボースリン酸骨格を、ペプチド核酸分子を生じるように修飾することができる（Hyrup et al., 1996, Bioorganic & Medicinal Chemistry 4 (1): 5-23参照）。本明細書中で使用される場合、用語「ペプチド核酸」「PNA」とは、デオキシリボースリン酸骨格がプソイドペプチド骨格によって置き換えられ、4つの天然ヌクレオベースのみが保持される核酸ミミック、例えば、DNAミミックをいう。PNAの中性骨格は、低いイオン強度の条件下で、DNAおよびRNAへの特異的ハイブリダイゼーションを可能とすることが示されている。PNAオリゴマーの合成は、Hyrup et al. (1996), supra; Perry-O'Keefe et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 14670-675に記載された標準的な固相ペプチド合成プロトコルを用いて行うことができる。

30

【0135】

PNAは治療および診断適用で用いることができる。例えば、PNAは、例えば、転写または翻訳阻止を誘導し、または複製を阻害することによって、遺伝子発現の配列特異的調節のためのアンチセンスまたは抗遺伝子剤として用いることができる。PNAは、他の酵素、例えば、S1ヌクレアーゼと組み合わせて用いる場合の人工制限酵素（Hyrup (1996), supra）として；またはDNA配列およびハイブリダイゼーションのためのプローブまたはプライマー（Hyrup, 1996, supra; Perry-O'Keefe et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 14670-675）として、例えば、PNA指向性PCRクランピングによって、例えば、遺伝子中の単一塩基対突然変異の分析で用いることもできる。

40

【0136】

別の実施形態において、親油性または他のヘルパー基をPNAに付着させることによ

50

て、PNA-DNAキメラの形成によって、あるいは、当該分野で公知の薬物送達の他の技術によって、PNAを修飾して、例えば、安定性または細胞取り込みを増強させることができる。例えば、PNA-DNAキメラを作り出すことができ、これはPNAおよびDNAの有利な特性を組み合わせることができる。そのようなキメラは、DNA認識酵素、例えば、RNAse HおよびDNAポリメラーゼが、PNA部分が高い結合親和性および特異性を提供しつつ、DNA部分と相互作用するのを可能とする。PNA-DNAキメラは、塩基スタッキング、ヌクレオベースの間の結合の数、および向きの項目について選択された適切な長さのリンカーを用いて連結することができる (Hyrup, 1996, supra)。PNA-DNAキメラの合成はHyrup (1996), supra, およびFinn et al. (1996) Nucleic Acids Res. 24 (17): 3357-63に記載されたように行うことができる。例えば、DNA鎖は、標準的なホスホルアミダイトカップリング化学および修飾されたヌクレオシドアナログを用いて固体支持体上で合成することができる。5'-(4-メチキシトリチル)アミノ-5'-デオキシチミジンホスホルアミダイトのような化合物をPNAとDNAの5'末端との間のリンクとして用いることができる (Mag et al., 1989, Nucleic Acids Res. 17: 5973: 88)。次いで、PNAモノマーを段階的にカップリングさせて、5' PNAセグメントおよび3' DNAセグメントを持つキメラ分子を生じさせる (Finn et al., 1996, Nucleic Acids Res. 24 (17): 3357-63)。あるいは、キメラ分子を、5' DNAセグメントおよび3' PNAセグメントで合成することができる (Peterser et al., 1975, Bioorganic Med. Chem. Lett. 5: 1119-1124)。

10

20

【0137】

他の実施形態において、オリゴヌクレオチドは (例えば、インビボにて宿主細胞レセプターを標的化するための) ペプチド、または細胞膜をわたっての輸送を容易とする剤 (例えば、Letsinger et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 6553-6556; Lemaître et al., 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 648-652; PCT公開番号WO 88/09810) または血液-脳関門 (例えば、PCT公開番号WO 89/10134参照) のような他の付加基を含むことができる。加えて、オリゴヌクレオチドは、ハイブリダイゼーショントリガード切断剤 (例えば、Krol et al., 1988, Bio/Techniques 6: 958-976) またはインターカレーター剤 (例えば、Zon, 1988, Pharm. Res. 5: 539-649参照) で修飾することができる。この目的で、オリゴヌクレオチドを別の分子、例えば、ペプチド、ハイブリダイゼーショントリガード架橋剤、輸送剤、ハイブリダイゼーショントリガード切断剤などに結合することができる。

30

【0138】

本発明は、当該分子ビーコンが、サンプル中の本発明の核酸分子の存在を定量するのに有用なように、本発明の核酸分子に相補的な少なくとも1つの領域を有する分子ビーコン核酸分子も包含する。「分子ビーコン」核酸分子は、相補的領域の対を含み、およびフルオロフォアおよびそれに会合した蛍光クエンチャーを有する核酸分子である。フルオロフォアおよびクエンチャーは、相補的領域が相互にアニールされる場合に、フルオロフォアの蛍光がクエンチャーによって消光されるような向きにて核酸の異なる部分と会合する。核酸分子の相補的領域が相互にアニールされない場合、フルオロフォアの蛍光は余り消光されない。分子ビーコン核酸分子は、例えば、米国特許第5, 876, 930号に記載される。

40

【0139】

(IV. 単離されたタンパク質および抗体)

本発明の一局面は本発明の個々のマーカーに対応する単離されたタンパク質、およびその生物学的な活性な部分、ならびに本発明のマーカーに対応するポリペプチドに対して向

50

けられた抗体を生起させるのに免疫原として用いるのに適したペプチドフラグメントに関する。一実施形態において、マーカーに対応する天然ポリペプチドは、標準的なタンパク質精製技術を用いる適切な精製スキームによって、細胞または組織源から単離することができる。別の局面において、本発明のマーカーに対応するポリペプチドは、組換えDNA技術によって生産される。組換え発現の代わりに、標準的なペプチド合成技術を用いて、本発明のマーカーに対応するポリペプチドを化学的に合成することができる。

【0140】

「単離された」または「精製された」タンパク質またはその生物学的に活性な部分は、タンパク質が由来する細胞または組織源からの細胞物質または他の汚染タンパク質を実質的に含まず、あるいは化学的に合成された場合に、化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まない。用語「細胞物質を実質的に含まない」は、それがそこから単離され、または組換えにより生産された細胞の細胞成分からタンパク質が分離された、該タンパク質の調製物を含む。したがって、細胞物質を実質的に含まないタンパク質は、約30%、20%、10%、または5%（乾燥重量）未満の（本明細書中においては、「汚染タンパク質」ともいう）異種タンパク質を有するタンパク質の調製物を含む。該タンパク質またはその生物学的に活性な部分が組換えにより生じた場合、それは培養培地を好ましくは実質的に含まず、すなわち、培養培地は約20%、10%、または5%未満の容量のタンパク質調製物を表す。タンパク質が化学合成によって生産される場合、それは化学前駆体または他の化学物質を好ましくは実質的に含まず、すなわち、それはタンパク質の合成に参与する化学前駆体または他の化学物質から分離されている。従って、タンパク質のそのような調製物は、注目するポリペプチド以外の約30%、20%、10%、5%（乾燥重量）未満の化学前駆体または化合物を有する。

【0141】

本発明のマーカーに対応するポリペプチドの生物学的に活性な部分は、全長タンパク質よりも少数のアミノ酸を含み、かつ対応する全長タンパク質の少なくとも1つの活性を呈する、マーカーに対応するタンパク質（例えば、表4または5に列挙された核酸分子によってコードされるタンパク質）のアミノ酸配列と十分に同一、またはそれに由来するアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む。典型的には、生物学的に活性な部分は、対応するタンパク質の少なくとも1つの活性を持つドメインまたはモチーフを含む。本発明のタンパク質の生物学的に活性な部分は、例えば、長さが10、25、50、100以上のアミノ酸であるポリペプチドであり得る。さらに、タンパク質の他の領域が欠失した他の生物学的に活性な部分は、組換え技術によって調製することができ、本発明のポリペプチドの天然形態の機能的活性の一以上について評価することができる。

【0142】

好ましいポリペプチドは、表4または5に列挙された核酸分子によってコードされるタンパク質のアミノ酸配列を有する。他の有用なタンパク質はこれらの配列の1つに対して実質的に同一（例えば、少なくとも約40%、好ましくは50%、60%、70%、80%、90%、95%、または99%）であり、対応する天然に生じるタンパク質の該タンパク質の機能的活性を保有するが、天然対立遺伝子変異または突然変異誘発のためアミノ酸配列が異なる。

【0143】

2つのアミノ酸配列の、または2つの核酸の同一性パーセントを決定するためには、最適比較目的で配列を整列させる（例えば、ギャップを第1のアミノ酸の配列または核酸配列に、第2のアミノ酸または核酸配列との最適整列のために導入することができる）。次いで、対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置、アミノ酸残基またはヌクレオチドを比較する。第1の配列におけるある位置が第2の配列における対応する位置と同一のアミノ酸残基またはヌクレオチドによって占められれば、該分子はその位置において同一である。2つの配列の間の同一性パーセントは、配列によって共有された同一位置の数の関数である（すなわち、同一性% = 同一位置の数 / 位置（例えば、重複位置）の合計数 × 100）。一実施形態において、2つの配列は同一の長さである。

【0144】

2つの配列の間の同一性パーセントの決定は、数学的アルゴリズムを用いて達成することができる。2つの配列の比較のために利用する数学的アルゴリズムの非限定的例は、Karlin and Altschul (1993) Proc Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877において修飾された、Karlin and Altschul (1990) Proc Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268のアルゴリズムである。そのようなアルゴリズムは、Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410のNBLASTおよびXBLASTプログラムに取り入れられている。BLASTヌクレオチドサーチはNBLASTプログラム、スコア=100、語長(word length)=12で行って、本発明の核酸分子に相同なヌクレオチド配列を得る。BLASTタンパク質サーチをXBLASTプログラム、スコア=50、語長=3で行って、本発明のタンパク質分子に相同なアミノ酸配列を得る。比較目的でギャップを入れた整列を得るためには、Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402に記載されたようにGapped BLASTを利用することができる。あるいは、PSI-Blastを用いて、分子間の距離関係を検出する繰り返しサーチを行うことができる。BLAST、Gapped BLAST、およびPSI-Blastプログラムを利用する場合、各プログラム(例えば、XBLASTおよびNBLAST)のデフォルトパラメーターを用いることができる。http://www.ncbi.nlm.nih.gov. 参照。配列の比較で利用される数学的アルゴリズムの別の好ましい非限定的例はMyers and Miller, (1988) Comput Appl Biosci, 4:11-7のアルゴリズムである。そのようなアルゴリズムは、GCG配列整列ソフトウェアの一部であるALIGNプログラム(バージョン2.0)に取り込まれている。アミノ酸配列を比較するためにALIGNプログラムを利用する場合、PAM120重量残基表、12のギャップ長さペナルティー、および4のギャップペナルティーを用いることができる。局所的配列同源性および整列の領域を同定するためのなお別の有用なアルゴリズムは、Pearson and Lipman (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444-2448に記載されたFASTAアルゴリズムである。ヌクレオチドまたはアミノ酸配列を比較するためにFASTAアルゴリズムを用いる場合、PAM120重量残基表を、例えば、2のk-tuple値にて用いることができる。

【0145】

2つの配列の間の同一性パーセントは、ギャップを許容し、または許容することなく、上記のものと同様の技術を用いて決定することができる。同一性パーセントを計算するにおいて、正確なマッチのみをカウントする。

【0146】

本発明はまた、本発明のマーカに対応するキメラまたは融合タンパク質を提供する。本明細書中で使用される場合、「キメラタンパク質」または「融合タンパク質」は、異種ポリペプチド(すなわち、マーカに対応するポリペプチド以外のポリペプチド)に操作可能に連結した本発明のマーカに対応するポリペプチドの全てまたは一部(好ましくは、生物学的に活性な部分)を含む。融合タンパク質内では、用語「操作可能に連結した」は、本発明のポリペプチドおよび異種ポリペプチドが相互に枠内で融合していることを示すことを意図する。異種ポリペプチドを本発明のポリペプチドのアミノ末端またはカルボキシル末端に融合させることができる。

【0147】

1つの有用な融合タンパク質は、本発明のマーカに対応するポリペプチドをGST配列のカルボキシル末端に融合したGST融合タンパク質である。そのような融合タンパク質は本発明の組換えポリペプチドの精製を容易とすることができる。

【0148】

別の実施形態において、融合タンパク質はそのアミノ末端において異種シグナル配列を

含有する。例えば、本発明のマーカに対応するポリペプチドの天然シグナル配列を除去し、別のタンパク質からのシグナル配列で置き換えることができる。例えば、バキュロウイルスエンベロープタンパク質の gp67 分泌配列を異種シグナル配列として用いることができる (Ausubel et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY, 1992)。真核生物異種シグナル配列の他の例は、メリチンおよびヒト胎盤アルカリ性ホスファターゼの分泌配列を含む (Stratagene; La Jolla, California)。なお別の例において、有用な原核生物異種シグナル配列は phoA 分泌シグナル (Sambrook et al., supra) およびプロテイン A 分泌シグナル (Pharmacia Biotech; Piscataway, New Jersey) を含む。

10

【0149】

なお別の実施形態において、融合タンパク質は本発明のマーカに対応するポリペプチドの全てまたは一部が免疫グロブリンタンパク質ファミリーのメンバーに由来する配列に融合した免疫グロブリン融合タンパク質である。本発明の免疫グロブリン融合タンパク質は薬学的組成物に配合し、被験体に投与して、リガンド (可溶性または膜結合性) および細胞表面のタンパク質 (レセプター) の間の相互作用を阻害して、それによって、インビボにてシグナル変換を抑制することができる。免疫グロブリン融合タンパク質を用いて、本発明のポリペプチドの同族リガンドの生物学的利用性に影響させることができる。リガンド/レセプター相互作用の阻害は、増殖性および分化的障害を治療するために、および細胞の生存性を調節する (例えば、促進または阻害する) ために、治療的に用いることができる。さらに、本発明の免疫グロブリン融合タンパク質を免疫原として用いて、被験体において本発明のポリペプチドに対して向けられた抗体を生産して、リガンドを精製し、およびスクリーニングアッセイにおいて、レセプターとリガンドとの相互作用を阻害する分子を同定することができる。

20

【0150】

本発明のキメラおよび融合タンパク質は、標準的な組換え DNA 技術によって生産することができる。別の実施形態において、融合遺伝子は、自動 DNA 合成器を含めた慣用的技術によって合成することができる。あるいは、引き続いてアニールし、再度増幅して、キメラ遺伝子配列を生じさせることができる 2 つの連続遺伝子フラグメントの間に相補的突出を生起させるアンカープライマーを用いて行うことができる (例えば、Ausubel et al., supra 参照)。さらに、多くの発現ベクターは商業的に入手可能であり、これは既に融合部位をコードするものである (例えば、GST ポリペプチド)。本発明のポリペプチドをコードする核酸は、融合部位が本発明のポリペプチドに枠内にて連結されるように、そのような発現ベクターにクローン化することができる。

30

【0151】

シグナル配列を用いて、分泌されたタンパク質、または注目する他のタンパク質の分泌および単離を容易とすることができる。シグナル配列は、典型的には、1 以上の切断事象における分泌の間に成熟タンパク質から一般的に切断される疎水性アミノ酸のコアによって特徴付けられる。そのようなシグナルペプチドは、それらが分泌経路を通過するにつれて成熟タンパク質からのシグナル配列の切断を可能とするプロセッシング部位を含有する。したがって、本発明は、シグナル配列を有する記載されたポリペプチド、ならびにシグナル配列がそれからタンパク質分解により切断されたポリペプチド (すなわち、切断産物) に関する。一実施形態において、シグナル配列をコードする核酸配列を発現ベクターにおいて、通常は分泌されないか、あるいはそうでなければ単離するのが困難なタンパク質のような注目するタンパク質に操作可能に連結させることができる。シグナル配列は、それに発現ベクターが形質転換された真核生物宿主からのようなタンパク質の分泌を指令し、シグナル配列は引き続いてまたは同時に切断される。次いで、当該分野で認められた方法によって、タンパク質を細胞外培地から容易に精製することができる。あるいは、シグナル配列を、GST ドメインに関するような精製を容易とする配列を用いて注目するタン

40

50

パク質に連結させることができる。

【0152】

本発明はまた、本発明の個々のマーカーに対応するポリペプチドの変種に関する。そのような変種は、アゴニストとして（模倣物）またはアンタゴニストとして機能することができる改変されたアミノ酸配列を有する。変種は、突然変異誘発、例えば、区別される点突然変異または切形によって生じさせることができる。アゴニストは天然に生じる形態のタンパク質の生物学的活性と実質的に同一な活性、またはそのサブセットを保有することができる。タンパク質のアンタゴニストは、例えば、注目するタンパク質を含む細胞シグナリングカスケードの下流または上流メンバーに競合的に結合させることによってタンパク質の天然に生じる形態の活性の1以上の活性を阻害することができる。したがって、限定された機能の変種での処理によって、特異的生物学的効果を誘導することができる。タンパク質の天然に生じる形態の生物学的活性のサブセットを有する変種での被験体の処理は、タンパク質の天然に生じる形態での処理に対して被験体においてより少ない副作用を有し得る。

10

【0153】

アゴニストとして（模倣物）またはアンタゴニストとして機能する本発明のタンパク質の変種は、アゴニストまたはアンタゴニスト活性につき、本発明のタンパク質の突然変異体、例えば、切形突然変異体のコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって同定することができる。一実施形態において、核酸レベルでのコンビナトリアル突然変異誘発によって種々の変種ライブラリーを生じさせ、種々の遺伝子ライブラリーによってコードされる。種々の変種ライブラリーは、例えば、潜在的タンパク質配列の縮重組が個々のポリペプチドとして、あるいは別法として（例えば、ファージディスプレイのための）、より大きな融合タンパク質の組として発現可能であるように、合成オリゴヌクレオチドの混合物を遺伝子配列に酵素的に連結することによって生産することができる。縮重オリゴヌクレオチド配列から本発明のポリペプチドの潜在変種のライブラリーを生じさせるのに用いることができる種々の方法がある。縮重オリゴヌクレオチドを合成するための方法は当該分野で知られている（例えば、Narang, 1983, Tetrahedron 39:3; Itakura et al., 1984, Annu. Rev. Biochem. 53:323; Itakura et al., 1984, Science 198:1056; Ike et al., 1983 Nucleic Acid Res. 11:477 参照）。

20

30

【0154】

加えて、本発明のマーカーに対応するポリペプチドのコーディング配列のフラグメントのライブラリーを用いて、スクリーニングおよび変種の引き続いての選択のためのポリペプチドの種々の集団を創製することができる。例えば、コーディング配列フラグメントのライブラリーは、ニックングが分子当たり約1回のみ起こる条件下で、注目するコーディング配列の二本鎖PCRフラグメントをヌクレアーゼで処理し、二本鎖DNAを変性し、DNAを再生して、異なるニックされた産物からのセンス／アンチセンス対を含むことができる二本鎖DNAを形成し、S1ヌクレアーゼでの処理によって再度形成された二重鎖から一本鎖部分を除去し、次いで、得られたフラグメントライブラリーを発現ベクターに連結することによって、創製することができる。この方法によって、注目する種々のサイズのタンパク質のアミノ末端および内部フラグメントをコードする発現ライブラリーを誘導することができる。

40

【0155】

点突然変異または切形によって作成されたコンビナトリアルライブラリーの遺伝子産物をスクリーニングするための、および選択された特性を有する遺伝子産物につきcDNAライブラリーをスクリーニングするための数種の技術が当該分野で知られている。大きな遺伝子ライブラリーをスクリーニングするための、高スループット分析に使用できる最も広く用いられる技術は、典型的には、遺伝子ライブラリーを複製可能な発現ベクターにクローニングし、適切な細胞を得られたベクターのライブラリーで形質転換をし、次いで

50

、その産物が検出される遺伝子をコードするベクターの単離を所望の活性の検出が容易とする条件下でコンビナトリアル遺伝子を発現させることを含む。反復可能アンサンブル突然変異誘発（REM）、すなわち、ライブラリーにおける機能的突然変異体の頻度を増強させる技術を、スクリーニングアッセイと組み合わせて用いて、本発明のタンパク質の変種を同定することができる（Ark in and Yourvan, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7811-7815; Delgrave et al., 1993, Protein Engineering 6(3):327-331）。

【0156】

本発明のマーカーに対応する単離されたポリペプチド、またはそのフラグメントを免疫原として用いて、ポリクローナルおよびモノクローナル抗体調製のための標準的な技術を用いて抗体を創製することができる。全長ポリペプチドまたはタンパク質を用いることができ、あるいは、本発明は免疫原として用いる抗原性ペプチドフラグメントを提供する。本発明のタンパク質の抗原性ペプチドは本発明のポリペプチドのうちの1つのアミノ酸配列の少なくとも8つ（好ましくは、10、15、20、または30以上の）アミノ酸残基を含み、ペプチドに対して生起した抗体が、タンパク質に対応する本発明のマーカーとで特異的な免疫複合体を形成するようなタンパク質のエピトープを含む。抗原性ペプチドによって含まれる好ましいエピトープは、タンパク質の表面に位置する領域、例えば、親水性領域である。疎水性配列分析、親水性配列分析、または同様な分析を用いて、親水性領域を同定することができる。

【0157】

免疫原は、ウサギ、ヤギ、マウス、または他の哺乳動物または脊椎動物のような適切な（すなわち、免疫担当）被験体を免疫化することによって抗体を調製するのに典型的に用いられる。適切な免疫原性調製物は、例えば、組換えにより発現される、または化学的に合成されるポリペプチドを含有することができる。該調製物は、さらに、フロイントの完全または不完全アジュバント、または同様な免疫刺激剤のようなアジュバントを含むことができる。

【0158】

従って、本発明の別の局面は本発明のポリペプチドに対して向けられる抗体に関する。本明細書中において、相互交換的に用いられる用語「抗体」および「抗体物質」とは、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、すなわち、本発明のペプチドのような、抗原に特異的に結合する抗原結合部位を含有する分子をいう。本発明の与えられたポリペプチドに特異的に結合する分子は、該ポリペプチドに結合するが、該ポリペプチドを天然で含有するサンプル、例えば、生物学的サンプル中の分子に実質的には結合しない分子である。免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分の例は、ペプシンのような酵素で抗体を処理することによって生じさせることができるF(ab)およびF(ab')₂フラグメントを含む。本発明はポリクローナルおよびモノクローナル抗体を提供する。本明細書中で使用される場合、用語「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」とは、特定のエピトープと免疫反応することができる抗原結合部位の唯1つの種しか含有しない抗体分子の集団をいう。

【0159】

ポリクローナル抗体は、適切な被験体を免疫原としての本発明のポリペプチドで免疫化することによって上記のように調製することができる。免疫化された被験体における抗体力価は、固定化されたポリペプチドを用いる酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）のような、標準的な技術によって経時的にモニタリングすることができる。所望であれば、抗体分子を被験体から（例えば、被験体の血液または血清から）収穫し、単離し、さらにプロテインAクロマトグラフィーのようなよく知られた技術によって精製して、IgG画分を得ることができる。免疫化の後の適切な時点において、例えば、特異的抗体力価が最高である場合、抗体-生産細胞を被験体から得て、これを用いて、Kohler and Milstein (1975) Nature 256:495-497によって元来記載

されたハイブリドーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術 (Kozbor et al., 1983, Immunol. Today 4:72 参照)、EBV-ハイブリドーマ技術 (Cole et al., pp. 77-96 In Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., 1985 参照) またはトリオーマ技術のような標準的技術によってモノクローナル抗体を調製することができる。ハイブリドーマを生産するための技術はよく知られている (一般に、Current Protocols In Immunology, Coligan et al. ed., John Wiley & Sons, New York, 1994 参照)。本発明のモノクローナル抗体を生産するハイブリドーマ細胞は、例えば、標準的なELISAアッセイを用い、注目するポリペプチドに結合する抗体についてハイブリドーマ培養上清をスクリーニングすることによって検出される。

10

【0160】

モノクローナル抗体を分泌するハイブリドーマを調製する代替法として、注目するポリペプチドに関して組換えコンビナトリアル免疫グロブリンライブラリー (例えば、抗体ファージディスプレイライブラリー) をスクリーニングすることによって、本発明のポリペプチドに対して向けられたモノクローナル抗体を同定し、単離することができる。ファージディスプレイライブラリーを創製し、スクリーニングするためのキットは商業的に入手可能である (例えば、Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, Catalog No. 27-9400-01; および Stratagene SurfZAP Phage Display Kit, Catalog No. 240612)。抗体ディスプレイライブラリーを創製し、スクリーニングするのに用いるのに特に使用できる方法および試薬の例は、例えば、米国特許第5, 223, 409号; PCT公開番号WO 92/18619; PCT公開番号WO 91/17271; PCT公開番号WO 92/20791; PCT公開番号WO 92/15679; PCT公開番号WO 93/01288; PCT公開番号WO 92/01047; PCT公開番号WO 92/09690; PCT公開番号WO 90/02809; Fuchs et al. (1991) Bio/Technology 9:1370-1372; Hay et al. (1992) Hum. Antibod. Hybridomas 3:81-85; Huse et al. (1989) Science 246:1275-1281; Griffiths et al. (1993) EMBO J 12:725-734に見出すことができる。

20

30

【0161】

加えて、標準組換えDNA技術を用いて作成することができる、ヒトおよび非ヒト部分の両方を含む、キメラおよびヒト化モノクローナル抗体のような組換え抗体は本発明の範囲内のものである。そのようなキメラおよびヒト化モノクローナル抗体は、例えば、PCT公開番号WO 87/02671; 欧州特許出願第184, 187号; 欧州特許出願第171, 496号; 欧州特許出願第173, 494号; PCT公開番号WO 86/01533; 米国特許第4, 816, 567号; 欧州特許出願第125, 023号; Better et al. (1988) Science 240:1041-1043; Liu et al. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:3439-3443; Liu et al. (1987) J. Immunol. 139:3521-3526; Sun et al. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:214-218; Nishimura et al. (1987) Cancer Res. 47:999-1005; Wood et al. (1985) Nature 314:446-449; および Shaw et al. (1988) J. Natl. Cancer Inst. 80:1553-1559; Morrison (1985) Science 229:1202-1207; Oi et al. (1986) Bio/Techniques 4:214; 米国特許第5, 225, 539号; Jones et al. (1986) Nature 321:552-525; Verhoeyan et al. (1988) Science 239:1534; および

40

50

Beidler et al. (1988) J. Immunol. 141:4053-4060に記載された方法を用いて当該分野で公知の組換えDNA技術によって生産することができる。

【0162】

完全ヒト抗体は、ヒト被験体の治療的処置で特に望ましい。そのような抗体は、内因性免疫グロブリンの重鎖および軽鎖遺伝子を発現することができないが、ヒト重鎖および軽鎖遺伝子を発現することができるトランスジェニックマウスを用いて生産することができる。トランスジェニックマウスを選択された抗原、例えば、本発明のマーカーに対応するポリペプチドの全部または一部で通常に免疫化する。抗原に向けられたモノクローナル抗体は、慣用的なハイブリドーマ技術を用いて得ることができる。トランスジェニックマウスによって保有されるヒト免疫グロブリン導入遺伝子はB細胞分化の間に再編成され、引き続いて、クラススイッチングおよび体細胞突然変異を受ける。したがって、そのような技術を用い、治療的に有用なIgG、IgAおよびIgE抗体を生産することができる。ヒト抗体を生産するためのこの技術の概観については、Lonberg and Huszar (1995) Int. Rev. Immunol. 13:65-93参照。ヒト抗体およびヒトモノクローナル抗体を生産するためのこの技術、およびそのような抗体を生産するためのプロトコルの詳細な議論については、例えば、米国特許第5,625,126号；米国特許第5,633,425号；米国特許第5,569,825号；米国特許第5,661,016号；および米国特許第5,545,806号参照。加えて、Abgenix, Inc. (Freemont, CA)のような会社は上記のものと同様な技術を用いて選択された抗原に向けられたヒト抗体を提供するのに専念させることができる。

【0163】

選択されたエピトープを認識する完全ヒト抗体は、「誘導選択 (guided selection)」と称される技術を用いて創製することができる。このアプローチにおいて、選択された非ヒトモノクローナル抗体、例えば、ネズミ抗体を用いて、同一エピトープを認識する完全ヒト抗体の選択をガイドする (Jespersen et al., 1994, Bio/Technology 12:899-903)。

【0164】

癌で過剰発現する本発明のマーカー (例えば、表5に記載されたマーカー) に特異的に結合する抗体、抗体誘導体、またはそのフラグメントを用いて、マーカー、例えば、表5に記載されたマーカーの活性を阻害することができ、従って、被験体に投与して、被験体において癌を治療し、阻害し、または予防することができる。さらに、複合抗体を用いて、被験体において癌を治療し、阻害し、または予防することもできる。複合抗体、好ましくはモノクローナル抗体、またはそのフラグメントは、薬物、トキシン、または放射性原子に連結され、癌細胞に直接的にそれらの物質を送達するための送達ビクルとして用いられる抗体である。該抗体、例えば、本発明のマーカー (例えば、表5に列挙されたマーカー) に特異的に結合する抗体を被験体に投与し、マーカーに結合させ、それによって、毒性物質を癌細胞に送達し、身体の他の部分における正常な細胞に対する損傷を最小化させる。

【0165】

複合抗体は「タグされた」、「標識された」または「負荷された」ともいわれる。化学治療剤が結合した抗体は、一般には、化学標識されたといわれる。放射性粒子が結合した抗体は放射性標識されたといわれ、このタイプの治療はラジオイムノ治療 (RIT) として知られている。癌を治療するのに用いる以外に、放射性標識抗体を用いて、身体中に拡大した癌の領域を検出することもできる。トキシンに結合した抗体はイムノトキシンと呼ばれる。

【0166】

イムノトキシンは、トキシン (例えば、植物または細菌からの毒性物質) をモノクローナル抗体に結合させることによって作成される。イムノトキシンは、モノクローナル抗体を、ジフテリアトキシン (DT) またはプソイドモナルエキソトキシン (PE40) のよ

うな細菌トキシン、またはリシンAまたはサボリンのような植物トキシンに結合させることによって生産することができる。

【0167】

本発明のマーカーに対応するポリペプチドに向けられた抗体（例えば、モノクローナル抗体）を用いて、アフィニティークロマトグラフィーまたは免疫沈澱のような標準的な技術によってポリペプチドを単離することができる。さらに、そのような抗体を用いて、（例えば、細胞溶解物または細胞上清中の）マーカーを検出し、マーカーの発現のレベルおよびパターンを評価することができる。また、抗体を診断で用いて、臨床試験手法の一部として（例えば、卵巣関連体液中の）組織または体液におけるタンパク質レベルをモニターし、例えば、与えられた治療養生法の効力を判断することができる。検出は、抗体を検出可能な物質にカップリングさせることによって容易とすることができる。検出可能な物質の例は種々の酵素、補欠分子族、蛍光物質、ルミネセント物質、バイオルミネセント物質、および放射性物質を含む。適切な酵素の例はホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼを含み；適切な補欠分子族複合体の例はストレプトアビジン／ビオチンおよびアビジン／ビオジンを含み；適切な蛍光物質の例はウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネード、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、塩化ダンシルまたはフィコエリスリンを含み；ルミネセント物質の例はルミナールを含み；バイオルミネセント物質の例はルシフェラーゼ、ルシフェリン、およびアクオリンを含み、および適切な放射性物質の例は ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S または ^3H を含む。

【0168】

（V．組換え発現ベクターおよび宿主細胞）

本発明の別の局面は、本発明のマーカーに対応するポリペプチド（またはそのようなポリペプチドの部分）をコードする核酸を含有するベクター、好ましくは発現ベクターに関する。本明細書中で使用される場合、用語「ベクター」とは、それが連結している別の核酸を輸送することができる核酸分子をいう。1つのタイプのベクターは「プラスミド」であり、これはさらなるDNAセグメントを連結することができる環状二本鎖DNAループをいう。別のタイプのベクターはウイルスベクターであり、ここで、さらなるDNAセグメントをウイルスゲノムに連結することができる。ある種のベクターは、それらが導入される宿主細胞において自律複製できる（例えば、細菌複製起点およびエピソーム哺乳動物ベクターを有する細菌ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞への導入に際して宿主細胞のゲノムに組み込まれ、それによって、宿主ゲノムに沿って複製される。さらに、ある種のベクター、すなわち発現ベクターは、それらが操作可能に連結された遺伝子の発現を検出することができる。一般に、組換えDNA技術でいうような発現ベクターは、しばしば、プラスミド（ベクター）の形態である。しかしながら、本発明は、同等な機能を奏するウイルスベクター（例えば、複製欠陥レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ関連ウイルス）のような発現ベクターのそのような他の形態を含むことを意図する。

【0169】

本発明の組換え発現ベクターは、宿主細胞中での核酸の発現に適した形態である本発明の核酸を含む。これは、組換え発現ベクターが、発現すべき核酸配列に操作可能に連結された、発現で用いるべき宿主細胞に基づいて選択された1以上の調節配列を含む。組換え発現ベクター内では、「操作可能に連結された」は、注目するヌクレオチド配列が、（例えば、インビトロ転写／翻訳システムにおいて、あるいはベクターが宿主細胞に導入される場合は宿主細胞において）ヌクレオチド配列の発現を可能とするように調節配列に連結されることを意味することを意図する。用語「調節配列」は、プロモーター、エンハンサーおよび他の発現制御エレメント（例えば、ポリアデニル化シグナル）を含むことを意図する。そのような調節配列は、例えば、Goeddel, Methods in Enzymology: Gene Expression Technology vol. 185, Academic Press, San Diego, CA (1991)に記載さ

れている。調節配列は、多くのタイプの宿主細胞においてヌクレオチド配列の構成的な発現を指令するもの、およびある種の宿主細胞においてのみヌクレオチド配列の直接の発現を指令するもの（例えば、組織特異的調節配列）を含む。発現ベクターの設計は、形質転換すべき宿主細胞の選択、所望されるタンパク質の発現のレベルなどのような因子に依存し得るのは当業者によって認識されるであろう。本発明の発現ベクターを宿主細胞に導入して、それによって、本明細書中に記載された核酸によってコードされる、融合タンパク質またはペプチドを含めた、タンパク質またはペプチドを生産することができる。

【0170】

本発明の組換え発現ベクターは、原核生物（例えば、*E. coli*）または真核生物細胞（例えば、{バキュロウイルス発現ベクターを用いる} 昆虫細胞、酵母細胞または哺乳動物細胞）における本発明のマーカに対応するポリペプチドの発現用に設計することができる。適切な宿主細胞はGoeddel, supraにおいてさらに議論されている。あるいは、組換え発現ベクターは、例えば、T7プロモーター調節配列およびT7ポリメラーゼを用い、インビトロで転写し、翻訳することができる。

【0171】

原核生物におけるタンパク質の発現は、融合または非融合タンパク質いずれかの発現を指令する構成的または誘導性プロモーターを含有するベクターにて*E. coli*で最もしばしば行われる。融合ベクターは多数のアミノ酸をその中でコードされるタンパク質に、通常、組換えタンパク質のアミノ末端に加える。そのような融合ベクターは、典型的には、3つの目的；1）組換えタンパク質の発現を増加させること；2）組換えタンパク質の溶解性を増加させること；および3）アフィニティー精製においてリガンドとして作用することによって組換えタンパク質の精製を助けること；を果たす。しばしば、融合発現ベクターにおいては、タンパク質分解部位を融合部位の接合点に導入し、組換えタンパク質は融合タンパク質の精製に続いて融合部位から組換えタンパク質の分離を可能とする。そのような酵素、およびそれらの同族認識配列はXa因子、トロンビンおよびエンテルキナーゼを含む。典型的な融合発現ベクターは、グルタチオンS-トランスフェラーゼ（GST）、マルトースE結合タンパク質、またはプロテインAを、おのおの、標的組換えタンパク質に融合させる、pGEX（Pharmacia Biotech Inc; Smith and Johnson, 1988 Gene 67:31-40）、pMAL（New England Biolabs, Beverly, MA）、およびpRIT5（Pharmacia, Piscataway, NJ）を含む。

【0172】

適切な誘導性非融合*E. coli*発現ベクターの例はpTrc（Amann et al., 1988, Gene 69:301-315）およびpET 11d（Studier et al., p. 60-89, In Gene Expression Technology: Methods in Enzymology vol. 185, Academic Press, San Diego, CA, 1991）を含む。pTrcベクターからの標的遺伝子発現は、ハイブリットtrp-lac融合プロモーターからの宿主RNAポリメラーゼ転写に依拠する。pET 11dベクターからの標的遺伝子発現は、共発現されたウイルスRNAポリメラーゼによって媒介されるT7 gnl0-lac融合プロモーター（T7 gnl）からの転写に依拠する。このウイルスポリメラーゼは、lacUV 5プロモーターの転写制御下で、T7 gnl遺伝子を保有する定住プロファージから宿主株BL21（DE3）またはHMS174（DE3）によって供給される。

【0173】

*E. coli*における組換えタンパク質発現を最小化するための1つの戦略は、組換えタンパク質をタンパク質分解切断する損なわれた能力を持つ宿主細菌において該タンパク質を発現させることである（Gottesman, p. 119-128, In Gene Expression Technology: Methods in Enzymology vol. 185, Academic Press, San Diego, C

A, 1990)。別の戦略は、各アミノ酸についての個々のコドンが*E. coli*において優先的に利用されるように、発現ベクターに挿入されるべき核酸の核酸配列を改変することである(Wada et al., 1992, *Nucleic Acids Res.* 20:2111-2118)。本発明の核酸配列のそのような改変は、標準的なDNA合成技術によって行うことができる。

【0174】

別の実施形態において、発現ベクターは酵母発現ベクターである。酵母*S. cerevisiae*における発現のためのベクターの例はpYepSec1 (Baldari et al., 1987, *EMBO J.* 6:229-234)、pMFa (Kurjan and Herskowitz, 1982, *Cell* 30:933-943)、pJRY88 (Schultz et al., 1987, *Gene* 54:113-123)、pYES2 (Invitrogen Corporation, San Diego, CA)、およびpPicZ (Invitrogen Corporation, San Diego, CA)を含む。

【0175】

あるいは、発現ベクターはバキュロウイルス発現ベクターである。培養された昆虫細胞(例えば、Sf9細胞)におけるタンパク質の発現で利用できるバキュロウイルスベクターはpAcシリーズ (Smith et al., 1983, *Mol. Cell Biol.* 3:2156-2165) およびpVLシリーズ (Lucklow and Summers, 1989, *Virology* 170:31-39)を含む。

【0176】

なお別の実施形態において、本発明の核酸は、哺乳動物発現ベクターを用いて哺乳動物細胞で発現される。哺乳動物発現ベクターの例はpCDM8 (Seed, 1987, *Nature* 329:840) およびpMT2PC (Kaufman et al., 1987, *EMBO J.* 6:187-195)を含む。哺乳動物細胞で用いる場合、発現ベクターの制御機能は、しばしば、ウイルス調節エレメントによって提供される。例えば、通常使用されるプロモーターはポリオーマ、アデノウイルス2、サイトメガロウイルスおよびシミアンウイルス40に由来する。原核生物および真核生物細胞両方についての他の適切な発現系に関しては、Sambrook et al., *supra*の16および17章参照。

【0177】

別の実施形態において、組換え哺乳動物発現ベクターは、特別な細胞型において優先的に核酸の発現を指令することができる(例えば、組織特異的調節エレメントを用いて、核酸を発現させる)。組織特異的調節エレメントは当該分野で知られている。適切な組織特異的プロモーターの非限定的例はアルブミンプロモーター(肝臓特異的; Pinkert et al., 1987, *Genes Dev.* 1:268-277)、リンパ系特異的プロモーター (Calame and Eaton, 1988, *Adv. Immunol.* 43:235-275)、特にT細胞レセプターのプロモーター (Winoto and Baltimore, 1989, *EMBO J.* 8:729-733) および免疫グロブリン (Banerji et al., 1983, *Cell* 33:729-240; Queen and Baltimore, 1983, *Cell* 33:741-748)、ニューロン特異的プロモーター(例えば、ニューロフィラメントプロモーター; Byrne and Ruddie, 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:5473-5477)、膵臓特異的プロモーター (Edlund et al., 1985, *Science* 230:912-916)、および乳腺特異的プロモーター(例えば、ミルクホエイプロモーター; 米国特許第4, 873, 316号および欧州特許出願番号264, 166)を含む。発生的に調節されるプロモーター、例えば、ネズミ*hox*プロモーター (Kessel and Gruss, 1990, *Science* 249:374-379) およびα-フェトプロテインプロモーター (Camper and Tilghman, 1989, *Genes Dev.* 3:537-546)

も含まれる。

【0178】

本発明は、さらに、アンチセンス向きに発現ベクターにクローン化された本発明のDNA分子を含む組換え発現ベクターを提供する。すなわち、DNA分子を、本発明のポリペプチドをコードするmRNAに対してアンチセンスであるRNA分子の（DNA分子の転写による）発現を可能とするように、調節配列に操作可能に連結される。種々の細胞型におけるアンチセンスRNA分子の連続的発現を指令する、アンチセンス向きにクローン化された核酸に操作可能に連結された調節配列、例えば、ウイルスプロモーターおよび／またはエンハンサーを選択することができ、あるいはアンチセンスRNAの構成的な組織特異的または細胞型特異的発現を指令する調節配列を選択することができる。アンチセンス発現ベクターは、組換えプラスミド、ファゲミド、あるいはその活性がベクターが導入された細胞型によって決定することができる、高効率調節領域の制御下でアンチセンス核酸が生産される減弱ウイルスの形態とすることができる。アンチセンス遺伝子を用いる遺伝子発現の調節の理論については、Weintraub et al., 1986, Trends in Genetics, Vol. 1 (1) 参照。

10

【0179】

本発明の別の局面は、本発明の組換え発現ベクターが導入されている宿主細胞に関する。用語「宿主細胞」および「組換え宿主細胞」は本明細書中において相互交換的に用いられる。そのような用語は特定の被験体細胞のみならず、そのような細胞の子孫または潜在的子孫をもいうことは理解される。ある種の修飾が突然変異または環境の影響のいずれかのため後の世代で起こり得るので、そのような子孫は、事実、親細胞と同一ではないが、依然として本明細書中で用いられる用語の範囲内に含まれる。

20

【0180】

宿主細胞はいずれかの原核生物（例えば、E. coli）または真核生物細胞（例えば、昆虫細胞、酵母または哺乳動物細胞）であり得る。

【0181】

ベクターDNAは、慣用的な形質転換またはトランスフェクション技術を介して原核生物または真核生物細胞に導入することができる。本明細書中で使用される場合、用語「形質転換」および「トランスフェクション」は、リン酸カルシウムまたは塩化カルシウム共沈殿、DEAE-デキストラン媒介性トランスフェクション、リポフェクション、またはエレクトロポレーションを含めた、外来性核酸を宿主細胞に導入するための種々の当該分野で認められた技術をいう。宿主細胞を形質転換またはトランスフェクトするための適切な方法はSambrook, et al. (supra)、および他の実験室マニュアルに見出すことができる。

30

【0182】

哺乳動物細胞の安定なトランスフェクションのためには、用いる発現ベクターおよびトランスフェクション技術に依存して、小さな割合の細胞のみが外来性DNAをそれらのゲノムに組み込むことができることが知られている。これらの組込体を同定し、選択するためには、（例えば、抗生物質に対する耐性のための）選択マーカーをコードする遺伝子が、一般的には、注目する遺伝子と共に宿主細胞に導入される。好ましい選択マーカーは、G418、ヒグロマイシンおよびメトトレキサートのような薬物に対する耐性を付与するものを含む。導入された核酸で安定にトランスフェクトされた細胞は、薬物選択によって同定することができる（例えば、選択マーカー遺伝子が組み込まれた細胞は生存し、他方、他の細胞は死滅する）。

40

【0183】

培養中の原核生物または真核生物宿主細胞のような本発明の宿主細胞を用いて、本発明のマーカーに対応するポリペプチドを生産することができる。従って、本発明は、さらに、本発明の宿主細胞を用いて本発明のマーカーに対応するポリペプチドを生産する方法を提供する。一実施形態において、該方法は、該マーカーが生産されるように、適切な培地中にて、（本発明のポリペプチドをコードする組換え発現ベクターが導入されている）本

50

発明の宿主細胞を培養することを含む。別の実施形態において、該方法は、さらに、培地または宿主細胞からマーカーポリペプチドを単離することを含む。

【0184】

本発明の宿主細胞を用いて、非ヒトトランスジェニック動物を生産することもできる。例えば、一実施形態において、本発明の宿主細胞は、本発明のマーカーに対応するポリペプチドをコードする配列が導入されている受精卵母細胞または胚幹細胞である。次いで、そのような宿主細胞を用いて、本発明のマーカータンパク質をコードする外因性配列がそのゲノムに導入されている非ヒトトランスジェニック動物、または本発明のマーカーに対応するポリペプチドをコードする内因性遺伝子が改変されている相同組換え動物を作り出すことができる。そのような動物は、マーカーに対応するポリペプチドの機能および／または活性を調べるのに、ポリペプチド活性のモジュレータを同定し、および／または評価するのに、ならびに治療または診断分子の前臨床試験において、マーカーの発見または評価、例えば、治療的および診断的マーカー発見または評価で、または薬物の効力および特異性の代用物として有用である。

【0185】

本明細書中で用いるように「トランスジェニック動物」は、該動物の細胞の1以上が導入遺伝子を含む非ヒト動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはラットまたはマウスのようなげっ歯類である。トランスジェニック動物の他の例は非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ヤギ、ニワトリ、両生類などを含む。導入遺伝子は、それからトランスジェニック動物が発生した細胞のゲノムに組み込まれ、成熟動物のゲノムに依然として存在し、それによって、トランスジェニック動物の1以上の細胞型または組織におけるコードされる遺伝子産物の発現を指令する外来性DNAである。本明細書中で使用される場合、「相同組換え動物」は、動物の発生に先立って、内因性遺伝子が、該内因性遺伝子、および動物の細胞、例えば、動物の胚細胞へ導入された外来性DNA分子の間の相同組換えによって改変された非ヒト動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはマウスである。トランスジェニック動物は、例えば、Chan I. T., et al. (2004) J Clin Invest. 113 (4): 528-38およびChin L. et al. (1999) Nature 400 (6743): 468-72に記載されたもののような誘導性トランスジェニック動物も含む。

【0186】

本発明のトランスジェニック動物は、例えば、マイクロインジェクション、レトロウイルス感染によって本発明のマーカーに対応するポリペプチドをコードする核酸を受精した卵母細胞の雄前核に導入し、次いで、卵母細胞を偽妊娠雌借腹動物で発生させることによって創製することができる。イントロン配列およびポリアデニル化シグナルを導入遺伝子に含めて、導入遺伝子の発現の効率を増加させることもできる。組織特異的調節配列を導入遺伝子に操作可能に連結して、本発明のポリペプチドの発現を特定の細胞に指令することができる。胚操作およびマイクロインジェクションを介してトランスジェニック動物、特にマウスのような動物を創製する方法は当該分野において慣用的になっており、それは、例えば、米国特許第4,736,866号および第4,870,009号、米国特許第4,873,191号において、およびHogan, Manipulating the Mouse Embryo, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., 1986に記載されている。同様の方法を、他のトランスジェニック動物の生産で用いる。トランスジェニック創始動物は、そのゲノムにおける導入遺伝子の存在および／または該動物の組織または細胞における導入遺伝子をコードするmRNAの発現に基づいて同定することができる。次いで、トランスジェニック創始動物を用いて、導入遺伝子を運ぶさらなる動物を育種することができる。導入遺伝子を運ぶトランスジェニック動物をさらに育種して、他の導入遺伝子を運ぶ他のトランスジェニック動物とすることができる。

【0187】

相同組換え動物を創製するためには、その中へ欠失、付加または置換が導入されて、そ

れによって、遺伝子を改変し、例えば、機能的に破壊した、本発明のマーカーに対応するポリペプチドをコードする遺伝子の少なくとも一部を含有するベクターを調製する。好ましい実施形態において、ベクターは、相同組換えに際して、内因性遺伝子が機能的に破壊される（すなわち、もはや機能的タンパク質をコードしない；「ノックアウト」ベクターともいわれる）ように設計される。あるいは、ベクターは、相同組換えに際して、内因性遺伝子が突然変異するか、またはそうでなければ改変されるが、依然として機能的タンパク質をコードするように設計することができる（例えば、上流調節領域を改変して、それによって、内因性タンパク質の発現を改変することができる）。相同組換えベクターにおいて、遺伝子の改変された部分には、遺伝子のさらなる核酸がその5'および3'末端に近接して、相同組換えが、ベクターによって運ばれた外因性遺伝子および胚幹細胞における内因性遺伝子の間でおこるようにする。さらなる近接核酸配列は、内因性遺伝子との成功した相同組換えに十分な長さのものである。典型的には、（5'および3'両方の末端における）数キロベースの近接DNAをベクターに含ませる（例えば、相同組換えベクターの記載についてはThomas and Capecci, 1987, Cell 51: 503を参照）。ベクターは（例えば、エレクトロポレーションによって）胚幹細胞株に導入され、導入された遺伝子が内因性遺伝子と相同組換えされた細胞を選択する（例えば、Li et al., 1992, Cell 69: 915参照）。次いで、選択された細胞を動物（例えば、マウス）の胚盤胞に注入して、凝集キメラを形成する（例えば、Bradley, Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach, Roberts on, Ed., IRL, Oxford, 1987, pp. 113-152参照）。次いで、キメラ胚を適切な偽妊娠雌借腹動物に移植し、胚を出産まで持っていくことができる。その生殖細胞に相同組換えDNAを保有する子孫を用いて、当該動物の全ての細胞が導入遺伝子の生殖系伝達によって相同組換えDNAを含有する動物を育種することができる。相同組換えベクターおよび相同組換え動物を構築するための方法は、さらに、Bradley (1991) Current Opinion in Bio/Technology 2: 823-829およびPCT出願番号WO 90/11354、WO 91/01140、WO 92/0968、およびWO 93/04169に記載されている。

【0188】

別の実施形態において、導入遺伝子の調節された発現を可能とする選択された系を含有するトランスジェニック非ヒト動物を生産することができる。そのような系の1つの例はバクテリオファージP1のcre/loxPレコンビナーゼ系である。cre/loxPレコンビナーゼ系の記載については、例えば、Lakso et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 6232-6236参照。レコンビナーゼ系の別の例はSaccharomyces cerevisiaeのFLPレコンビナーゼ系である（O'Gorman et al., 1991, Science 251: 1351-1355）。もしcre/loxPレコンビナーゼ系を用いて、導入遺伝子の発現を調節すれば、Creレコンビナーゼおよび選択されたタンパク質両方をコードする導入遺伝子を含有する動物が必要とされる。そのような動物は、例えば、一方は選択されたタンパク質をコードする導入遺伝子を含有し、他方はレコンビナーゼをコードする導入遺伝子を含有する2匹のトランスジェニック動物を交配させることによって、「二重」トランスジェニック動物の構築を介して提供することができる。

【0189】

本明細書中に記載された非ヒトトランスジェニック動物のクローンは、Wilmut et al. (1997) Nature 385: 810-813およびPCT公開番号WO 97/07668およびWO 97/07669に記載された方法に従って生産することもできる。

【0190】

（V I . 処置の方法）

本発明は、癌、例えば、膵臓癌を有する、またはその危険性がある（またはそれに罹り

やすい) 被験体、例えば、ヒトを治療するための予防的および治療的方法の両方を提供する。本明細書中で使用される場合、被験体の「治療」は、病気または障害、病気または障害の兆候、あるいは病気または障害の危険性(またはそれに対する罹患性)を治癒する、阻害する、治す、緩和する、軽減する、改変する、改善する、救済し、改良し、または影響させる目的で、病気または障害を有する、病気または障害の兆候を有する、あるいは病気または障害の危険性がある(またはそれにかかりやすい)、被験体への治療剤の適用または投与、あるいは被験体の細胞または組織への治療剤の適用または投与を含む。本明細書中で使用される場合、「治療剤」または「化合物」は、限定されるものではないが、低分子、ペプチド、ペプチド模倣物、ポリペプチド、RNA干渉因子、例えば、siRNA分子、抗体、リボザイム、およびアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む。

10

【0191】

本明細書中に記載されるように、被験体における癌は、表5に列挙された1以上のマーカー(例えば、癌において増大することが示されたマーカー)の変化、例えば、量および/または活性の増加または構造の変化、および/または表4に列挙された1以上のマーカー(例えば、癌において減少することが示されたマーカー)の量および/または活性の減少、または構造の変化に関連付けられる。上記のように、量、構造、および/または活性におけるこれらの変化のいくつかは癌の発生に由来し得るが、これらの変化の他のものは癌細胞の癌状態を誘導し、維持し、および促進する。したがって、表5に列挙された1以上のマーカー(例えば、癌において増加することが示されているマーカー)の、量および/または活性の増加、または構造の変化によって特徴付けられる癌は、それらのマーカーの量、例えば、発現またはタンパク質レベル、および/または活性を阻害することによって阻害することができる。同様に、表4に列挙された1以上のマーカー(例えば、癌において減少することが示されているマーカー)の、量および/または活性の増加、または構造の変化によって特徴付けられる癌は、それらのマーカーの量、例えば、発現またはタンパク質レベル、および/または活性を増強することによって阻害することができる。

20

【0192】

従って、本発明の別の局面は癌に罹っている被験体を治療する方法に関する。これらの方法は、本発明の1以上のマーカーの量および/または活性を調節する化合物を被験体に投与することを含む。例えば、癌の処置または予防方法は、表5に列挙された1以上のマーカー(例えば、癌において増加することが示されているマーカー)の量および/または活性を減少させる化合物を被験体に投与することを含む。表5に列挙されたマーカーの量および/または活性を阻害して、それによって、癌を治療または予防するのに用いることができる化合物、例えば、アンタゴネストは抗体(例えば、複合抗体)、低分子、RNA干渉因子、例えば、siRNA分子、リボザイム、およびアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む。一実施形態において、治療で用いる抗体はトキシシン、化学治療剤、または放射性粒子に結合される。

30

【0193】

癌の処置または予防の方法は、表4に列挙された1以上のマーカー(例えば、癌で減少することが示されたマーカー)の量および/または活性を増加させる化合物を被験体に投与することを含む。表4に列挙されたマーカーの発現または活性を増加させて、それによって、癌を治療または予防するのに用いることができる化合物、例えば、アゴニストは低分子、ペプチド、ペプチド、ペプチドミメティクス、およびポリペプチドを含む。

40

【0194】

本発明の方法で用いる低分子は、タンパク質-タンパク質相互作用を阻害し、それによって、マーカーの量および/または活性を増加または減少させるものを含む。さらに、サイレンスド遺伝子、例えば、腫瘍抑制剤の再発現を引き起こすモジュレータ、例えば、低分子もここに含まれる。例えば、そのような分子は、DNA結合またはメチルトランスフェラーゼ活性と干渉する化合物を含む。

【0195】

アダプターを用いて、本発明のマーカーの発現または活性を調節し、例えば、増加また

50

は抑制して、それによって、癌を治療、予防または阻害するのに用いることもできる。アプタマーは、他の分子に結合するその能力に基づいてランダムなプールから選択されたDNAまたはRNA分子である。核酸またはタンパク質を結合するアプタマーを選択することができる。

【0196】

(VII. スクリーニングアッセイ)

本発明はまた、(a) マーカーに結合し、または(b) マーカーの活性に対して調節(例えば、刺激性または阻害性)効果を有する、あるいはより具体的には、(c) その基質(例えば、ペプチド、タンパク質、ホルモン、補因子、または核酸)の1以上とマーカーとの相互作用に対して調節効果を有し、または(d) マーカーの発現に対して調節効果を有するモジュレータ、すなわち、候補または試験化合物または剤(例えば、タンパク質、ペプチド、ペプチド模倣物、ペプチド、低分子または他の薬物)を同定するための(本明細書中においては、「スクリーニングアッセイ」ともいう)方法を提供する。そのようなアッセイは、典型的には、マーカーおよび1以上のアッセイ成分の間の反応を含む。他の成分は試験化合物それ自体、あるいは試験化合物とマーカーの天然結合パートナーとの組合せのいずれかであり得る。本明細書中に記載されたもののようなアッセイを介して同定された化合物は、例えば、癌を調節し、例えば、阻害し、緩和し、治療し、または予防するのに有用である。

10

【0197】

本発明の試験化合物は、天然および/または合成化合物の系統的ライブラリーを含めて、いずれかの入手源から得ることができる。試験化合物は：生物学的ライブラリー；ペプチドライブラリー(ペプチドの機能を有するが、酵素分解に対して抵抗性である新規な非ペプチド骨格を持ち、それにもかかわらず、生物活性を依然として有する分子のライブラリー；例えば、Zuckermann et al., 1994, J. Med. Chem. 37: 2678-85)；空間的にアドレス可能な平行固相または液相ライブラリー；デコンボリューションを必要とする合成ライブラリー方法；「1-ビーズ1-化合物」ライブラリー方法；およびアフィニティークロマトグラフィー選択を用いる合成ライブラリー方法を含めた、当該分野で知られたコンビナトリアルライブラリー方法における多数のアプローチのいずれかによって得ることもできる。生物学的ライブラリーおよびペプチドライブラリーアプローチはペプチドライブラリーに限定されるが、他方、他の4つのアプローチはペプチド、非ペプチドオリゴマ、または化合物の低分子ライブラリーに適用できる(Lam, 1997, Anticancer Drug Des. 12: 145)。

20

30

【0198】

分子ライブラリーの合成のための方法の例は、例えば、DeWitt et al., (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 90: 6909; Erb et al., (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 11422; Zuckerman et al., (1994) J. Med. Chem. 37: 2678; Cho et al., (1993) Science 261: 1303; Carrell et al., (1994) Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 33: 2059; Carrell et al. (1994) Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 33: 2061; およびGallop et al. (1994) J. Med. Chem. 37: 1233において、当該分野で見出すことができる。

40

【0199】

化合物のライブラリーは溶液中(例えば、Houghten, 1992, Biotechniques 13: 412-421)、またはビーズ上(Lam, 1991, Nature 354: 82-84)、チップ上(Fodor, 1993, Nature 364: 555-556)、細菌および/または胞子上(Ladner, USP 5, 223, 409)、プラスミド上(Cull et al., 1992, Proc. Natl.

50

Acad. Sci. USA 89:1865-1869) またはファージ上 (Scott and Smith, 1990, Science 249:386-390; Devlin, 1990, Science 249:404-406; Cwirla et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. 87:6378-6382; Felici, 1991, J. Mol. Biol. 222:301-310; Ladner, supra) で提示することができる。

【0200】

一実施形態において、本発明は、マーカーまたはその生物学的に活性な部分の基質である候補または試験化合物をスクリーニングするためのアッセイを提供する。別の実施形態において、本発明は、マーカーまたはその生物学的に活性な部分に結合する候補または試験化合物をスクリーニングするアッセイを提供する。マーカーに直接的に結合する試験化合物の能力の測定は、例えば、マーカーへの化合物の結合が複合体における標識されたマーカー化合物を検出することによって測定できるように、化合物を放射性同位体または酵素標識でカップリングすることによって達成することができる。例えば、化合物（例えば、マーカー基質）は、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、または ^3H で直接的にまたは間接的に標識することができ、放射性同位体は放射性照射の直接的カウンティングによって、あるいはシンチレーションカウンティングによって検出することができる。あるいは、アッセイ成分は、例えば、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼまたはルシフェラーゼで酵素的に標識することができ、酵素標識は適切な基質の産物への変換の測定によって検出することができる。

【0201】

別の実施形態において、本発明は、マーカーまたはその生物学的に活性な部分の活性を調節する候補または試験化合物をスクリーニングするアッセイを提供する。全ての尤度において、マーカーは、限定されるものではないが、ペプチド、タンパク質、ホルモン、補因子および核酸のような1以上の分子とインビボで相互作用することができる。この議論の目的では、そのような細胞および細胞外分子は、本明細書中においては、「結合パートナー」またはマーカー「基質」という。

【0202】

そのようなスクリーニングを容易とするための本発明の1つの必要な実施形態は、その天然のインビボ結合パートナーを同定するためのマーカーの使用である。当業者に公知であるこの方法を達成するのには多くの方法がある。1つの例は、マーカー（結合パートナー）に結合し、またはそれと相互作用し、従って、恐らくはマーカーの天然機能に關与する他のタンパク質を同定するための、ツーハイブリッドアッセイまたは3-ハイブリッドアッセイにおける「エサタンパク質 (bait protein)」としてのマーカータンパク質の使用である（例えば、米国特許第5,283,317号; Zervos et al., 1993, Cell 72:223-232; Mazura et al., 1993, J. Biol. Chem. 268:12046-12054; Bartel et al., 1993, Biotechniques 14:920-924; Iwabuchi et al., 1993, Oncogene 8:1693-1696; Brent WO94/10300参照）。そのようなマーカー結合パートナーは、マーカー、あるいはマーカー媒介性シグナル伝達経路の下流エレメントによるシグナルの伝播にやはり關与するらしい。あるいは、そのようなマーカー結合パートナーもまたマーカーの阻害剤であることが判明し得る。

【0203】

ツーハイブリッド系は、分離可能なDNA-結合および活性化ドメインよりなるほとんどの転写因子のモジュラー性質に基づく。簡単に述べれば、アッセイは2つの異なるDNA構築体を利用する。1つの構築体において、マーカータンパク質をコードする遺伝子は、公知の転写因子（例えば、GAL-4）のDNA結合ドメインをコードする遺伝子に融合している。他の構築体において、同定されていないタンパク質（「プレイ」または「サンプル」）をコードする、DNA配列のライブラリーからの、DNA配列は公知の転写因

子の活性化ドメインをコードする遺伝子に融合している。「エサ」および「プレイ」タンパク質は相互作用でき、インビボにてマーカー依存性複合体を形成し、転写因子のDNA-結合および活性化ドメインは近接される。この近接は、転写因子に対して応答性である転写調節部位に操作可能に連結したレポーター遺伝子（例えば、LacZ）の転写を可能とする。レポーター遺伝子の発現は容易に検出することができ、機能的転写因子を含有する細胞コロニーを単離し、それを用いて、マーカータンパク質と相互作用するタンパク質をコードするクローン化された遺伝子を得ることができる。

【0204】

さらなる実施形態において、アッセイは、マーカーおよびその基質および／または結合パートナーの間の相互作用を調節する（例えば、正にまたは負に影響する）化合物を同定する目的での本発明の使用を介して工夫することができる。そのような化合物は、限定されるものではないが、抗体、ペプチド、ホルモン、オリゴヌクレオチド、核酸およびそのアナログのような分子を含むことができる。そのような化合物は、天然および／または合成化合物の系統的なライブラリーを含めた、いずれかの入手可能な源から得ることもできる。この実施形態で用いられる好ましいアッセイ成分は癌、ここに同定されたマーカー、その公知の結合パートナーおよび／または基質、および試験化合物である。試験化合物はいずれかの源から供給することができる。

【0205】

マーカーおよびその結合パートナーの間の相互作用に干渉する化合物を同定するのに用いられるアッセイ系の基本的な原理は、2つの産物が相互作用し結合し、したがって、複合体を形成するのを可能とするための条件下にて、かつそれに十分な時間の間で、マーカーおよびその結合パートナーを含有する反応混合物を調製することを含む。阻害活性について剤を試験するためには、試験化合物の存在下および非存在下で反応混合物を調製する。試験化合物は反応混合物に最初に含めることができ、あるいはマーカーおよびその結合パートナーの付加に引き続いた時点に加えることができる。コントロール反応混合物を、試験化合物無くして、またはプラセボと共にインキュベートする。マーカーおよびその結合パートナーの間のいずれの複合体の形成の対で検出される。試験化合物を含有する反応混合物における少ない形成、または形成のないことはそうではないが、コントロール反応における複合体の形成は、化合物はマーカーおよびその結合パートナーの相互作用に干渉することを示す。逆に、コントロール反応におけるよりも化合物の存在下におけるより多くの複合体の形成は、化合物がマーカーおよびその結合パートナーの相互作用を増強できることを示す。マーカーのその結合パートナーとの相互作用に干渉する化合物についてのアッセイは、不均一または均一様式で行うことができる。不均一アッセイは、マーカーまたはその結合パートナーいずれかを固相に係留し、次いで、反応の最後に固相に係留された複合体を検出することを含む。均一アッセイにおいては、全反応を液相で行う。いずれのアプローチにおいても、反応体の添加の順序は、試験すべき化合物についての異なる情報を得るために変化させることができる。例えば、（例えば、競合によって）マーカーおよび結合パートナーの間の相互作用に干渉する試験化合物は、試験物質の存在下で反応を行うことによって、すなわち、マーカーおよびその相互作用結合パートナーに先立って、またはそれと同時に試験物質を反応混合物に添加することによって同定することができる。あるいは、予め形成された複合体を破壊する試験化合物、例えば、複合体からの成分の1つを置き換えるより高い結合定数を持つ化合物は、複合体が形成された後に試験化合物を反応混合物に加えることによって試験することができる。種々の様式を以下に簡単に記載する。

【0206】

不均一アッセイ系においては、マーカーまたはその結合パートナーいずれかを固体表面またはマトリックスに係留させ、他方、他の対応する非係留成分を直接的にまたは間接的に標識することができる。現実的には、マイクロタイタープレートはしばしばこのアプローチで利用される。係留された種は、典型的には、実施者によく知られた多数の方法によって、非共有結合的に、または共有結合的に、固定化することができる。非共有結合は、

10

20

30

40

50

しばしば、単に、固体表面をマーカーまたはその結合パートナーの溶液でコーティングし、乾燥することによって、達成することができる。あるいは、係留すべきアッセイ成分に対して特異的な固定化抗体をこの目的で用いることができる。そのような表面は、しばしば、予め調製し、保存することができる。

【0207】

関連する実施形態において、アッセイ成分の一方または両方がマトリックスに係留するのを可能とするドメインを加える融合タンパク質を提供することができる。例えば、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ/マーカー融合タンパク質またはグルタチオン-S-トランスフェラーゼ/結合パートナーをグルタチオンセファロースビーズ (Sigma Chemical St. Louis, MO) またはグルタチオン誘導体化マイクロタイタープレートに吸着させることができ、次いで、これを試験化合物、または試験化合物および非吸着マーカーまたはその結合パートナーいずれかと組み合わせ、混合物を、複合体の形成を行う条件 (例えば、生理学的条件) 下でインキュベートする。インキュベーションの後、ビーズまたはマイクロタイタープレートウェルを洗浄して、いずれの未結合アッセイ成分を除去し、例えば、上記のように、固定化された複合体を直接的にまたは間接的に評価する。あるいは、複合体をマトリックスから解離し、マーカーの結合または活性のレベルを標準的な技術を用いて測定することができる。

【0208】

タンパク質をマトリックスに固定化するための他の技術を、本発明のスクリーニングアッセイで用いることもできる。例えば、ビオチンおよびストレプトアビジンのコンジュゲーションを利用し、マーカーまたはマーカー結合パートナーを固定化することができる。ビオチニル化マーカータンパク質または標的分子は、当該分野で知られた技術 (例えば、ビオチニル化キット、Pierce Chemicals, Rockford, IL) を用いてビオチン-NHS (N-ヒドロキシスクシンイミド) から調製することができ、ストレプトアビジン-被覆96ウェルプレート (Pierce Chemical) のウェル中に固定化することができる。ある実施形態において、タンパク質-固定化表面を予め調製し、貯蔵することができる。

【0209】

アッセイを行うためには、固定化されたアッセイ成分の対応するパートナーを試験化合物と共にまたはそれ無くして被覆された表面に暴露する。反応が完了した後、未反応のアッセイ成分を (例えば、洗浄することによって) 除去し、形成されたいずれの複合体も固体表面に固定化されたままである。固体表面に係留された複合体の検出は、多数の方法で達成することができる。固定化されていない成分を予め標識する場合、表面に固定化された標識の検出は、複合体が形成されたことを示す。固定化されていない成分が予め標識されていない場合、例えば、最初に固定化されていない種に対して特異的な標識された抗体を用い、間接的な標識を用いて、表面に係留された複合体を検出することができる (該抗体は、今度は、例えば、標識された抗Ig抗体で直接的に標識することができるか、あるいは間接的に標識することができる)。反応成分の添加の順番に応じて、複合体形成を調節する (阻害するまたは増強する)。あるいは予め形成された複合体を破壊する試験化合物を検出することができる。

【0210】

本発明の代替的な実施形態において、均一アッセイを用いることができる。これは、典型的には、試験化合物の存在下または非存在下にて液相で行われる、上記のものと同様な反応である。次いで、形成された複合体を未反応成分から分離し、形成された複合体の量を測定する。不均一アッセイ系について述べたように、反応体の液相への添加の順序は、試験化合物が複合体の形成を調節し (阻害し、または増強する)、および予め形成された複合体を破壊することについての情報を得ることができる。

【0211】

そのような均一アッセイにおいて、限定されるものではないが、遠心分離、クロマトグラフィー、電気泳動および免疫沈澱を含めた多数の標準的な技術のいずれかによって、反

10

20

30

40

50

応生成物を未反応アッセイ成分から分離することができる。遠心分離において、それらの異なるサイズおよび密度に基づく複合体の異なる沈降平衡による一連の遠心工程を通じて分子の複合体を複合体化していない分子から分離することができる（例えば、Rivas, G. and Minton, A. P. *Trends Biochem. Sci.* 1993, Aug; 18 (8): 284-7 参照）。標準的なクロマトグラフィー技術を利用して、複合体化した分子を複合体化していない分子から分離することもできる。例えば、ゲル濾過クロマトグラフィーはサイズに基づいて、およびカラム様式における適切なゲル濾過樹脂の利用を介して分子を分離し、例えば、比較的より大きな複合体は比較的より小さな複合体化していない成分から分離することができる。同様に、複合体化していない分子と比較して複合体の比較的異なる電荷特性を利用して、例えば、イオン交換クロマトグラフィー樹脂の使用を介して残存する個々の反応体から複合体を別々に分離することができる。そのような樹脂およびクロマトグラフィー技術は当業者に良く知られている（例えば、Heegaard, 1998. *J Mol. Recognit.* 11: 141-148; Hage and Tweed, 1997, *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.*, 699: 499-525 参照）。ゲル電気泳動を使用して、複合体化した分子を未結合種から分離することもできる（例えば、Ausubel et al. (eds.), *In: Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley & Sons, New York, 1999 参照）。この技術においては、例えば、タンパク質または核酸複合体はサイズまたは電荷に基づいて分離する。電気泳動プロセスの間に結合相互作用を維持するには、還元剤の非存在下における非変性ゲルが典型的には好ましいが、特定の相互作用に適した条件は当業者によく知られているであろう。免疫沈澱は、溶液からのタンパク質-タンパク質複合体の単離で利用される別の普通の技術である（例えば、Ausubel et al. (eds.), *In: Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley & Sons, New York, 1999 参照）。この技術においては、結合分子の1つに対して特異的な抗体への全てのタンパク質の結合は、遠心によって容易に収集できるポリマービーズに抗体を結合することによって、溶液から沈殿させる。結合したアッセイ成分は（複合体におけるタンパク質-タンパク質相互作用を乱さない当該分野で良く知られた特定のタンパク質事象または他の技術を介して）ビーズから放出され、今度は、対応して異なる相互作用アッセイ成分に特異的な抗体を利用して、第2の免疫沈澱工程を行う。このようにして、形成された複合体のみがビーズに結合したままである。試験化合物の存在下および非存在下両方における複合体形成での変動を比較し、したがって、マーカーおよびその結合パートナーの間の相互作用を調節する化合物の能力についての情報を提供することができる。

10

20

30

【0212】

また、さらなるサンプル操作なくしての均一または不均一アッセイ系におけるマーカーおよびその天然結合パートナーおよび／または試験化合物の間の相互作用の直接的検出方法もまた本発明の範囲内のものである。例えば、蛍光エネルギー移動の技術を利用することができる（例えば、Lakowicz et al. 米国特許第5,631,169号; Stavrianopoulos et al., 米国特許第4,868,103号参照）。一般に、この技術は、その放出された蛍光エネルギーが、今度は、吸収されたエネルギーのため、蛍光を発することができる第2の「アクセプター」分子（例えば、マーカーまたは試験化合物）上の蛍光標識によって、吸収される量に、第1の「ドナー」分子（例えば、マーカーまたは試験化合物）へのフルオロフォア標識の添加を含む。あるいは、「ドナー」タンパク質分子は、トリプトファン残基の天然蛍光エネルギーを単に利用することができる。「アクセプター」分子標識が「ドナー」のそれと識別できるように、異なる波長の光を発する標識を選択する。標識の間のエネルギー移動の効率は分子を隔てる距離に関連するので、分子の間の空間的關係を評価することができる。結合が分子の間で起こる状況下で、アッセイにおける「アクセプター」分子標識の蛍光発光は最大となるべきである。FET結合事象は、便宜には、（例えば、フルオリメーターを用いて）当該分野

40

50

で良く知られた標準的なフルオロメトリー検出手段を介して、測定することができる。予め、形成された複合体における種の1つの沈殿を増強し、または妨げる試験物質の結果、バックグラウンドのそれとは変化したシグナルが生じる。このようにして、マーカーおよびその結合パートナーの間の相互作用を調節する試験物質を制御されたアッセイにおいて同定することができる。

【0213】

別の実施形態において、マーカー発現のモジュレータが、細胞を候補化合物と接触させ、細胞中のマーカーに対応するmRNAまたはタンパク質を測定する方法で同定される。候補化合物の存在下におけるmRNAまたはタンパク質の発現のレベルを、候補化合物の非存在下におけるmRNAまたはタンパク質の発現のレベルと比較する。次いで、候補化合物を、この比較に基づいてマーカー発現のモジュレータとして、同定することができる。例えば、その非存在下におけるよりも、候補化合物の存在下において、マーカーmRNAまたはタンパク質の発現がより大きい（統計学的に有意により大きい）場合、候補化合物はマーカーmRNAまたはタンパク質発現ステイミュレーターとして同定される。逆に、その不存在におけるよりも候補化合物の存在下において、マーカーmRNAまたはタンパク質の発現が低い（統計学的に有意に低い）場合、候補化合物はマーカーmRNAまたはタンパク質発現の阻害剤として同定される。細胞におけるマーカーmRNAまたはタンパク質発現のレベルは、マーカーmRNAまたはタンパク質を検出するための本明細書中に記載された方法によって測定することができる。

【0214】

別の局面において、本発明は本明細書中に記載された2以上のアッセイの組合せに関する。例えば、調節剤は、細胞ベースのまたは無細胞アッセイを用いて同定することができる。マーカータンパク質の活性を調節する剤の能力は、例えば、癌、細胞形質転換および／または腫瘍形成についての全動物モデルにおいて、インビボでさらに確認することができる。膀胱癌についての動物モデルは、その内容をここに引用して明示的に援用する、例えば、Aguirre A. et al. (2003) *Gnes Dev.* Dec 15; 17 (24): 3112-26に記載されている。癌のさらなる動物ベースのモデルは当該分野で周知であり (Animal Models of Cancer Predisposition Syndromes, Hiai H and Hino, O (eds.) 1999, *Progress in Experimental Tumor Research*, Vol. 35; Clarke AR *Carcinogenesis* (2000) 21: 435-41)、例えば、発癌物質誘導腫瘍 (Rithidcch, K et al. *Mutat Res* (1999) 428: 33-39; Miller, ML et al. *Environ Mol Mutagen* (2000) 35: 319-327)、動物への腫瘍細胞の注入および／または移植、ならびに成長調節遺伝子、例えば、癌遺伝子 (例えば、ras) (Arbeit, JM et al. *Am J Pathol* (1993) 142: 1187-1197; Sinn, E et al. *Cell* (1987) 49: 465-475; Thorgeirsson, SS et al. *Toxicol Lett* (2000) 112-113: 553-555) および腫瘍サプレッサー遺伝子 (例えば、p53) (Vooijs, M et al. *Oncogene* (1999) 18: 5293-5303; Clark AR *Cancer Metast Rev* (1995) 14: 125-148; Kumar, TR et al. *J Intern Med* (1995) 238: 233-238; Donehower, LA et al. (1992) *Nature* 356 215-221) において突然変異を担う動物を含む。さらに、実験モデル系が、例えば、卵巣癌 (Hamilton, TC et al. *Semin Oncol* (1984) 11: 285-298; Rahman, NA et al. *Mol Cell Endocrinol* (1998) 145: 167-174; Beamer, WG et al. *Toxicol Pathol* (1998) 26: 704-710)、胃癌 (Thompson, J et al. *Int J Cancer* (2000) 86: 863-869; Fodde, R

10

20

30

40

50

et al. Cytogenet Cell Genet (1999) 86:105-111)、乳癌 (Li, M et al. Oncogene (2000) 19:1010-1019; Green, J E et al. Oncogene (2000) 19:1020-1027)、メラノーマ (Satyamoorthy, K et al. Cancer Metast Rev (1999) 18:401-405)、および前立腺癌 (Shirai, T et al. Mutat Res (2000) 462:219-226; Bostwick, D G et al. Prostate (2000) 43:286-294) の研究で利用可能である。例えば、Chin L. et al. (1999) Nature 400 (6743):468-72に記載された動物モデルを本発明の方法で用いることもできる。

10

【0215】

本発明は、さらに、上記のスクリーニングアッセイによって同定される新規な剤に関連する。従って、適切な動物モデルにおいて本明細書中で記載したように同定された剤をさらに用いるのは本発明の範囲内のものである。例えば、本明細書中に記載したように同定された剤 (例えば、マーカー調節剤、低分子、アンチセンスマーカー核酸分子、リボザイム、マーカー特異的抗体、またはそのフラグメント、マーカータンパク質、マーカー核酸分子、RNA干渉因子、例えば、本発明のマーカーを標的とする siRNA 分子、またはマーカー結合パートナー) を動物モデルで用いて、そのような剤での処理の効力、毒性、または副作用を測定することができる。あるいは、本明細書中で記載されたように同定された剤を動物モデルで用いて、そのような剤の作用メカニズムを決定することができる。さらに、本発明は、本明細書中に記載した処理用の前記スクリーニングアッセイによって同定される新規な剤の使用に関する。

20

【0216】

(V I I I . 薬学的組成物)

本発明のマーカーに対応する (本明細書中においては、「活性化合物」または「化合物」ともいう) 低分子、ペプチド、ペプチド、ペプチド模倣物、ポリペプチド、RNA干渉因子、例えば、siRNA 分子、抗体、リボザイム、およびアンチセンスオリゴヌクレオチドを、投与に適した薬学的組成物に一体化させることができる。そのような組成物は、典型的には、低分子、ペプチド、ペプチド、ペプチド模倣物、ポリペプチド、RNA干渉因子、例えば、siRNA 分子、抗体、リボザイム、またはアンチセンスオリゴヌクレオチドおよび薬学的に受容可能な担体を含む。本明細書中で使用される場合、用語「薬学的に受容可能な担体」は医薬投与に適合するいずれかのおよび全ての溶媒、分散媒体、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張および吸収遅延剤等を含むことを意図する。医薬上活性な物質のためのそのような媒体および剤の使用は当該分野で良く知られている。いずれかの慣用的媒体または剤が活性化合物に適合しないのを除いては、組成物におけるその使用が考えられる。補充的な活性化合物も組成物に配合することもできる。

30

【0217】

本発明は、本発明のマーカーに対応するポリペプチドまたは核酸の発現または活性を調節するための薬学的組成物を調製する方法を含む。そのような方法は、本発明のマーカーに対応するポリペプチドまたは核酸の発現または活性を調節する剤と共に薬学的に受容可能な担体を処方することを含む。そのような組成物はさらにさらなる活性な剤を含む。したがって、本発明は、さらに、本発明のマーカーに対応するポリペプチドまたは核酸の発現または活性を調節する剤および 1 以上のさらなる活性化合物と共に薬学的に受容可能な担体を処方することによって薬学的組成物を調製する方法を含む。

40

【0218】

低分子剤およびタンパク質またはポリペプチド剤の適切な用量は、通常の技量の医師、獣医、または研究者の知識内の多数の因子に依存することは理解される。これらの剤の用量は、例えば、治療すべき被験体またはサンプルの同一性およびサイズの状態に依存し、さらに、組成物を投与すべき経路、適用可能であれば、および実施者が本発明の核酸分子またはポリペプチドに対して有することを望む効果に依存して変化するであろう。低分子

50

は、限定されるものではないが、ペプチド、ペプチド模倣物、アミノ酸、アミノ酸アナログ、ポリヌクレオチド、ポリヌクレオチドアナログ、ヌクレオチド、ヌクレオチドアナログ、モル当たり約10,000グラム未満の分子量を有する（ヘテロ有機および有機金属化合物を含めた）有機または無機化合物、モル当たり約5,000グラム未満の分子量を有する有機または無機化合物、モル当たり約1,000グラム未満の分子量を有する有機または無機化合物、モル当たり約500グラム未満の分子量を有する有機または無機化合物、およびそのような化合物の塩、エステル、および他の薬学的に受容可能な形態を含む。

【0219】

低分子の例示的な用量は被験体またはサンプル重量のキログラム当たりミリグラムまたはマイクログラムの量（例えば、キログラム当たり約1マイクログラムないしキログラム当たり約500ミリグラム、キログラム当たり約100マイクログラムないしキログラム当たり約5ミリグラム、またはキログラム当たり約1マイクログラム当たり、キログラム当たり約50マイクログラム）を含む。

【0220】

本明細書中で定義するように、RNA干渉因子、例えば、siRNAの治療上有効量（すなわち、有効用量）は約0.001ないし3,000mg/kg体重、好ましくは約0.01ないし2500mg/kg体重、より好ましくは約0.1ないし2000、約0.1ないし1000mg/kg体重、0.1ないし500mg/kg体重、0.1ないし100mg/kg体重、0.1ないし50mg/kg体重、0.1ないし25mg/kg体重、なおより好ましくは約1ないし10mg/kg、2ないし9mg/kg、3ないし8mg/kg、4ないし7mg/kg、または5ないし6mg/kg体重の範囲である。治療上有効量のRNA干渉因子での被験体の治療は、単一治療を含むことができ、あるいは好ましくは一連の治療を含むことができる。好ましい例において、被験体を、約1ないし10週間の間、好ましくは2ないし8週間の間、より好ましくは約3ないし7週間の間、なおより好ましくは約4、5または6週間の間、1週間当たり1回、約0.1ないし20mg/kg体重の間の範囲のRNA干渉因子で治療する。

【0221】

タンパク質またはポリペプチドの例示的な用量は被験体またはサンプル重量のキログラム当たりグラム、ミリグラムまたはマイクログラムの量（例えば、キログラム当たり約1マイクログラムないしキログラム当たり約5グラム、キログラム当たり約100マイクログラムないしキログラム当たり約500ミリグラム、またはキログラム当たり約1ミリグラムないしキログラム当たり約50ミリグラム）を含む。さらに、これらの剤の1つの適切な用量は、調節すべき発現または活性に関する剤の効力に依存することは理解される。そのような適切な用量は、本明細書中に記載されたアッセイを用いて決定することができる。これらの剤の1以上を動物（例えば、ヒト）に投与して、本発明のポリペプチドまたは核酸の発現または活性を調節する場合、医師、獣医、または研究者は、例えば、最初は比較的低用量を処方し、引き続いて、適切な応答が得られるまで用量を増大させる。加えて、特定の動物被験体についての具体的な用量レベルは使用する特定の剤の活性、被験体の年齢、体重、全般的健康、性別、およびダイエット、投与の時間、投与経路、排出速度、および薬物の組合せ、ならびに調節すべき発現または活性の程度を含めた種々の因子に依存するであろうことは理解される。

【0222】

本発明の薬学的組成物は、その意図された投与経路に適合するように処方される。投与経路の例は非経口、例えば、静脈内、皮内、皮下、経口（例えば、吸入）、経皮（局所）、経粘膜および直腸投与を含む。非経口、皮内、または皮下適用で用いる溶液または懸濁液は以下の成分を含むことができる：注射用水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒のような滅菌希釈剤；ベンジルアルコールまたはメチルパラベンのような抗菌剤；アスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウムのような抗酸化剤；エチレンジアミン—四酢酸のようなキレート化剤；酢

酸塩、クエン酸塩、またはリン酸塩のような緩衝液、および塩化ナトリウムまたはデキストロースのような等張性の調整用の剤。pHは塩酸または水酸化ナトリウムのような酸または塩基で調製することができる。非経口製剤はガラスまたはプラスチックで作成されたアンプル、ディスポーザブルシリンジまたは複数用量バイアルに入れることができる。

【0223】

注射用途に適した薬学的組成物は滅菌注射溶液または分散液の即席製剤用の滅菌水性溶液（水溶性の場合）または分散液および滅菌粉末を含む。静脈内投与では、適切な担体は生理食塩水、静菌水、Cremophor EL（BASF；Parshippany，NJ）またはリン酸緩衝化生理食塩水（PBS）を含む。全ての場合、組成物は滅菌されていなければならない、容易なシリンジ性が存在する程度まで流体であるべきである。それは製造および貯蔵の条件下で安定でなければならない、細菌および真菌のような微生物の汚染作用に対して保存されなければならない。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコールおよび液体ポリエチレングリコール等）、およびその適切な混合物を含有する溶媒または分散媒体であり得る。適切な流動性が、例えば、レシチンのようなコーティングの使用によって、分散液の場合には必要な粒子サイズの維持によって、および界面活性剤の使用によって維持することができる。微生物の作用の防止は、種々の抗菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロザール等によって達成することができる。多くの場合、等張剤、例えば、糖、マンニトール、ソルビトールのようなポリアルコール、または塩化ナトリウムを組成物に含ませるのが好ましいであろう。注射組成物の延長された吸収は、吸収を遅延させる剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを組成物に含めることによって実現することができる。

【0224】

滅菌注射溶液は、必要な量の活性化化合物（例えば、ポリペプチドまたは抗体）を、前記で例示した成分の1つまたは組合せと共に適切な溶媒に配合し、必要であれば、引き続いて濾過滅菌することによって調製することができる。一般に、分散液は、基本的分散媒体を含有する滅菌ビヒクルに活性化化合物を配合し、次いで、前記で例示したもののからの必要な他の成分を配合することによって調製される。滅菌注射溶液の調製用の滅菌粉末の場合には、調製の好ましい方法は、その従前の滅菌－濾過溶液から有効成分＋いずれかのさらなる所望の成分の粉末を生じる真空乾燥および凍結乾燥である。

【0225】

経口組成物は、一般には、不活性な希釈剤または食用担体を含む。それらはゼラチンカプセルに包み、または錠剤に圧縮することができる。経口治療投与の目的では、活性化化合物を賦形剤と共に配合し、錠剤、トローチまたはカプセルの形態で用いることができる。経口組成物はマウスウォッシュとして用いるための流体担体を用いて調製することもでき、ここで、流体担体中の化合物は経口で適用し、口の中で転がし、吐き出し、または嚥下する。

【0226】

薬学的に適合する結合剤、および／またはアジュバント物質を組成物の一部として含めることができる。錠剤、丸剤、カプセル剤、トローチ等は以下の成分、または同様な性質の化合物を含有することができる：マイクロクリスタリンセルロース、トラガカントガムまたはゼラチンのようなバインダー；澱粉またはラクトースのような賦形剤、アルギン酸、Primogel、またはトウモロコシ澱粉のような崩壊剤；ステアリン酸マグネシウム、またはSterotesのような滑沢剤；コロイド状に酸化ケイ素のようなグライダント；スクロースまたはサッカリンのような甘味剤；またはペパーミント、サリチル酸メチルまたはオレンジフレーバーのようなフレーバー剤。

【0227】

吸入による投与のためには、化合物は、適切なプロペラント、例えば、二酸化炭素のようなガスを含有する圧縮容器またはディスペンサー、あるいはネブライザーからエアロゾルスプレイの形態で送達される。

【0228】

全身投与は経粘膜または経皮手段によることもできる。経粘膜または経皮投与では、浸透すべきバリアーに適した浸透剤を処方で用いる。そのような浸透剤は一般には当該分野で知られており、例えば、経粘膜投与では、界面活性剤、胆汁塩およびフシジン酸誘導体を含む。経粘膜投与は鼻スプレーまたは坐薬の使用を介して達成することができる。経皮投与では、活性化合物は当該分野で一般的に知られた軟膏、膏薬、ゲル、またはクリームに処方される。

【0229】

化合物は（例えば、カカオバターおよび他のグリセライドのような慣用的な坐薬基剤で）坐薬、または直腸送達のための停留浣腸の形態で調製することもできる。

10

【0230】

一実施形態において、活性化合物は、インプラントおよびマイクロカプセル化送達形を含めた制御放出処方のような身体からの迅速な排出に対して化合物を保護するであろう担体で調製される。エチレンビニルアセテート、ポリアンヒドリド、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステルおよびポリ乳酸のような生分解性の生体適合性ポリマーを用いることができる。そのような処方の調製方法は当業者に明らかであろう。該物質は Alza Corporation および Nova Pharmaceuticals, Inc. から商業的に入手することもできる。（その中にまたはその上に取り込まれたモノクローナル抗体を有するリボソームを含めた）リボソーム懸濁液を、薬学的に受容可能な担体として用いることもできる。これらは、例えば、米国特許第 4, 522, 811 号に記載されたように当業者に知られた方法に従って調製することができる。

20

【0231】

投与の容易性および用量の均一性のために、経口または非経口組成物を投与単位形態に処方するのが特に有意である。本明細書中に用いる投与単位形態は治療すべき被験体のための単位用量として適した物理的に区別される単位をいい、各単位は、必要な医薬担体と組み合わせて所望の治療効果を生じるように計算された所定量の活性化合物を含有する。本発明の投与単位形態のための仕様は、活性化合物のユニークな特徴および達成すべき特定の治療効果、および個体の治療のためのそのような活性化合物を調合する当該分野で固有の制限に支持され、かつ直接的にそれに依存する。

【0232】

抗体では、好ましい用量は 0.1 mg/kg ないし 100 mg/kg 体重（一般に 10 mg/kg ないし 20 mg/kg ）である。もし抗体が脳中で作用するならば、 50 mg/kg ないし 100 mg/kg の用量は通常適切である。一般には、部分的にヒト抗体および十分にヒト抗体は、他の抗体よりもヒト身体内でより長い半減期を有する。したがって、より低い用量およびより低い頻度の投与がしばしば可能である。脂質化のような修飾を用いて、抗体を安定化し、および（例えば、上皮への）摂取および浸透を増強させることができる。抗体の脂質化のための方法は Cruikshank et al. (1997) J. Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology 14:193 によって記載されている。

30

40

【0233】

本発明のマーカーに対応する核酸分子はベクターに挿入し、遺伝子治療ベクターとして用いることができる。遺伝子治療ベクターは、例えば、静脈内注射、局所投与（米国特許第 5, 328, 470 号）によって、あるいは定位注射（例えば、Chen et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3054-3057）によって被験体に送達することができる。遺伝子治療ベクターの医薬製剤は許容される希釈剤中に遺伝子治療ベクターを含むことができ、あるいは遺伝子送達ビヒクルが埋め込まれる遅延放出マトリックスを含むことができる。あるいは、完全な遺伝子送達ベクターが組換え細胞、例えば、レトロウイルスベクターから無傷で製造できる場合、医薬製剤は遺伝子送達系を生じる 1 以上の細胞を含むことができる。

50

【0234】

RNA干渉因子、例えば、本発明の方法で用いるsiRNAをベクターに挿入することができる。これらの構築体は、例えば、静脈内注射、局所投与（米国特許第5,328,470号参照）によって、定位注射（例えば、Chen et al., (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3054-3-57）によって被験体に送達することができる。ベクターの医薬製剤は許容される希釈剤中にRNA干渉因子、例えば、siRNAベクターを含むことができるか、あるいは遺伝子送達ビヒクルを埋め込む遅延放出マトリックスを含むことができる。あるいは、完全な遺伝子送達ベクターが組換え細胞、例えば、レトロウイルスベクターから無傷で生産できる場合、医薬製剤は遺伝子送達系を生じる1以上の細胞を含むことができる。

10

【0235】

薬学的組成物は、投与のための指示書と共に容器、バック、またはディスペンサーに含めることができる。

【0236】

(IX. 予測医学)

本発明は、診断アッセイ、予後アッセイ、薬理ゲノミクス、およびモニタリング臨床試験を予後（予測）目的で用い、それによって、予防的に個体を治療する予測医学の分野にも関する。従って、本発明の一面は、本発明の1以上のマーカーに対応するポリペプチドまたは核酸の量、構造、および／または活性を測定して、個体が癌を発症する危険性があるか否かを判断するための診断アッセイに関する。そのようなアッセイは予後または予測目的で用いて、それによって、癌の開始に先立って個体を予防的に処置することができる。

20

【0237】

本発明のなお別の局面は、臨床試験における本発明のマーカーの量、構造、および／または活性に対する剤（例えば、癌を阻害する、あるいはいずれかの他の障害を治療または予防して{すなわち、そのような治療が有することができるいずれかの発癌効果を理解する}ために投与される薬物または他の化合物）の影響をモニタリングすることに関する。これらおよび他の剤は以下のセクションでさらに詳細に記載する。

【0238】

(A. 診断アッセイ)

(1. コピー数の検出のための方法)

特定のマーカーまたは染色体領域（例えば、MCR）のコピー数を評価するための方法は、当業者に良く知られている。染色体の獲得または喪失の存在または不存在は、単に、本明細書中で同定される領域またはマーカーのコピー数の測定によって評価することができる。

30

【0239】

サンプル中のコーディング核酸のコピー数を評価するための方法は、限定されるものではないが、ハイブリダイゼーションベースのアッセイを含む。例えば、サンプル中のコーディング核酸のコピー数を評価する1つの方法はサザンブロットを含む。サザンブロットにおいて、（典型的には、フラグメント化され、および電気泳動ゲルで分離された）ゲノムDNAを標的領域に特異的なプローブにハイブリダイズさせる。標的領域についてのプローブからのハイブリダイゼーションシグナルの強度を、正常なゲノムDNA（例えば、同一または関連細胞、組織、器官等の非増幅部分）の分析からのコントロールプローブシグナルとの比較により、標的核酸の相対的コピー数の見積もりが提供される。

40

【0240】

コピー数を測定するための別の手段はインサイチュハイブリダイゼーションである（例えば、Angerer (1987) Meth. Enzymol 152:649）。一般に、インサイチュハイブリダイゼーションは以下の工程：（1）分析すべき組織または生物学的構造の固定；（2）標的DNAの接近性を増加させ、および非特異的結合を減少させるための生物学的構造のプレハイブリダイゼーション処理；（3）生物学的構造または

50

組織中の核酸への核酸の混合物のハイブリダイゼーション；（４）ハイブリダイゼーションにおいて結合しなかった核酸フラグメントを除去するためのポストハイブリダイゼーション、および（５）ハイブリダイズした核酸フラグメントの検出を含む。これらの工程の各々で用いる試薬、および使用のための条件は特定の適用に依存して変化する。

【０２４１】

好ましいハイブリダイゼーションベースのアッセイは、限定されるものではないが、サザンブロットまたはインサイチュハイブリダイゼーション（例えば、FISH）のような伝統的な「直接的プローブ」方法、および比較ゲノムハイブリダイゼーション（CGH、例えば、cDNAベースのまたはオリゴヌクレオチドベースのCGHのような「比較プローブ」方法を含む。該方法は、限定されるものではないが、基質（例えば、膜またはガラス）結合方法またはアレイベースのアプローチを含めた種々の様式で用いることができる。

10

【０２４２】

典型的なインサイチュハイブリダイゼーションアッセイにおいて、細胞を固体支持体、典型的にはスライドガラスに固定する。もし核酸をプローブすべきであれば、細胞を典型的には熱またはアルカリで変性する。次いで、細胞を中温においてハイブリダイゼーション溶液と接触させて、タンパク質をコードする核酸配列に特異的な標識プローブのアニールリングを可能とする。次いで、標的（例えば、細胞）を、適切なシグナル対ノイズ比率が得られるまで所定のストリンジェンシーにおいて、または増大させるストリンジェンシーにおいて典型的には洗浄する。

20

【０２４３】

プローブは、例えば、放射性同位体または蛍光レポーターで標識される。好ましいプローブは、ストリンジェントな条件下で標的核酸と特異的にハイブリダイズするのに十分長い。好ましいサイズの範囲は約２００塩基または約１０００塩基である。

【０２４４】

いくつかの適用において、反復配列のハイブリダイゼーションの能力をブロックする必要がある。したがって、いくつかの実施形態において、tRNA、ヒトゲノムDNA、またはCot-I DNAを用いて非特異的ハイブリダイゼーションをブロックする。

【０２４５】

CGH方法においては、（例えば、サンプル、例えば、可能な腫瘍からの）核酸の第１のコレクションを第１の標識で標識し、他方、核酸（例えば、健康な細胞／組織からのコントロール）の第２のコレクションを第２の標識で標識する。核酸のハイブリダイゼーションの比率は、アレイ中の各繊維への２つの（第１および第２の）標識の比率によって決定される。染色体の欠失または増加がある場合、２つの標識からのシグナルの比率の差を検出し、比率はコピー数の尺度を提供するであろう。アレイベースのCGHは（アレイ上のプローブへの競合ハイブリダイゼーションによる比率を生じるであろう、２つの異なる色素でのコントロールおよび可能な腫瘍サンプルを標識し、ハイブリダイゼーションに先立ってそれらを混合するのとは反対に）単一色標識を行うこともできる。単一色CGHにおいては、コントロールを標識し、１つのアレイにハイブリダイズさせ、絶対シグナルを読み、可能な腫瘍サンプルを標識し、（同一内容にて）第２のアレイにハイブリダイズさせ、絶対シグナルを読む。コピー数の差は２つのアレイからの絶対シグナルに基づいて計算する。本発明の方法で用いるのに適したハイブリダイゼーションプロトコルは、例えば、Albertson (1984) EMBO J. 3:1227-1234; Pinkel (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:9138-9142; EPO公開番号430, 402; Methods in Molecular Biology, Vol. 33: In Situ Hybridization Protocols, Choo, ed., Humana Press, Totowa, N. J. (1994) 等に記載されている。一実施形態において、Pinkel et al. (1998) Nature Genetics 20:207-211、またはKallioniemi (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:532

30

40

50

1-5325 (1992) のハイブリダイゼーションプロトコルを用いる。

【0246】

本発明の方法はアレイベースのハイブリダイゼーション様式に特によく適合する。アレイベースのCGHは、その内容をここに引用して援用する米国特許第6,455,258号に記載されている。

【0247】

さらに別の実施形態において、増幅ベースのアッセイを用いて、コピー数を測定する。そのような増幅ベースのアッセイにおいて、核酸配列は増幅反応（例えば、ポリメラーゼ鎖反応（PCR））において鋳型として作用する。定量的な増幅において、増幅産物の量は、元のサンプル中の鋳型の量に比例するであろう。適切なコントロール、例えば、健康な組織に対する比較はコピー数の尺度を提供する。

【0248】

「定量的」増幅の方法は当業者に良く知られている。例えば、定量的PCRは、同一プライマーを用いて既知量のコントロール配列を同時に共増幅することを含む。これは、PCR反応をキャリブレートするのに用いることができる内部標準を提供する。定量的PCRについての詳細なプロトコルは、Inniet al. (1990) PCR Protocols, Academic Press, Inc. N. Y. に提供される。定量的PCR分析を用いるマイクロサテライト遺伝子座におけるDNAコピー数の測定は、Ginzonger, et al. (2000) Cancer Research 60:5405-5409に記載されている。遺伝子についての公知の核酸配列は、当業者が、ルーチ的にプライマーを選択して、遺伝子のいずれかの部分を増幅するのを可能とするのに十分である。発蛍光性定量的PCRを本発明の方法で用いることもできる。発蛍光定量PCR定量は蛍光シグナル、例えば、TaqMan and sybrグリーンの量に基づく。

【0249】

他の適切な増幅方法は、限定されるものではないが、リガーゼ鎖反応（LCR）（Wu and Wallace (1989) Genomics 4:560, Landegren et al. (1988) Science 241:1077, および Barringer et al. (1990) Gene 89:117 参照）、転写増幅（Kwoh et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173）、自己一維持配列複製（Guatelli et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874）、ドットPCR、およびリンカーアダプターPCR等を含む。

【0250】

ヘテロ接合性（LOH）マッピングの喪失（Wang Z. C. et al. (2004) Cancer Res 64(1):64-71; Seymour, A. B., et al. (1994) Cancer Res 54, 2761-4; Hahn, S. A., et al. (1995) Cancer Res 55, 4670-5; Kimura, M., et al. (1996) Genes Chromosomes Cancer 17, 88-93）を用いて、増幅または欠失の領域を同定することもできる。

【0251】

（2. 遺伝子発現の検出のための方法）

マーカー発現レベルは、癌、または癌を発症する危険性の診断のための方法としてアッセイすることもできる。本発明のマーカーの発現は、転写された分子またはタンパク質の発現を検出するための広く種々のよく知られた方法のいずれかによって評価することができる。そのような方法の非限定的例は、分泌された、細胞一表面、細胞質または核タンパク質の検出のための免疫学的方法、タンパク質精製方法、タンパク質機能または活性アッセイ、核酸ハイブリダイゼーション方法、核酸逆転写方法、および核酸増幅方法を含む。

【0252】

好ましい実施形態において、特定の遺伝子の活性は、遺伝子転写体（例えば、mRNA

10

20

30

40

50

）の測定によって、転写されたタンパク質の量の測定によって、または遺伝子産物活性によって特徴付けられる。マーカー発現は、そのいずれも標準的技術を用いて測定することができる、mRNAレベル、タンパク質レベル、またはタンパク質活性を検出することを含めた種々の方法でモニタリングすることができる。検出は遺伝子発現のレベルの定量を含むことができ（例えば、ゲノムDNA、cDNA、mRNA、タンパク質、または酵素活性）、あるいは特にコントロールレベルとの比較において、遺伝子発現のレベルの定量的評価であり得る。検出すべきレベルのタイプは文脈より明瞭であろう。

【0253】

核酸ハイブリダイゼーション技術を用いて遺伝子転写体（mRNA、またはそれから作成されたcDNA）を検出および／または定量する方法は当業者に知られている（Sambrook et al. supra参照）。例えば、cDNAの存在、不存在、または量を評価するための1つの方法は、上記のサザン移動を含む。簡単に述べれば、（酸グアニジニウムフェノールクロロホルム抽出方法、Sambrook et al. , supraを用いて）mRNAを単離し、逆転写して、cDNAを得る。次いで、cDNAを所望により消化し、緩衝液中にてゲル上で泳動させ、膜に移動させる。次いで、標的cDNAに特異的な核酸プローブを用いてハイブリダイゼーションを行う。

【0254】

そのような診断および予後アッセイの一般的原理は、適切な条件下にて、かつマーカーおよびプローブが相互作用するのに可能とする十分な間、マーカーおよびプローブを含有することができるサンプルまたは反応混合物を調製し、したがって、取り出すことができ、および／または反応混合物において検出することができる複合体を形成することを含む。これらのアッセイは種々の方法で行うことができる。

【0255】

例えば、そのようなアッセイを行う1つの方法は、マーカーまたはプローブを、基質ともいわれる固相支持体に係留させ、次いで、反応の最後に固相に係留された標的マーカー／プローブ複合体を検出することを含む。そのような方法の一実施形態において、マーカーの存在および／または濃度についてアッセイすべき被験体からのサンプルを担体または固相支持体に係留させることができる。別の実施形態において、逆の状況が可能であり、そこでは、プローブを固相に係留させることができ、被験体からのサンプルをアッセイの係留していない成分として反応させることもできる。

【0256】

固相へアッセイ成分を係留させるための多くの確立された方法がある。これらは、限定されるものではないが、ビオチンおよびストレプトアビジンのコンジュゲーションを介して固定化されるマーカーまたはプローブ分子を含む。そのようなビオチニル化アッセイ成分は当該分野で知られた技術（例えば、ビオチニル化キット、Pierce Chemicals, Rockford, IL）を用いてビオチン-NHS（N-ヒドロキシスクシンイミド）から調製し、ストレプトアビジン-被覆96ウェルプレート（Pierce Chemical）のウェルにおいて固定化することができる。ある実施形態において、固定化されたアッセイ成分の表面は予め調製し、貯蔵することができる。

【0257】

そのようなアッセイのための他の適切な担体または固相支持体は、マーカーまたはプローブが属する分子のクラスに結合することができるいずれの材料も含む。よく知られた支持体または担体は、限定されるものではないが、ガラス、ポリスチレン、ナイロン、ポリプロピレン、ナイロン、ポリエチレン、デキストラン、アミラーゼ、天然および修飾されたセルロース、ポリアクリルアミド、斑れい岩、およびマグネタイトを含む。

【0258】

上記のアプローチでアッセイを行うためには、固定化されていない成分を、第2の成分に係留されている固相に加える。反応が完了した後、いずれの形成された複合体も固相に固定化されたままでいるような条件下で、未複合体化成分を（例えば、洗浄によって）除去することができる。固相に係留したマーカー／プローブ複合体の検出は、本明細書中に

概説した多数の方法で達成することができる。

【0259】

好ましい実施形態において、プローブは、それが係留していないアッセイ成分である場合、アッセイの検出および読み出しの目的で、直接的にまたは間接的に、本明細書中で議論し、かつ当業者に良く知られた検出可能な標識で標識することができる。

【0260】

また、例えば、蛍光エネルギー移動の技術を利用することによって、いずれかの成分（マーカーまたはプローブ）をさらに操作または標識することなく、マーカー／プローブ複合体形成を直接的に検出することも可能である（例えば、Lakowicz et al., 米国特許第5,631,169号；Stavrianopoulos, et al., 米国特許第4,868,103号参照）。第1の「ドナー」分子上のフルオロフォア標識は、適切な波長の入射光での励起に先立って、その放射された蛍光エネルギーが第2の「アクセプター」分子上の蛍光標識によって吸収され、それは、今度は吸収されたエネルギーのため蛍光を発することができるように選択される。あるいは、「ドナー」タンパク質分子は、トリプトファン残基の天然蛍光エネルギーを単に利用することができる。「アクセプター」分子標識が「ドナー」のそれとは区別できるように、異なる波長の光を発する標識を選択する。標識の間のエネルギー移動の効率は分子を隔てる距離に関連するので、分子の間の空間的な関係の評価することができる。分子の間に結合が起こる状況においては、アッセイにおける「アクセプター」分子レベルの蛍光発光は最大とすべきである。FET結合事象は、（例えば、フルオリメーターを用いて）当該分野で良く知られた標準的なフルオロメトリー検出手段を介して便宜には測定することができる。

【0261】

別の実施形態において、マーカーを認識するプローブの能力の測定は、リアルタイム生体分子相互作用分析（BIA）のような技術を利用することによって、いずれかのアッセイ成分（プローブまたはマーカー）を標識することなく達成することができる（例えば、Sjolander, S. and Urbaniczky, C., 1991, Anal. Chem. 63:2338-2345およびSzabo et al., 1995, Curr. Opin. Struct. Biol. 5:699-705参照）。本明細書中で用いるように「BIA」または「表面プラズモン共鳴」は、相互作用体（例えば、BIACore）のいずれも標識することなく、リアルタイムで生物特異的相互作用を研究するための技術である。（結合事象を示す）結合表面での質量の変化の結果、表面近くの光の屈折率が変化し（表面プラズモン共鳴（SPR）の光学的減少）、その結果、生物学的分子の間のリアルタイム反応の表示として用いることができる検出可能なシグナルがもたらされる。

【0262】

あるいは、別の実施形態において、同様な診断および予後アッセイを、液相中の溶質としてのマーカーおよびプローブで実行することができる。そのようなアッセイにおいて、複合体化されたマーカーおよびプローブは、限定されるものではないが、遠心分離、クロマトグラフィー、電気泳動および免疫沈澱を含めた多数の標準的な技術によって複合体化していない成分から分離する。遠心分離において、マーカー／プローブ複合体は、それらの異なるサイズおよび密度に基づいての複合体の異なる沈降平衡による、一連の遠心工程を介して複合体化していないアッセイ成分から分離することができる（例えば、Rivas, G., and Minton, A. P., 1993, Trends Biochem Sci. 18(8):284-7参照）。標準的なクロマトグラフィー技術を利用して、複合体化した分子を複合体化していない分子から分離することもできる。例えば、サイズに基づき、かつカラム様式での適切なゲル濾過樹脂の利用を介して、ゲル濾過クロマトグラフィーは分子を分離し、例えば、比較的より大きな複合体は比較的より小さな複合体化していない成分から分離することができる。同様に、複合体化していない成分と比較した、マーカー／プローブ複合体の比較的異なる電荷特性を利用して、例えば、イオン交換クロマトグラフィー樹脂の利用を介して、複合体を複合体化していない成分から分ける

ことができる。そのような樹脂およびクロマトグラフィー技術は当業者に良く知られている（例えば、Heegaard, N. H., 1998, J. Mol. Recognit. Winter 11 (1-6): 141-8; Hage, D. S., and Tweed, S. A. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 1997 Oct 10; 699 (1-2): 499-525 参照）。ゲル電気泳動を使用して、複合体化したアッセイ成分を未結合成分から分離することもできる（例えば、Ausubel et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, 1987-1999 参照）。この技術において、タンパク質または核酸複合体は、例えば、サイズまたは電荷に基づいて分離される。電気泳動プロセスの間の結合相互作用を維持するためには、還元剤非存在下での非変性ゲルマトリックス物質および条件が典型的には好ましい。特定のアッセイおよび成分それ自体に対する適切な条件は当業者に良く知られているであろう。

10

【0263】

特定の実施形態において、マーカーに対応する mRNA のレベルは、当該分野で公知の方法を用いて、生物学的サンプルにおいてインサイチュおよびインビトロ様式両方で測定することができる。用語「生物学的サンプル」は、被験体から単離された、組織、細胞、生物学的流体およびその単離体、ならびに被験体内に存在する組織、細胞および流体を含むことを意図する。多くの発現検出方法は単離された RNA を使用する。インビトロ方法では、mRNA の単離に対して選択しないいずれの RNA 単離技術も、細胞からの RNA の精製で利用することができる。（例えば、Ausubel et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons New York 1987-1999 参照）。加えて、多数の組織サンプルは、例えば、Chomczynski (1989, 米国特許第 4, 843, 155 号) の単一工程 RNA 単離のような当業者に良く知られた技術を用いて容易に処理することができる。

20

【0264】

単離された核酸を、限定されるものではないが、サザンまたはノーザン分析、ポリメラーゼ鎖反応分析およびプローブアレイを含むハイブリダイゼーションまたは増幅アッセイで用いることができる。mRNA レベルの検出のための 1 つの好ましい診断方法は、検出すべき遺伝子によってコードされた mRNA にハイブリダイズすることができる核酸分子（プローブ）と単離された mRNA とを接触させることを含む。核酸プローブは、例えば、全長 cDNA、または長さが少なくとも 7、15、30、50、100、250 または 500 ヌクレオチドのような、かつストリンジェントな条件下で本発明のマーカーをコードする mRNA またはゲノム DNA に特異的にハイブリダイズするのに十分なその部分であり得る。本発明の診断アッセイで用いられる他の適切なプローブは本明細書中に記載されている。mRNA のプローブでのハイブリダイゼーションは、問題とするマーカーが発現されていることを示す。

30

【0265】

1 つの様式において、mRNA を固体表面に固定化し、例えば、アガロースゲル上で単離された mRNA を移動させ、mRNA をニトロセルロースのような膜にゲルから移動させることによって、プローブと接触させる。別の様式において、プローブ（類）を固体表面に固定化し、例えば、Affymetrix 遺伝子チップアレイにおいて、mRNA をプローブ（類）と接触させる。当業者であれば、本発明のマーカーによってコードされる mRNA のレベルを検出するのに用いられる公知の mRNA 検出方法を容易に適合させることができる。

40

【0266】

プローブはタンパク質をコードする核酸配列の全長、または全長未満であり得る。より短いプローブを特異性につき経験的に試験する。好ましくは、核酸プローブは長さが 20 塩基以上である（例えば、核酸ハイブリダイゼーションを用いる核酸プローブ配列を選択

50

する方法については、例えば、Sambrook et al. 参照)。ハイブリダイズした部分の可視化は、cDNAの存在または不存在の定量的決定を可能とする。

【0267】

サンプル中の本発明のマーカに対応する転写体のレベルを測定するための代替的な方法は、例えば、rtPCR (Mullis, 1987, 米国特許第4,683,202号に記載された実験実施形態)、リガーゼ鎖反応 (Barany, 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:189-193)、自己保持配列複製 (Gatelli et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874-1878)、転写増幅システム (Kwoh et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173-1177)、Q-
10
ーベータレプリカーゼ (Lizardi et al., 1988, Bio/Technology 6:1197)、ローリングサークル複製 (Lizardi et al., 米国特許第5,854,033号)、またはいずれかの他の核酸増幅方法による核酸増幅のプロセス、引き続いての、当業者に良く知られた技術を用いる増幅された分子の検出を含む。発蛍光性rtPCRを本発明の方法で用いることもできる。発蛍光性rtPCRにおいて、定量は、蛍光シグナル、例えば、TaqManおよびsybrグリーンの量に基づく。これらの検出スキームは、もしそのような分子が非常に少量で存在するならば、核酸分子の検出で特に有用である。ここに用いるように、増幅プライマーは、遺伝子の5'
20
'または3'領域(各々、プラスおよびマイナスストランド、またはその逆)にアニールすることができ、その間に短い領域を含むことができる核酸分子の対として定義される。一般に増幅プライマーは長さが約10ないし30ヌクレオチドであり、長さが約50ないし200ヌクレオチドの領域に近接する。適切な条件下にて、かつ適切な試薬を用い、そのようなプライマーは、該プライマーが近接するヌクレオチド配列を含む核酸分子の増幅を可能とする。インサイチュ方法では、mRNAは検出に先立って細胞から単離される必要はない。そのような方法において、細胞または組織サンプルは公知の組織学的方法を用いて調製/処理される。次いで、サンプルを支持体、典型的には、ガラススライド上に固定し、次いで、マーカをコードするmRNAにハイブリダイズすることができるプローブと接触させる。

【0268】

マーカの絶対発現レベルに基づいて測定を行う代替法として、測定はマーカの正規化された発現レベルに基づくことができる。発現レベルは、その発現を、マーカではない遺伝子、例えば、構成的に発現されるハウスキーピング遺伝子の発現と比較することによって、マーカの絶対発現レベルを修正することにより正規化される。正規化のための適切な遺伝子は、アクチン遺伝子、または上皮細胞特異的遺伝子のようなハウスキーピング遺伝子を含む。この正規化は、1つのサンプル、例えば、被験体サンプル中の発現レベルの、別のサンプル、例えば、非癌性サンプルとの、あるいは異なる源からのサンプルの間の比較を可能とする。

【0269】

あるいは、発現レベルは相対的発現レベルとして提供することができる。マーカの相対的発現レベルを測定するためには、マーカの発現のレベルを、問題とするサンプルについての発現レベルの測定に先立って、正常な単離体-対-癌細胞単離体の10以上のサンプル、好ましくは、50以上のサンプルについて測定する。多数のサンプルでアッセイした遺伝子の各々の平均発現レベルを決定し、これをマーカでのベースライン発現レベルとして用いる。次いで、試験サンプルについて測定されたマーカの発現レベル(発現の絶対レベル)を、そのマーカで得られた平均発現値で割る。これは相対的発現レベルを提供する。

【0270】

好ましくは、ベースライン測定で用いるサンプルは、同一組織タイプの癌細胞または正常細胞からのものである。細胞源の選択は、相対的発現レベルの使用に依存する。平均発現スコアとして正常組織で見出される発現の使用は、アッセイされたマーカが、細胞

が由来する組織に特異的であるか否かを確認するのを助ける（対—正常細胞）。加えて、より多くのデータが蓄積されるにつれ、平均発現値を改訂することができ、蓄積されたデータに基づいて改良された相対的発現値を提供する。正常な細胞からの発現データは、癌状態の重症度のグレーディングのための手段を提供する。

【0271】

別の好ましい実施形態において、マーカーの発現は、被験体サンプル中の細胞からゲノムDNAまたはmRNA/cDNA（すなわち、転写されたポリヌクレオチド）を調製することによって、およびマーカー、およびそのフラグメントを含むポリヌクレオチドの相補体である参照ポリヌクレオチドとゲノムDNAまたはmRNA/cDNAとハイブリダイズさせることによって評価される。cDNAが、所望により、参照ポリヌクレオチドとのハイブリダイゼーションに先立って、種々のポリメラーゼ鎖反応方法のいずれかを用いることによって増幅することができる。1以上のマーカーの発現を、同様に、定量的PCR（QPCR）を用いて検出して、マーカーの発現のレベルを評価することができる。あるいは、本発明のマーカーの突然変異または変種（例えば、単一ヌクレオチド多形、欠失等）を検出する多くの公知の方法のいずれかを用いて、被験体における突然変異したマーカーの発生を検出することができる。

【0272】

関連する実施形態において、サンプルから得られた転写されたポリヌクレオチドの混合物を、それに固定された本発明のマーカーの少なくとも部分（例えば、少なくとも7、10、15、20、25、30、40、50、100、500以上ヌクレオチド残基）に相補的な、またはそれと相同なポリヌクレオチドを有する基質と接触させる。もし相補的または相同なポリヌクレオチドが、（例えば、異なるクロモフォアまたはフルオロフォアを用いて検出可能な、あるいは異なる選択された位置に固定された）基質で異なって検出可能であれば、複数のマーカーの発現のレベルを、単一基質（例えば、選択された位置に固定されたポリヌクレオチドの「遺伝子チップ」マイクロアレイ）を用いて同時に評価することができる。1つの核酸と別の核酸とのハイブリダイゼーションを含むマーカー発現を評価する方法を用いる場合、ハイブリダイゼーションはストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で行うのが好ましい。

【0273】

別の実施形態において、マーカーの発現を評価する方法の組合せを利用する。

【0274】

本発明の組成物、キット、および方法は、本発明の1以上のマーカーの発現レベルまたはコピー数の差の検出に依拠するので、マーカーの発現レベルまたはコピー数は、少なくとも1つの正常な細胞および癌性細胞における発現またはコピー数を評価するのに用いる方法の最小検出限界よりも有意に大きいのが好ましい。

【0275】

（3．発現されたタンパク質の検出方法）

マーカータンパク質の活性またはレベルを、発現されたポリペプチドを検出し、または定量することによって検出し、および／または定量することもできる。ポリペプチドは、当業者に良く知られた多数の手段のいずれかによって検出し、定量することができる。これらは電気泳動、毛細管電気泳動、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、薄層クロマトグラフィー（TLC）、超拡散クロマトグラフィー等のような分析的生化学方法、あるいは流体またはゲル沈降元層反応、免疫拡散（単一、または二重）、免疫電気泳動、ラジオイムノアッセイ（RIA）、酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）、免疫蛍光アッセイ、ウェスタンブロットティング等のような種々の免疫学的方法を含むことができる。当業者であれば、細胞が本発明のマーカーを発現するか否かを決定するのに用いる公知のタンパク質／抗体検出方法を容易に適合させることができる。

【0276】

本発明のポリペプチドを検出するための好ましい剤は、本発明のマーカーに対応するポリペプチドへ結合することができる抗体、好ましくは、検出可能な標識を持つ抗体である

。抗体は、ポリクローナル、またはより好ましくはモノクローナルであり得る。無傷抗体、またはそのフラグメント（例えば、F a bまたはF（a b'）₂）を用いることができる。プローブまたは抗体に関連して、用語「標識された」は、検出可能な物質をプローブまたは抗体にカップリングさせることによる（すなわち、物理的結合）プローブまたは抗体への直接的標識、ならびに直接標識される別の試薬との反応性によるプローブまたは抗体の間接的標識を含むことを意図する。間接的標識の例は、蛍光標識された二次抗体を用いる一次抗体、およびそれが蛍光標識されたストレプトアビジンで検出できるようなDNAプローブのビオチンでの末端標識の検出を含む。

【0277】

好ましい実施形態において、抗体を標識する（例えば、放射性一標識され、クロモフォア一標識され、フルオロフォア一標識され、または酵素標識された抗体）。別の実施形態において、抗体誘導体（例えば、物質と、またはタンパク質ーリガンド対 {例えば、ビオチンーストレプトアビジン} のタンパク質またはリガンドと結合した抗体）、またはマーカーに対応するオープンリーディングフレームによってコードされたタンパク質、またはその正常な翻訳後修飾の全てまたは一部を受けたそのようなタンパク質のような、マーカーに対応するタンパク質に特異的に結合する抗体フラグメント（例えば、単鎖抗体、単離された抗体超可変ドメイン等）を用いる。

【0278】

細胞からのタンパク質は、当業者によく知られた技術を用いて単離することができる。使用されるタンパク質単離方法は、例えば、Harlow and Laneに記載されたもののようなものであってよい（Harlow and Lane, 1988, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York）。

【0279】

1つの様式において、抗体、または抗体フラグメントは、ウェスタンブロットまたは免疫蛍光技術のような方法で用いて、発現されたタンパク質を検出することができる。そのような使用において、固体支持体に抗体またはタンパク質いずれかを固定化するのが一般には好ましい。適切な固相支持体または担体は、抗原または抗体に結合することができるいずれの支持体も含む。よく知られた支持体または担体はガラス、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエチレン、デキストラン、ナイロン、アミラーゼ、天然および修飾されたセルロース、ポリアクリルアミド、斑れい岩、およびマグネタイトを含む。

【0280】

当業者であれば、抗体または抗原に結合させるための多くの他の適切な担体を知っており、本発明で用いるそのような支持体を適合させることができる。例えば、細胞から単離されたタンパク質をポリアクリルアミドゲル電気泳動で移動させ、ニトロセルロースのような固相支持体に固定化することができる。次いで、支持体を適切な緩衝液で洗浄し、続いて、検出可能に標識された抗体を処理することができる。次いで、固相支持体を緩衝液で2回目に洗浄して未結合抗体を除去することができる。次いで、固体支持体上の結合した標識の量を慣用的な手段によって検出することができる。電気泳動技術を用いるタンパク質を検出する手段は当業者に良く知られている（一般に、R. Scopes (1982) Protein Purification, Springer-Verlag, N. Y. ; Deutscher, (1990) Methods in Enzymology Vol. 182: Guide to Protein Purification, Academic Press, Inc., N. Y. 参照）。

【0281】

別の好ましい実施形態において、ウェスタンブロット（イムノブロット）分析を用いて、サンプル中のポリペプチドの存在を検出し、定量する。この技術は、一般には、分子量に基づいてゲル電気泳動によってサンプルタンパク質を分離し、分離されたタンパク質を（ニトロセルロースフィルター、ナイロンフィルター、または誘導体化されたナイロンフ

10

20

30

40

50

ィルターのような)適切な固体支持体に移し、次いで、サンプルを、ポリペプチドに特異的に結合する抗体と、共にインキュベートすることを含む。抗ポリペプチド抗体は固体支持体上のポリペプチドに特異的に結合する。これらの抗体は、直接的に標識することができるか、あるいは、抗ポリペプチドに特異的に結合する標識された抗体(例えば、標識されたヒツジ抗マウス抗体)を用いて引き続いて検出することができる。

【0282】

より好ましい実施形態において、ポリペプチドはイムノアッセイを用いて検出される。本明細書中で使用される場合、イムノアッセイは分析物に特異的に結合する抗体を利用するアッセイである。イムノアッセイは、したがって、分析物を単離し、標的化し、および定量するための他の物理的または化学的特性の使用とは反対に、抗抗体へのポリペプチドの特異的結合の検出によって特徴付けられる。

10

【0283】

ポリペプチドは、多数のよく認められた免疫学的結合アッセイのいずれかを用いて検出し、および/または定量する(例えば、米国特許第4,366,241号;第4,376,110号;第4,517,288号;および第4,837,168号参照)。一般的なイムノアッセイのレビューについては、Asai(1993) *Methods in Cell Biology* Volume 37: *Antibodies in Cell Biology*, Academic Press, Inc. New York; Stites & Terr(1991) *Basic and Clinical Immunology* 7th Editionも参照。

20

【0284】

免疫学的結合アッセイ(またはイムノアッセイ)は、典型的には、「捕獲剤」を利用して、分析物(ポリペプチドまたはサブ配列)に特異的に結合し、しばしばそれを固定化する。捕獲剤は分析物に特異的に結合する部位である。好ましい実施形態において、捕獲剤はポリペプチドに特異的に結合する抗体である。抗体(抗ペプチドは、当業者に良く知られた多数の手段のいずれかによって生産することができる。

【0285】

イムノアッセイは、しばしば、捕獲剤および分析物によって形成される結合複合体に特異的に結合し、それを標識するために標識剤を利用する。標識剤は、それ自体、抗体/分析複合体を含む部位の1つであり得る。したがって、標識剤は標識されたポリペプチドまたは標識された抗抗体であり得る。あるいは、標識剤は、抗体/ポリペプチド複合体に特異的に結合する別の抗体のような第3の部位であり得る。

30

【0286】

1つの好ましい実施形態において、標識剤は標識を担う第2のヒト抗体である。あるいは、第2の抗体は標識を欠き得るが、それは、今度は、第2の抗体が由来する種の抗体に特異的な標識された第3の抗体によって結合され得る。該第2の抗体は、酵素-標識ストレプトアビジンのような、第3の標識された分子が特異的に結合することができるビオチンとして、検出可能な部位で修飾することができる。

【0287】

プロテインAまたはプロテインGのような免疫グロブリン定常領域に特異的に結合することができる他のタンパク質を標識剤として用いることもできる。これらのタンパク質はstreptococcal細菌の細胞壁の通常の構成要素である。それらは種々の種からの免疫グロブリン定常領域との強い非免疫原性反応性を呈する(一般に、Kronval, et al. (1973) *J. Immunol.*, 111:1401-1406, and Akerstrom (1985) *J. Immunol.*, 135:2589-2542参照)。

40

【0288】

上記のように、ポリペプチドの検出および/または定量のためのイムノアッセイは、当業者に良く知られた多数の技術の様式を採ることができる。

【0289】

50

ポリペプチドを検出するための好ましいイムノアッセイは競合的または非競合的のいずれかである。非競合的イムノアッセイは、捕獲された分析物の量を直接的に測定するアッセイである。1つの好ましい「サンドイッチ」アッセイにおいては、例えば、捕獲剤（抗ペプチド抗体）を固体基質に直接的に結合することができ、そこでそれらは固定化される。次いで、これらの固定化された抗体は試験サンプルに存在するポリペプチドを捕獲する。かく固定化されたポリペプチドを、次いで、標識を担う第2のヒト抗体のような標識剤によって結合させる。

【0290】

競合アッセイにおいては、サンプルに存在する分析物（ポリペプチド）の量は、サンプルに存在する分析物により捕獲剤（抗ポリペプチド抗体）から置き換えられた（または競合から離れた）付加（外因性）分析物（ポリペプチド）の量を測定することによって、間接的に測定される。1つの競合アッセイにおいて、既知量のこの場合にはポリペプチドをサンプルに加え、次いで、サンプルを捕獲剤と接触させる。抗体に結合したポリペプチドの量は、サンプルに存在するポリペプチドの濃度に逆比例する。

【0291】

1つの特に好ましい実施形態においては、抗体を固体基質に固定化する。抗体に結合したポリペプチドの量は、ポリペプチド／抗体複合体に存在するポリペプチドの量を測定することによって、あるいは、残存する複合体化していないポリペプチドの量を測定することによって決定することができる。ポリペプチドの量は標識されたポリペプチドを提供することによって検出することである。

【0292】

本発明のアッセイは、当業者によく知られた標準的な方法に従って（ポリペプチドの陽性または陰性または量として）スコア取りする。スコア取りの特別な方法はアッセイの様式および標識の選択に依存するであろう。例えば、ウエスタンブロットアッセイは、酵素標識によって生じた着色生成物を可視化することによってスコア取りすることができる。正しい分子量における明瞭に目に見える着色バンドまたはスポットを陽性結果としてスコア取りし、他方、明瞭に目に見えないスポットまたはバンドの不存在を陰性としてスコア取りする。バンドまたはスポットの強度は、ポリペプチドの定量的尺度を提供することができる。

【0293】

本明細書中に記載された種々のイムノアッセイで用いられる抗体は以下に記載するように生産することができる。

【0294】

別の実施形態において、標識（活性）は、遺伝子産物の酵素活性を測定することによってアッセイされる。酵素の活性をアッセイする方法は当業者によく知られている。

【0295】

バイオマーカータンパク質の検出用のインビボ技術は、タンパク質に対して向けられた標識された抗体を被験体に導入することを含む。例えば、抗体を、被験体におけるその存在および位置を標準的なイメージ技術によって検出することができる放射性マーカーで標識することができる。

【0296】

本発明の方法によって同定されるある種のマーカーは分泌されたタンパク質である。いずれかの特定のマーカータンパク質が分泌タンパク質であるか否かを判断するのに当業者にとって単純な事柄である。この判断を成すためには、マーカータンパク質を、例えば、哺乳動物細胞、好ましくは、ヒト細胞株で発現させ、細胞外流体を集め、（例えば、タンパク質に特異的に結合する標識された抗体を用いて）細胞外流体中でのタンパク質の存在または不存在を評価する。

【0297】

以下にタンパク質の分泌を検出するのに用いることができる方法の例を挙げる。約 8×10^5 の 293T細胞を、5% (v/v) CO₂、95% 空気雰囲気下で、増殖培地（1

10

20

30

40

50

0%胎児ウシ血清を補足したダルベッコの修飾イーグル培地 {DMEM}) を含有するウェル中で37℃にて、約60ないし70%密集までインキュベートする。次いで、ウェル当たりタンパク質をコードする発現ベクターを含む2マイクログラムのDNA、および10マイクロリットルのLipofectAMINETM (GIBCO/BRLカタログ番号18432-012) を含む標準トランスフェクション混合物を用いて細胞をトランスフェクトする。トランスフェクション混合物を約5時間維持し、次いで、新鮮な増殖培地で置き換え、空気雰囲気中に維持する。各ウェルを、メチオニンまたはシステインを含有しないDMEM (DMEM-MC; ICNカタログ番号16-424-54) で2回軽くすすぐ。約1ミリリットルのDMEM-MCおよび約50マイクロキュリーのTrans-³⁵STM 試薬 (ICNカタログ番号51006) を各ウェルに加える。ウェルを上記の5%CO₂ 雰囲気下に維持し、選択された時間の間37℃にてインキュベートする。インキュベーションに続き、150マイクロリットルの条件培地を取り出し、遠心して、浮遊細胞およびデブリスを除去する。上清中のタンパク質の存在は、タンパク質が分泌されたことを示す。

【0298】

被験体サンプル、例えば、組織、全血、血清、血漿、頬搔取物、唾液、脳脊髄液、尿、糞、胆汁、膵液、および膵臓組織を含有するサンプルは、特に、細胞が癌性である場合に、より特別には、癌が転移性である場合に、その中に細胞を含有し得、したがって、本発明の方法で用いることができることが認識されよう。細胞サンプルは、勿論、サンプル中のマーカーの発現のレベルを評価するに先立って、種々のよく知られた収集後調製および貯蔵技術 (例えば、核酸および/またはタンパク質抽出、固定、貯蔵、凍結、限外濾過、濃縮、蒸発、遠心など) に付すことができる。したがって、本発明の組成物、キットおよび方法を用いて、それを発現する細胞の表面に提示された少なくとも1つの部分を有するタンパク質に対応するマーカーの発現を検出することができる。いずれかの特定のマーカーに対応するタンパク質が細胞-表面タンパク質か否かを判断するのは当業者にとって簡単なことである。例えば、免疫学的方法を用いて全細胞にてそのようなタンパク質を検出することができるか、あるいはよく知られたコンピューターベースの配列分析方法 (例えば、SIGNALPプログラム; Nielsen et al., 1997, Protein Engineering 10:1-6) を用いて、(分泌されたタンパク質および少なくとも1つの細胞-表面ドメインを有するタンパク質両方を含めた) 少なくとも1つの細胞外ドメインの存在を予測することができる。それを発現する細胞の表面に提示される少なくとも1つの部分を有するタンパク質に対応するマーカーの発現は、(例えば、タンパク質の細胞-表面ドメインと特異的に結合する標識された抗体を用いて) 細胞を必ずしも溶解させることなく検出することができる。

【0299】

本発明は、生物学的サンプル、例えば、組織、全血、血清、血漿、頬搔取物、唾液、脳脊髄液、尿、糞、胆汁、膵液、および膵臓組織を含有するサンプル中の、本発明のマーカーに対応するポリペプチドまたは核酸の存在を検出するためのキットも含む。そのようなキットを用いた、被験体が癌に罹っているか、または癌を発症する危険性が増大しているかを判断することができる。例えば、キットは、生物学的サンプル中の本発明のマーカーに対応するポリペプチド、またはポリペプチドをコードするmRNAを検出することができる標識された化合物または剤、およびサンプル中のポリペプチドまたはmRNAの量を測定するための手段 (例えば、ポリペプチドに結合する抗体、またはポリペプチドをコードするDNAまたはmRNAに結合するオリゴヌクレオチドプローブ) を含むことができる。キットは、該キットを用いて得られる結果を解釈するための指示書も含むことができる。

【0300】

抗体ベースのキットでは、キットは、例えば、(1) 本発明のマーカーに対応するポリペプチドに結合する (例えば、固体支持体に結合した) 第1の抗体、および所望により (2) ポリペプチドまたは第1の抗体いずれかに結合し、検出可能な標識に結合する第2の

異なる抗体を含むことができる。

【0301】

オリゴヌクレオチドベースのキットでは、キットは、例えば、(1) 本発明のマーカに対応するポリペプチドをコードする核酸配列にハイブリダイズするオリゴヌクレオチド、例えば、検出可能に標識されたオリゴヌクレオチド、または(2) 本発明のマーカに対応する核酸分子を増幅するのに有用なプライマーの対を含むことができる。キットは、例えば、緩衝剤、保存剤、またはタンパク質安定化剤を含むこともできる。キットは、さらに、検出可能な標識(例えば、酵素または基質)を検出するのに必要な成分も含むことができる。キットは、アッセイすることができ、かつ試験サンプルと比較することができるコントロールサンプル、または一連のコントロールサンプルを含有することもできる。キットの各成分は個々の容器内に入れることができ、種々の容器の全ては、キットを用いて行われるアッセイの結果を解釈するための指示書と共に、単一パッケージ内に入れることができる。

10

【0302】

(4. 構造的変化を検出するための方法)

本発明は、構造的変化、例えば、癌サンプル中のマーカの突然変異、または対立遺伝子変種を、正常な、例えば、コントロールサンプル中のマーカの構造的変化、例えば、突然変異と比較することによって、被験体が癌に罹っているか、または癌を発症する危険性があるかを評価する方法も提供する。癌サンプル中のマーカにおける構造的変化、例えば、突然変異、または対立遺伝子変種の存在は、被験体が癌に罹っていることを示す。

20

【0303】

好ましい検出方法は、多形部位と重複するプローブを用い、かつ多形領域の周りに約5、10、20、25、または30ヌクレオチドを有する対立遺伝子特異的ハイブリダイゼーションである。本発明の好ましい実施形態において、対立遺伝子変種に特異的にハイブリダイズすることができるいくつかのプローブを固相支持体、例えば、「チップ」に結合させる。オリゴヌクレオチドは、リソグラフィーを含めた種々のプロセスによって固体支持体に結合させることができる。例えば、チップは250、000までのオリゴヌクレオチド(GeneChip, AffymetrixTM)を保有することができる。「DNAプローブ多形とも言われる」オリゴヌクレオチドを含むこれらのチップを用いる突然変異検出分析は、例えば、Cronin et al. (1996) Human Mutation 7:244に記載されている)。一実施形態において、チップは遺伝子の少なくとも1つの多形領域の全ての対立遺伝子変種を含む。次いで、固相支持体を試験核酸と接触させ、特異的プローブへのハイブリダイゼーションを検出する。従って、1以上の遺伝子の多数の対立遺伝子変種の同一性は、単純なハイブリダイゼーション実験で同定することができる。例えば、5'上流調節エレメントにおけるヌクレオチド多形の対立遺伝子変種の同一性は、単一のハイブリダイゼーション実験で決定することができる。

30

【0304】

他の検出方法において、対立遺伝子変種を同定するに先立って、マーカの少なくとも一部をまず増幅することが必要である。増幅は、例えば、当該分野で知られた方法に従って、PCRおよび/またはLCR(Wu and Wallace (1989) Genomics 4:560)によって行うことができる。一実施形態において、細胞のゲノムDNAを、必要な量の増幅されたDNAを生じさせるのに十分な多数のサイクルの2つのPCRプライマーおよび増幅に暴露される。好ましい実施形態において、プライマーは150および350の間の塩基対だけ離れている。

40

【0305】

別の増幅方法は自己維持配列複製(Guatelli, J. C. et al., (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874-1878)、転写増幅システム(Kwoh, D. Y. et al., (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173-1177)、Q-ベータレプリカーゼ(Lizardi, P. M. et al., (1988) Bio/Technology

50

6:1197)、および自己一維持配列複製 (Guatelli et al., (1989) Proc. Nat. Acad. Sci. 87:1874)、および核酸ベースの配列増幅 (NABSA)、あるいはいずれかの他の核酸増幅方法、続いての、当業者によく知られた技術を用いる増殖された分子の検出を含む。これらの検出スキームは、もしそのような分子が非常に少数で存在するならば、核酸分子の検出で特に有用である。

【0306】

一実施形態において、当該分野で知られた種々の配列決定反応のいずれかを用いて、マーカの少なくとも一部を直接的に配列決定し、次いで、サンプル配列の配列を対応する参照 (コントロール) 配列と比較することによって、対立遺伝子変種、例えば、突然変異を検出することができる。例示的な配列決定反応はMaxam and Gilbert (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1977) 74:560) またはSanger (Sanger et al. (1977) Proc. Nat. Acad. Sci. 74:5463) によって開発された技術に基づくものを含む。また、マスペクトロメトリーによる配列決定を含めた種々の自動配列決定手法のいずれかを、被験体アッセイ (Biotechniques (1995) 19:448) を行う場合に利用することができることも考えられる (例えば、H. KoesterによるDNA Sequencing by Mass Spectrometryと題された米国特許第5, 547, 835号および国際特許出願公開番号WO 94/16101; H. Koesterによる“DNA Sequencing by Mass Spectrometry Via Exonuclease Degradation”と題された米国特許第5, 547, 835号および国際特許出願公開番号WO 94/21822、およびH. KoesterによるDNA Diagnostics Based on Mass Spectrometryと題された米国特許第5, 605, 798号および国際特許出願番号PCT/US96/03651; Cohen et al. (1996) Adv Chromatogr 36:127-162; およびGriffin et al. (1993) Appl Biochem Biotechnol 38:147-159参照)。ある実施形態では、配列決定反応において、1、2または3のみの核酸塩基の出現が決定される必要があるのは当業者に明らかであろう。例えば、A-トラックなどを、例えば、唯一つのヌクレオチドが検出される場合に行うことができる。

【0307】

なお、他の配列決定方法は、例えば、“Method of DNA sequencing employing a mixed DNA-polymer chain probe”と題された米国特許第5, 580, 732号および“Method for mismatch-directed in vitro DNA sequencing”と題された米国特許第5, 571, 676号に開示されている。

【0308】

いくつかの場合において、被験体からのDNAにおけるマーカの特異的対立遺伝子の存在は、制限酵素分析によって示すことができる。例えば、特異的ヌクレオチド多形の結果、別の対立遺伝子変種のヌクレオチド配列は存在しない制限部位を含むヌクレオチド配列がもたらされ得る。

【0309】

さらなる実施形態において、(ヌクレアーゼ、ヒドロキシアミンまたは四酸化オスミウムのような、およびピペリジンと共に) 切断剤からの保護を用いて、RNA/RNA、DNA/DNA、またはRNA/DNAヘテロ二重鎖におけるミスマッチした塩基を検出することができる。(Myers, et al. (1985) Science 230:1242)。一般に、「ミスマッチ切断」の技術は、所望により標識されていてもよいコントロール核酸、例えば、マーカ対立遺伝子変種のヌクレオチド配列を含むRNAまたはDNAを、組織サンプルから得られたサンプル核酸、例えば、RNAまたはDNAとハイブリダイズさせることによって形成されたヘテロ二重鎖を提供するによって開始する。二本鎖二重鎖を、コントロールおよびサンプルストランドの間の塩基対ミスマッチに基づい

て形成された二重鎖のような二重鎖の一本鎖領域を切断する剤で処理する。例えば、RNA/DNA二重鎖を、RNaseで処理し、S1スクレアーゼでDNA/DNAハイブリッドを処理して、ミスマッチした領域を酵素により消化することができる。他の実施形態において、DNA/DNAまたはRNA/DNAいずれかの二重鎖をヒドロキシアミンまたは四酸化オスmium、およびピペリジンで処理して、ミスマッチした領域を消化することができる。ミスマッチした領域の消化の後、次いで、変性ポリアクリルアミドゲルでのサイズによって得られた物質を分離して、コントロールおよびサンプル核酸は同一のヌクレオチド配列を有するか否か、あるいはいずれのヌクレオチドにおいてそれらが異なるかを決定する。例えば、Cotton et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:4397; Saleeba et al. (1992) Methods Enzymol. 217:286-295参照)。好ましい実施形態において、コントロールまたはサンプル核酸を検出のために標識する。

10

【0310】

別の実施形態において、対立遺伝子変種は変性高速液体クロマトグラフィー (DHPLC) によって同定することができる (Oefner and Underhill, (1995) Am. J. Human Gen. 57: Suppl. A266)。DHPLCは逆相イオン-対合クロマトグラフィーを用いて、PCRフラグメント内の特定のヌクレオチド遺伝子座においてヘテロ接合性である個体からのPCRフラグメントの増幅の間に生じるヘテロ二重鎖を検出する (Oefner and Underhill (1995) Am. J. Human Gen. 57: Suppl. A266)。一般に、PCR産物は、注目するDNAに近接するPCRプライマーを用いて生じる。DHPLC分析を行い、得られたクロマトグラムを分析して、特異的クロマトグラフィープロファイルに基づいて塩基対の改変または欠失を同定する (O'Donovan et al. (1998) Genomics 52:44-49参照)。

20

【0311】

他の実施形態において、電気泳動移動度の変化を用いて、マーカー対立遺伝子変種のタイプを同定する。例えば、一本鎖立体配座多形 (SSCP) を用いて、突然変異体および野生型核酸の間の電気泳動移動度の差を検出することができる (Orita et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:2766、またCotton (1993) Mutat Res 285:125-144; およびHayashi (1992) Gent Anal Tech Appl 9:73-79参照)。サンプルおよびコントロール核酸の一本鎖DNAフラグメントを変性し、再生させる。一本鎖核酸の二次構造は配列に従って変化し、電気泳動移動度の得られた変化は単一塩基変化さえを検出を可能とする。DNAフラグメントを標識し、または標識されたプローブで検出することができる。アッセイの感度は (DNAよりむしろ) RNAを用いることによって増強させることができ、ここに二次構造は配列の変化に対してより感受性である。別の好ましい実施形態において、主題の方法はヘテロ二重鎖分析を利用して、電気泳動移動度の変化に基づいて二本鎖ヘテロ二重鎖分子を分離する (Keen et al. (1991) Trends Genet 7:5)。

30

【0312】

なお別の実施形態において、多形領域の対立遺伝子変種の同一性は、変性剤のグラジエントを含むポリアクリルアミドゲルにおける多形領域を含む核酸の移動を分析することによって得られ、変性グラジエントゲル電気泳動 (DGGE) を用いてアッセイされる。 (Myers et al. (1985) Nature 313:495)。DGGEを分析の方法として用いる場合、DNAを修飾して、例えば、PCRによりほぼ40bpの高融解GC-リッチのDNAのGCクランプを加えることによって、完全には変性しないことを保証する。さらなる実施形態において、変性剤グラジエントの代わりに温度グラジエントを用いて、コントロールおよびサンプルDNAの移動度の差を同定する (Rosenbaum and Reissner (1987) Biophys Chem 265:1275)。

40

50

【0313】

2つの核酸の間の少なくとも1つのヌクレオチドの差を検出するための技術の例は、限定されるものではないが、選択的オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション、選択的増幅、または選択的プライマー延長を含む。例えば、公知の多形ヌクレオチドが中央に置かれ、（対立遺伝子特異的プローブ）、次いで、もし完全なマッチが見出される場合のみハイブリダイゼーションを可能とする条件下で、標的DNAにハイブリダイズさせるオリゴヌクレオチドプローブを調製することができる（Saiki et al. (1986) Nature 324:163）；Saiki et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:6230；およびWallace et al. (1979) Nucl. Acids Res 6:3543）。そのような対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション技術は、マーカーの異なる多形領域におけるいくつかのヌクレオチド変化の同時検出で用いることができる。例えば、特異的対立遺伝子変種のヌクレオチド配列を有するオリゴヌクレオチドを、ハイブリダイゼーション用膜に付着させ、次いで、この膜を標識されたサンプル核酸とハイブリダイズさせる。次いで、ハイブリダイゼーションのシグナル分析は、サンプル核酸のヌクレオチドの同一性を明らかにするであろう。

10

【0314】

あるいは、選択的PCR増幅に依存する対立遺伝子特異的増幅技術を本発明と組み合わせる用いることができる。特異的増幅のためにプライマーとして用いられるオリゴヌクレオチドは、（増幅が異なるハイブリダイゼーションに依存するように）分子の中央に（Gibbs et al. (1989) Nucleic Acids Res. 17:2437-2448）、あるいは1つのプライマーの極端に3'末端において注目する対立遺伝子変種を運ぶことができ、ここで、適切な条件下で、ミスマッチを妨げることができ、またはポリメラーゼ延長を低下させることができる（Prossner (1993) Tibtech 11:238；Newton et al. (1989) Nucl. Acids Res. 17:2503）。この技術は、プローブオリゴ塩基延長に対して「PROBE」とも言われる。加えて、突然変異の領域において新規な制限部位を導入して、切断ベースの検出を作り出すのが望ましいであろう（Gasparini et al. (1992) Mol. Cell Probes 6:1）。

20

【0315】

別の実施形態において、対立遺伝子変種の同定は、例えば、米国特許第4,998,617号およびLandegren, U. et al., (1988) Science 241:1077-1080に記載されたように、オリゴヌクレオチド連結アッセイ（OLA）を用いて行われる。該OLAプロトコルは、標的の単一ストランドの連接配列にハイブリダイズすることができるように設計した2つのオリゴヌクレオチドを用いる。オリゴヌクレオチドの1つは分離マーカー、例えば、ビオチニル化マーカーに連結され、他のものは検出可能に標識される。もし正確な相補的配列が標的分子で見出されれば、オリゴヌクレオチドは、それらの末端が隣接し、連結基質を作り出すようにハイブリダイズする。次いで、連結は標識されたオリゴヌクレオチドがアビジン、または別のビオチンリガンドを用いて回復されるのを可能とする。Nickerson, D. A. et al. は、PCRおよびOLAの属性を組み合わせる核酸検出アッセイを記載した（Nickerson, D. A. et al., (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 87:8923-8927）。この方法において、PCRを用いて、標的DNAの指数関数的増幅を達成し、これは、次いで、OLAを用いて検出される。

30

40

【0316】

本発明は、さらに、マーカーにおける単一ヌクレオチド多形を検出するための方法を提供する。単一ヌクレオチド多形は不変配列の領域が近接する変異の部位を構成するので、それらの分析は変異の部位に存在する単一ヌクレオチドの同一性の決定を超えては必要とせず、各被験体について完全な遺伝子配列を決定する必要はない。いくつかの方法が、そのような単一ヌクレオチド多形の分析を容易とするために開発されている。

50

【0317】

一実施形態において、単一塩基多形は、例えば、Mundy, C. R. (米国特許第4,656,127号)に開示されたように、特殊化されたエキソヌクレアーゼ耐性ヌクレオチドを用いることによって検出することができる。該方法に従うと、多形部位に対して直ぐ3'側の対立遺伝子配列に相補的なプライマーが、特定の動物またはヒトから得られた標的分子にハイブリダイズすることを可能とする。もし標的分子上の多形部位が、存在する特定のエキソヌクレアーゼ耐性ヌクレオチド誘導体に相補的であるヌクレオチドを含有するならば、その誘導体はハイブリダイズされたプライマーの末端に取り込まれるであろう。そのような取り込みはプライマーをエキソヌクレアーゼに対して耐性とし、それによって、その検出を可能とする。サンプルのエキソヌクレアーゼ耐性誘導体の同一性は知られているので、プライマーはエキソヌクレアーゼに対して耐性となるという知見は、標的分子の多形部位に存在するヌクレオチドは、反応で用いるヌクレオチド誘導体のそれに対して相補的であることを明らかとする。この方法は、それが大量の外來性配列データの判断を必要としない利点を有する。

10

【0318】

本発明の別の実施形態において、溶液ベースの方法を、多形部位のヌクレオチドの同一性を徹底するために用いる。Cohen, D. et al. (フランス特許第2,650,840号; PCT出願番号 WO 91/02087)。米国特許第4,456,127号のMundy方法におけるように、多形部位に対して直ぐ3'側の対立遺伝子配列に相補的なプライマーを使用する。該方法は、もし多形部位のヌクレオチドに対して相補的であるならば、プライマーの末端に取り込まれるようになる標識されたジデオキシヌクレオチド誘導体を用いてその部位のヌクレオチドの同一性を決定する。

20

【0319】

Genetic Bit AnalysisまたはGBATMとして知られた別の方法がGoellet, P. et al. (PCT出願番号92/15712)によって記載されている。Goellet, P. et al.の方法は、標識されたターミネーター、および多形部位に直ぐ3'側の配列に相補的なプライマーの混合物を用いる。取り込まれる標識されたターミネーターは、したがって、評価すべき標的分子の多形部位に存在するヌクレオチドによって決定され、かつそれに相補的である。Cohen et al.の方法(フランス特許第2,650,840号; PCT出願番号WO91/02087)とはコントロール的に、Goellet, P. et al.の方法は好ましくは不均一相アッセイであり、そこでは、プライマー、または標識分子が固相に固定化される。

30

【0320】

DNAにおける多形部位にアッセイさせるためのいくつかのプライマー誘導ヌクレオチド取り込み手法は記載されている(Komher, J. S. et al., (1989) Nucl. Acids. Res. 17:7779-7784; Sokolov, B. P., (1990) Nucl. Acids. Res. 18:3671; Syvanen, A.-C., et al., (1990) Genomics 8:684-692; Kuppuswamy, M. N. et al., (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S. A.) 88:1143-1147; Prezant, T. R. et al., (1992) Hum. Mutat. 1:159-164; Ugozzoli, L. et al., (1992) GATA 9:107-112; Nyren, P. et al., (1993) Anal. Biochem. 208:171-175)。これらの方法は、多形部位における塩基の間を識別するために標識されたデオキシヌクレオチドの取り込みにそれら全てが依拠する点でGBATMとは異なる。そのような様式において、シグナルは取り込まれたデオキシヌクレオチドの数に比例するので、同一ヌクレオチドの実行で起こる多形の結果、該実行の長さに比例するシグナルがもたらされ得る(Syvanen, A. C., et al., (1993) Amer. J. Hum. Genet. 52:46-59)。

40

【0321】

50

マーカークーディング領域に位置する多形領域の対立遺伝子変種の同一性を決定するためには、上記のもの以外のさらに他の方法を用いることができる。例えば、突然変異したマーカークーディング領域の対立遺伝子変種の同定は、例えば、免疫組織化学または免疫沈澱における突然変異タンパク質を特異的に認識する抗体を用いることによって実行することができる。野生型マーカークーディング領域またはマーカークーディング領域の突然変異した形態に対する抗体を、当該分野で知られた方法に従って調製することができる。

【0322】

あるいは、マーカークーディング領域への結合のようなマーカークーディング領域の活性を測定することもできる。結合アッセイは当該分野で知られており、例えば、被験体から細胞を入手し、次いで、標識されたリガンドで結合実験を行って、タンパク質の突然変異した形態への結合がタンパク質の野生型への結合から異なるか否かを判断することを含む。

【0323】

(B. 薬理ゲノミクス)

本発明のマーカークーディング領域の量および／または活性に対する刺激または阻害効果を有する剤またはモジュレータを個人に投与して、被験体において癌を（予防的または治療的に）処置することができる。そのような処置と組み合わせて、個人の薬理ゲノミクス（すなわち、個人の遺伝子型の間の関係、および外来性化合物または薬物に対するその個人の応答）を考慮することができる。治療剤の代謝の差は、薬理学的に活性な薬物の用量および血液濃度の間の関係を変化させることによるひどい毒性または治療的失敗に導きかねない。したがって、個人の薬理ゲノミクスは、個人の遺伝子型の考慮に基づいて予防的または治療的処置についての効果的な剤（例えば、薬物）の選択を可能とする。そのようなファルマコゲノミクスをさらに用いて、適切な用量および治療的養生法を決定することができる。従って、個人における本発明の量、構造および／または活性を測定して、それによって、個人の治療的および予防的処置に対する適切な剤を選択することができる。

【0324】

薬理ゲノミクスは、冒された個人における変化した薬物性質および異常な作用により、薬物に対する応答での臨床的に重要な変動を取り扱う。例えば、Linder (1997) Clin. Chem. 43 (2): 254-266 参照。一般に、2つのタイプのファルマコジェネティック条件を区別することができる。薬物が身体に作用する様式を変化させる単一因子として伝達される遺伝子的条件を「改変された薬物作用」と言う。身体が薬物に作用する様式を変化させる単一因子として伝達される遺伝子的条件を「改変された薬物代謝」と言う。これらのファルマコジェネティック条件は稀な欠陥として、または多形としていずれかで起こり得る。例えば、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ (G6PD) 欠陥は共通に遺伝される酵素病であり、そこでは、主な臨床的合併症は酸化剤薬物（抗マラリア剤、スルホンアミド、鎮痛剤、ニトロフラン）の摂取後における溶血、およびソラマメの消費である。

【0325】

例示的实施形態として、薬物代謝酵素の活性は薬物作用の強度および持続両方の主な決定因子である。薬物代謝酵素（例えば、N-アセチルトランスフェラーゼ2 (NAT2) およびチトクロームP450酵素CYP2D6およびCYP2C19）の遺伝的多形の発見は、なぜ幾人かの被験体が予期される薬物効果を得ず、あるいは薬物の標準的かつ安全な量を摂取した後に過剰な薬物応答および深刻な毒性を示すかに関する説明を提供した。これらの多形は、集団における2つの表現型、広範なメタボライザー (EM) および貧弱なメタボライザー (TM) で発現される。PMの罹患率は異なる集団の間で異なる。例えば、CYP2D6についてコードする遺伝子は高度に多形であり、いくつかの突然変異がPMで同定されており、それら全ては機能的CYP2D6の不存在に導く。CYP2D6およびCYP2C19の貧弱なメタボライザーへは、非常にしばしば、それらが標準的な用量を受ける場合に過剰な薬物応答および副作用を経験する。もし代謝産物が活性な治療部位であるならば、そのCYP2D6-形成代謝産物モルホリンによって媒介されるコデインの鎮痛効果について証明されているように、PMは治療的応答を示さない。他の極

端なものは、標準的用量に応答しないいわゆる超迅速メタボライザーである。最近、超迅速代謝の分子的基礎が、CYP2D6遺伝子増幅によるものであると同定されている。

【0326】

したがって、個人における本発明のマーカの量、構造、および／または活性を測定して、それによって、個人の治療的または予防的処置のための適切な剤を選択することができる。加えて、ファルマコジェネティック研究を用いて、薬物代謝酵素をコードする多形対立遺伝子のタイプ分けを個人の薬物応答性表現型の同定に適用することができる。この知識は、投与または薬物の選択に適用した場合に、有害な反応または治療的失敗を回避し、したがって、被験体を本発明のマーカの量、構造および／または活性のモジュレータで処置した場合に治療的または予防的に有効性を増強させることができる。

10

【0327】

(C. モニタリング臨床試験)

本発明のマーカの量、構造、および／または活性に対する剤（例えば、薬物化合物）の影響のモニタリングは、基本的薬物スクリーニングのみならず、臨床試験においても適用することができる。例えば、マーカの量、構造、および／または活性に影響する剤の有効性を、癌のための治療を受けつつある被験体の臨床試験でモニタリングすることができる。好ましい実施形態において、本発明は、(i) 剤の投与に先立って被験体からプレ投与サンプルを入手し；(ii) プレ投与サンプル中の本発明の1以上の選択されたマーカの量、構造、および／または活性を検出し；(iii) 被験体から1以上のポスト投与サンプルを入手し；(iv) ポスト投与サンプル中のマーカの量、構造、および／または活性を検出し；(v) プレ投与サンプル中のマーカの発現のレベルを、ポスト投与サンプルまたは複数サンプル中のマーカの量、構造、および／または活性と比較し；次いで(vi) それに従って、被験体への剤の投与を変化させる工程を含む、剤（例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、ペプチドミメティック、タンパク質、ペプチド、抗体、核酸、アンチセンス核酸、リボザイム、低分子、RNA緩衝剤、または他の薬物候補）での被験体の処置の有効性をモニタリングする方法を提供する。例えば、剤の増加した投与は、検出されるよりも高いレベルまでマーカの量および／または活性を増加させる、すなわち、剤の有効性を増加させるのが望ましくあり得る。あるいは、剤の減少した投与は、検出されるよりも低いレベルまでマーカの量および／または活性を減少させる、すなわち、剤の有効性を減少させるのが望ましくあり得る。

20

30

【実施例】

【0328】

限定的と解釈されるべきではない以下の実施例によって本発明をさらに説明する。本出願を通じて引用される全ての文献、図面、配列表、特許および公開された特許出願の内容をここに引用して援用する。

【0329】

(実施例1)

(A. 材料および方法)

(一次腫瘍および細胞株)

全ての細胞株はAmerican Type Culture Collection (ATCC) またはGerman Collection of MicroorganismismsおよびCell Cultures (DSMZ) から獲得した。原発性膵管腺癌のすべての新鮮な凍結検体はMemorial Sloan-Kettering Cancer Center tumor bankから入手し、組織学は実験に含めるに先立ってヘマトキシリンおよびエオシン(H&E)染色によって確認した(表2)。表2は、実験におけるアレイ-CGHおよび発現プロファイリングによって分析された細胞株をリストする。

40

【0330】

(cDNAマイクロアレイについてのアレイ-CGHプロファイリング)

修飾された公表されたプロトコル(Pollack, J. R., et al. (199

50

9) Nat Genet 23, 41-6) に従って、ゲノムDNAをフラグメント化し、ランダムー起点標識した。標識されたDNAを、それについてほぼ9, 420のユニークなマップ位置が規定された (NCBI, Build 33) 14, 160のcDNAクローン (Agilent TechnologiesTM, ヒト1クローン組) を含有するヒトcDNAマイクロアレイにハイブリダイズさせた。マップされたエレメントの間のメジアン間隔は100.1キロベースであり、間隔の92.8%は1メガベース未満であり、および98.6%は3メガベース未満である。

【0331】

アレイのスキャンされたイメージの蛍光比率を計算し、生のアレイ-CGHプロフィールを処理して、順列を使用して、生データにおける変化点の有意性を決定するセグメント化アルゴリズムを用いてコピー数の統計学的に有意な転移を同定した (Olshen, A. B. and Venkatraman, E. S. (2002) ASA Proceedings of the Joint Statistical Meetings, 2530-2535; Ginzinger, D. G. (2002) Exp Hematol 30, 503-12)。各セグメントに、含まれるプローブのメジアンであるLog₂比率を割り当てた。データを、セグメント化の値の分布において、最も高いモードを中心とした。モードセンタリングの後に、獲得および喪失を+0.13または-0.13 (データの中央50%変位量+/-4標準偏差) よりも大きなまたはそれと等しいLog₂比率と定義し、増幅および欠失は、各々、0.52よりも大きな、-0.58未満の比率と定義した (すなわち、97%または2%変位量) ((図4))。

【0332】

(自動遺伝子座定義)

遺伝子座を、以下の規則に基づいてセグメント化データに適用される自動アルゴリズムによって定義した：

1. 97番目の変位量または3番目の変位量のセグメントを変化した場合、定義した。
2. 2以上の变化したセグメントが単一プロフィールにおいて隣接するか、あるいは500KB未満だけ分離されていれば、セグメントにわたる全領域は变化したスパンと考えた。
3. 20MBよりも短い高度に変化したセグメントまたはスパンを、区別される遺伝子座境界と定義するための「情報的スパン」として保有した。より長い領域を捨てず、しかしながら遺伝子座境界を定義するのに含めなかった。
4. 情報的スパンをサンプルをわたって比較して、正の値または負の値のセグメントの重複群を同定した；各群は遺伝子座を規定した。
5. 最小共通領域 (MCR) は、高度に変化したセグメントの発生をカウントすることによって計算して少なくとも75%のピーク再発を有する連続スパンと定義した。もし2つのMCRがただ1つのプローブ位置のギャップによって分離されていれば、それらを合わせた。もし遺伝子座において3を超えるMCRがあれば、全領域を単一複合体MCRとして報告した。

【0333】

(MCR特徴付け)

各MCRについては、ピークセグメント値を同定した。獲得または喪失の再発は、従前に定義されたより低い閾値 (〜+/-0.13) に基づいて全てのサンプルにわたって計算した。セグメントの値または長さに対する閾値とは独立した再発のさらなる尺度として、増幅された領域についてのゼロを超える、欠失された領域についてのゼロ未満の、全てのセグメント値のメジアンを取ることによって、メジアン異常 (MA) を各プローブ位置について計算した。値のこの対を、各サンプルプロフィールにおいて独立してプローブ標識の順列を並び替えた後に得られた値の分布と比較した。MAの大きさが並び替えられた平均の95%を超える場合、該領域は有意に獲得されたまたは喪失されたとしてマークし、これを優先順位のための票決システムで用いた。既知の遺伝子およびGENSCANモデルで予測された遺伝子の数を、UCSUにおける2003年4月のヒトアセンブリーに

基づいてカウントした (genome.ucsc.edu)。

【0334】

(Q T C R 確認)

P C R プライマーを、標的およびコントロール配列内で 100 ないし 150 b p の産物を増幅するように設計した。各細胞株におけるコントロール配列のためのプライマーを、アレイ-C G H 分析によって示される正倍数コピー数の領域内で設計した。定量的 P C R は、A B I 7700 配列検出システム (P e r k i n E l m e r L i f e S c i e n c e s ^{T M}) にて、S Y B R G r e e n 染料 (Q i a g e n ^{T M}) の蛍光の増加をリアルタイムでモニタリングすることによって行った。相対的遺伝子コピー数は比較 C_t 方法によって計算した (G i n z i n g e r, D. G. (2002) E x p H e m a t o l 30, 503-12)。

10

【0335】

(A f f y m e t r i x G e n e C h i p ^{T M} についての発現プロファイリング)

ビオチニル化標的 c R N A は全サンプル R N A から生じさせ、標準的なプロトコル (G o l u b, T. R., e t a l. (1999) S c i e n c e 286, 531-7) に従ってヒトオリゴヌクレオチドプローブアレイ (U 133 A, A f f y m e t r i x ^{T M}, S a n t a C l a r a, C A) にハイブリダイズさせた。各遺伝子についての発現値は、25%および75%変位量の間の中点として定義されるサンプル組についての中央値に対する L o g 2 比率によって標準化し、ヒトゲノムの N C B I B u i l d 33 に基づいてゲノム位置にマッピングした。

20

【0336】

(統合されたコピー数および発現分析)

アレイ-C G H データは、各発現値をその対応するコピー数値にマッピングできるように内挿した。病巣 C N A の検出を最大化するために、2つの別々の内挿を計算し、1つはより高い結合 C G H プローブを選択し、1つはより低いものを選択する。各遺伝子位置については、アレイ-C G H がコピー数の変化を示すか否かに基づき、あるいは内挿された C G H 値に基づかずにグループ分けした。発現に対する遺伝子用量の効果は、変化したおよび変化していないサンプル群における発現値の標準偏差の合計で割った、変化したおよび変化していないサンプル群における発現値の平均の差として定義された遺伝子重量を計算することによって測定した (H y m a n, E., e t a l. (2002) C a n c e r R e s 62, 6240-5)。

30

【0337】

(B. 結果)

(膵臓腺癌ゲノムにおける C N A の包括的なカタログ)

合計 75 の原発性膵臓腫瘍検体から、60% よりも大きな新形成細胞性を保有する 13 のサンプルを同定した。24 の確立された膵臓癌細胞株、例えば、膵臓腺癌細胞株 (表 2) に由来する D N A と共に、これらの原発性腫瘍サンプルからのゲノム D N A を、100 k B のメジアン分解能を供する c D N A ベースのアレイプラットフォームを用いるゲノム幅アレイ-C G H プロファイリングに付した。これらのアレイ-C G H プロファイルにおける有意なコピー数事象の同定を容易とするために、O l s h e n および同僚によって開発されたサーキュラーバイナリセグメント化方法の修飾されたバージョンを使用した (O l s h e n, A. B., a n d V e n k a t r a m a n, E. S. (2002) A S A P r o c e e d i n g s o f t h e J o i n t S t a t i s t i c a l M e e t i n g s 2530-2535; G i n z i n g e r, D. G. (2002) E x p H e m a t o l 30, 503-12; G o l u b, T. R., e t a l. (1999) S c i e n c e 286, 531-7; H y m a n, E., e t a l. (2002) C a n c e r R e s 62, 6240-5; L u c i t o, R., e t a l. (2003) G e n o m e R e s 13, 2291-305)。このアルゴリズムは、初代データセットにおける確率ノイズ事象から区別されるコピー数転移点を同定し、区別す

40

50

るために非パラメーター統計学的検定に適用される。図1Aに示すように、セグメント化されたアレイ-CGHプロファイルは、以後「獲得」または「喪失」という、典型的には低い振幅である大きな領域的变化を容易に同定した。同様に、「増幅」または「欠失」を表す病巣高振幅変化は、原発性腫瘍検体および腫瘍細胞株両方で明らかである(図1)。本明細書中で報告するCNAの再発頻度は公表された文献に記載された頻度にマッチする(Solin-Toldo, S., et al. (1996) Cancer Res 56, 3803-7; Mahlamaki, E. H., et al. (1997) Genes Chromosomes Cancer 20, 383-91; Mahlamaki, E. H., et al. (2002) Genes Chromosomes Cancer 35, 353-8; Fukushima, S., et al. (1997) Genes Chromosomes Cancer 19:161-9; Curtis, L. J., et al. (1998) Genomics 53, 42-55; Ghadimi, B. M., et al. (1999) Am J Pathol 154, 525-36; Armengol, G., et al. (2000) Cancer Genet Cytogenet 116, 133-41)(図1B)。また、3q、8qおよび20qでの獲得、および1p、3p、6q、9p、17pおよび18qでの喪失に関して、原発性腫瘍および細胞株の間には強い一致がある(図5および図6参照)。しかしながら、いくらかの差が原発性腫瘍および細胞株データセットの間で明らかであり、原発性腫瘍サンプル内の細胞ヘテロ原性および/または細胞株における培養誘導遺伝子適合に帰属されるようである。

10

20

【0338】

各CNA内の高度な構造的複雑性と共に、多くの新規なCNAの同定は、データセットにわたってCNAを規定し、順列表を作成するための目的基準の実行を促進した。その目的で、変化の振幅についての高有意性閾値のサイズおよび達成に基づいて、情報的CNAを規定する遺伝子座同定アルゴリズムを開発した。次いで、複数プロファイルからの重複CNAを自動的に融合させて、その境界がこれらの重複CNAの組み合わせられた物理的程度を表す、領域的コピー数の変化の区別される「遺伝子座」を規定する(図1C)。各々の遺伝子座は、その遺伝子座についての最も顕著な増幅または欠失の輪郭を反映するピークプロファイル、幅および振幅によって特徴付けられる。さらに、各遺伝子座内で、1以上の最小共通領域(MCR)を複数の腫瘍サンプルにわたって同定することができ(図1C)、各MCRはサンプル組にわたってコピー数の変化を標的とする区別される癌関連遺伝子を潜在的に保有する。

30

【0339】

遺伝子座同定アルゴリズムは、従前に記載された獲得または喪失のより大きな領域内のより多くの区別されるCNAを示すにおいてかなり効果的である。例えば、染色体6qは膵臓腺癌における最も頻繁に欠失された領域の1つとして報告されているが、確認された腫瘍サプレッサー遺伝子は未だこの遺伝子座に割り当てられていない。本明細書中で示したデータセットにおける6q喪失の分析は、2.4ないし12.8Mbのサイズの範囲である5つの区別されるMCRを同定し、6q喪失についての複数の標的があり得る確率を生起する。注目すべきことに、これらのMCRのうちの2つ(表3、遺伝子座#75および#76)は、共通対立遺伝子喪失の従前に同定された領域(Abe, T., et al. (1999) Genes Chromosomes Cancer 25, 60-4)、本明細書中に記載された分析アプローチについてのさらなる確証を提供する観察と合致する。

40

【0340】

(高優先遺伝子座の選択)

上記の遺伝子座同定アルゴリズムは、このデータセット内で(256の独立した常染色体遺伝子座からの)287の区別されるMCRを規定し、細胞株および原発性腫瘍両方における変化および表示の再発、振幅の項目について各々を注釈した。多くの腫瘍タイプにわたるこのプラットフォームでの広範な経験に基づいて、複数の独立したサンプルにわた

50

る再発および高振幅シグナルは、独立したアッセイによる確認を最も予想する2つの特徴である。よって、これらの区別されるMCRは、(1)少なくとも2つの検体における高閾値増幅の再発、または欠失(97番目の100分位数を超え、または3番目の100分位数未満)、(2)少なくとも1つの原発性腫瘍検体における高閾値事象の存在、(3)統計学的に有意なメジアン異常(scc M&M)、および(4)細胞株または原発性腫瘍いずれかにおける0.8の絶対Log₂値と等しい、またはそれよりも大きなピーク振幅(0.5%変位量を超える)。

【0341】

この優先順位スキームの実行により、4つの基準のうち少なくとも3つを満足する54の独立した遺伝子座内で64のMCRを生じた(表1)。表1において、膵臓腺癌における高信頼性再発CNAが示される。各MCRについては、公知の(「K」)および予測される(「P」)(GenScan)転写体(「Trspt」)の数が示される。これらのうち、いくつかは、そのサブセットがコピー数相関(「Sig」)についての統計学的有意性($p < 0.05$)を示す、AffymetrixTM U133Aチップ(「合計」)で表される。MCR再発は合計データセットのパーセンテージとして示される。獲得または喪失、および増幅または欠失と共に原発性腫瘍(T)または細胞株(C)の数を各々リストする。膵臓癌における関連性を裏付ける文献がある遺伝子座内の候補遺伝子をリストする。黒色菱形は、ピークが定義されるMCR内に入らない遺伝子座を示す。太字で表したMCRはQPCRによって確認される。注目すべきは、膵臓腺癌の病理において重要な役割を演じることが知られている遺伝子-p16^{INK4A}およびTP53腫瘍抑制因子およびMYC、KRAS2およびAKT2癌遺伝子-はこれらの高信頼性遺伝子座内に存在した(表1)。優先順位を決めたMCR内で、全データセットにわたっての38%の獲得/喪失についての平均再発率があり、これらの64のMCRのうち34についての最大または最小絶対Log₂値は1.0よりも大きく、それらを増幅または欠失で定義される閾値を有意に超えさせる(図4)。大部分の場合において、遺伝子座のピークプロファイルはMCRの1つに合致した(54の遺伝子座のうち47、表1)(Albertson, D. G., et al. (2000) Nat Genet 25, 144-6)。これらの64の優先順位を決めたMCRのメジアンサイズは2.7Mbであり、21のMCR(33%)は1Mb以下にわたる(表1)。0.33Mbのメジアンサイズを持つこれらの21の高度に病巣のMCR内に存在し、平均15の注釈されたおよび8つのGENSCAN予測遺伝子があり、それらを標的同定のためにかなり魅力的なものとする。

【0342】

これらの優先順位を決めた遺伝子座に帰される信頼性レベルは、さらに、アレイ-CGHによって定義される16の選択されたMCRと100%一致を示したリアルタイム定量PCR(QPCR)によって確認した(表1)。例えば、7q21.11-7q32.2における増幅された遺伝子座のMCRはQPCRによって容易に確認された(図2A)。さらに、QPCR分析は、アレイ-CGHによって報告された複合体CNAの構造的詳細を確認した。図2Bに示されるように、QPCRは、p16^{INK4A}、このCNAに対する公知の標的のホモ接合性欠失を含めた、HUP-T3における複合体9p21遺伝子座の各成分を正確に反映した。そのような詳細な構造的情報は、これらの癌関連染色体異常の発生の原因であるメカニズムを解剖するにおいて有用であることが判明するであろう。

【0343】

表1における高優先MCRを、4つの基準のうちの2つを満足する(66の区別される遺伝子座内の)さらなる81の中程度優先MCRと組み合わせると、ゲノム特徴付けは121の独立した遺伝子座内の145のMCRのリストを生じた(表3)。表3は、本明細書中に記載された自動アルゴリズムによって優先順位を決めた64の高信頼性MCR(≥3投票)および81の中程度優先(2投票)MCRを含めた、121の独立した遺伝子座における145のMCRの組み合わせられたリストを示す。各遺伝子座は細胞原性バンドに帰属され、他方、遺伝子座の現実の程度は(Mbで表した)染色体上のその物理的位置に

よってより正確に定義される (NCBI, Built 33)。遺伝子座の総じての輪郭は最大／最小プロフィールによって反映され、これは、(物理的Mbで定義される)その幅および振幅によって遺伝子座内の増幅または欠失の最も顕著な点を規定する。各遺伝子座は、遺伝子座の細胞原性複雑性に依存して、1以上の最小共通領域(MCR)によってさらに規定される。各MCRは同様に規定される。加えて、公知および予測される(GENSCAN)転写体の数、ならびにAffymetrix-表示遺伝子の合計数、およびp値 < 0.05 を持つものを各MCRについて示す。MCR再発は全データセットのパーセンテージとして示す。獲得または喪失(各々、90%および10%変位量)と共に原発性腫瘍(T)または細胞株(C)の数をリストする。さらに、増幅または欠失についての閾値(各々、97%および3%変位量)を満足する獲得／喪失を持つこれらの腫瘍のサブセットもまた示す。各遺伝子座のMCRの境界は、保存的パラメーターに基づいて定義された。

10

【0344】

(コピー数および発現情報の統合された分析)

遺伝子発現パターンについてのコピー数異常およびそれらの関連するインパクトは、癌遺伝子活性化および腫瘍サプレッサー不活化の共通するメカニズムを表す。事実、コピー数および転写プロフィールデータセットの統合は、ゲノム全体にわたるmRNA発現に対する遺伝子量の一致する影響を明らかにした(図6)(Hyman, E., et al. (2002) Cancer Res 62, 6240-5; Pollack, J. R., et al. (2002) Proc Natl Acad Sci USA 99, 12963-8)。逆に、従前に示されているように(Platzner, P., et al. (2002) Cancer Res 62, 1134-8)、いずれかの与えられたCNA内の遺伝子のサブセットのみがコピー数-駆動発現変化-CNA内の潜在的癌遺伝子標的から局外者を識別する第1パス手段を提供する特徴を示す。適切な場合として、細胞株Hup-T3(遺伝子座#21, 表1における染色体17についての増幅の新規な遺伝子座は、そのうち151がAffymetrix U133Aアレイに存在する455の遺伝子を含む。これらの155の遺伝子のうち、19のみが2倍を超える増大した転写体レベルを呈した。さらに、これらの19の遺伝子はこの遺伝子座のピーク内に存在する(図3A)。同様な相関を欠失の領域において確立することができる。例えば、BxPC-3細胞株における9p21欠失遺伝子座は、MCR内に存在する91の遺伝子のうち5つのみが2倍未満の検出できないまたは減少した発現を示すことを証明した(図3B)。全サンプルセットにわたるp16^{INK4A}、欠失に対する公知の標的の調査は、24の細胞株のうち11が低いまたは存在しない発現を示すことを示し、そのうち5つはホモ接合性欠失を示し、他方、残りの6つはDNAレベルで存在した(図3C)。後者において、後成サイレンシングがp16^{INK4A}不活化のメカニズムと推定された。

20

30

【0345】

膵臓腺癌を含めた多くの癌のタイプにおいて、真の細胞起源は知られていないままであり、したがって、プレ悪性生理学的見解は利用できない。上記の例においては、発現データを中心とし、相関するコピー数および発現を備えた遺伝子に有意な値を帰属させるための重み付け統計を計算することによるコピー数および発現プロフィールを調和させるモデルを適用した(Golub, T. R., et al. (1999) Science 286, 531-7; Hyman, E., et al. (2002) Cancer Res 62, 6240-5)(M&M参照)。このアプローチを用い、64の高信頼性MCR内に存在する遺伝子(表1)を、それらの発現の遺伝子量との相関に基づいて優先順位を決めた。遺伝子のサブセットのみを表したが、AffymetrixTM U133Aアレイは、この分析についてのこれらのMCR内に存在する合計4,742遺伝子のうち1926遺伝子を含めることを可能とした。データセットにわたるCNA内のその発現変化およびその表示の大きさに基づいてこれらの1926遺伝子各々を重み付けすることによって、統合されたコピー数および発現分析は、コピー数およびmRNA発現の間の統計学的に有意な関連性を示す603の遺伝子のリストを生じた($p < 0.05$, 表4および5)

40

50

。表4および5は、高優先MCR内に位置し（表1）、かつ遺伝子発現および遺伝子量の間にかなり有意な相関（ $p < 0.05$ ）を有する遺伝子を示す。染色体、Mbで表した物理的位置、遺伝子重量（M&M）およびp値をリストする。各GenBank Accession Number（「GI」番号）およびUniGene IDに対応するAffymatrixプローブ数を、各核酸およびタンパク質配列についての配列番号と共にリストする。p値は遺伝子重量統計の順列分析によって計算した。これらのうち、336は増幅の領域内に位置し、267は欠失の領域内に位置する。重要なことには、これらの603の遺伝子の中には、MYC（13）、p16INK4A（Rozenblum, E., et al. (1997) Cancer Res 57, 1731-4; Caldas, C., et al. (1994) Nat Genet 8, 27-32）およびDUSP6（Furukawa, T., et al. (2003) Am J Pathol 162, 1807-15）（表4および5）のような公知の膀胱癌遺伝子があり、したがって、コピー数および発現情報の両方を統合する値を補強する。

【0346】

Affymetrix U133A発現アレイでの公知および予測された遺伝子の不完全な表示は全ての可能な標的遺伝子の評価を排除したが、ここに示したアレイ-CGHの相補的分析および発現プロファイルは、利用可能な癌遺伝子候補のリストを優先順位を決めるように働き、高確率候補のサブセットへの集中についての病巣に対する基礎を提供する。加えて、また、種にわたるゲノムデータセットの統合は、癌遺伝子同定を容易にするにおいて効果的であることが判明し得る。癌遺伝子同定のための特に生産的な経路は、レトロウイルス促進白血病およびリンパ腫に存在する共通取込部位（CIS）の分析であり得る（Neil, J. C. & Cameron, E. R. (2002) Cancer Cell 2, 253-5）。プロウイルス取込が、主として、内因性プロト癌遺伝子（Neil, J. C. & Cameron, E. R. (2002) Cancer Cell 2, 253-5）を活性化するように働くという範例と一致して、ヒトゲノムへの232のCISのシンテニックマッピング（Akagi K., et al. (2004) Nucleic Acids Res 32:）は、表1における増幅された遺伝子座のMCR内に存在する19のCISを明らかにし、他方、10のみが偶然単独により予測されるであろう（ $p < 0.006$ ）。コントロール的に、喪失または欠失の領域内のMCRは16のCISを含んだに過ぎず、他方、14.4は偶然単独により予測されたであろう。したがって、増幅された遺伝子座へのCISマッピングの豊富さは、腫瘍進行のマウスモデルにおいて、ならびにヒト癌において病原性関連を持つ遺伝子を表し得るが、これらの候補遺伝子についての可能な細胞型特異的役割があり得る。

【0347】

（同等物）

当業者は、本明細書中に記載された本発明の特異的实施形態に対する多くの同等物を、通常の実験のみを用いて認識するか、または確認し得る。そのような同等物は、添付の特許請求の範囲によって包含されることが意図される。

【0348】

【表1】

表1:高信頼性MCRのリスト

#	細胞原性 バンド	遺伝子座 境界 (Mb)	遺伝子座ピーク プロフィール		最小共通領域 (MCR)					MCR再発					候補		
			位置 (Mb)	サイズ (Mb)	最大/最小	# Trspt		# on U133A		獲得/喪失		増幅/欠失					
						K	P	Total	Sig.	%	T	C	T	C			
獲得および増幅																	
1	1p13.1-p12	116.83-119.49	119.07-119.2	1.55	116.83-119.49	2.65	1.55	23	47	15	2	23	2	6	2	2	NOTCH4
2	5p15.33-p15.31	0.28-6.89	0.28-0.51	0.79	0.28-6.89	6.4	1.05	57	164	19	8	43	1	14	0	5	
3	5q31.1-q31.1	133.51-134.33	133.56-133.95	0.97	133.53-133.56	0.04	0.97	0	0	1	0	14	1	4	1	1	
4	6p22.1-p21.32	28.12-32.72	31.98-32.74	1.36	31.98-32.11	0.13	1.36	15	3	14	1	29	1	9	0	4	
5	6p21.1-p21.1	42.91-43.19	42.98-43.15	0.84	42.91-43.03	0.12	0.84	16	6	7	2	23	2	6	1	1	
6	7p22.3-p22.1	0.72-4.53	0.72-2.48	0.93	0.72-2.26	1.56	0.93	45	53	10	6	51	4	14	0	7	
7	7p15.1-p14.3	30.12-31.56	30.5-30.81	0.82	30.12-31.56	1.44	0.82	23	25	13	1	37	1	12	1	2	
8	7q11.21-q21.11	64.84-77.18	64.95-64.95	1.06	64.95-65.85	0.9	1.06	12	22	7	5	34	1	11	1	1	
9	7q21.11-q32.2	79.45-129.46	97.88-98.55	3.06	92.33-112.27	19.94	3.06	356	282	166	42	46	4	12	1	5	
10	8p12-p11.21	37.7-41.76	37.72-38.02	1.71	37.7-38.45	0.75	1.71	31	14	14	8	37	1	12	0	2	
11	8q12.1-q12.3	59.09-63.68	59.23-62.26	0.58	59.23-60.82	1.6	0.58	1	15	4	0	31	1	10	0	2	MYC
12	8q21.3-q24.3	90.7-145.83	133.72-134.16	1.78	118.97-145.83	26.85	1.78	317	461	115	41	66	6	17	0	7	
13	9p21.3-p13.2	23.68-37.87	35.65-36.56	0.86	35.6-36.56	0.96	0.86	39	23	18	9	20	1	6	0	3	
14	11q14.1-q14.2	78.15-86.74	82.76-85.89	0.9	83.39-86.21	2.82	0.9	18	26	9	0	46	0	16	0	2	
15	12p12.3-q13.13	16.6-53.06	20.7-22.54	2.52	21.82-22.39	0.57	2.52	9	5	3	1	26	2	7	2	2	KRAS2
16	12q15-q15	68.27-68.87	68.44-68.77	1.38	68.27-68.85	0.59	1.38	15	13	1	0	23	2	6	1	2	HER2
17	13q12.11-q14.13	18.68-43.95	19.21-24.22	0.89	20.65-24.85	4.19	0.89	43	74	19	3	20	2	5	1	2	
18	13q34-q34	112.84-113.06	112.85-113.01	0.62	112.84-113.06	0.23	1.04	14	8	3	1	29	4	6	1	1	
19	14q11.2-q24.3	18.82-74.47	73.56-74.47	1.08	28.12-33.17	5.05	0.98	36	61	14	7	34	4	8	1	2	
20	17q12-q23.2	37.48-56.39	43.53-43.53	2.37	38.95-55.26	16.31	2.37	474	308	215	70	46	2	14	0	7	OZF, AKT2
21	17q23.2-q25.3	59.83-79.64	62.33-62.47	3.61	74.02-74.22	0.2	1.19	14	4	5	3	34	3	9	1	2	
22	18p11.21-q12.1	12.02-28.55	19.67-21.37	2.12	19.12-21.37	2.25	2.12	26	37	11	6	29	4	6	3	3	
23	19p13.11-q13.32	23.32-50	45.03-45.39	3.84	41.41-44.6	3.2	3.52	124	77	35	16	26	4	5	2	4	
24	19q13.32-q13.43	50.06-63.76	50.65-50.65	1.59	50.06-62.89	12.83	1.59	732	396	282	65	29	3	7	1	5	AIB1, STK15
25	20p13-q13.33	0.33-63.41	58.64-63.41	1.34	25.68-31.48	5.8	1.25	26	31	10	1	40	3	11	1	5	
26	22q11.1-q12.1	14.85-28.58	22.7-22.7	1.04	22.64-22.83	0.2	1.04	5	7	6	2	23	3	5	3	3	
27	22q12.2-q12.2	28.76-29.85	28.96-29.83	0.93	29.35-29.85	0.51	0.93	12	7	5	2	26	3	6	1	1	
喪失および欠失																	
28	1p36.21-p36.11	15.02-26.95	21.46-21.46	-0.94	21.08-21.55	0.48	-0.94	14	7	2	1	46	4	12	1	2	FEZ1 NRG1
29	1p35.3-p34.3	28.37-39.18	32.79-33.04	-0.87	22.82-26.95	4.13	-0.73	151	67	64	18	49	3	14	1	1	
30	1p21.2-p21.1	100.63-103.3	103.25-103.25	-1.69	28.37-31.18	2.81	-0.77	28	28	17	7	37	3	10	1	2	
31	2p25.3-p24.3	0.21-16.09	10.92-11.3	-0.85	32.67-34.68	2.01	-0.87	28	29	10	4	37	3	10	1	2	
32	2p12-p11.2	75.23-89	79.31-85.51	-1.03	103.25-103.3	0.05	-1.69	5	1	0	0	49	4	13	1	5	
33	3p26.3-p24.3	1.33-18.8	13.85-14.52	-1	11.3-11.32	0.02	-0.85	0	0	1	1	26	4	5	2	1	
34	4q31.22-q32.1	148.03-158.75	149.46-153.1	-0.93	77.7-79.27	1.57	-1.03	0	12	1	0	23	2	6	1	1	
35	4q34.1-q35.2	174.84-188.09	175.03-187.79	-1.28	13.67-14.52	0.85	-1	13	15	8	3	34	4	8	0	2	
36	5q23.2-q23.3	127.55-130.53	127.55-128.48	-0.62	151.71-154.37	2.65	-0.93	18	39	8	2	51	4	14	0	4	
37	6q21-q22.31	106.63-119.43	107.02-116.57	-1.11	155.09-158.56	3.47	-0.91	24	40	14	0	51	4	14	1	4	
38	6q23.3-q24.3	135.17-146.81	137.46-138.13	-0.91	174.84-188.09	13.26	-1.28	94	194	40	8	54	6	13	0	2	
39	6q27-q27	168.07-170.54	169.63-170.54	-0.72	127.55-130.53	2.98	-1	7	24	3	1	20	1	6	1	1	INK4A
40	8p23.3-p12	2.06-37.7	2.06-2.1	-1.86	106.63-119.43	12.8	-1.11	133	181	56	21	51	5	13	0	6	
41	9p24.3-p21.2	0.47-27.18	20.77-21.31	-2.53	135.17-146.81	11.64	-0.91	98	144	38	8	46	5	11	1	4	
42	11q14.2-q14.3	85.89-89.24	86.21-89.24	-0.9	168.07-170.54	2.47	-0.72	22	62	8	2	46	5	11	1	3	
43	12q12-q13.12	40.06-49.24	41.04-49.21	-0.71	18.07-21.75	3.68	-1.31	27	57	12	4	54	2	17	0	11	
44	12q13.12-q13.3	49.65-55.82	50.01-53.06	-0.7	28.45-37.7	9.25	-0.95	60	131	26	16	48	1	15	0	11	
45	12q14.1-q15	57.92-68.77	62.76-68.27	-0.8	0.47-3.39	2.92	-1.38	15	38	8	3	60	8	13	2	9	
46	12q21.2-q24.33	77.19-133.4	81.03-85.63	-1.19	5.3-23.68	18.39	-2.53	129	216	55	15	57	7	13	1	11	
47	16p13.3-p12.2	0.03-23.97	0.76-23.7	-0.67	85.89-89.24	3.35	-0.9	23	36	13	0	6	1	1	1	1	
48	17p13.3-q11.1	0.02-25.81	8.16-14.05	-0.99	10.36-12.8	2.44	-0.99	18	34	14	0	57	5	15	1	5	
49	18q11.2-q21.1	18.51-46.28	34.95-40.58	-1.19	40.06-49.24	9.18	-0.73	123	129	68	18	29	2	8	1	1	
50	18q22.1-q23	60.4-77.63	74.45-76.84	-1.53	49.65-53.06	3.41	-0.73	116	70	70	19	34	3	9	1	1	
51	19q13.2-q13.43	44.57-63.76	59.99-60.04	-1.31	53.17-55.82	2.65	-0.69	82	69	60	4	34	2	10	1	1	
52	21p11.2-q11.2	9.96-13.43	9.96-10.06	-1.24	62.76-68.77	6.01	-0.8	57	86	34	13	31	3	8	1	1	
53	21q22.2-q22.3	39.76-46.94	41.7-41.75	-4.09	77.19-91.44	14.25	-1.19	63	111	27	9	37	4	9	2	4	
54	22q11.1-q13.2	14.49-39.46	22.7-22.7	-1.32	2.24-2.82	0.58	-0.67	34	17	15	7	29	1	9	1	2	

【0349】

【表 2】

表 2 本実験で用いた細胞株および対応する参考文献のリスト

名称	供給源	参考文献
PA-TU-8988T	DSMZ	Elsasser et al. Virchows Arch B Cell Pathol 61(5):295-306. 1992
PA-TU-8988S	DSMZ	Elsasser et al. Virchows Arch B Cell Pathol 61(5):295-306. 1992
PA-TU-8902	DSMZ	Elsasser et al. Virchows Arch B Cell Pathol. 64:201-207.1993
DAN-G	DSMZ	Not Published
HUP-T4	DSMZ	Nishimura et al., Int. J. Pancreatol 13:31-41. 1993
HUP-T3	DSMZ	Nishimura et al., Int. J. Pancreatol 13:31-41. 1993
Panc 10.05	ATCC	Jaffee EM et al. Cancer J Sci Am 4:194-203, 1998.
PL45	ATCC	Jaffee EM et al. Cancer J Sci Am 4:194-203, 1998.
Aspc-1	ATCC	Chen et al. In Vitro. 1982 Jan;18(1):24-34.
Mpanc-96	ATCC	Peiper M et al. Int. J. Cancer 71: 993-999, 1997.
BxPC-3	ATCC	Tan MH et al. Cancer Invest. 4: 15-23, 1986.
Capan-1	ATCC	Fogh et al. JNCI 58:209-214. 1977
Capan-2	ATCC	Fogh et al. JNCI 58:209-214. 1977
CFPAC-1	ATCC	Schoumacher et al. PNAS 87: 4012-4016. 1990
HPAF-II	ATCC	Kim YW et al. Pancreas 4: 353-362. 1989.
Hs766T	ATCC	Owens R.B. et al. JNCI 56: 843-849, 1976.
Panc-1	ATCC	Lieber M et al. Int J. Cancer 15:741-747. 1975
SW1990	ATCC	Kyriazis AP et al. Cancer Res. 43: 4393-4401. 1983
MIA PaCa-2	ATCC	Yunis AA et al. Int. J. Cancer 19:128-135. 1977
HPAC	ATCC	Gower WR et al. In vitro Cell Dev Biol. 30A: 151-161. 1994
Panc 02.03	ATCC	Jaffee EM et al. Cancer J Sci Am 4:194-203, 1998.
Panc 02.13	ATCC	Jaffee EM et al. Cancer J Sci Am 4:194-203, 1998.
Panc 3.27	ATCC	Jaffee EM et al. Cancer J Sci Am 4:194-203, 1998.
Panc 08.13	ATCC	Jaffee EM et al. Cancer J Sci Am 4:194-203, 1998.

【 0 3 5 0 】

0

20

30

40

[illegible]

【表 4-1】

表4:欠失のMCRに存在し、減少した発現を呈する本発明のマーカー														
染色体	Pos (Mb)	遺伝子重量	最小P値	遺伝子の記載	遺伝子の記号	GI	UGID#	遺伝子座のリンク	調節	プロンプ	参照配列 mRNA ID	配列番号 核酸	参照配列 タンパク質 ID	配列番号 アミノ酸
1	21.3	-0.84	0.005	アルカリ性ホスファターゼ、 肝臓/骨/腎臓	ALPL	gi:28737	Hs.250769	249	DOWN	215783_s_at	NM_000478	427	NP_000469	1178
1	22.8	-1.12	<.005	KIAA0601タンパク質	KIAA0601	gi:3043725	Hs.348515	23028	DOWN	212348_s_at	NM_015013	428	NP_055828	1179
1	23.3	-0.38	0.037	E2F転写因子2	E2F2	gi:4758225	Hs.231444	1870	DOWN	207042_at	NM_004091	429	NP_004082	1180
1	23.5	-0.73	<.005	リンホスホリパーゼ11	LYPLA2	gi:9966763	Hs.413781	11313	DOWN	202292_x_at	NM_007260	430	NP_009191	1181
1	23.5	-0.39	0.049	ガラクトース-4-エピメラーゼ、 UDP-	GALE	gi:9945333	Hs.76057	2582	DOWN	202528_at	NM_000403	431	NP_000394	1182
1	23.6	-0.56	0.012	3-ヒドロキシメチル-3-メチルグルタル -コエニザイムリアーゼ (ヒドロキシメチルグルタル酸脱素)	HMGCL	gi:4504426	Hs.444925	3155	DOWN	202772_at	NM_000191	432	NP_000182	1183
1	23.6	-0.80	<.005	リンホスホリパーゼ11	LYPLA2	gi:4376011	Hs.413781	11313	DOWN	213568_x_at	NM_007260	433	NP_009191	1184
1	23.6	-0.42	0.05	フコシダーゼ、 α -L-1、組織	FUCA1	gi:4503802	Hs.576	2517	DOWN	202838_at	NM_000147	434	NP_000138	1185
1	24.3	-0.48	<.005	セリン/アルギニン置換マトリックス1	SRRM1	gi:5032118	Hs.18192	10250	DOWN	201225_s_at	NM_003839	435	NP_005830	1186
1	24.5	-0.64	0.021	クロライド細胞内チャネル4	CLIC4	gi:4588523	Hs.25035	25932	DOWN	201559_s_at	NM_015943	436	NP_039234	1187
1	24.9	-0.61	0.005	仮想タンパク質 dM65N24.2.1	D465N24.2.1	gi:12005626	Hs.259412	57035	DOWN	209006_s_at	NM_020317	437	NP_064713	1188
1	25.3	-0.87	<.005	スタスミン/癌タンパク質18	STMN1	gi:13518023	Hs.209983	3925	DOWN	200783_s_at	NM_005563	438	NP_005554	1189
1	26.1	-0.45	0.037	ジノクフィンガンタンパク質	ZTR6	gi:7705661	Hs.102419	51042	DOWN	204175_at	NM_015871	439	NP_056955	1190
1	26.4	-0.44	0.021	高移動度基ヌクレオソーム 結合ドメイン2	HMG2	gi:13277559	Hs.181163	3151	DOWN	208668_x_at	NM_005517	440	NP_005508; NP_116138	1191
1	26.4	-0.86	<.005	リボソームタンパク質S6キナーゼ、 90kDa、ポリペプチド1	RPS6KA1	gi:4506732	Hs.149957	6195	DOWN	203379_at	NM_002953	441	NP_002944	1192
1	26.7	-0.61	0.015	仮想タンパク質FLJ20477	FLJ20477	gi:8923441	Hs.259605	55650	DOWN	219238_at	NM_017837	442	NP_060307	1193

【 0 3 5 3 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

1	26.7	-0.84	0.007	仮想タンパク質FLJ20477	gi:1799134	Hs.259605	55650	DOWN	51146_at	NN_017837	443	NP_060307	1194
1	26.8	-2.26	0.032	仮想タンパク質FLJ12455	gi:11545792	Hs.10903	63906	DOWN	218895_at	NN_021078	444	NP_071361	1195
1	28.5	-0.75	<0.05	tRNAセレンシステイン関連タンパク質	gi:8921459	Hs.266935	54952	DOWN	218977_at	NN_017846	446	NP_060316	1197
1	28.6	-0.87	<0.05	TAF12 RNAポリメラーゼII TATAボックス結合タンパク質 (TBP)関連因子、20KDa	gi:1345403	Hs.421646	6883	DOWN	209463_at	NN_005644	447	NP_005635	1198
1	28.7	-0.63	0.016	グルコルチコイド調節エレメント 結合タンパク質1	gi:13435376	Hs.4069	10691	DOWN	220938_at	NM_006582; NM_024482	448;449	NP_006573; NP_077808	1199;1200
1	28.7	-0.78	0.005	高-グルコース-調節タンパク質8	gi:7705410	Hs.20993	51441	DOWN	217812_at	NN_016258	450	NP_057342	1201
1	29.1	-0.47	0.032	スプライシング因子、 アルギニンセリン-リッチ4	gi:5032088	Hs.76122	6429	DOWN	201696_at	NN_005626	451	NP_005617	1202
1	29.2	-0.57	0.008	核セプター-結合因子1	gi:7705775	Hs.183646	51102	DOWN	218664_at	NN_016011	452	NP_057095	1203
1	31.1	-0.49	0.037	仮想タンパク質FLJ12650	gi:13375663	Hs.436990	79570	DOWN	219438_at	NN_024522	453	NP_078798	1204
1	32.7	-0.67	0.006	KIAA1522	gi:6588393	Hs.322735	57648	DOWN	212048_at	XN_036299	454	XP_036299	1205
1	32.9	-0.63	0.017	仮想タンパク質FLJ90005	gi:6729581	Hs.511807	127344	DOWN	213038_at	NN_153341	455	NP_699172	1206
1	32.9	-0.27	<0.05	タンパク質に対する中程度の同源性 を持つホモセリン-リッチなタンパク質 ref: NP_000265.1 (ホモセリン) 仮想タンパク質FLJ20378 [ホモセリン]	gi:5664283	Hs.416117		DOWN	212172_at		1501		
1	33.3	-0.96	<0.05	ポリホモオテイク様2 (シヨウジョウハエ)	gi:4758241	Hs.165263	1912	DOWN	200919_at	NM_004427; NM_198040	456;457	NP_004418; NP_932157	1207;1208
3	14.1	-0.86	<0.05	仮想タンパク質MGC3222	gi:1384812	Hs.130330	79188	DOWN	217795_at	NN_024334	459	NP_077310	1210
3	14.1	-1.30	<0.05	色素性乾皮症 相補性基C	gi:475156	Hs.320	7508	DOWN	209375_at	NN_004628	460	NP_004619	1211
3	14.2	-0.47	0.033	LSM3 L5M3ホモログ、U6小核 RNA関連(S.cerevisiae)	gi:7657314	Hs.111632	27258	DOWN	202209_at	NN_014463	461	NP_055278	1212
4	153.2	-0.42	0.023	PET112様(酵母)	gi:4758893	Hs.119316	5188	DOWN	204300_at	NN_004564	462	NP_004555	1213

【表 4 - 3】

4	153.8	-0.38	0.043	F-ボックスおよびWD-40 ドメインを含むタンパク質 (F-box domain containing protein)	FBXW7	gi:8922851	Hs:312503	55294	DOWN	218751_s_at NM_018315	455;464	NP_060783; NP_361014	1214;1215
4	174.8	-0.42	0.037	UDP-N-アセチル-α-D-ガラクトサミン; UDP-N-アセチル-β-D-グルコサミン; ガラクトサミン; ガラクトサミン; (GalNAc-17)	GAUNT7	gi:8393408	Hs:156856	51809	DOWN	218313_s_at NM_017423	465	NP_059119	1216
4	175	-0.42	0.027	ホモサピエンズクロロニン; FLB9413 PRO352; mNNA、完全なacids		gi:1493455	Hs:381372		DOWN	210918_at	1502		1503
4	175.1	-0.40	0.021	心臓および神経組織発現2	HAND2	gi:12545383	Hs:388245	9464	DOWN	220480_at NM_021073	466	NP_068808	1217
4	184.5	-0.73	<0.05	dCMPデアミナーゼ	DCTD	gi:4740472	Hs:76894	1635	DOWN	201571_s_at NM_001921	467	NP_001912	1218
4	185	-0.70	0.006	ARF(代替リーディングフレーム) タンパク質と共輸/協働	CARF	gi:8923039	Hs:32922	55602	DOWN	218929_at NM_017632	468	NP_060102	1219
4	186	-0.74	<0.05	インターフェロン調節因子2	IRF2	gi:4755144	Hs:83795	3660	DOWN	203275_at NM_002199	469	NP_002190	1220
4	186.9	-0.38	0.05	仮想タンパク質 DKFZp761O0113	DKFZp761O0113	gi:8922176	Hs:42768	55805	DOWN	207797_s_at NM_018409	470	NP_060879	1221
4	187	-0.40	0.028	仮想タンパク質 FLJ11200	FLJ11200	gi:8922937	Hs:358022	55325	DOWN	218449_at NM_018359	471	NP_060829	1222
5	128.5	-2.23	0.042	GGI-1.1タンパク質	CGI-111	gi:705813	Hs:11085	51015	DOWN	218170_at NM_016048	472	NP_057132	1223
6	106.7	-0.63	<0.05	AP05オートファジー-5様(S.cerevisiae)	APG5L	gi:7023451	Hs:11171	9474	DOWN	202511_s_at NM_004849	473	NP_004840	1224
6	107.1	-0.45	0.015	グルタミニル-TRNAシンターゼ (グルタミニル加水分解)様1	QRSJ	gi:12032881	Hs:406917	55278	DOWN	218948_at NM_018292	474	NP_050762	1225
6	107.6	-0.61	<0.05	染色体6オーブリン-ディンク フレーム210	C6orf210	gi:9966852	Hs:268733	57107	DOWN	219307_at NM_020381	475	NP_065114	1226
6	108.2	-0.95	<0.05	SEC63様(S.cerevisiae)	SEC63	gi:5193121	Hs:330767	11231	DOWN	201915_at NM_007314	476	NP_009145	1227
6	109.5	-0.48	0.01	ソーディングネキシン3	SNX3	gi:6010168	Hs:12102	8724	DOWN	200067_x_at NM_003795; NM_152827; NM_152828	477;478;479	NP_003786; NP_690040; NP_690041	1228;1229;1230

【0355】

【表 4 - 4】

6	108.6	-0.53	0.007	ソーティングネキシン3	SNX3	gi:1176591	Hs.12102	8724	DOWN	213545_s_at	NM_003795 ; NM_152827 ; NM_152828	480;481;482	NP_003786; NP_590040; NP_590041	1231;1232;1233
6	109	-0.24	0.014			gi:3821018			DOWN	217185_s_at				
6	109.7	-0.75	<.005	CD164 抗原、シアロムシン	CD164	gi:11943350	Hs.43910	8763	DOWN	208654_s_at	NM_006016	483	NP_006007	1234
6	109.8	-0.77	<.005	スフィンゴミエリン ホスホシステラセ2 中性脂(中性スフィンゴミエリナーゼ)	SNPD2	gi:5101461	Hs.55235	6610	DOWN	214206_at	NM_003080	484	NP_003071	1235
6	109.8	-0.76	<.005	カルボニンホモログおよびIM ドメインを持つタンパク質と 相互作用するNEED9	NICAL	gi:12232438	Hs.33476	64780	DOWN	218376_s_at	NM_022765	485	NP_073602	1236
6	109.8	-0.54	0.008	ジンクフィンガータンパク質450	ZNF450	gi:7662127	Hs.409876	9841	DOWN	205140_at	XM_376525	486	XP_376525	1237
6	110.1	-0.36	0.04	K I A A O 2 7 4	KIAA0274	gi:7662033	Hs.419998	9896	DOWN	203656_at	NM_014845	487	NP_055660	1238
6	110.5	-0.52	<.005	WASタンパク質ファミリー、メンバー1	WASF1	gi:4507912	Hs.75850	8936	DOWN	204165_at	NM_003931	488	NP_003922	1239
6	110.5	-0.94	<.005	細胞分裂サイクル40ホモログ(酵母)	CDC40	gi:7706656	Hs.116674	51362	DOWN	203377_s_at	NM_015891	489	NP_056975	1240
6	110.9	-1.03	<.005	サイクリン依存性キナーゼ(CDC2様)11	CDK11	gi:5100783	Hs.129836	23097	DOWN	212897_at	NM_015076	490	NP_055891	1241
6	111	-1.36	<.005	サイクリン依存性キナーゼ(CDC2様)11	CDK11	gi:5689392	Hs.129836	23097	DOWN	212899_at	NM_015076	491	NP_055891	1242
6	111.2	-0.41	<.005	アデノシルメチオニン デカルボキシラーゼ1	AMD1	gi:178517	Hs.159118	262	DOWN	201196_s_at	NM_001634	492	NP_001625	1243
6	111.7	-0.76	<.005	DNAポリメラーゼのREV3様、 触媒サブユニット(酵母)	REV3L	gi:4506482	Hs.232021	5980	DOWN	208070_s_at	NM_002912	493	NP_002903	1244
6	114.3	-0.72	<.005	ヒストンデアセチラーゼ2	HDAC2	gi:4557640	Hs.3352	3066	DOWN	201833_at	NM_001527	494	NP_001518	1245
6	116.6	-0.84	<.005	T S P Y 様	TSPYL	gi:12032783	Hs.458358	7259	DOWN	221493_at	XM_371844	495	XP_371844	1246
6	119.2	-0.10	<.005	ASF1およびサイレンシング機能1 ホモログA(S.cerevisiae)	ASF1A	gi:7661591	Hs.292316	23842	DOWN	203427_at	NM_014034	496	NP_054753	1247
6	125.3	-0.55	0.019	H B S 1 様(S.cerevisiae)	HBS1L	gi:6703779	Hs.221040	10767	DOWN	209315_at	NM_006620	497	NP_006611	1248
6	135.6	-0.57	0.016	アベルソンヘルパー 組込み部位	AHI1	gi:8923074	Hs.273294	54806	DOWN	220841_s_at	NM_017631	498	NP_060121	1249

【 0 3 5 6 】

10

20

30

40

【表 4 - 5】

6	136.9	-0.29	0.024	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼキナーゼ6	MAP3K5	gi:1805469	Hs.151988	4217	DOWN	203836_s_at	NM_005923	499	NP_005914	1250
6	137.3	-0.58	<.005	インターロイキン20レセプター、 α	IL20RA	gi:7657060	Hs.288240	53832	DOWN	219115_s_at	NM_014432	500	NP_053247	1251
6	138.7	-0.52	0.012	ヘム結合タンパク質2	HEBP2	gi:7657602	Hs.438081	23593	DOWN	203430_at	NM_014320	501	NP_053135	1252
6	139	-0.74	<.005	染色体8オープン リニアライニングフレーム80	C6orf80	gi:12635928	Hs.44468	25901	DOWN	209479_at	NM_015439	502	NP_056254	1253
6	139.4	-0.45	0.024	ヘッドケースホモログ (ショウジョウバエ)	HECA	gi:7706434	Hs.6679	51696	DOWN	218603_at	NM_016217	503	NP_057301	1254
6	146.5	-0.76	<.005	グルタミン酸レセプター、 メタボトロピック1	GRM1	gi:4006005	Hs.32945	2911	DOWN	207299_s_at	NM_000818	504	NP_000829	1255
6	169.8	-0.25	0.047	PHDフィンガータンパク質10	PHF10	gi:11085906	Hs.435933	55274	DOWN	221786_at	NM_018288; NM_133325	505;506	NP_060758; NP_579866	1256;1257
6	169.8	-0.61	0.011	PHDフィンガータンパク質10	PHF10	gi:8922799	Hs.435933	55274	DOWN	219126_at	NM_018288; NM_133325	507;508	NP_060758; NP_579866	1258;1259
8	18	-0.44	0.026	N-アセチルトランスフェラーゼ1 (アリアルアミノN-アセチル トランスフェラーゼ)	NAT1	gi:4505334	Hs.458430	9	DOWN	214440_at	NM_000662	509	NP_000653	1260
8	18.3	-0.65	<.005	仮想タンパク質DKF761K1423	DKF761K1423	gi:8922171	Hs.336438	54358	DOWN	218613_at	NM_018422	510	NP_060892	1261
8	18.5	-0.68	<.005	ADP-リボシル化因子 グアニンヌクレオチド因子6	EFA6R	gi:8085952	Hs.408177	23362	DOWN	203354_s_at	NM_015310	511	NP_056125	1262
8	20	-0.75	<.005	ATPase, H ⁺ 輸送, リンソーム 56/58kDa, V1サブユニットB, アイソフォーム2	ATP6V1B2	gi:4502310	Hs.295917	526	DOWN	201089_at	NM_001693	512	NP_001684	1263
8	28.6	-0.40	0.042	外骨腫症(多重)様3	EXTL3	gi:2897904	Hs.9018	2137	DOWN	209202_s_at	NM_001440	513	NP_001431	1264
8	28.6	-0.49	0.02	外骨腫症(多重)様3: 外骨腫症(多重)様3	EXTL3	gi:13623512	Hs.9018; Hs.9018	2137; 2137	DOWN	211051_s_at	NM_001440	514	NP_001431	1265
8	28.7	-0.80	<.005	仮想タンパク質FLJ10871	FLJ10871	gi:8922725	Hs.15562	55756	DOWN	203941_at	NM_018250	515	NP_060720	1266
8	29.9	-0.99	<.005	仮想タンパク質MGC8721	MGC8721	gi:7706384	Hs.279921	51669	DOWN	200847_s_at	NM_016127	516	NP_057211	1267
8	30	-0.96	<.005	レプティンレセプター重複 転写体様1	LEPROTL1	gi:7662509	Hs.146585	23484	DOWN	202594_at	NM_015344	517	NP_056159	1268
8	30	-0.80	<.005	タイナクチン6	DCTN6	gi:730115	Hs.158427	10671	DOWN	203261_at	NM_006571	518	NP_006562	1269

【0357】

10

20

30

40

【表 4 - 6】

8	30.3	-0.22	0.034	複製スプライシングを持つ RNA結合タンパク質	RBPMS	gi:5803140	Hs.195825	11030	DOWN	207836_s_at	NM_006867	519	NP_006858	1269
8	30.5	-0.56	<.005	一般的転写因子IIE ポリペプチド2、β34kDa	GTF2E2	gi:4504194	Hs.77100	2961	DOWN	202680_at	NM_002095	520	NP_002086	1270
8	30.6	-0.84	<.005	グルタチオンレダクターゼ	GSR	gi:10835188	Hs.414334	2936	DOWN	205770_at	NM_000637	521	NP_000628	1271
8	30.6	-0.42	0.022	複製 8	D8S2298E	gi:1913786	Hs.155678	7993	DOWN	215983_s_at	NM_005671	522	NP_005662	1272
8	30.7	-0.46	<.005	タンパク質ホスファターゼ2 (以前の2A)、組織サイユニット、 βアイソフォーム	PPP2CB	gi:4738951	Hs.80350	5516	DOWN	201375_s_at	NM_004156	523	NP_004147	1273
8	32.6	-0.08	0.039	ニューレグリン1	NRG1	gi:7669513	Hs.172816	3084	DOWN	206237_s_at	NM_004495 ; NM_013956 ; NM_013957 ; NM_013958 ; NM_013959 ; NM_013960 ; NM_013961 ; NM_013962 ; NM_013964	NP_004486 ; NP_039250 ; NP_039251 ; NP_039252 ; NP_039253 ; NP_039254 ; NP_039255 ; NP_039256 ; NP_039258	1274;1275;1276; 1277;1278;1279; 1280;1281;1282	
8	33.4	-1.04	<.005	RNA結合タンパク質: RNA結合タンパク質	LOC84549	gi:13625185	Hs.77135 ; Hs.77135	84549 ; 84549	DOWN	211686_s_at	NM_032509	533	NP_115898	1283
8	33.4	-0.53	<.005	仮想タンパク質FLJ23263	FLJ23263	gi:13376690	Hs.288716	80185	DOWN	219124_at	NM_025115	534	NP_079391	1284
8	37.6	-0.75	<.005	染色体8オーボニンリーディングフレーム2: 染色体8オーボニンリーディングフレーム2	C6orf2	gi:10241715	Hs.125849 ; Hs.125849	11160 ; 11160	DOWN	221543_s_at	NM_007175 ; NM_007175	535;536	NP_009106	1285
8	37.6	-1.00	<.005	プロリンシグナターゼ共転写 ホモログ(細面)	PROSC	gi:6005841	Hs.301959	11212	DOWN	214543_s_at	NM_007198	537	NP_009129	1286
8	131.3	-0.17	0.021	ホモサピエンシスcDNA:FLJ23601 f.is. クロニンLNG15501		gi:10440343	Hs.306918		DOWN	216416_at		1505		.

【表 4 - 7】

9	2.1	-0.36	0.026	クロマチンのS/M1/SNE関連のマトリックス関連のアクチン依存性レギュレータサブファミリー-a、メンバー2	SMARCA2	gi:1333361	Hs:396404	6595	DOWN	212257_s_at	NM_003070 ; NM_139045	538;539	NP_003061; NP_620614	1287;1288
9	2.6	-0.47	0.013	超低密度リボタンパク質シセプター	VLDLR	gi:437586	Hs:370422	7436	DOWN	209822_s_at	NM_003383	540	NP_003374	1289
9	2.8	-1.06	<.005	マイナー組織適合性抗原IA-8	XTP5	gi:7661865	Hs:443866	9933	DOWN	203712_at	NM_014878	541	NP_053693	1290
9	5.3	-0.77	<.005	染色体9オーブンリーディングフレーム46	C9orf46	gi:8923931	Hs:416649	55848	DOWN	218992_at	NM_018465	542	NP_060935	1291
9	5.5	-0.51	0.007	プログラムされた細胞死1リガンド2	PDCD1LG2	gi:13376849	Hs:61929	80380	DOWN	220049_s_at	NM_025239	543	NP_079515	1292
9	6	-1.15	<.005	RAN結合タンパク質6	RANBP6	gi:3538999	Hs:167496	26953	DOWN	213019_at	NM_012416	544	XP_039701	-
9	14	-0.20	<.005	核因子1/B	NFIIB	gi:13410807	Hs:302690	4781	DOWN	213029_at	NM_005596	545	NP_005587	1293
9	14.2	-0.50	<.005	核因子1/B	NFIIB	gi:4988418	Hs:302690	4781	DOWN	209289_at	NM_005596	546	NP_005587	1294
9	15.4	-0.56	<.005	小核RNA活性化複合体ポリペプチド、50kDa	SNAPC3	gi:4507104	Hs:380092	6619	DOWN	204001_at	NM_003084	547	NP_003075	1295
9	15.4	-0.65	<.005	PC4およびSFERS1相互作用タンパク質2	PSTP2	gi:3283351	Hs:351305	11168	DOWN	209337_at	NM_021144 ; NM_033222	548;549	NP_066967; NP_150091	1296;1297
9	19	-0.94	<.005	Ras関連GTP結合A	RRAGA	gi:5729998	Hs:432330	10670	DOWN	201628_s_at	NM_006570	550	NP_006561	1298
9	19	-0.43	0.026	仮想タンパク質FLJ20060	FLJ20060	gi:8923062	Hs:54617	54801	DOWN	218602_s_at	NM_017645	551	NP_060115	1299
9	19.3	-0.91	<.005	リボソームタンパク質S6	RPS6	gi:4506730	Hs:408073	6194	DOWN	201234_x_at	NM_001010	552	NP_001001	1300
9	20.8	-1.14	<.005	KIAA1797	KIAA1797	gi:8923357	Hs:257696	54914	DOWN	218503_at	NM_017794	553	NP_060264	1301
9	21.3	-1.03	<.005	KIAA1354	KIAA1354	gi:2183814	Hs:147717	55958	DOWN	213233_s_at	NM_018847	554	NP_061335	1302

【0359】

【表 4 - 8】

9	21.9	0.00	0.015	サイクリン依存性キナーゼ インヒビター2A (メラノーマ、b16f10DK4を阻害する)	CDKN2A	gi:4502748	Hs:421349	1029	DOWN	207039_at	NM_000077; NM_058193; NM_058196; NM_058197	NP_000068; NP_478102; NP_478103; NP_478104	1304;1305;1306
9	22	-0.15	<0.005	メチルチオアデノシンホスホリラーゼ	MTAP	gi:4378719	Hs:459541	4507	DOWN	211363_s_at	NM_002451	NP_002442	1307
12	42.4	-1.31	<0.005	PIK9プロテインチロシンキナーゼ9; PIK9プロテインチロシンキナーゼ9	PTK9	gi:4506274	Hs:189075 ; Hs:189075	5756; 5756	DOWN	201745_at	NM_002522; NM_198974; NM_002822; NM_198974	NP_002813; NP_945325	1308;1309
12	43.8	-1.03	0.015	推定糖脂質移動タンパク質	LOC51054	gi:7705683	Hs:334649	51054	DOWN	220157_x_at	NM_015899	NP_055983	1310
12	44.6	-0.94	0.006	スプライシング因子 アルギニンセリルリジン2、 相互作用タンパク質	SFRS2IP	gi:4759171	Hs:210367	9169	DOWN	206989_s_at	NM_004719	NP_004710	1311
12	46.4	-1.06	0.047	仮想タンパク質FLJ20489	FLJ20489	gi:8923451	Hs:438867	55652	DOWN	218417_s_at	NM_017842	NP_060312	1312
12	46.5	-2.40	0.043	ピタミド(1,25-ジヒドロキシ ピタミド(3))レセプター	VDR	gi:2824068	Hs:2062	7421	DOWN	204255_s_at	NM_000376	NP_000367	1313
12	47.3	-0.54	0.036	仮想タンパク質FLJ20438	FLJ20438	gi:10534303	Hs:268189	54934	DOWN	221831_s_at	NM_017822	NP_060292	1314
12	47.5	-0.89	0.007	カルシウムチャネル、電圧依存性、 β3サブユニット	CACNB3	gi:463890	Hs:450712	784	DOWN	209530_at	NM_000725	NP_000716	1315
12	47.5	-0.82	0.007	カルシウムチャネル、電圧依存性、 β3サブユニット	CACNB3	gi:463890	Hs:450712	784	DOWN	34726_at	NM_000725	NP_000716	1316
12	47.5	-0.58	0.028	DEAD(Asp-Glu-Ala-Asp)ボックス ポリペプチド23	DDX23	gi:2655201	Hs:130098	9416	DOWN	40455_at	NM_004818	NP_004809	1317
12	47.6	-0.72	0.023	FK506結合タンパク質11、19kDa	FKBP11	gi:7706130	Hs:438695	5103	DOWN	219117_s_at	NM_016594	NP_057678	1318
12	47.6	-0.61	0.019	ADP-リボシル化因子3	ARF3	gi:4502202	Hs:119177	377	DOWN	20001_s_at	NM_001659	NP_001650	1319
12	47.6	-1.26	<0.005	ADP-リボシル化因子3; ADP-リボシル化因子3	ARF3	gi:178980	Hs:119177 ; Hs:119177	377; 377	DOWN	211622_s_at	NM_001659	NP_001650	1320

【表 4 - 9】

12	47.6	-0.48	0.045	プロテインキナーゼ AMP 活性化、 γ1 非-触媒サブユニット	PRKAG1	gi:4506060	Hs.3136	5571	DOWN	201805_at	NM_002733	576	NP_002724	1321
12	47.7	-0.58	0.028	リボカリン相互作用阻害セプター	LIMR	gi:8922462	Hs.272838	55716	DOWN	220036_s_at	NM_018113	577	NP_060583	1322
12	48.1	-1.12	<0.05	精子形成関連セリン-リッチ2	SPATS2	gi:12751480	Hs.152982	65244	DOWN	218324_s_at	NM_023071	578	NP_075559	1323
12	48.2	-1.25	<0.05	ミクロソフェリキュラータンパク質1	MCRS1	gi:5453693	Hs.25313	10445	DOWN	202556_s_at	NM_006337	579	NP_006328	1324
12	48.4	-1.09	<0.05	糖質促進遺伝子転写因子 (BAXインヒビター1)	TEGT	gi:2645728	Hs.35052	7009	DOWN	200803_s_at	NM_003217	580	NP_003208	1325
12	48.6	-0.55	0.03	Rac GTPase 活性化タンパク質1	RACGAP1	gi:11015369	Hs.23900	29127	DOWN	222077_s_at	NM_013277	581	NP_037409	1326
12	49.6	-1.33	0.034	溶質キャリアーファミリー11 (プロトン結合二価金属イオン トランスポート)、メンバ-2	SLC11A2	gi:11015990	Hs.57435	4891	DOWN	203123_s_at	NM_000617	582	NP_000608	1327
12	49.8	-2.85	0.034	転写因子 OP2	TFCP2	gi:5032174	Hs.154970	7024	DOWN	207627_s_at	NM_005653	583	NP_005644	1328
12	49.9	-1.32	<0.05	DAZ 関連タンパク質2	DAZAP2	gi:7661885	Hs.369761	9802	DOWN	200794_x_at	NM_014764	584	NP_055579	1329
12	49.9	-0.66	0.032	クローム843からの仮想タンパク質	LOC57228	gi:13097236	Hs.206501	57228	DOWN	209679_s_at	NM_020467	585	NP_065200	1330
12	50.6	-0.44	0.043	アクチビンAレセプター、タイプIB	ACVR1B	gi:12652986	Hs.371974	91	DOWN	205209_at	NM_004302 ; NM_020327 ; NM_020328	587;588;589	NP_004293; NP_064732; NP_064733	1332;1333;1334
12	50.6	-0.58	0.035	アクチビンAレセプター、タイプIB	ACVR1B	gi:5912233	Hs.371974	91	DOWN	213198_at	NM_004302 ; NM_020327 ; NM_020328	590;591;592	NP_004293; NP_064732; NP_064733	1335;1336;1337
12	50.7	-0.57	0.035	ホモサピエンスcDNA クローン IMAGE:5590288、部分B5cds		gi:7152120	Hs.444433		DOWN	222304_x_at		1506		-
12	51.7	-1.36	0.012	真核生物翻訳開始因子4B	EIF4B	gi:4503532	Hs.53379	1975	DOWN	211957_at	NM_001417	593	NP_001408	1338
12	51.8	-1.11	0.009	レチノイン酸レセプター、γ	RARG	gi:307424	Hs.1497	5916	DOWN	212178_at	NM_000966	594	NP_000957	1339
12	51.9	-0.78	0.04	仮想タンパク質MGC11308	MGC11308	gi:11975558	Hs.19210	84975	DOWN	212861_at	NM_032889	595	NP_116278	1340

【 0 3 6 1 】

10

20

30

40

【表 4 - 10】

12	51.9	-1.36	<0.05	ブレホールディング5	PFON5	gi:4505742	Hs.288856	5204	DOWN	207132_x_at	NM_002624 ; NM_145896 ; NM_145897	596;597;598	NP_002615 ; NP_665903 ; NP_665904	1341;1342;1343
12	51.9	-0.76	0.044	染色体12オープン リリーディングフラグメント10	C12orf10	gi:1056017	Hs.400801	60314	DOWN	218220_at	NM_021640	599	NP_067653	1344
12	52.6	-0.56	0.042	ホメオボックスC11	HOXC11	gi:7657165	Hs.127562	3227	DOWN	206745_at	NM_014212	600	NP_055027	1345
12	52.7	-0.73	0.01	ホメオボックスC6	HOXC6	gi:6709275	Hs.820	3223	DOWN	206194_at	NM_004503 ; NM_153693	601;602	NP_004494 ; NP_710160	1346;1347
12	52.8	-1.85	<0.05	一本鎖選択的単官能性 ウラシルDNAグルコシラーゼ	SMUG1	gi:7657596	Hs.5212	23583	DOWN	218685_s_at	NM_014311	603	NP_055126	1348
12	52.9	-1.16	0.012	ホモサビエンス クロニンIMAGE:5988883、mRNA		gi:13284730	Hs.349283		DOWN	212126_at		1507		-
12	52.9	-1.60	0.034	不均一核リボヌクレオ タンパク質A1	HNRPA1	gi:4504444	Hs.356721	3178	DOWN	200016_x_at	NM_002136 ; NM_031157	604;605	NP_002127 ; NP_112420	1349;1350
12	53	-4.54	0.034	コートマーターンバック質複合体、 サブユニット51	COT21	gi:7706336	Hs.181271	22818	DOWN	217726_at	NM_016057	606	NP_057141	1351
12	54.3	-1.01	<0.05	アミノ酸結合様(CDN6の 一般の抑制(酵母))	GCN5L1	gi:4503934	Hs.94672	2647	DOWN	202591_at	NM_001487	607	NP_001478	1352
12	54.4	-2.59	<0.05	CD63抗原(メラノーマ1抗原)	CD63	gi:4502678	Hs.445570	967	DOWN	200663_at	NM_001780	608	NP_001771	1353
12	54.4	-1.52	0.013	ORM1様2(S.cerevisiae)	ORMDL2	gi:7661819	Hs.13144	29095	DOWN	218556_at	NM_014182	609	NP_054901	1354
12	63.1	-0.90	0.005	エクソポリモン、RNA(1RNAに ついての核輸出シグナル)	XPOT	gi:5811224	Hs.85951	11260	DOWN	212160_at	NM_007235	614	NP_009166	1359
12	63.1	-0.76	0.014	TANK結合キナーゼ1	TBK1	gi:7019546	Hs.432466	29110	DOWN	218520_at	NM_013254	615	NP_037386	1360
12	63.3	-1.23	<0.05	グルコサミン(N-アセチル)-6- スルファタマーゼ (サンフィリップ病IIID)	GNS	gi:10329021	Hs.334534	2799	DOWN	212334_at	NM_002076	616	NP_002067	1361
12	63.4	-0.78	0.013	グルコサミン(N-アセチル)-6- スルファタマーゼ (サンフィリップ病IIID)	GNS	gi:4504060	Hs.334534	2799	DOWN	203676_at	NM_002076	617	NP_002067	1362
12	63.8	-1.13	0.006	統合的内側核膜タンパク質	MAN1	gi:7706606	Hs.105234	23592	DOWN	218664_at	NM_014319	618	NP_055134	1363

【表 4 - 1 1】

12	64.8	-0.71	0.012	CGI-119タンパク質	CGI-119	gi:7706134	Hs.126372	51643	DOWN	219206_s_at	NM_016056	619	NP_057140	1364
12	65.9	-0.73	0.005	TBP相互作用タンパク質	TTP120A	gi:8924259	Hs.512658	55832	DOWN	207483_s_at	NM_018448	620	NP_060918	1365
12	65.9	-0.79	<.005	TBP相互作用タンパク質	TTP120A	gi:4240146	Hs.512658	55832	DOWN	208838_at	NM_018448	621	NP_060918	1366
12	66.3	-0.70	0.006	デュアル-特異性チロシン-(Y)-リン酸化調節キナーゼ2	DYRK2	gi:1666065	Hs.173135	8445	DOWN	202968_s_at	NM_003583 ; NM_006482	622;623	NP_003574; NP_006473	1367;1368
12	67.3	-0.97	<.005	RAP1B、RAS発達伝子ファミリー のメンバー	RAP1B	gi:7661677	Hs.374418	5908	DOWN	200833_s_at	NM_015646	624	NP_056461	1369
12	67.4	-0.52	0.031	溶質担体ファミリー-35、メンバーE2	SLC35E3	gi:8922084	Hs.445043	55508	DOWN	218988_at	NM_018656	625	NP_061126	1370
12	68	-0.80	0.005	神経腫瘍増殖配列-41	GAS41	gi:5729837	Hs.4029	8089	DOWN	218911_at	NM_006530	626	NP_006521	1371
12	68.2	-0.53	0.05	TOP1、サブユニット2(β)を 含有するシヤペロニン	CCT2	gi:5453602	Hs.189772	10576	DOWN	201947_s_at	NM_006431	627	NP_006422	1372
12	78.7	-0.98	<.005	タンパク質ホスファターゼ1、 調節(インヒビター) サブユニット12A	PPP1R12A	gi:5436140	Hs.377908	4659	DOWN	201603_at	NM_002480	628	NP_002471	1373
12	81.2	-0.81	<.005	HSPC128タンパク質	HSPC128	gi:7661789	Hs.90527	29080	DOWN	218936_s_at	NM_014167	629	NP_054386	1374
12	86.9	-0.86	<.005	仮想タンパク質DKFZp434N2030	DKFZp434N2030	gi:6708922	Hs.494204	91298	DOWN	213701_at		1508		
12	87	-0.52	0.045	仮想タンパク質FLJ13615	FLJ13615	gi:12711597	Hs.238715	80184	DOWN	221683_s_at	NM_025114	630	NP_079390	1375
12	87.4	-0.47	0.03	KITリガンド	KITLG	gi:4505174	Hs.1048	4254	DOWN		NM_000899 ; NM_003994	631;632	NP_000890; NP_003985	1376;1377
12	88.2	-0.45	0.027	デュアル特異性ホスファターゼ6	DUSP6	gi:13111942	Hs.298654	1848	DOWN	208891_at	NM_001946 ; NM_022652	633;634	NP_001937; NP_073143	1378;1379
12	88.4	-0.88	0.006	ATPase、Ca++輸送、原形質膜I	AT2B1	gi:7247996	Hs.20952	490	DOWN	212930_at	NM_001682	635	NP_001673	1380
12	88.5	-0.73	<.005	ATPase、Ca++輸送、原形質膜I	AT2B1	gi:184269	Hs.20952	490	DOWN	209281_s_at	NM_001682	636	NP_001673	1381
12	91	-0.65	0.008	B-細胞転座伝子1、抗増殖	BTG1	gi:4502472	Hs.255935	694	DOWN	200921_s_at	NM_001731	637	NP_001722	1382

【表 4 - 1 2】

16	2.5	-0.60	0.026	ATPase、H ₂ O輸送リソソーム18kDa、V0サブユニットc	ATP6V0C	gi:4502312	Hs:389107	527	DOWN	200954_at	NM_001694	638	NP_001685	1383
16	2.5	-0.62	0.019	ATPase、H ₂ O輸送リソソーム18kDa、V0サブユニットc	ATP6V0C	gi:189675	Hs:389107	527	DOWN	36984_at	NM_001694	639	NP_001685	1384
16	2.5	-0.70	<0.005	CGI-14タンパク質	CGI-14	gi:7705595	Hs:433499	51005	DOWN	219082_at	NM_015944	640	NP_057028	1385
16	2.5	-0.14	0.02	3-ホスホインシチド依存性プロテインキナーゼ-1	PDPK1	gi:4505694	Hs:154729	5170	DOWN	204524_at	NM_002613	641	NP_002604	1386
16	2.5	-0.92	<0.005	3-ホスホインシチド依存性プロテインキナーゼ-1	PDPK1	gi:2407612	Hs:154729	5170	DOWN	32029_at	NM_002613	642	NP_002604	1387
16	2.8	-0.15	<0.005	セリン/アルギニン回復マトリックス2	SRRM2	gi:4759778	Hs:433343	23524	DOWN	208610_s_at	NM_016333	643	NP_057417	1388
16	2.8	-0.61	0.01	セリン/アルギニン回復マトリックス2	SRRM2	gi:4531907	Hs:433343	23524	DOWN	213877_x_at	NM_016333	644	NP_057417	1389
17	45.4	-0.10	0.011	ゴルジSNAREセプター複合体メンバ-2	GOSR2	gi:12711466	Hs:432552	9570	DOWN	210009_s_at	NM_004287; NM_054022	233;234	NP_004278; NP_473363	984;985
18	37.8	-0.70	<0.005	ホスホインシチド-3-キナーゼ、クラス3	PIK3C3	gi:4505800	Hs:418150	5289	DOWN	204297_at	NM_002647	645	NP_002638	1390
18	41.9	-0.70	<0.005	ATPシンターゼ、H ₂ O輸送、ミトコンドリアF1複合体、αサブユニット、アイソフォーム1、心筋	ATP5A1	gi:4573764	Hs:298280	498	DOWN	213738_s_at	NM_004046	646	NP_004037	1391
18	42.6	-0.41	0.031	Max相互作用-ジンクフィンガー	MIZ1	gi:10720797	Hs:441069	9063	DOWN	214593_at	NM_004671; NM_173206	647;648	NP_004662; NP_775298	1392;1393
18	42.6	-0.50	0.008	Max相互作用-ジンクフィンガー	MIZ1	gi:3643114	Hs:441069	9063	DOWN	37433_at	NM_004671; NM_173206	649;650	NP_004662; NP_775298	1394;1395
18	42.9	-0.60	0.006	HSP039タンパク質	HSP039	gi:7770186	Hs:406542	51124	DOWN	211406_at	NM_016097	651	NP_057181; NP_060992	1396
18	66.1	-0.42	0.034	サイカイシグナルリンク4のサブユニット	SOC34	gi:4757991	Hs:44439	9306	DOWN	214462_at	NM_004232	652	NP_004223	1397
18	72.8	-0.48	0.011	ミエリン塩基性タンパク質	MBP	gi:4505122	Hs:408543	4155	DOWN	207323_s_at	NM_002385	653	NP_002376	1398

【表 4 - 1 3】

18	75.3	-0.31	0.005	活性化されたT細胞の核因子、 細胞質、カルシウム依存性	NEATC1	gi:500631	Hs.51259	4772	DOWN	210161_at	NM_006162 NM_172387 NM_172388 NM_172389 NM_172390	654,655,666,657 658	NP_006153 NP_765975 NP_765976 NP_765977 NP_765978	1359,1400,1401, 1402,1403
18	75.5	-0.60	<0.05	CTD(カルボキシ末端ドメイン) RNAポリメラーゼII、ポリペプチドA) ホスファターゼ、サブユニットI	CTDP1	gi:4758093	Hs.4076	9150	DOWN	205035_at	NM_004715 NM_048368	659,660	NP_004706 NP_430255	1404,1405
18	75.7	-0.58	<0.05	仮想タンパク質FLJ2237B	FLJ2237B	gi:13376629	Hs.288284	80148	DOWN	218208_at	NM_025078	661	NP_079354	1406
18	75.8	-0.61	<0.05	S.pombe dim1 + に類似	DIM1	gi:12654440	Hs.433631	10907	DOWN	202835_at	NM_006701	662	NP_006692	1407
18	75.8	-0.53	<0.05	仮想タンパク質FLJ21172	FLJ21172	gi:13376184	Hs.444642	79863	DOWN	219419_at	NM_024805	663	NP_079081	1408
18	75.9	-0.28	<0.05	KIA00863タンパク質	KIA00863	gi:10434228	Hs.131913	22830	DOWN	203321_s_at	XM_377498	664	XP_377498	1409
19	51.5	-0.81	0.018	タンパク質ホスファターゼ5、 触媒サブユニット	PPP5C	gi:5453957	Hs.431861	5535	DOWN	201979_s_at	NM_006247	319	NP_006238	1070
19	59.3	-0.32	<0.05	PRP31プレ-mRNAプロセッシング 因子31ホモログ(酵母)	PRPF31	gi:7661653	Hs.312927	26121	DOWN	202408_s_at	NM_015629	370	NP_056444	1121
19	59.9	-0.40	0.047	キラー細胞免疫グロブリン様 レセプター、2つのドメイン、 長い細胞質テール、1	KIR2DL1	gi:897908	Hs.312572	3802	DOWN	210890_x_at	NM_014218	665	NP_055033	1410
19	60.1	-0.18	0.016	天然細胞傷害性トリガリング レセプター	NCR1	gi:4758691	Hs.97084	9437	DOWN	207860_at	NM_004829	666	NP_004820	1411
21	45	-0.51	0.025	mitfの2つのホモログ1の SMI33(サレツァー(酵母))	SMIT3H1	gi:5902095	Hs.83119	6612	DOWN	200740_s_at	NM_006936	667	NP_008867	1412
21	45.1	-0.84	<0.05	下垂体腫瘍-トランスフェリン 相互作用タンパク質	PTTGIP	gi:11038670	Hs.369026	734	DOWN	200677_at	NM_004339	668	NP_004330	1413
21	46.9	-0.31	0.05	HMT1 hmrpメチルトランス フェラーゼ様(S.cerevisiae)	HMT1L1	gi:4504494	Hs.154163	3275	DOWN	202098_s_at	NM_001535	669	NP_001526	1414
22	21.3	-0.42	0.038	POM12(脂糖タンパク質様1 (ラット))	POM12L1	gi:7657468	Hs.380370	25812	DOWN	214570_x_at	NM_014348	670	NP_055163	1415
22	21.3	-0.57	0.012	免疫グロブリンA 様3	IGLJ3	gi:13171335	Hs.102950	28831	DOWN	216846_at		1509		1416
22	21.8	-0.30	0.015	RAB38、メンバ- RAS 癌遺伝子ファミリー	RAB38	gi:6049163	Hs.369557	9609	DOWN	211471_s_at	NM_004914	671	NP_004905	1416

【表 4 - 1 4】

22	21.9	-0.64	<0.05	破断点、クラスター領域	BCR	gi:11038638	Hs.446394	613	DOWN	202315_s_at	NM_004327 ; NM_021574	672;673	NP_004318; NP_067585	1417;1418
22	22.2	-0.65	0.005	免疫グロブリンA様 ポリペプチド1	IGLL1	gi:13399297	Hs.348935	3343	DOWN	206660_at	NM_020070 ; NM_152855	674;675	NP_064455; NP_690594	1419;1420
22	22.3	-0.52	0.013	ホモサピエンス、 クロールIMAGE:5728597、mRNA		gi:292400	Hs.272302	375159	DOWN	215816_at		1511		1512
22	22.4	-0.45	0.03	マトリックスメタプロロチオナーゼ11 (ストロマリジン3)	MMP11	gi:5177469	Hs.143751	4320	DOWN	203876_s_at	NM_005940	676	NP_005931	1421
22	22.4	-1.28	<0.05	クロマチンのSWI/SNF関連、マトリックス 関連、アクチン依存性、チユレータ、 サブアミリン、b、メンバ-1	SMARCB1	gi:4507076	Hs.512700	6598	DOWN	206532_at	NM_003073	677	NP_003064	1422
22	22.7	-1.44	<0.05	グルタチオンS-トランス フェラーゼθ1	GSTT1	gi:4504184	Hs.268573	2952	DOWN	203815_at	NM_000853	678	NP_000844	1423
22	23.2	-0.58	0.028	小核リボヌクレオプロロチンD8 ポリペプチド18kDa	SNRPD3	gi:4759159	Hs.356549	6634	DOWN	202567_at	NM_004175	679	NP_004166	1424
22	25.1	-0.48	0.014	ヘルマンズキ-ブドラドブラック症候群4	HP84	gi:5420802	Hs.441481	89781	DOWN	54037_at	NM_022081 ; NM_152840 ; NM_152841 ; NM_152842 ; NM_152843	680;681;682;683 ;684	NP_071364; NP_690053; NP_690054; NP_690055; NP_690056	1425;1426;1427; 1428;1429
22	25.1	-0.64	<0.05	ヘルマンズキ-ブドラドブラック症候群4	HP84	gi:11559920	Hs.441481	89781	DOWN	218402_s_at	NM_022081 ; NM_152840 ; NM_152841 ; NM_152842 ; NM_152843	683;686;687;688 ;689	NP_071364; NP_690053; NP_690054; NP_690055; NP_690056	1430;1431;1432; 1433;1434
22	25.2	-0.15	<0.05	ツフテリン 相互作用タンパク質11	TFP11	gi:5262598	Hs.20225	24144	DOWN	202750_s_at	NM_012143	690	NP_036273	1435
22	25.3	-0.52	0.046	クリスタリン、βM4	CRYBA4	gi:4503058	Hs.57690	1413	DOWN	206843_at	NM_001866	691	NP_001877	1436

【表 4 - 1 5】

22	26.4	-0.67	0.033	(平衡状態において破壊された) 細胞膜	MNI	gi:4505222	Hs.268515	4330	DOWN	20330_at	NM_002430	692	NP_002421	1437
22	27.4	-0.73	0.035	CHK2チェックポイントホモログ (S.pombe)	CHEK2	gi:13278893	Hs.146329	11200	DOWN	210416_s_at	NM_007194; NM_145862	693;694; 695;696	NP_009125; NP_665861	1438;1439
22	28.2	-0.07	0.033	染色体22オートファジー遺伝子ファミリーA19	C22orf19	gi:13177658	Hs.75361	8563	DOWN	209418_s_at		1513		1514
22	28.5	-0.55	0.024	ASC-1複合体サブユニットP100	ASC1p100	gi:5419897	Hs.436407	84164	DOWN	215684_s_at	NM_032204	695	NP_115580	1440
22	29	-0.84	<0.05	スライニング因子3a, サブユニット1、120kDa	SF3A1	gi:5032086	Hs.406277	10291	DOWN	201357_s_at	NM_003877	696	NP_003868	1441
22	29.1	-0.87	<0.05	SEC14様2(S.cerevisiae)	SEC14L2	gi:7110714	Hs.430576	23541	DOWN	204541_at	NM_012425	697	NP_036561	1442
22	30	-1.48	<0.05	ジンクフィンガータンパク質278	ZNF278	gi:9554374	Hs.27801	23598	DOWN	209431_s_at	NM_014323; NM_032050; NM_032051; NM_032052	NP_055138; NP_114439; NP_114440; NP_114441		1443;1444;1445; 1446
22	30.2	-0.73	<0.05	KIAA0542遺伝子産物	KIAA0542	gi:6635200	Hs.62209	9814	DOWN	213431_x_at	XM_038520	702	XP_038520	1447
22	30.2	-1.14	<0.05	KIAA0542遺伝子産物	KIAA0542	gi:3043607	Hs.62209	9814	DOWN	36545_s_at	XM_038520	703	XP_038520	1448
22	30.3	-0.66	<0.05	ホスファチジルセリンデカルホキラーゼ	PLSD	gi:13489111	Hs.8128	23761	DOWN	202392_s_at	NM_014338	704	NP_055153	1449
22	30.3	-0.84	<0.05	KIAA0542遺伝子産物	KIAA0542	gi:596770	Hs.62209	9814	DOWN	215689_x_at	XM_038520	705	XP_038520	1450
22	30.6	-0.72	<0.05	KIAA0645遺伝子産物	KIAA0645	gi:7662221	Hs.435022	9681	DOWN	205223_at	XM_377498	706	XP_376007	1451
22	30.6	-0.45	0.021	チロシン-モノオキシゲナーゼ/ トリプトファン-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質、カボリヘパチド	YWHAH	gi:4507950	Hs.226755	7533	DOWN	201020_at	NM_003405	707	NP_003396	1452
22	31.2	-0.72	0.011	ホモサピエンヌ クロマチンIMAGE4818531、mRNA		gi:10030150	Hs.150167		DOWN	215762_at		1515		.
22	31.5	-0.50	0.027	メタロプロテインナーゼの組織 インヒビター-シルスチン/アノナス ジストロフィー、偽変種	TIMP3	gi:1519557	Hs.245188	7078	DOWN	201149_s_at	NM_000362	708	NP_000353	1453
22	34	-0.37	0.047	myb1の標的(ニワトリ)	TOM1	gi:4885636	Hs.9482	10043	DOWN	202307_s_at	NM_005488	709	NP_005479	1454

【0 3 6 7】

10

20

30

40

【表 4 - 1 6】

22	34.3	-0.48	0.039	アポリボタンパク質L 6	APOL6	gi:13449280	Hs.257352	80830	DOWN	219716_at	NM_030641	710	NP_085144	1455
22	34.4	-0.76	<0.05	RNA結合モチーフタンパク質B	RBM9	gi:1267308	Hs.435574	23543	DOWN	212104_s_at	NM_014309	711	NP_055124	1456
22	34.8	-0.62	0.013	アポリボタンパク質L 3	APOL3	gi:7656972	Hs.241535	80833	DOWN	221087_s_at	NM_014349; NM_030644; NM_145639; NM_145640; NM_145641; NM_145642	712;713;714;715; 716;717	NP_055164; NP_085147; NP_663614; NP_663615; NP_663616; NP_663617	1457;1458;1459; 1460;1461;1462
22	34.9	-0.66	<0.05	アポリボタンパク質L 2	APOL2	gi:13325155	Hs.398037	23780	DOWN	221653_x_at	NM_030882; NM_145637	718;719	NP_112092; NP_663612	1463;1464
22	34.9	-0.44	0.032	ミオシン、重ポリペプチド9、非-筋肉	MYH9	gi:4448699	Hs.146550	4627	DOWN	211956_s_at	NM_002473	720	NP_002464	1465
22	35	-0.84	<0.05	チオレドキシニン2	TXN2	gi:4200326	Hs.211929	25828	DOWN	209077_at	NM_012473	721	NP_036605	1466
22	35.1	-1.23	<0.05	チオレドキシニン2	TXN2	gi:5280552	Hs.211929	25828	DOWN	209078_s_at	NM_012473	722	NP_036605	1467
22	35.1	-1.11	<0.05	真核生物細胞周期因子、サブユニット3、66/67kDa	EIF357	gi:4503352	Hs.55682	8664	DOWN	200005_at	NM_003753	723	NP_003744	1468
22	35.6	-0.37	0.046	チオスルファートスルファートラノスフェラーゼ(ロタネース)	TST	gi:1877030	Hs.351863	7263	DOWN	209603_at	NM_003312	724	NP_003303	1469
22	35.6	-0.64	0.005	メルカトピルベートスルファートラノスフェラーゼ	MFST	gi:13489090	Hs.248267	4357	DOWN	203524_s_at	NM_021126	725	NP_066949	1470
22	35.6	-0.58	0.01	仮想タンパク質L12242	FLJ12242	gi:13489098	Hs.94810	79734	DOWN	205561_at	NM_024681	726	NP_078957	1471
22	36.1	-0.53	0.033	躁病プリンジホモログ(ジョウジョウバロ)	MFNG	gi:515720	Hs.371768	4242	DOWN	213783_at	NM_002405	727	NP_002396	1472
22	36.1	-0.20	0.015	カスパーゼ動員ドメインファミリー、メンバー10	CARD10	gi:5878777	Hs.57973	29775	DOWN	214207_s_at	NM_014550	728	NP_055365	1473

【表 4 - 1 7】

22	36.2	-1.08	<0.05	コリン関連、ヌアタチン含有、ARI結合タンパク質1	GGA1	gi:9558728	Hs.405689	26088	DOWN	218114_at	NM_013365	729	NP_037497	1474
22	36.2	-0.62	0.023	コリン関連、ヌアタチン含有、ARI結合タンパク質1	GGA1	gi:5558473	Hs.405689	26088	DOWN	45572_s_at	NM_013365	730	NP_037497	1475
22	36.2	-0.61	0.026	SH3ドメイン結合タンパク質1	SH3BP1	gi:11545732	Hs.511954	23616	DOWN	213633_at	NM_018937	731	NP_061830	1476
22	36.4	-0.76	0.021	グリニンG-アセチルトランスフェラーゼの-アミノ-3-ケト-ブチレートコエンザイムA/R/LI(ア-セ)	GCA1	gi:7657117	Hs.54609	23464	DOWN	205164_at	NM_014291	732	NP_055106	1477
22	36.5	-1.41	<0.05	ポリメラーゼ(RNAII)(DNA指向性)ポリバブチド	POLR2F	gi:13097770	Hs.46405	5435	DOWN	209511_at	NM_021974	733	NP_068809	1478
22	36.9	-1.89	0.042	カゼインキナーゼ1, ε	CSNK1E	gi:6471575	Hs.355669	1454	DOWN	222015_at	NM_001894; NM_152221	734-735	NP_001885; NP_689407	1479;1480
22	37.1	-0.88	<0.05	KDEL(Lys-Asp-Glu-Leu)小胞体タンパク質滞留シグナル-3	KDELRL3	gi:8051612	Hs.250696	11015	DOWN	204017_at	NM_006855; NM_016657	736;737	NP_006846; NP_057839	1481;1482
22	37.1	-0.54	0.026	mck1ホモログのDMC1重サブユニット、減数分裂、特異的相同組換え(酵母)	DMC1	gi:1066000	Hs.339396	11144	DOWN	208342_s_at	NM_007068	738	NP_008999	1483
22	37.3	-0.48	0.028	染色体22オ-ブナリ-チーミングフレーム2	C22orf2	gi:7656941	Hs.334911	25776	DOWN	203450_at	NM_015373	739	NP_056188	1484
22	37.3	-0.47	0.038	外側ミトコンドリア膜22ホモログのトランスロカ-ゼ(酵母)	TOMM22	gi:9910381	Hs.285005	56993	DOWN	217960_s_at	NM_020243	740	NP_064628	1485
22	37.3	-0.75	<0.05	KIAA0063遺伝子産物	KIAA0063	gi:7661887	Hs.3094	9929	DOWN	201751_at	NM_014876	741	NP_055691	1486
22	37.3	-0.41	0.036	unc-84ホモログ(BXG. elegans)	UNC84B	gi:4582132	Hs.406612	25777	DOWN	212144_at	NM_015374	742	NP_056189	1487
22	37.3	-0.50	0.016	GTP結合タンパク質1	GTPBP1	gi:1916924	Hs.283677	9567	DOWN	205274_at	NM_004286	743	NP_004277; NP_054746	1488
22	37.3	-1.04	<0.05	GTP結合タンパク質1	GTPBP1	gi:7661735	Hs.283677	9567	DOWN	219357_at	NM_004286	744	NP_004277; NP_054746	1489
22	37.8	-0.43	0.008	血小板、由形成因子βポリバブチド(ミリアン内臓)アル(γ-sb)細胞因子(ホモログ)	PDGFB	gi:11012269	Hs.1976	5155	DOWN	216061_x_at	NM_002608; NM_033016	745;746	NP_002599; NP_148937	1490;1491
22	38	-0.54	0.042	ミトジェン活性化プロテインキナーゼキナーゼキナーゼ相互作用タンパク質1	MAP3K1P1	gi:5174702	Hs.403527	10454	DOWN	203501_at	NM_006115; NM_153497	747;748	NP_006107; NP_705717	1492;1493

【表 4 - 1 8】

22	38.1	-0.56	0.047	マンノシル(β-1,4-)-糖タンパク質 β-1,4-N-アセチルグリコサミニル トランスフェラーゼ	MGAT3	gi:6031184	Hs.276808	4248	DOWN	208058_s_at	NM_002409	749	NP_002400	1494
22	38.1	-0.64	0.03	仮想タンパク質FLJ20232	FLJ20232	gi:12803520	Hs.505742	54471	DOWN	221516_s_at	NM_019008	750	NP_051881	1495
22	38.1	-0.62	0.018	仮想タンパク質FLJ20232	FLJ20232	gi:1524716	Hs.505742	54471	DOWN	204593_s_at	NM_019008	751	NP_061881	1496
22	38.1	-0.48	0.041	活性化転写因子4(tax-応答性 エンハンサーエレメントB67)	ATF4	gi:4502264	Hs.181243	468	DOWN	200779_at	NM_001675; NM_182810	752;753	NP_001666; NP_877962	1497;1498
22	38.2	-0.52	0.043	マンノシル(β-1,4-)-糖タンパク質 β-1,4-N-アセチルグリコサミニル トランスフェラーゼ	MGAT3	gi:4914501	Hs.276808	4248	DOWN	209764_at	NM_002409	754	NP_002400	1499
22	39	-0.26	0.022	仮想タンパク質DJ1042K10.2	DJ1042K10.2	gi:11034850	Hs.22129	27352	DOWN	203014_x_at	NM_015705	755	NP_056520	1500

【表 5 - 1】

表5: 増幅のMCRに存在し、増大した発現を呈する本発明のマーカー														
染色体	Pos (Mb)	遺伝子 重量	最小 p値	遺伝子の記載	遺伝子記号	GI	UGID#	遺伝子座 リンク	調節	グループ	参照配列 mRnaID	配列番号: 核酸	参照配列 タンパク質ID	配列番号: アミノ酸
1	26.8	1.03	0.032	核分布遺伝子のホモログ (A. nidulans)	NUDC	gi:5729952	Hs.263812	10726	UP	201173_x_at	NM_006600	445	NP_006591	1196
1	116.9	2.41	0.038	転写終止因子 RNA ポリマラーゼII	TTF2	gi:5733121	Hs.201774	8458	UP	204407_at	NM_003594	1	NP_003585	756
1	117.8	0.85	0.029	WD反復ドメイン3	WDR3	gi:5803220	Hs.201375	10885	UP	218882_s_at	NM_006784	2	NP_006775	757
2	11.3	0.06	0.035	仮想タンパク質MGC33602	MGC33602	gi:7328008	Hs.274415	130814	UP	216458_at	NM_152391	458	NP_689604	1209
5	0.2	0.69	<.005	コハク酸デヒドロゲナーゼ複合体 サブユニットA、フラボタンパク質(Fp)	SDHA	gi:4759079	Hs.440475	6389	UP	201093_x_at	NM_004168	3	NP_004159	758
5	0.3	0.85	<.005	プログラムされた細胞死6	PDCD6	gi:7019484	Hs.24087	10016	UP	203415_at	NM_013232	4	NP_037364	759
5	0.5	0.95	<.005	Sec8 (S.cerevisiae)ホモログ	SEC6	gi:3005726	Hs.448580	11336	UP	212630_at	NM_007277	5	NP_009208	760
5	0.6	0.58	0.005	仮想タンパク質FLJ10565	FLJ10565	gi:8922220	Hs.100824	55722	UP	219531_at	NM_018140	6	NP_060610	761
5	0.9	0.77	<.005	仮想タンパク質FLJ13441	FLJ13441	gi:12965190	Hs.449278	65980	UP	220155_s_at	NM_023924	7	NP_076413	762
5	1.5	0.60	0.014	仮想タンパク質FLJ12443	FLJ12443	gi:13376233	Hs.179882	79888	UP	201818_at	NM_024830	8	NP_079106	763
5	1.8	0.96	<.005	NADHデヒドロゲナーゼ (ユビキノン)F ₀ -Sタンパク質6, 13kDa (NADH-ユビキノールレダクターゼ)	NDUF56	gi:4758791	Hs.408257	4726	UP	203606_at	NM_004553	9	NP_004544	764
5	5.5	0.72	0.005	KIAA0947タンパク質	KIAA0947	gi:13436178	Hs.5070	23379	UP	209654_at	XM_029101	10	XP_029101	765
6	32	0.67	0.032	テネインXB	TNXB	gi:8361667	Hs.411644	7148	UP	213451_x_at	NM_019105 NM_032470	11;12	NP_061978 NP_115859	766;767
6	42.9	1.03	<.005	トリスクレオチン反復含有5	TNRC5	gi:13325207	Hs.414099	10695	UP	217931_at	NM_006586 NM_183010	13;14	NP_006577 NP_898828	768;769
6	43	0.25	0.005	タンパク質ホスファターゼ2、調節 サブユニットB(856)、δアイソフォーム	PPP2R5D	gi:5453953	Hs.118244	5528	UP	202513_s_at	NM_006245 NM_180976 NM_180977	15;16;17	NP_006236 NP_851307 NP_851308	770;771;772
7	0.8	0.47	0.017	Gプロテイン結合レセプター-30	GPR30	gi:1381668	Hs.113207	2852	UP	211829_s_at	NM_001505	18	NP_001496	773
7	1.2	0.56	<.005	Gプロテイン結合レセプター-30	GPR30	gi:2656120	Hs.113207	2852	UP	210640_s_at	NM_001505	19	NP_001496	774
7	1.2	0.14	<.005	DKFZP586J0618タンパク質	DKFZP586J0619	gi:10809392	Hs.112184	26173	UP	212212_s_at	XM_291222	20	XP_291222	775
7	1.5	0.64	<.005	MICAL様2	FLJ23471	gi:13376030	Hs.376617	79778	UP	219332_at	NM_024723 NM_182924	21;22	NP_078999 NP_891554	776;777

【表 5 - 2】

7	1.6	0.40	0.026	v-ma(筋細胞の線粒体膜透過性阻害因子ホモログ(鳥類))	MAFK	gi:4505074	Hs.131953	7975	UP	206770_at	NM_002360	23	NP_002351	778
7	2.1	0.95	<0.005	MAO1細胞分裂(アミグダラ)を阻害する(哺乳類)	MAD1L1	gi:4505064	Hs.7345	8379	UP	204857_at	NM_003550	24	NP_003541	779
7	30.7	0.47	0.027	グリニル-tRNAシノターゼ	GARS	gi:577711	Hs.293885	2617	UP	208693_s_at	NM_002047	25	NP_002038	780
7	64.9	1.19	0.008	アルギニンコハク酸分解酵素	ASL	gi:4502356	Hs.447047	435	UP	204608_at	NM_000048	26	NP_000039	781
7	65	0.87	0.02	カルシウムシノターゼ関連タンパク質	RCP9	gi:7656976	Hs.300684	27297	UP	203899_s_at	NM_014478	27	NP_055293	782
7	65.5	1.17	<0.005	カルシウムチャネル四量体ドメイン含有7レベーター構成タンパク質	KCTD7	gi:5596067	Hs.119683	154881	UP	213474_at	NM_153033	28	NP_694578	783
7	65.6	1.04	<0.005	RAB3Aアミノ酸シノターゼ交換因子(GEF)	RABGEF1	gi:7657495	Hs.187660	27342	UP	218310_at	NM_014504	29	NP_055319	784
7	65.8	1.42	<0.005	振動タンパク質FLJ10089	FLJ10089	gi:8922228	Hs.287955	55069	UP	218008_at	NM_017994	30	NP_060464	785
7	93.2	0.69	<0.005	BET1ホモログ(S.cerevisiae)	BET1	gi:12654162	Hs.23103	10282	UP	202710_at	NM_005368	31	NP_005859	786
7	93.7	0.37	0.05	O-アセチルトラノスフラターゼ	CASI	gi:12597638	Hs.324725	64921	UP	219342_at	NM_022900	32	NP_075031	787
7	94.6	0.43	0.032	パラオキソナーゼ3	PON3	gi:1333633	Hs.440967	5446	UP	213695_at	NM_000940	33	NP_000931	788
7	94.5	1.07	<0.005	パラオキソナーゼ2	PON2	gi:2223775	Hs.165598	5445	UP	210830_s_at	NM_000305	34	NP_000296	789
7	94.8	0.50	0.015	ピルビン酸シノターゼキナーゼ、アミグダラ4	PDK4	gi:4505692	Hs.8364	5166	UP	205960_at	NM_002612	35	NP_002603	790
7	95.4	0.57	0.017	溶質担体ファミリー25、メンバ-13(ヒト)	SLC25A13	gi:7657380	Hs.9599	10165	UP	203775_at	NM_014251	36	NP_045066	791
7	95.9	1.01	<0.005	分裂手/足形欠陥症タイプ1	SHPM1	gi:5433639	Hs.331495	7979	UP	202176_at	NM_006304	37	NP_006295	792
7	96.3	0.42	0.045	ACN8ホモログ(S.cerevisiae)	ACN9	gi:9910179	Hs.42785	57001	UP	218981_at	NM_020186	38	NP_064571	793
7	97.1	0.77	<0.005	アスハラギンシノターゼ	ASNS	gi:4502258	Hs.446546	440	UP	205047_s_at	NM_001673 ; NM_133436 ; NM_183356	39-40-41	NP_001664 ; NP_597680 ; NP_899199	794-795-796
7	97.2	1.23	<0.005	タンパク質-pir-PC4389に対して強い同源性を持つホモサニエンス転写配列(ホモサニエンス)PC4389(哺乳類セブター、H12-ヒト(ラグメント))		gi:8008445	Hs.512431		UP	217499_x_at		1516		
7	97.3	0.89	<0.005	キナーゼホスファターゼシノターゼ2	KPI2	gi:7662475	Hs.122708	22853	UP	206223_at	NM_014916	42	NP_055731	797
7	98.1	0.94	<0.005	形質転換/転写ドメイン関連タンパク質	TRRAP	gi:4307690	Hs.203952	8295	UP	203642_s_at	NM_003496	43	NP_003487	798
7	98.2	0.56	<0.005	E3ユビキチンリガーゼSMURF1	SMURF1	gi:4758848	Hs.436249	57154	UP	212668_at	NM_020429 ; NM_181349	44-45	NP_065162 ; NP_851994	799-800
7	98.2	0.70	<0.005	形質転換/転写ドメイン関連タンパク質	TRRAP	gi:3694662	Hs.203952	8295	UP	214908_at	NM_003496	46	NP_003487	801
7	98.2	0.58	0.02	E3ユビキチンリガーゼSMURF1	SMURF1	gi:6446605	Hs.436249	57154	UP	215458_s_at	NM_020429 ; NM_181349	47-48	NP_065162 ; NP_851994	802-803

【0372】

10

20

30

40

【表 5 - 3】

7	98.2	0.63	0.005	ホモサピエンスcDNA FLJ21284 fis. クローニングCOL01811		gi:10437358	Hs:288218		UP	215589_at	1517		-
7	98.5	0.49	0.013	ホモサピエンスクロモソーム24438 mRNA配列		gi:3283921	Hs:124126		UP	215457_at	1518		-
7	98.5	0.99	<0.005	アウチン関連タンパク質2/3複合体、 サブユニットA、41kDa	ARPC1A	gi:5454077	Hs:291981	10552	UP	NM_006409	49	NP_006400	804
7	98.5	1.01	<0.005	アウチン関連タンパク質2/3複合体、 サブユニットB、41kDa	ARPC1B	gi:5031600	Hs:433506	10095	UP	NM_005720	50	NP_005711	805
7	98.7	0.76	<0.005	ジノクフィンガータンパク質95 ホモログ(マウス)	ZFP95	gi:11036641	Hs:110839	23660	UP	NM_014569; NM_145102	51,52	NP_055384; NP_659570	806,807
7	98.8	0.60	0.005	チクロロームP450、ファミリー3 サブファミリーA、ポリペプチド5	CYP3A5	gi:945005	Hs:150276	1577	UP	NM_000777	53	NP_000768	808
7	98.8	0.67	<0.005	チクロロームP450、ファミリー3 サブファミリーA、ポリペプチド5	CYP3A5	gi:4503230	Hs:150276	1577	UP	NM_000777	54	NP_000768	809
7	99.3	0.59	0.014	アダプター関連タンパク質複合体4、 mu 1サブユニット	AP4M1	gi:5442365	Hs:194703	9179	UP	NM_004722	55	NP_004713	810
7	99.3	0.98	<0.005	TAF6 RNAポリメラーゼII、TATA ボックス結合タンパク質(TBP) 関連因子、80kDa	TAF6	gi:5032146	Hs:289950	6878	UP	NM_005641; NM_139122; NM_139123; NM_139315	56,57,58,59	NP_005632; NP_620834; NP_620835; NP_647476	811,812,813,814
7	99.5	0.38	0.035	ホスト複製分岐増大2様6	PMS2L6	gi:4175684	Hs:367667	5384	UP	215667_x_at	1519		-
7	99.8	0.94	0.05	グアニン/シトシン結合タンパク質 (GTPドメイン)、Bポリペプチド2	GNB2	gi:4885282	Hs:185172	2783	UP	200852_x_at NM_005273	60	NP_005264	815
7	100	0.67	0.005	(カリウム/クロロライドトランスポーター)、 溶質担体ファミリー12 メンバー9	SLC12A9	gi:9910385	Hs:437628	56996	UP	NM_020246	61	NP_064631	816
7	100.4	0.94	<0.005	プロコラーゲンリジン2-オキシゲナーゼ3 6-ジオキシゲナーゼ3	PLOD3	gi:4505890	Hs:153157	8985	UP	NM_001084	62	NP_001075	817
7	100.4	0.50	0.018	ジノクフィンガー、HITDメイン含有I	ZNHIT1	gi:5451616	Hs:211079	10467	UP	NM_006349	63	NP_006340	818
7	100.4	0.36	0.044	テトラトリコペプチド反復ドメインII	TTC11	gi:7705631	Hs:423968	51024	UP	NM_016068	64	NP_057152	819
7	100.8	0.36	0.047	ミトコンドリア膜タンパク質 リジン/バリン-特異的	MYLC2PL	gi:12803868	Hs:247831	93408	UP	NM_138403	65	NP_612412	820
7	101.6	0.35	0.007	染色体7オープンリーディングフレーム19	C7orf19	gi:12357031	Hs:289053	80228	UP	NM_032831	66	NP_079432; NP_116220	821
7	101.5	0.49	0.02	HSPC047タンパク質	HSPC047	gi:7661749	Hs:512142	29080	UP	NM_014147	67	NP_054866	822
7	101.6	0.36	0.05	ポリマーゼ2(RNAIICONTA)指向性 ポリペプチドU、13.3kDa	POLR2J	gi:5100572	Hs:489461	5439	UP	NM_006234	68	NP_006225	823
7	101.7	0.38	0.038	DNA指向性RNAポリメラーゼII ポリペプチドJ関連遺伝子	POLR2J2	gi:10036750	Hs:406505	246721	UP	NM_032958; NM_032959; NM_145325	69,70,71	NP_116580; NP_116581; NP_663165	824,825,826

【0373】

10

20

30

40

50

【表 5 - 4】

7	101.7	0.48	<0.05	DNA指向性RNAポリメラーゼII ポリベータドミリオン遺伝子	POLR22	gi:5901957	Hs.406503	246721	UP	208534_s_at	NM_032958 ; NM_032959 ; NM_145325	7275774	NP_116580 ; NP_116581 ; NP_663165	827;828;829
7	105	0.84	<0.05	仮想タンパク質MGC33190	MGC33190	gi:3231718	Hs.211068	232255	UP	214342_at	NM_152749	75	NP_695962	830
7	105.3	0.36	0.03	シナプトファジン様タンパク質	SYPL	gi:5234354	Hs.80919	6856	UP	201259_s_at	NM_006754 ; NM_182715	76777	NP_006745 ; NP_874384	831;832
7	106.8	0.76	0.043	溶質担体ファミリー26、メンバー4	SLC26A4	gi:4505696	Hs.512611	5172	UP	206529_x_at	NM_000441	78	NP_000432	833
7	106.9	0.48	0.041	Gas-Br-Mkヌスミエントロピック レトロウィルストランスフォーミング配列様1	CBLL1	gi:13376203	Hs.458332	79872	UP	220018_at	NM_024814	79	NP_079090	834
7	107.1	0.69	0.01	ジエトリポリボアミドデヒドログナーゼ (セルビリン酸デヒドログナーゼ複合体、 クオキニグタルターゼ複合体、分岐鎖 ケト酸デヒドログナーゼ複合体のE3成分)	DLD	gi:181574	Hs.74635	1738	UP	209095_at	NM_000108	80	NP_000099	835
7	111.1	0.50	0.017	サイトキネシス40のデジターター	DOCK4	gi:7652263	Hs.118140	9732	UP	205003_at	NM_014705	81	NP_055520	836
8	37.7	0.60	0.037	Gプロテイン結合セプター124	GPR124	gi:11594613	Hs.17270	25960	UP	221814_at	NM_032777	82	NP_116166	837
8	37.7	0.72	0.029	Gプロテイン結合セプター124	GPR124	gi:4759882	Hs.17270	25960	UP	65718_at	NM_032777	83	NP_116166	838
8	37.7	1.12	<0.05	BRF2、RNAポリメラーゼIIIのサブユニット 転写開始因子、BRF1様	ENF2	gi:11096174	Hs.274136	55250	UP	218954_s_at	NM_018310	84	NP_060780	839
8	37.9	0.56	0.008	ash2(不存、小、またはホメオチック様 (シヨウシヨウハク))	ASH2L	gi:4417209	Hs.6856	9070	UP	209517_s_at	NM_004674	85	NP_004665	840
8	38	0.66	0.005	LSM1ホモログ、U6リボRNA関連 (S cerevisiae)	LSM1	gi:7657312	Hs.425311	27257	UP	203534_at	NM_014462	86	NP_045277	841
8	38	0.39	0.046	BCI2関連アミノ酸伝子4	BAG4	gi:6631074	Hs.194726	9330	UP	219624_at	NM_004874	87	NP_004865	842
8	38.1	0.83	<0.05	KIAA0725タンパク質	KIAA0725	gi:3882170	Hs.434966	23259	UP	212690_at	NM_291291	88	XP_291291	843
8	38.2	0.46	0.039	ウォルフヒルシュヘル症候群候補様1	WHSC1L1	gi:13699812	Hs.415895	54904	UP	218173_s_at	NM_017778 ; NM_023034	89,90	NP_060248 ; NP_075447	844;845
8	120.7	0.43	0.026	TAP2、RNAポリメラーゼII、TATAボックス 結合タンパク質(TBP)関連因子、150kDa	TAF2	gi:7022983	Hs.122752	6873	UP	209523_at	NM_003184	91	NP_003175	846
8	121.3	0.38	0.042	ミトコンドリアリボソームタンパク質L13	MRF13	gi:7662495	Hs.333823	28988	UP	218049_s_at	NM_014078	92	NP_054797	847
8	122.5	0.43	0.03	ヒアルロン酸シンターゼ2	HAS2	gi:4885390	Hs.159226	3037	UP	206432_at	NM_005328	93	NP_005319	848
8	123.9	0.48	0.014	仮想タンパク質MGC3067	MGC3067	gi:8924181	Hs.241576	79139	UP	218172_s_at	NM_024295	94	NP_061100 ; NP_077271	849
8	123.9	0.37	0.05	仮想タンパク質MGC3067	MGC3067	gi:13236515	Hs.241576	79139	UP	219402_s_at	NM_024295	95	NP_061100 ; NP_077271	850
8	124.1	0.44	0.021	未知MGC21654産物	MGC21654	gi:3231900	Hs.95631	93394	UP	214061_at	NM_145647	96	NP_663622	851

【表 5 - 5】

8	124.3	0.55	0.008	板想タンパク質FLJ10204	FLJ10204	gi:8522280	Hs.18029	55093	UP	219060_at	NM_018024	97	NP_060494	852
8	124.6	0.52	0.012	アネキソニンA13	ANXA13	gi:4757753	Hs.181107	312	UP	208323_at	NM_004306	98	NP_004297	853
8	125.4	1.03	<0.05	リンクアフィニンガー139	RNP139	gi:3395786	Hs.28285	11236	UP	209310_at	NM_007218	99	NP_009149	854
8	125.9	0.66	<0.05	KIAA0196遺伝子産物	KIAA0196	gi:7661987	Hs.437591	9857	UP	201985_at	NM_014846	100	NP_055661	855
8	128.7	0.62	0.012	v-myc骨髄球腫ウイルス増殖伝子ホモログ(鳥類)	MYC	gi:12962934	Hs.202453	4609	UP	202431_s_at	NM_002467	101	NP_002458	856
8	128.9	0.62	0.017	ホモサビエンスcDNA FLJ26234 仮、クローンADG09627		gi:190753	Hs.459222	375682	UP	216240_at		1520		-
8	130.8	0.59	0.013	板想タンパク質BM-009	BM-009	gi:7705303	Hs.369573	51571	UP	217916_s_at	NM_016623	102	NP_057707	857
8	133.7	0.43	0.022	CGI-72タンパク質	CGI-72	gi:7705782	Hs.44159	51105	UP	219606_at	NM_016018 ; NM_024878 ; NM_032205 ; NM_198513	103;104;105;106	NP_057102; NP_079154; NP_115581; NP_940915	858;859;860;861
8	134.2	0.47	0.023	N-myc下流調節伝子1	NDRG1	gi:5174656	Hs.318567	10397	UP	206632_s_at	NM_006096	107	NP_006087	862
8	141.8	0.37	0.048	PTK2プロテインチロシンキナーゼ2	PTK2	gi:5405748	Hs.434281	5747	UP	208820_at	NM_005607 ; NM_153831	108;109	NP_005598; NP_722560	863;864
8	143.8	0.41	0.034	間葉幹細胞タンパク質DSCD75	LOC51337	gi:7705199	Hs.25237	51337	UP	218300_at	NM_016647	110	NP_057731	865
8	144.6	0.59	0.009	KIAA0150タンパク質	KIAA0150	gi:1469881	Hs.370491	23144	UP	213445_at	NM_015117	111	NP_055932	866
8	144.7	0.37	0.037	板想タンパク質FLJ12150	FLJ12150	gi:13576057	Hs.118983	79792	UP	218154_at	NM_024736	112	NP_079012	867
8	144.7	0.37	0.032	真核生物細胞伸長因子1 (ヒトアミグダラトランススクリプション 因子タンパク質)	EEF1D	gi:4622550	Hs.334798	1936	UP	214394_x_at	NM_001960 ; NM_032378	113;114	NP_001951; NP_115754	868;869
8	144.8	0.73	<0.05	組織特異的移植抗原P05B	TSTA3	gi:6593326	Hs.404119	7264	UP	201844_at	NM_003313	115	NP_003304	870
8	144.8	0.80	<0.05	組織特異的移植抗原P05B	TSTA3	gi:1381178	Hs.404119	7264	UP	36936_at	NM_003313	116	NP_003304	871
8	144.8	0.61	0.01	KIAA0628遺伝子産物	KIAA0628	gi:7662213	Hs.43133	9831	UP	206188_at		1521		1522
8	144.9	0.46	0.022	スクリブル	SCRIB	gi:4331493	Hs.436329	23513	UP	212556_at	NM_015356 ; NM_182706	117	NP_056171; NP_874363	872;873
8	145.2	0.61	<0.05	5-オキソプロリンナーゼ(ATP-加水分解)	OPLAH	gi:5838792	Hs.305882	26873	UP	222025_s_at	NM_291266	118	XP_291266	874
8	145.2	0.49	0.014	エクソソーム複合体キヌタスクリューゼ RRP41	RRP41	gi:4534672	Hs.343589	54512	UP	91682_at	NM_019037	119	NP_061910	875
8	145.2	0.55	0.012	エクソソーム複合体キヌタスクリューゼ RRP41	RRP41	gi:9506688	Hs.343589	54512	UP	218695_at	NM_019037	120	NP_061910	876
8	145.2	0.46	0.021	エクソソーム複合体キヌタスクリューゼ RRP41	RRP41	gi:5408517	Hs.343589	54512	UP	58696_at	NM_019037	121	NP_061910	877
8	145.2	0.37	0.031	GPAALPアンカー付着タンパク質1 ホモログ(鳥類)	GPAAL1	gi:6031166	Hs.4742	8733	UP	201618_x_at	NM_003801	122	NP_003792	878

【表 5 - 6】

8	145.2	0.51	0.009	GPAAI アノカ-付着タンパク質1 ホモログ(酵母) GPAAI アノカ-付着タンパク質1 ホモログ(酵母)	GPAAI	gi:13621546	Hs.4742; Hs.4742	8733; 8733	UP	211060_x_at	NM_003801	123	NP_003792	879
8	145.2	0.45	0.014	GPAAI アノカ-付着タンパク質1 ホモログ(酵母)	GPAAI	gi:7018511	Hs.4742	8733	UP	215690_x_at	NM_003801	124	NP_003792	880
8	145.2	0.43	0.021	チトクロームc-1	CYC1	gi:4503184	Hs.289271	1537	UP	201066_at	NM_001916	125	NP_001907	881
8	145.2	0.39	0.03	仮想タンパク質DKFZp434N1923; 仮想タンパク質DKFZp434N1923	DKFZp434N1923	gi:13569949	Hs.295866; Hs.295866	81858; 81858	UP	220973_s_at	NM_030974	126	NP_112236	882
8	145.3	0.31	0.014	脂タンパク質16	LOC51236	gi:13124772	Hs.300224	51236	UP	219071_x_at	NM_016458	127	NP_057542	883
8	145.5	0.33	0.048	ジアシルグリセロール-オキシド トランスフェラーゼホモログ(マウス)	DGAT1	gi:7382489	Hs.512810	8694	UP	203669_s_at	NM_012079	128	NP_036211	884
8	145.5	0.67	<0.05	推定Gプロテイン結合 レセプター-GPCR41	FLJ11856	gi:13373681	Hs.6459	79581	UP	218151_x_at	NM_024531	129	NP_078807	885
8	145.5	0.43	0.039	切断およびポリアデニル化 特異的因子1, 160kDa	CPSF1	gi:10037185	Hs.83727	29894	UP	201638_s_at	NM_013291	130	NP_037423	886
8	145.6	0.51	0.01	溶質担体ファミリー38(亜型トランスポーター) メバハ-4	SLC39A4	gi:8923304	Hs.411274	55630	UP	219215_s_at	NM_017767; NM_130849	131;132	NP_060237; NP_570901	887;878
8	145.6	0.43	0.031	空胞タンパク質ソレーニンG28(酵母)	VPS28	gi:7705884	Hs.418175	51160	UP	218679_s_at	NM_016208; NM_183057	133;134	NP_057292; NP_898880	879;880
8	145.6	0.44	0.036	ホモサビエンシスmRNA. 染色体1 特異的転写体KIAA0486	MTAP	gi:7150895	Hs.459379		UP	213681_at		1523		.
9	21.9	0.02	<0.05	メチルチオアデニン/シンボスホリラーゼ	TPM2	gi:6006025	Hs.446152	4507	UP	204956_at	NM_002441	555	NP_002442	1303
9	35.6	0.48	<0.05	トロポミオシン2(β)	TPM2	gi:12919494	Hs.300772	7169	UP	212654_at	NM_003289	135	NP_003280	891
9	35.7	0.52	0.013	タリニ	TLN1	gi:5454129	Hs.375001	7094	UP	203254_s_at	NM_006289	136	NP_006280	892
9	35.7	0.89	<0.05	cAMP応答性エレメント結合タンパク質3	CREB3	gi:2595559	Hs.287921	10488	UP	209432_s_at	NM_006368	137	NP_006359	893
9	35.7	0.84	<0.05	KIAA0258	KIAA0258	gi:7663029	Hs.47313	9827	UP	203169_at	XM_376830	138	XP_376830	894
9	35.7	0.11	0.032	ナトリウム利尿性ペプチドレセプター-B/ カニニン/クワン/ヒト(創傷)トリウム 利尿性ペプチドレセプター-B	NPR2	gi:2337354	Hs.78518	4882	UP	214066_x_at	NM_000907; NM_003995	139;140	NP_000898; NP_003986	895
9	35.8	0.67	0.006	鼻咽頭癌関連タンパク質	NGX6	gi:7706546	Hs.440953	51754	UP	207839_s_at	NM_016446	141	NP_057530	896
9	36.1	1.33	<0.05	クラスリン、軽ポリペプチド(Lca)	CLTA	gi:5005952	Hs.207052	1211	UP	200960_x_at	NM_001833; NM_007096	142;143	NP_001834; NP_009027	897;898
9	36.2	0.20	0.005	クラスリン、軽ポリペプチド(Lca)	CLTA	gi:704460	Hs.207052	1211	UP	216253_at	NM_001833; NM_007096	144;145	NP_001834; NP_009027	899;900

【 0 3 7 6 】

10

20

30

40

50

【表 5 - 7】

9	36.3	0.49	0.021	リングフィンガータンパク質38	RNF38	gi:12232470	Hs.333503	152006	UP	218528_s_at	NM_022781; NM_194328; NM_194330; NM_194331; NM_194332	146;147;148;149;150;151	NP_073618; NP_919309; NP_919310; NP_919311; NP_919312; NP_919313	901;902;903;904;905;906
12	22.1	0.62	0.006	シチジンリン酸N-アセチル ノイラミン酸N-アセチル	CMAS	gi:8923899	Hs.311346	55907	UP	218111_s_at	NM_018686	152	NP_061156	907
12	50	0.00	0.005	エラストアーゼ 1、膜臓	ELA1	gi:4503546	Hs.348395	1990	UP	206446_s_at	NM_001971	586	NP_001962	1331
12	54.8	0.77	0.033	ミオシン、緩歩リンゴ酸ド、アルカリ、 平滑筋および非-筋肉	MYL6	gi:2078557	Hs.77385	4637	UP	214002_at	NM_021019; NM_079423; NM_079424; NM_079425	610;611;612;613	NP_066299; NP_524147; NP_524148; NP_524149	1355;1356;1357;1358
13	22.3	0.84	0.011	ADP-リボシルトランスフェラーゼ(NAD ⁺ ; ポリ(ADP-リボース)ポリマラーゼ様1)	ADPR1L1	gi:11496990	Hs.437959	143	UP	202239_at	NM_006437	153	NP_006428	908
13	23.6	0.67	0.035	ミオチンポリリン酸タンパク質6	MTNR6	gi:1669390	Hs.79877	9107	UP	214429_at	NM_004685	154	NP_004676	909
13	24.5	2.81	0.042	リングフィンガータンパク質 (C3H2C3タイプ6)	RNF6	gi:12656362	Hs.136865	6049	UP	210931_at	NM_005977; NM_183043; NM_183044; NM_183045	155;156;157;158	NP_005968; NP_898864; NP_898865; NP_898866	910;911;912;913
13	112.9	0.22	0.011	ナンセンス転写体ホモログの UPFBLキヌレ-タンパク質	UPF3A	gi:12620405	Hs.399740	65110	UP	206958_s_at	NM_023011; NM_080687	159;160	NP_075387; NP_542418	914;915
14	29.1	0.62	0.006	染色体14オーブリン-タンパク質 スレ-タンパク質	C14orf163	gi:4240322	Hs.27023	23256	UP	215548_s_at	NM_016106; NM_182835	161;162	NP_057190; NP_873255	916;917
14	29.5	0.41	0.038	アダプター関連タンパク質複合体、 σ1サブユニット	APAS1	gi:12654832	Hs.496614	11154	UP	210952_at	NM_007077	163	NP_009008	918
14	30.1	0.80	<.005	染色体14オーブリン-タンパク質 スレ-タンパク質	C14orf127	gi:13376746	Hs.288981	80224	UP	220176_at	NM_025152	164	NP_079428	919
14	30.6	0.46	0.032	Rho GTPase活性化タンパク質5	ARHGAP5	gi:3905160	Hs.409546	394	UP	217936_at	NM_001173	165	NP_001164	920
14	31.8	0.56	0.043	神経細胞のPASドメインタンパク質3	NPAS3	gi:11545846	Hs.243209	64067	UP	220316_at	NM_022123; NM_173159	166;167	NP_071406; NP_775182	921;922
14	32.9	1.12	0.007	染色体4オーブリン-タンパク質 スレ-タンパク質	C14orf11	gi:8922092	Hs.433269	55837	UP	202623_at	NM_018453	168	NP_060923	923
14	33	0.98	<.005	ソーチンタンパク質6	SNX6	gi:13027619	Hs.283443	58533	UP	217789_at	NM_021249; NM_152233	169;170	NP_067072; NP_689419	924;925

【 0 3 7 8 】

14	52.4	1.17	0.013	骨形態素生成タンパク質4; 骨形態素生成タンパク質4	BMP-4	gi:576934	Hs:68879; Hs:68879	652; 652	UP	211518_s_at	NM_001202; NM_130850; NM_001202; NM_130850; NM_130851	171;172;173; NP_570911; NP_570912	926;927;928
14	53.2	0.58	0.021	細菌アルファマナーブドメイン含有4	SIAMD4	gi:5689442	Hs:92859	23034	UP	212845_at	NM_015589	177	929
14	53.4	0.48	0.025	WD反復およびHMG-ボックス DNA結合タンパク質1	WDHD1	gi:7704203	Hs:385988	11169	UP	204727_at	NM_007086	178	930
14	53.5	1.36	<0.005	染色体14オーブンリーディング フレーム32	C14orf32	gi:10438139	Hs:406401	93487	UP	212499_s_at	NM_144578	179	931
14	53.6	0.51	0.013	ディスク、大ホモログ7(シロウジョウハコ)	DLG7	gi:7661851	Hs:77695	9787	UP	203764_at	NM_014750	180	932
14	53.8	0.42	0.03	F-ボックスのみのタンパク質34	FBXO34	gi:8921650	Hs:15467	55030	UP	218559_at	NM_017943	181	933
14	54	0.29	0.025	キネチン1(キネシンレセプター)	KTN1	gi:11681348	Hs:368212	3895	UP	200914_x_at	NM_182926	182	934
14	55.5	0.62	0.006	SEC10様1(S.cerevisiae)	SEC10L1	gi:5730036	Hs:365863	10640	UP	218748_s_at	NM_006344	183	935
14	55.7	0.68	<0.005	染色体14オーブンリーディングフレーム108	C14orf108	gi:8922687	Hs:106210	55745	UP	218139_s_at	NM_018229	184	936
14	56.5	0.65	0.008	アクチン関連タンパク質10ホモログ (S.cerevisiae)	ACTR10	gi:10433604	Hs:248569	55860	UP	222230_s_at	NM_018477	185	937
14	58.5	0.65	0.035	染色体14オーブンリーディングフレーム135	C14orf135	gi:11968054	Hs:413671	64430	UP	219972_s_at	NM_022495	186	938
14	59.8	0.62	0.041	プロテインキナーゼC、η	PRKCH	gi:5455971	Hs:315366	5583	UP	206099_at	NM_006255	187	939
14	60.1	0.76	0.006	低酸素症誘因子1、アルファサブユニット (塩基性ラセンル-ラーゼ転写因子)	HIF1A	gi:4504384	Hs:412416	1091	UP	200989_at	NM_001530; NM_181054	188;189	940;941
14	60.2	0.43	0.03	小核RNA活性化複合体、ポリペプチド1、 43kDa	SNAPC1	gi:4507100	Hs:179312	6617	UP	205443_at	NM_003082	190	942
14	61.9	0.49	0.021	ジノフィンガ-およびFBT-MEIN含有1	ZBTB1	gi:7662437	Hs:511938	22890	UP	205092_x_at	NM_375086	191	943
14	61.2	0.03	0.011	KIAA0509	KIAA0509	gi:13279160	Hs:198037	26030	UP	217044_s_at		1524	1525
17	39.1	0.66	<0.005	SWI/SNF関連、ミトリックス関連、 クロマチンのアクチン依存性レギュレータ サブファミリーe、メンバー1	SMARCE1	gi:13045953	Hs:437546	6805	UP	211988_at	NM_003079	192	944
17	39.3	1.06	<0.005	セラチン10表皮細胞増殖因子トランス、 ケラチン10トランスジェン型および足底)	KRT10	gi:4557696	Hs:99936	3858	UP	207023_x_at	NM_000421	193	945
17	40.4	1.74	<0.005	ATPクエン酸リアーゼ	ACLY	gi:5768107	Hs:387567	47	UP	201127_s_at	NM_001096; NM_198830	194;195	946
17	40.5	0.97	0.007	1-α-B相相互作用Ras様タンパク質2	KBRAS2	gi:8922150	Hs:502910	28511	UP	218240_at	NM_017595	196	947

【表 5 - 9】

17	40.6	1.17	0.011	RAB5C、メンバ-RAS経路伝子ファミリー	RAB5C	gi:1672664	Hs.479	3878	UP	201156_s_at	NM_004583 ; NM_201434	197;198	NP_004574; NP_938842	948;949
17	40.7	0.83	0.033	転写因子B03シグナルトランスジェネレーター おとつアグチベーター	STAT5B	gi:5970172	Hs.434992	6777	UP	212549_at	NM_012448	199	NP_036580	950
17	41	1.01	<0.005	ATPase、H輸送、リン酸化V0 サブユニットA1(アトモドム1)	ATP6V0A1	gi:4885084	Hs.467871	535	UP	205095_s_at	NM_005177	200	NP_005168	951
17	41	0.59	0.007	転写因子様4	TCF4	gi:11761691	Hs.383019	6845	UP	210752_s_at	NM_170607 ; NM_198204 ; NM_198205	201;202;203	NP_733752; NP_937847; NP_937848	952;953;954
17	41.1	0.89	0.009	GT198、完全GORF	HUMGT198A	gi:1164152	Hs.279032	29893	UP	213708_s_at	NM_013290 ; NM_016556	204;205	NP_037422; NP_057660	955;956
17	41.1	1.06	0.009	仮想タンパク質LOC162427	LOC162427	gi:12779367	Hs.432850	162427	UP	212697_at	NM_178126	206	NP_835227	957
17	41.2	1.30	0.005	ゼステホモログ1のエンハンサー (シヨウショウバド)	EZH1	gi:2224716	Hs.194669	2145	UP	203249_at	NM_001991	207	NP_001982	958
17	41.2	1.08	<0.005	ゼステホモログ1のエンハンサー (シヨウショウバド)	EZH1	gi:2224716	Hs.194669	2145	UP	32259_at	NM_001991	208	NP_001982	959
17	41.3	1.62	<0.005	HSPC008タンパク質	HSPC008	gi:7661731	Hs.16039	23958	UP	218026_at	NM_014019	209	NP_054738	960
17	41.3	1.15	<0.005	ベクリン(コイルドドメイン、ミオシン様 BCI2相互作用タンパク質)	BEON1	gi:4502394	Hs.12272	8678	UP	208945_s_at	NM_003766	210	NP_003757	961
17	41.3	1.56	<0.005	プロテオソーム(プロソーム、マクロバイン) アクチベーターサブユニット3(PA28γ、K0)	PSME3	gi:5031996	Hs.152978	10197	UP	200988_s_at	NM_005789 ; NM_176863	211;212	NP_005780; NP_789839	962;963
17	41.3	1.09	<0.005	アミノキシターゼ、銅含有2 (銅酸、特異的)	AOC2	gi:6808881	Hs.143102	314	UP	207064_s_at	NM_001158 ; NM_009590	213;214	NP_001149; NP_033720	964;965
17	41.4	1.74	<0.005	仮想タンパク質MGC2744	MGC2744	gi:3432163	Hs.317403	80755	UP	222064_s_at	NM_025267	215	NP_079543	966
17	41.5	1.86	<0.005	リボソームタンパク質L27	RPL27	gi:4306622	Hs.405428	6155	UP	200025_s_at	NM_000988	216	NP_000979	967
17	41.8	0.44	0.05	ホモサビエンスcDNA PLJ35853 fig. クローニング2007078、腫瘍分に対して かなり類似、染色体17、表面マーカー2		gi:5935951	Hs.277721		UP	201383_s_at		1526		
17	42.3	0.45	<0.005	デュアル特異性ホスファターゼ2(C/EBPβ、ニア ウイリスホスファターゼVH1関連)	DUSP3	gi:12803692	Hs.181046	1845	UP	201537_s_at	NM_004090	217	NP_004081	968
17	42.3	1.16	<0.005	腫瘍タンパク質、バリエーション1(3 (MAGUK p55サブファミリーメンバー3))	MPP3	gi:4503238	Hs.396566	4356	UP	206186_at	NM_001932	218	NP_001923	969
17	42.4	0.63	<0.005	腫瘍タンパク質、バリエーション2(2 (MAGUK p55サブファミリーメンバー2))	MPP2	gi:6991687	Hs.436326	4355	UP	213270_at	NM_005374	219	NP_005365	970
17	42.6	1.57	<0.005	グルコース-6-ホスファターゼ 触媒サブユニット3	G6PC3	gi:129511784	Hs.294005	92579	UP	221759_at	NM_138387	220	NP_612396	971
17	42.6	1.39	<0.005	グルコース-6-ホスファターゼ 触媒サブユニット3	G6PC3	gi:4834429	Hs.294005	92579	UP	44654_at	NM_138387	221	NP_612396	972

【表 5 - 10】

17	42.7	1.55	<0.005	仮想タンパク質MGC3123	MGC3123	gi:13129117	Hs.181391	79089	UP	218419_s_at	NM_024107 ; NM_177441	222,223	NP_077012 ; NP_803190	973,974
17	42.9	0.92	<0.005	グラナリン	GRN	gi:4504150	Hs.180577	2896	UP	200678_x_at	NM_002087	224	NP_002078	975
17	42.9	0.45	0.006	KIAA0553タンパク質	KIAA0553	gi:11008117	Hs.396047	23131	UP	212485_at	XM_290758	225	XP_290758	976
17	43.6	0.55	0.018	N-ミトリールトランスフェラーゼ1	NMT1	gi:2760893	Hs.346743	4856	UP	201157_s_at	NM_021079	226	NP_066565	977
17	43.7	0.34	0.031	HMEIA 誘導性	HDS1	gi:7457641	Hs.15299	10614	UP	214188_at	NM_006460	227	NP_006461	978
17	44	1.09	<0.005	仮想タンパク質FLJ10120	FLJ10120	gi:8922238	Hs.378860	55073	UP	220219_s_at	NM_018001	228	NP_060471	979
17	44.8	0.51	0.012	ARFタンパク質	LOC51326	gi:7770214	Hs.500496	51326	UP	210718_s_at	NM_016632	229	NP_057716	980
17	44.8	1.09	<0.005	KIAA0563遺伝子産物	KIAA0563	gi:3647821	Hs.438861	9884	UP	221740_x_at	NM_014834	230	NP_025649	981
17	45.2	0.92	<0.005	M-エチルマレイミド感受性因子	NSF	gi:11079227	Hs.431279	4905	UP	202395_at	NM_006178	231	NP_006169	982
17	45.3	0.42	0.041	ウイングレスタイプMMTV感染部位 ファミリーメンバ-3ウイングレスタイプ MMTV感染部位ファミリーメンバ-3	WNT3	gi:13540476	Hs.224667 ; Hs.224667	7473 ; 7473	UP	221455_s_at	NM_030753	232	NP_110380	983
17	45.7	1.06	<0.005	タンパク質 p30960Cに対して強い 親和性を持つホモヘンテック 型タンパク質 (H-HNT) GG27-HUMANタンパク質 (GG27H) (細胞分裂調節タンパク質2ホモログ)		gi:1126567	Hs.514263		UP	217880_at		1527		
17	46.1	0.55	0.01	アミノペプチダーゼ1-ヒューマニン 感受性	NPPEPS	gi:4210725	Hs.293007	9520	UP	201455_s_at	NM_006310	235	NP_006301	986
17	46.2	0.31	<0.005	カリオフェリン/インボリン/β1	KPNB1	gi:13097743	Hs.439683	3837	UP	208974_x_at	NM_002265	236	NP_002256	987
17	46.4	0.87	0.01	ピリドキシン-5-ホスファターゼ オキシダーゼ	PNO	gi:8922497	Hs.327335	55163	UP	218511_s_at	NM_018129	237	NP_060599	988
17	46.5	1.27	<0.005	クロモボックスホモログ1 (HP1 β ホモログ2) (XOYHAE)	CBX1	gi:5803075	Hs.77254	10951	UP	201518_at	NM_006807	238	NP_006798	989
17	46.6	0.81	0.008	ソーテイングネキシン11	SNX11	gi:7019538	Hs.15827	29916	UP	220140_s_at	NM_013323 ; NM_152244	239,240	NP_037455 ; NP_689450	990,991
17	46.6	0.78	0.01	ソーテイングネキシン11	SNX11	gi:4827951	Hs.15827	29916	UP	53912_at	NM_152244	241,242	NP_037455 ; NP_689450	992,993
17	47.4	0.86	<0.005	ATPシナーゼ H-輸送 ミトコンドリア膜タンパク質複合体サブユニットc (サブユニット9) (ATP9A)	ATP5G1	gi:5262506	Hs.80986	516	UP	208972_s_at	NM_005173	243	NP_005166	994
17	47.4	0.60	0.017	仮想タンパク質FLJ13855	FLJ13855	gi:12751494	Hs.369120	65264	UP	217750_s_at	NM_023079	244	NP_075567	995
17	47.4	1.17	<0.005	ELL複合体のEAP30サブユニット	EAP30	gi:6005754	Hs.127249	11267	UP	218391_at	NM_007241	245	NP_009172	996
17	47.8	0.49	0.021	KIAA0824タンパク質	KIAA0824	gi:7662383	Hs.190386	22834	UP	205594_at	XM_375471	246	XP_375471	997
17	47.9	1.15	<0.005	プロイベチン	PHB	gi:6031190	Hs.75123	5245	UP	200659_s_at	NM_002634	247	NP_002625	998
17	48.1	1.06	<0.005	スベックル-タイプPOZタンパク質	SPOP	gi:4507182	Hs.129951	8405	UP	204640_s_at	NM_003563	248	NP_003554	999

【0380】

10

20

30

40

【表 5 - 1 1】

17	48.2	1.61	<0.05	溶質担体ファミリー-35、メンバー-B1	SLC35B1	gi:5032212	Hs.134073	10237	UP	202433_at	NM_005827	249	NP_005818	1000
17	48.2	0.82	<0.05	G/EBP-誘導タンパク質C/EBP-誘導タンパク質	LOC81558	gi:13540389	Hs.9831; Hs.9831	81538; 81538	UP	221249_s_at	NM_030802	250	NP_110429	1001
17	48.3	1.18	<0.05	MYS1C1ストンアセチルトランスフェラーゼ2	MYS12	gi:501961	Hs.21807	11143	UP	200049_at	NM_007067	251	NP_008998	1002
17	48.6	0.45	0.026	インテグリン、α3(抗原CD49C、VLA-3、レゼプター-α3サブユニット)	ITGA3	gi:4504746	Hs.245829	3675	UP	201474_s_at	NM_002204; NM_005501	252;253	NP_002195; NP_005492	1003;1004
17	48.6	0.37	0.047	ヒルビン酸プロドログナーゼキナーゼ、 アインフラ	PDK2	gi:5544583	Hs.92261	5164	UP	213724_s_at	NM_002611	254	NP_002602	1005
17	48.9	0.45	0.03	キシロソルトランスフェラーゼII	XYLT2	gi:11545913	Hs.32117	64132	UP	219401_at	NM_022167	255	NP_071450	1006
17	48.9	0.91	<0.05	仮想タンパク質PRO1855	PRO1855	gi:10437822	Hs.370927	55179	UP	222231_s_at	NM_018509	256	NP_060979	1007
17	49	0.79	<0.05	仮想タンパク質FLJ20820	FLJ20820	gi:13376740	Hs.288959	80221	UP	218844_at	NM_025149	257	NP_079425	1008
17	49	0.57	0.017	仮想タンパク質FLJ11164	FLJ11164	gi:8922910	Hs.8033	55316	UP	218307_at	NM_018346	258	NP_060816	1009
17	49	0.60	0.016	エタンゾン3	EPN3	gi:8923677	Hs.165904	55040	UP	220318_at	NM_017957	259	NP_060427	1010
17	49.1	0.57	0.018	仮想タンパク質FLJ21347	FLJ21347	gi:12383067	Hs.103147	64847	UP	218164_at	NM_022827	260	NP_073738	1011
17	49.2	0.93	<0.05	仮想タンパク質MGI:5398; 仮想タンパク質MGI:5398	MGI:5396	gi:13543385	Hs.351247; Hs.351247	91369; 91369	UP	211717_at	NM_052835	261	NP_443087	1012
17	49.2	0.42	0.034	シスプラチン抵抗性関連通刺 発現タンパク質	LUC7A	gi:7706534	Hs.130293	51747	UP	220044_x_at	NM_016424	262	NP_057508	1013
17	49.3	0.40	0.041	シスプラチン抵抗性関連通刺 発現タンパク質	LUC7A	gi:5174618	Hs.130293	51747	UP	203804_s_at	NM_016424	263	NP_057508	1014
17	49.5	0.69	0.017	精子関連抗原9	SPAG9	gi:4504524	Hs.500567	9043	UP	206748_s_at	NM_003971; NM_172345	264;265	NP_003962; NP_758353	1015;1016
17	49.7	1.32	<0.05	非-転移性細胞、発現された タンパク質(NM23A)	NME1	gi:4557796	Hs.118638	4830	UP	201577_at	NM_000259; NM_198175	266;267	NP_000260; NP_937818	1017;1018
17	49.7	1.75	<0.05	非-転移性細胞、発現された タンパク質(NM23B)	NME2	gi:4505408	Hs.433416	4831	UP	201268_at	NM_002512	268	NP_002503	1019
17	49.8	1.01	0.005	CGI-48タンパク質	CGI-48	gi:3179644	Hs.441503	51096	UP	222038_s_at	NM_016001	269	NP_057083	1020
17	53.5	0.61	0.005	COX11ホモログ、チトクロームc オキシダーゼ組立タンパク質(酵母)	COX11	gi:4186577	Hs.436988	1353	UP	214277_at	NM_004375	270	NP_004366	1021
17	53.8	0.23	0.01	肝臓白血因子	HLP	gi:184223	Hs.250692	3131	UP	204755_x_at	NM_002126	271	NP_002117	1022
17	54.3	0.64	0.005	ホスファチジルコリン移動タンパク質	PCPT	gi:10864026	Hs.285218	58488	UP	218676_s_at	NM_021213	272	NP_067036	1023
17	74	0.63	0.028	KIAA0195遺伝子産物	KIAA0195	gi:7661985	Hs.301132	9772	UP	202650_s_at	NM_014738	273	NP_055553	1024
17	74	1.07	0.009	CASK相互作用タンパク質2	CASKIN2	gi:5766922	Hs.274403	57513	UP	221846_s_at	NM_020753	274	NP_065804	1025
17	74	0.76	0.014	CASK相互作用タンパク質2	CASKIN2	gi:5924096	Hs.274403	57513	UP	61297_at	NM_020753	275	NP_065804	1026

【表 5 - 1 2】

18	19.3	0.56	0.022	RIOキナーゼ3(酵母)	RIOK3	gi:4507298	Hs.209061	8780	UP	202131_s_at	NM_003831; NM_145906	276277	NP_003822; NP_665913	1027;1028
18	19.3	0.79	0.006	RIOキナーゼ3(酵母)	RIOK3	gi:45055068	Hs.209061	8780	UP	202129_s_at	NM_003831; NM_145906	278279	NP_003822; NP_665913	1029;1030
18	19.3	1.02	<.005	結腸癌関連タンパク質Mcl1	MCL1	gi:7019454	Hs.287633	29919	UP	221190_s_at	NM_013326	280	NP_037458	1031
18	19.3	0.95	<.005	ニーマンピック病、タイプC1	NPC1	gi:4557802	Hs.404930	4864	UP	202679_at	NM_000271	281	NP_000262	1032
18	19.9	0.48	0.024	カルジウム結合タンパク質(CO-リン酸化調節タンパク質2)	CABYR	gi:6912377	Hs.511983	25256	UP	219928_s_at	NM_012189; NM_138643; NM_138644; NM_153768; NM_153769; NM_153770	282;283;284; 85;286;287	NP_036321; NP_619584; NP_619585; NP_722452; NP_722453; NP_722454	1033;1034;103 5;1036;1037;10 38
18	20.1	0.48	0.022	オキシテロール結合タンパク質1A オキシテロール結合タンパク質1A	OSBFL1A	gi:11377169	Hs.415753; Hs.415753	114876; 114876	UP	208158_s_at	NM_018030; NM_080597; NM_133268	288;289;290	NP_060500; NP_542164; NP_579802	1039;1040;104 1
19	41.4	1.18	<.005	ジノクフィンガータンパク質146	ZNF146	gi:6005965	Hs.301819	7705	UP	200050_at	NM_007145	291	NP_009076	1042
19	42.9	0.71	0.012	仮想タンパク質FLJ08021	FLJ08021	gi:9722561	Hs.290703	126231	UP	217627_at	NM_152360	292	NP_689573	1043
19	43.3	0.53	0.028	D4、亜細胞および二重PHDフィンガー ドメイン1	DPF1	gi:4758797	Hs.389057	8193	UP	206531_at	NM_004647	293	NP_004638	1044
19	43.5	1.08	<.005	プロテオーム(クロソーム、マクロバイン) 26Sサブユニット、非-ATPase、8 キナーゼドメインタンパク質	FSMD8	gi:4506232	Hs.78466	5714	UP	200820_at	NM_002812	294	NP_002803	1045
19	43.7	0.54	0.027	マイトコンドリアタンパク質 キナーゼドメインタンパク質	MAP4K1	gi:9970939	Hs.94424	11184	UP	214219_x_at	NM_007181	295	NP_009112	1046
19	43.8	1.41	<.005	真核生物細胞周期因子3 サブユニットk	eIF3k	gi:5114050	Hs.143773	27335	UP	221494_x_at	NM_013234	296	NP_037366	1047
19	43.8	1.43	<.005	真核生物細胞周期因子3 サブユニットk	eIF3k	gi:6038285	Hs.143773	27335	UP	212716_s_at	NM_013234	297	NP_037366	1048
19	44	0.43	0.013	不均一核リボヌクレオタンパク質L	HNRPL	gi:5935937	Hs.446623	3191	UP	221860_at	NM_001533	298	NP_001524	1049
19	44	1.01	<.005	シルリン(サイレン)結合タンパク質 情報調節ホモログ2(S.cirevisiae)	SIRT2	gi:13775599	Hs.375214	22933	UP	220605_s_at	NM_012237; NM_030593	299;300	NP_036369; NP_085096	1050;1051
19	44	0.70	<.005	B-細胞インヒビター、βにおけるα様 ポリペプチド遺伝子エンハンサーの核因子	NFKB1B	gi:4505384	Hs.9731	4793	UP	214448_x_at	NM_002503	301	NP_002494	1052
19	44.1	0.86	<.005	ペリル-tRNAアンターゼ2	SARS2	gi:8923420	Hs.14220	54938	UP	218702_at	NM_017827	302	NP_060257	1053

【表 5 - 1 3】

19	44.1	0.12	<0.05	ミトコンドリアリボソームタンパク質S12	MRPS12	gi:2252149	Hs.411125	6183	UP	210008_s_at	NM_021107 ; NM_033362 ; NM_033363	303;304;305 NP_203526 ; NP_203527	NP_066930 ; NP_203526 ; NP_203527	1054;1055;1056
19	44.1	0.56	0.019	F-ボックスのみタンパク質 26	FBXO26	gi:13376364	Hs.425352	115290	UP	220233_at	NM_024907 ; NM_148169	306;307	NP_079183 ; NP_680474	1057;1058
19	44.3	0.40	<0.05	p21(CDKN1A)活性化キナーゼ4	PAK4	gi:7382497	Hs.20447	10298	UP	203154_s_at	NM_005884	308	NP_005875	1059
19	44.3	0.83	<0.05	p21(CDKN1A)活性化キナーゼ4	PAK4	gi:4101556	Hs.20447	10298	UP	33814_at	NM_005884	309	NP_005875	1060
19	44.5	1.16	<0.05	仮想タンパク質F23149.1	PD2	gi:9506532	Hs.152894	54623	UP	202093_s_at	NM_019088	310	NP_061961	1061
19	50.5	3.52	0.045	RelA-関連タンパク質	RAI	gi:5730000	Hs.324051	10848	UP	218849_s_at	NM_006663	311	NP_006654	1062
19	50.6	1.27	<0.05	CD2-e 関連タンパク質 ERCC-1 に対してアプタシセンス	ASE-1	gi:5912245	Hs.446684	10849	UP	203264_at	NM_012099	312	NP_036231	1063
19	50.7	3.60	0.045	視覚羞明3コロラおよび網膜色素上皮 に關して常染色体劣性	OPA3	gi:13376716	Hs.123473	80207	UP	206357_at	NM_025136	313	NP_079412	1064
19	50.8	3.04	0.045	棘皮動物種微小管関連タンパク質様2	EMD2	gi:4568192	Hs.24178	24139	UP	204399_s_at	NM_012155	314	NP_036287	1065
19	50.8	0.98	0.018	胃腸癌ホリペプチドレセプター	GPR	gi:4503998	Hs.251412	2696	UP	208105_at	NM_000164	315	NP_000155	1066
19	50.8	1.00	0.044	小移行ボクサチタンタンパク質D2 ホリペプチド16.5kDa	SNRPD2	gi:7242206	Hs.424327	6633	UP	200826_at	NM_004597 ; NM_177542	316;317	NP_004588 ; NP_808210	1067;1068
19	50.9	0.65	0.012	ホモサビエンスcDNA FLJ90845 fis. クローニンRP2002974、ホモサビエンス タンパク質 S1X5 に対して高度に類似		gi:7151592	Hs.43314		UP	217661_x_at		1528		
19	50.9	0.49	<0.05	筋萎縮性ジストロフィー-タンパク 質キナーゼ	DMPK	gi:189038	Hs.898	1760	UP	217062_at	NM_004409	318	NP_004400	1069
19	51.8	0.71	0.005	プロテインキナーゼD2	PRKD2	gi:12659006	Hs.205431	25865	UP	209282_at	NM_016437	320	NP_057341	1071
19	51.8	0.65	0.009	プロテインキナーゼD2	PRKD2	gi:4384153	Hs.205431	25865	UP	38269_at	NM_016437	321	NP_057341	1072
19	51.9	1.42	0.008	ストリアリン、カルモジュリン結合 タンパク質4	STRN4	gi:7019572	Hs.406918	29883	UP	217903_at	NM_013403	322	NP_037535	1073
19	51.9	0.90	0.009	溶質担体ファミリー1(中性アミノ酸 トランスポーター)、メンバー6	SLC1A5	gi:4191561	Hs.185556	6510	UP	208916_at	NM_005628	323	NP_005619	1074
19	52	1.66	<0.05	アダプター-関連タンパク質様2、 σ1サブユニット	AP2S1	gi:11038644	Hs.119591	1175	UP	202120_x_at	NM_004069 ; NM_021575	324;325	NP_004060 ; NP_067586	1075;1076
19	52	1.35	<0.05	アダプター-関連タンパク質様2、 σ1サブユニット、アダプター-関連 タンパク質様2、σ1サブユニット	AP2S1	gi:13623458	Hs.119591 ; Hs.119591	1175 ; 1175	UP	211047_x_at	NM_004069 ; NM_021575	326;327	NP_004060 ; NP_067586	1077;1078
19	52.1	1.87	0.014	グルココルチコイドレセプター-DNA 結合因子1	GRLF1	gi:4758481	Hs.102548	2909	UP	202046_s_at	NM_004491 ; NM_024342	328;329	NP_004482 ; NP_077318	1079;1080
19	52.5	1.05	0.036	補体成分レセプター-1(C5aリガンド)	C5RL1	gi:4502508	Hs.2161	728	UP	220088_at	NM_001736	330	NP_001727	1081

【表 5 - 1 4】

19	52.6	2.86	<.005	N-エチルマレイミド感受性因子 付着タンパク質, α	NAPA	gi:4505328	Hs.75932	8775	UP	206491_at	NM_003818	NP_003818	1082
19	52.9	3.79	0.045	EHドメイン含有2	EHD2	gi:7657053	Hs.325650	30846	UP	205341_at	NM_014601	NP_055416	1083
19	52.9	5.29	0.045	EHドメイン含有2	EHD2	gi:4261421	Hs.325650	30846	UP	221870_at	NM_014601	NP_055416	1084
19	52.9	4.35	0.045	EHドメイン含有2	EHD2	gi:4261421	Hs.325650	30846	UP	45297_at	NM_014601	NP_055416	1085
19	53.3	2.23	0.045	リガーゼ1 DNA ATP依存性	LIG1	gi:4557718	Hs.1770	3978	UP	202726_at	NM_000234	NP_000234	1086
19	53.5	1.97	0.045	KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) 小胞体 タンパク質輸送シグナル	KDEL1	gi:5803047	Hs.78040	10945	UP	200922_at	NM_006801	NP_006792	1087
19	53.6	3.06	0.045	グルタマート-リッチ GWD 反復含有1	GRWD1	gi:13274610	Hs.400625	83743	UP	221549_at	NM_031485	NP_113673	1088
19	53.8	1.25	0.041	リボソームタンパク質L18	RPL18	gi:4834123	Hs.409634	6141	UP	214335_at	NM_000979	NP_000970	1089
19	53.8	1.82	0.013	アルファシプロロホモエーター (アルファシ プロホモエーター) タンパク質のD部位	DBP	gi:460704	Hs.414480	1628	UP	209783_at	NM_001352	NP_001343	1090
19	53.9	0.88	0.033	フコシルトランスフェラーゼ1 (FUT1) シンド 2- α -L-フコシルトランスフェラーゼ	FUT1	gi:4503804	Hs.69747	2523	UP	206109_at	NM_000148	NP_000139	1091
19	53.9	0.93	0.013	フコシルトランスフェラーゼ1 (FUT1) シンド 2- α -L-フコシルトランスフェラーゼ	FUT1	gi:6739499	Hs.69747	2523	UP	211411_at	NM_000148	NP_000139	1092
19	54	0.58	0.036	プレクストリン相同ドメイン含有、 ファミリーAGホスホインジチン結合 特異性メンバー4	PLEKHA4	gi:10190743	Hs.9469	57664	UP	219011_at	NM_020904	NP_065955	1093
19	54.1	0.43	0.044	ヌクレオチンジン1	NUCB1	gi:5453817	Hs.172609	4924	UP	200646_s_at	NM_006184	NP_006175	1094
19	54.1	0.63	0.032	BCL2関連タンパク質	BAX	gi:4757837	Hs.159428	581	UP	208478_s_at	NM_004324; NM_138761; NM_138762; NM_138763; NM_138764; NM_138765	NP_004315; NP_620116; NP_620117; NP_620118; NP_620119; NP_620120	1095;1096;109 7;1098;1099;11 00
19	54.1	1.36	<.005	グリコーゲンシンターゼ1 (筋肉)	GYS1	gi:4504232	Hs.382225	2997	UP	201673_s_at	NM_002103	NP_002094	1101
19	54.1	1.13	<.005	RuvD様2 (E.coli)	RUVBL2	gi:5730022	Hs.6455	10856	UP	201459_at	NM_006666	NP_006657	1102
19	54.2	0.94	0.011	黄体形成ホルモンベータサブユニット	LHB	gi:4504988	Hs.154704	3972	UP	214471_x_at	NM_000894	NP_000885	1103
19	54.2	2.38	<.005	小核リボヌクレオチンタンパク質70kDa ポリペプチド (RNP抗原)	SNRP70	gi:4507118	Hs.174051	6625	UP	201221_s_at	NM_003089	NP_003080	1104
19	54.5	0.95	0.011	ソグー1遺伝子	DKKL1- pending	gi:7657553	Hs.124021	27120	UP	220284_at	NM_014419	NP_055234	1105
19	54.6	0.51	0.034	リボソームタンパク質L13a	RPL13A	gi:12653484	Hs.449070	23521	UP	200715_x_at	NM_012423	NP_036555	1106
19	54.7	0.92	0.029	レチキエロカルピン3, EF-手カリンシウム結合ドメイン	RGN3	gi:10257434	Hs.419184	57333	UP	219102_at	NM_010650	NP_065701	1107
19	54.7	0.99	0.012	酸化窒素センサー相互作用タンパク質	NOSIP	gi:7705715	Hs.7236	51070	UP	217950_at	NM_015953	NP_057037	1108
19	54.8	0.65	0.017	インターフェロオンモジュレーター3	IRF3	gi:4504724	Hs.75254	3661	UP	202621_at	NM_001571	NP_001562	1109

【表 5 - 1 5】

19	54.8	2.10	0.045	HMT1 kuxp メチルトランスフェラーゼ様2 (Scerevisiae)	HRMTIL2	gi:4304466	Hs.20521	3276	UP	206443_a_at	NM_001536; NM_198318; NM_198319	359,360,361	NP_001527; NP_938074; NP_938075	1110;1111;1112
19	55	1.21	0.014	前立腺癌細胞増殖遺伝子1	PTOV1	gi:4884338	Hs.227429	55635	UP	213690_s_at	NM_017432	362	NP_059128	1113
19	55.1	2.89	0.045	ヌクレオホリン 62kDa	NUP62	gi:7765354	Hs.437023	23636	UP	202153_s_at	NM_012346; NM_016553; NM_153718; NM_153719	363,364,365,366	NP_036478; NP_037637; NP_714940; NP_714941	1114;1115;1116;1117
19	55.5	0.48	0.024	核レセプターサブファミリー1 グループH メンバー2	NR1H2	gi:11321629	Hs.432976	7376	UP	218315_s_at	NM_007121	367	NP_009052	1118
19	56.2	0.11	0.007	カリクレイン13	KLK13	gi:4884461	Hs.165296	26085	UP	216670_at	NM_015596	368	NP_056411	1119
19	58.7	1.51	<0.05	ジノクフィンガータンパク質331	ZNF331	gi:10092612	Hs.147644	55422	UP	219228_at	NM_018555	369	NP_061025	1120
19	59.3	1.45	<0.05	CCR4-NOT複合体, サブユニット3	CNOT3	gi:7657386	Hs.343371	4849	UP	203139_s_at	NM_014516	371	NP_055331	1122
19	59.3	0.87	0.013	白血球セプタグスター(LRC) メンバー4	LENG4	gi:13236521	Hs.78768	79143	UP	205634_x_at	NM_034298	372	NP_077274	1123
19	59.3	0.65	0.013	白血球セプタグスター(LRC) メンバー5	LENG5	gi:13129061	Hs.14580	79042	UP	218132_s_at	NM_024075	373	NP_076980	1124
19	59.4	0.73	0.019	リボソームタンパク質S9	RPS9	gi:4506744	Hs.139876	6203	UP	217747_s_at	NM_001013	374	NP_001004	1125
19	60.3	0.50	0.018	シナプトタグミンV	SVT5	gi:4765527	Hs.23179	6861	UP	206161_s_at	NM_003180	375	NP_003171	1126
19	60.8	1.68	0.01	LDL誘導ECタンパク質	LOC51157	gi:7705880	Hs.94392	51157	UP	220748_s_at	NM_016202	376	NP_057286	1127
19	60.8	0.88	0.019	U2(RNU2)H4核RNA補助因子2	U2AF2	gi:5396722	Hs.297629	11338	UP	214171_s_at	NM_007279	377	NP_009210	1128
19	60.8	1.08	0.027	エプソリン1	EPN1	gi:7019368	Hs.279953	29924	UP	221141_x_at	NM_013333	378	NP_037465	1129
19	61.2	1.42	<0.05	仮想タンパク質LOC126208	LOC126208	gi:1496048	Hs.397153	126208	UP	213402_at	NM_058999	379	XP_058999	1130
19	61.3	0.55	0.039	ジノクフィンガータンパク質444	ZNF444	gi:8922893	Hs.24545	55311	UP	218707_at	NM_018337	380	NP_060807	1131
19	61.3	0.62	0.027	ジノクフィンガータンパク質444	ZNF444	gi:3916863	Hs.24545	55311	UP	50376_at	NM_018337	381	NP_060807	1132
19	62.4	0.69	0.022	ジノクフィンガータンパク質264	ZNF264	gi:4585642	Hs.456358	9422	UP	205917_at	NM_018337	382	XP_375660	1133
19	62.4	0.79	<0.05	ジノクフィンガータンパク質272	ZNF272	gi:498733	Hs.99971	10794	UP	216273_at	NM_006635	383	NP_006626	1134
19	62.5	0.44	0.043	ジノクフィンガータンパク質304	ZNF304	gi:10190693	Hs.287374	57343	UP	207753_at	NM_020657	384	NP_065708	1135
19	62.6	0.66	0.008	仮想タンパク質FLJ23233	FLJ23233	gi:13375967	Hs.98593	79744	UP	219826_at	NM_024691	385	NP_078967	1136
19	62.6	0.60	0.023	仮想タンパク質FLJ23233	FLJ23233	gi:2112716	Hs.98593	79744	UP	58367_s_at	NM_024691	386	NP_078967	1137
19	62.8	0.60	0.022	ジノクフィンガータンパク質134 (クローニン15)	ZNF134	gi:4507982	Hs.449971	7693	UP	206182_at	NM_003435	387	NP_003426	1138

【表 5 - 1 6】

19	62.8	1.08	<0.05	ジクフィンガータンパク質211	ZNF211	gi:5454175	Hs.449970	10520	UP	205437_at	NM_006385 ; NM_198855	388;389	NP_006376; NP_942152	1139;1140
20	30.9	0.62	0.008	DNA結合10のインヒビター、優性陰性 ヘリックスループヘリックスタンパク質	ID1	gi:464181	Hs.410900	3397	UP	208937_s_at	NM_002165 ; NM_181353	390;391	NP_002156; NP_851998	1141;1142
20	58.2	0.70	<0.05	ATPシターゼ、H ₂ 輸送、 ミトコンドリア複合体、 εサブユニット	ATP5E	gi:5901895	Hs.177530	514	UP	217801_at	NM_006886	392	NP_008817	1143
20	58.2	0.65	<0.05	染色体20オナーンリーディング フレーム45	C20orf45	gi:7705609	Hs.3945	51012	UP	217851_s_at	NM_016045	393	NP_057129	1144
20	59.2	0.68	<0.05	タンパク質ホスファターゼ1、 調節サブユニット3D	PPP1R3D	gi:6806895	Hs.504920	5509	UP	204555_s_at	NM_006242	394	NP_006233	1145
20	61.2	0.00	0.025	TAF4 RNAポリマーゼII、TATAボックス 結合タンパク質(TBP)関連因子、135kDa	TAF4	gi:5112317	Hs.24644	6874	UP	213090_s_at	NM_003185	395	NP_003176	1146
20	61.4	0.45	0.015	染色体16種1上の滑膜肉腫転座遺伝子	SS18L1	gi:3327189	Hs.154429	26039	UP	213140_s_at	NM_015558 ; NM_198955	396;397	NP_056373; NP_945173	1147;1148
20	61.4	0.38	0.048	プロテアソーム(プロソーム、マクロペイン) サブユニット、αタイプ、1	PSMA7	gi:9408092	Hs.233952	5688	UP	216088_s_at	NM_002792 ; NM_152255	398;399	NP_002783; NP_889468	1149;1150
20	61.5	0.59	<0.05	オキシステロール結合タンパク質様2	OSBP12	gi:12653062	Hs.15519	9885	UP	209222_s_at	NM_014835 ; NM_144498	400;401	NP_055650; NP_655081	1151;1152
20	61.5	0.37	0.049	ラミニン、α5	LAMAS	gi:13097167	Hs.11669	3911	UP	210150_s_at	NM_003560	402	NP_003551	1153
20	61.6	0.06	<0.05	リボソームタンパク質S21	RPS21	gi:4506698	Hs.372960	6227	UP	200834_s_at	NM_001024	403	NP_001015	1154
20	62.2	0.49	0.018	転写因子様(塩基性ヘリックスループ- ヘリックス)	TCFL5	gi:5750082	Hs.30696	10732	UP	204849_at	NM_006602	404	NP_006593	1155
20	62.2	0.39	0.03	染色体20オナーンリーディングフレーム11	C20orf11	gi:8923556	Hs.103608	54994	UP	218448_at	NM_017896	405	NP_060366	1156
20	62.5	0.82	<0.05	染色体20オナーンリーディングフレーム21	C20orf21	gi:5663381	Hs.11747	54915	UP	221741_s_at	NM_017798	406	NP_060268	1157
20	63	0.46	0.018	ADP-リボシル化因子関連タンパク質1	ARFRP1	gi:8246778	Hs.389277	10139	UP	215984_s_at	NM_003224	407	NP_003215	1158
20	63	0.41	0.032	KIAA1847	KIAA1847	gi:8246778	Hs.11900	84619	UP	221848_at	NM_032527 ; NM_181484 ; NM_181485		NP_115916; NP_852149; NP_852150	1159;1160;1161
20	63	0.37	0.03	ADP-リボシル化因子関連タンパク質1	ARFRP1	gi:4507448	Hs.389277	10139	UP	203174_s_at	NM_003224	411	NP_003215	1162
20	63	0.48	0.016	KIAA1847	KIAA1847	gi:2279318	Hs.11900	84619	UP	57539_at	NM_032527 ; NM_181484 ; NM_181485		NP_115916; NP_852149; NP_852150	1163;1164;1165

【表 5 - 1 7】

20	63.2	0.77	<0.05	腫瘍タンパク質D52株2	TPD52L2	gi:4507642	Hs.154718	7165	UP	201379_s_at	NM_003288 ; NM_199359 ; NM_199360 ; NM_199361 ; NM_199362 ; NM_199363	415;416;417;418;419;420	NP_003279; NP_955391; NP_955392; NP_955393; NP_955394; NP_955395	1166;1167;1168;1169;1170;1171
20	63.3	0.73	<0.05	ウリジノキナーゼ様1	URK1	gi:8923486	Hs.504998	54963	UP	218533_s_at	NM_017859	421	NP_060329	1172
20	63.3	0.75	<0.05	染色体20オナーナリ-ディノグフレ-ム14	C20orf14	gi:13401215	Hs.31334	24148	UP	208879_x_at	NM_012469	422	NP_036601	1173
22	22.6	0.59	0.031	D-ドバクロ-ムタウトメラ-ゼ	DDT	gi:5453630	Hs.433902	1652	UP	202929_s_at	NM_001355	423	NP_001346	1174
22	22.7	0.42	0.018	グルタオオノs-トランスフェラ-ゼ01	GSTT1	gi:4504184	Hs.268573	2952	UP	203815_at	NM_000853	424	NP_000844	1175
22	29.6	0.46	0.015	板想タンパク質FLJ20618	FLJ20618	gi:7021031	Hs.52184	55000	UP	222244_s_at	NM_017903	425	NP_060373	1176
22	29.6	0.65	<0.05	板想タンパク質FLJ20618	FLJ20618	gi:4899032	Hs.52184	55000	UP	212337_at	NM_017903	426	NP_060373	1177

【図面の簡単な説明】

10

20

30

40

50

【0387】

【図1】図1A～1Cは、膵臓腺癌サンプルからのゲノムプロフィールを示す。ゲノムマップ位置によって順序立てられたcDNAプローブを表すx-軸座標でのアレイ-CGHプロフィール。セグメント化されたデータを赤色で表示し、濾過されたメジアン（3つの最も近い隣接体）は青色で表示し、生データは黒色で表示する。（1A）一次腫瘍検体P A. T. 7692（頂部）および細胞株Panc 10.05（底部）の全ゲノムプロフィール。病巣の高レベル増幅および欠失ならびに両方のサンプル中の大きな領域的獲得および喪失の存在に注意。（1B）染色体改変の再発。頂部：ゲノム順序でのx-軸に沿って均等に整列させた各cDNAプローブについてプロットされたセグメント化データ（y-軸）におけるCNAの整数値再発。暗い赤色または緑色の棒線は染色体物質の獲得または喪失を示す。明るい赤色または緑色の棒線は増幅または欠失の領域内のプローブを表す。底部：全てのサンプル内の区別されるCNAを示すツリー図。赤色は染色体の獲得を表し、緑色は染色体の喪失を示す。（1C）その遺伝子座についての物理的程度、ピークプロフィールおよびMCRの定義を示す、3つのサンプル中の12p12.3-q13.3遺伝子座（表1の遺伝子座#15）のCGHプロフィール。左側のMCRは頂部および底部のサンプルの間の重複によって規定され、他方、右側のMCRは頂部の2つのサンプルの間の重複によって規定されることに注意。データ点はゲノムマップ位置によってx-軸にプロットされるので、プロフィール中のギャップは、それに対してデータ点がないコピー数変遷の領域を含む。

10

【図2】図2A～2Bは、QPCRがCNA内の複雑性を確認することを示す。（2A）（ダッシュ線によって概略が示される）両方のサンプルによって規定されるMCRと共に、AsPC-1細胞株およびP A. T. 14172（遺伝子座#9、表1）両方における7q22の区別される領域の増幅を示す染色体7 CGHプロフィール（左側パネル）。文字AないしDはQPCRアッセイの相対的位置を示し（右側パネル）、これはAsPC-1（暗い灰色棒線）およびP A. T. 14172（明るい灰色棒線）における遺伝子コピーの改変を確認する。（2B）HUP-T3細胞株における複合体CNAについての染色体9アレイ-CGHプロフィール（左側パネル）。公知の標的p16^{INK4A}のホモ接合性欠失は、アレイ-CGHによって明らかにされた2つの区別される病巣アンプリコンおよび1-コピー喪失の狭い領域の存在も確認するQPCR（右側パネル）によって確認される。ただ1または2のプローブによってカバーされるCNAは、セグメント化アルゴリズムによって同定されないことに注意。

20

30

【図3】図3A～3Cは、組み合わせられたアレイ-CGHおよび発現分析が、候補遺伝子の同定を容易とすることを示す。（3A）細胞株Hup T3における17q23.2-25.3遺伝子座（遺伝子座#21、表1）の分析。頂部パネル：HUP-T3のアレイ-CGHプロフィール。底部パネル：HUP-T3細胞株についての特定された遺伝子座内のAffymetrix U133Aアレイでの遺伝子の発現プロフィール。圧倒的な遺伝子-用量相関発現を呈する遺伝子のサブセットは該遺伝子座のピーク内に入る（矢印）。（3B）細胞株Bxp-3における9p24.3-21.2遺伝子座（遺伝子座#41、表1）の分析。頂部パネル：9p領域のアレイ-CGHプロフィール。底部パネル：同一領域にマッピングされる遺伝子のAffymetrixTM発現プロフィール。MCR内のp16^{INK4A}遺伝子（矢印）の劇的に低下した発現に注意。（3C）24の細胞株におけるp16^{INK4A}発現およびコピー数の相関を分析した。全てのサンプルをわたるこの遺伝子についての発現値およびコピー数値両方の双峰分布に注意（緑色の線）。ドットで概略が示されたボックスは、p16^{INK4A}がホモ接合的に欠失され、発現されないサンプル（BxPC-3、MiaPaCa, Capan 1, Hup-T3およびDan-G）を規定する。実線で概略が示されたボックスは、p16^{INK4A}が存在するが、発現が存在しないかまたは低下したサンプル（Panc-1, Panc 03.27, SW1990, Panc 08.13, Hup-T4およびPanc 12.13）を包む。

40

【図4】図4は、様式センタリングの結果としての0のLog₂比率におけるピークを示

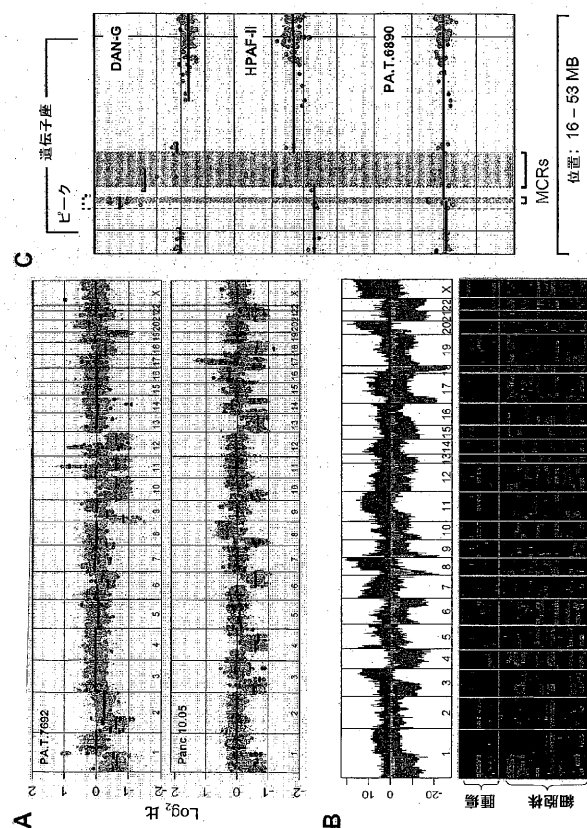
50

すセグメント化プロフィールのヒストグラムを示す。外側線は3% (del) および97% (amp) 量をマークし; 内側線はデータの中央50%の+/-4標準偏差をマークする。

【図5】図5は、膵臓腺癌原発性腫瘍および細胞株のアレイ-CGHプロフィールの比較を示す。染色体による整数値再発プロットのプソイドー核型提示を、原発性腫瘍 (PT) および細胞株 (CL) 両方についてここに示す。獲得を、染色体の右側に示し、喪失を染色体の左側に示す。PTおよびCLの間の同様性の重要な領域はボックスで強調し、PTおよびCLの間の顕著な不一致は丸で囲む。

【図6】図6は、細胞株Capan-1におけるコピー数および発現の全ゲノム相関を示す。メジアン濾過 (幅=31プローブ) アレイ-CGHおよび発現データを、各々、明るい青色および金色にて示す。平均遺伝子発現の変動は、染色体のコピー数の変化に相関する ($R=0.66$) ことに注意。

【図1】



【図2】

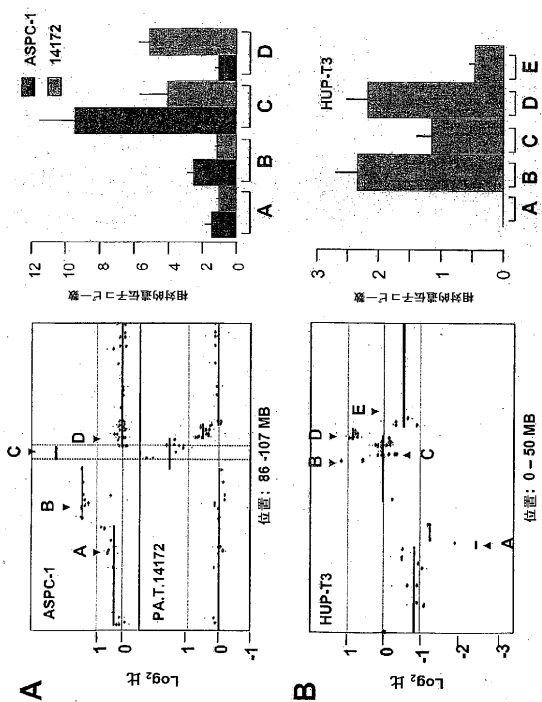


FIGURE 2

【図 3】

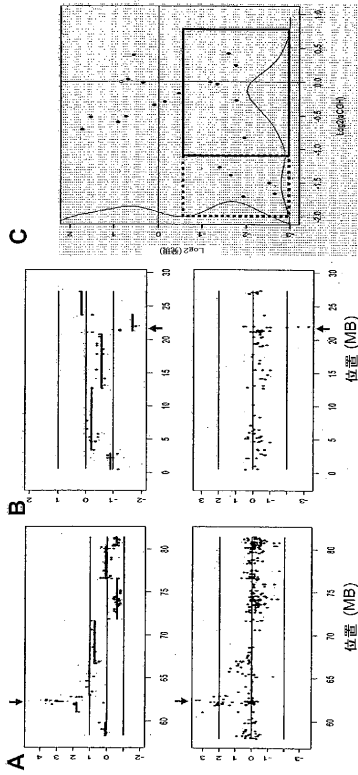


FIGURE 3

【図 4】

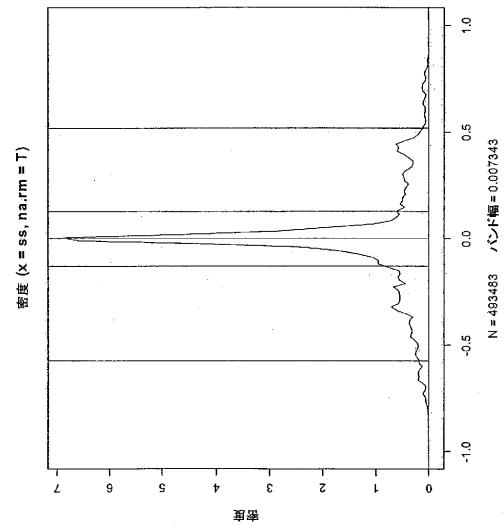


FIGURE 4

【図 5】

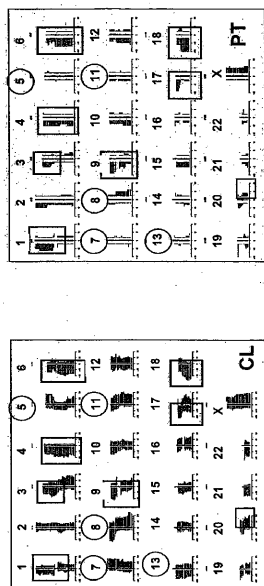


FIGURE 5

【図 6】

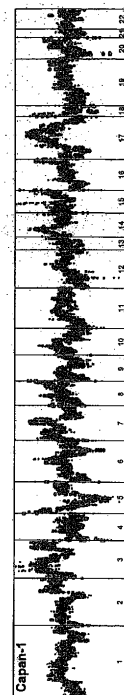


FIGURE 6

【配列表】

2008512984000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I		テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02		4 C 0 8 6
A 6 1 K 47/48 (2006.01)	A 6 1 K 47/48		4 H 0 4 5
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088		
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00		
G 0 1 N 37/00 (2006.01)	G 0 1 N 37/00	1 0 2	
G 0 1 N 33/574 (2006.01)	G 0 1 N 33/574	A	
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	G 0 1 N 33/15	Z	
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	G 0 1 N 33/50	Z	
C 4 0 B 30/06 (2006.01)	C 4 0 B 30/06		

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

(72)発明者 チン, リンダ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 4 5, ブルックライン, ボイルストン ストリート 5 6 5

(72)発明者 デピンホ, ロナルド エー.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 4 5, ブルックライン, ボイルストン ストリート 5 6 5

(72)発明者 ブレナン, キャメロン
アメリカ合衆国 ニューヨーク 1 0 0 2 1, ニューヨーク, イースト 6 6 ティーエイチ ストリート 4 0 0, ナンバー 2 1 ビー

(72)発明者 アギレー, アンドリュー ジェイ.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 4 5, ブルックライン, デービス アベニュー 1 0, アpartment ディー

F ターム(参考) 2G045 AA26 AA40 BB20 CB01 CB17 DA12 DA36 DA78 FB02 FB03
FB07 FB12 HA16

4B024 AA01 AA12 CA04 CA09 CA12 CA20 HA14

4B063 QA01 QA19 QQ08 QQ42 QR32 QR36 QR55 QS25 QS34

4C076 AA99 CC27 EE41A EE59

4C084 AA02 DA32 NA14 ZB261

4C086 AA01 EA16 MA02 MA05 NA14 ZB26

4H045 AA10 AA30 BA10 CA41 DA75 EA51