

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2005 年 10 月 20 日 (20.10.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/097189 A1

(51) 国際特許分類: **A61K 45/00**, 31/7105, 31/7115, 38/00, 39/395, A61P 35/00, C12Q 1/68, G01N 33/15, 33/50

(74) 代理人: 清水 初志, 外(SHIMIZU, Hatsushi et al.); 〒3000847 茨城県土浦市卸町 1-1-1 関鉄つくばビル 6 階 Ibaraki (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2005/006914

(22) 国際出願日: 2005 年 4 月 8 日 (08.04.2005)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2004-115404 2004 年 4 月 9 日 (09.04.2004) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社ジーンケア研究所 (GENECARE RESEARCH INSTITUTE CO., LTD.) [JP/JP]; 〒2470063 神奈川県鎌倉市梶原 2 0 0 Kanagawa (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 高木 基樹 (TAK-AGI, Motoki) [JP/JP]; 〒2480023 神奈川県鎌倉市極楽寺 3-2-2 4 Kanagawa (JP). 二見 和伸 (FUTAMI, Kazunobu) [JP/JP]; 〒2510024 神奈川県藤沢市鵠沼橋 2-1-2 1 Kanagawa (JP). 嶋本 顕 (SHIMAMOTO, Akira) [JP/JP]; 〒2510012 神奈川県藤沢市村岡東 3-4 1 3-1 5 Kanagawa (JP). 古市 泰宏 (FURUICHI, Yasuhiro) [JP/JP]; 〒2470064 神奈川県鎌倉市寺分 3-2 4-9 Kanagawa (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): 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, 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.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告書
- 電子形式により別個に公開された明細書の配列表部分、請求に基づき国際事務局から入手可能

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: CARCINOMA CELL-SPECIFIC APOPTOSIS INDUCING AGENT TARGETING GENE RELEVANT TO CHROMOSOME STABILIZATION

(54) 発明の名称: 染色体安定化に関する遺伝子を標的とする癌細胞特異的アポトーシス誘導剤

(57) Abstract: It has become apparent that apoptosis specific to carcinoma cells is induced by inhibiting gene expression with respect to various genes relevant to chromosome stabilization, thereby realizing cytostatic activity. It is presumed that the compounds capable of inhibiting the expression of genes relevant to chromosome stabilization and inhibiting the activity of protein encoded by the genes are effective in the induction of apoptosis specific to carcinoma cells.

(57) 要約: 本発明者らによって、染色体の安定化に関連する種々の遺伝子について、該遺伝子の発現を抑制することにより、癌細胞特異的にアポトーシスが誘導され、細胞増殖の抑制が引き起こされることが明らかになった。染色体の安定化に関連する遺伝子の発現もしくは該遺伝子によってコードされるタンパク質の機能を抑制する化合物は、癌細胞特異的なアポトーシス誘導効果を有するものと考えられる。



WO 2005/097189 A1

明 細 書

染色体安定化に関する遺伝子を標的とする癌細胞特異的アポトーシス誘導剤

技術分野

[0001] 本発明は、染色体の安定化に関与する遺伝子を標的とする癌細胞特異的アポトーシス誘導剤、および該アポトーシス誘導剤のスクリーニング方法に関する。

背景技術

[0002] 細胞においては、種々の機能(遺伝子)の働きによって、染色体が安定に保たれている。この染色体の安定化に寄与する、細胞における代表的な機能(遺伝子)としては、例えば、以下のようなものを挙げることができる。

[0003] (a) ヒト染色体不安定性疾患関連遺伝子

ヒト染色体不安定性疾患の患者由来細胞では、染色体の切断・欠失・転座・異数化が見られ、またこれら疾患の患者由来細胞はDNA損傷を引き起こす薬剤に対して感受性を示すなど、染色体の不安定化が生じていることから、ヒト染色体不安定性疾患関連遺伝子は染色体安定化に関与している。

[0004] (b) 染色体DNAの複製開始、複製フォークの進行を含む染色体DNA複製反応

染色体DNA複製反応は細胞が増殖する時に、染色体DNAを複製する役割を担っており、1個の細胞が2個に分裂する際に正確に染色体を2倍に複製して染色体数を維持する機能をもつ。

[0005] (c) DNA損傷チェックポイント

DNA損傷チェックポイントは、細胞周期がG1期、S期、G2期、M期の各ステージから次のステージへ移行する際に、染色体に切断・化学修飾・架橋を含むDNA損傷をチェックする役割を担っており、次の細胞周期のステージへ移行する前に染色体上のDNA損傷を取り除く機能をもつ。

[0006] (d) 姉妹染色分体凝集・分離

姉妹染色分体凝集・分離は、体細胞において複製を終えた姉妹染色分体を娘細胞に正確に分離する役割を担っている。

[0007] (e) 塩基除去修復

塩基除去修復は、染色体DNA中の塩基に酸化やメチル化を含む化学修飾損傷が生じた場合に、修飾された塩基を取り除く役割を担っている。

[0008] (f) ミスマッチ除去修復

ミスマッチ除去修復は、染色体DNA中の正しい塩基対G-CとA-T以外のミスマッチ塩基対を認識して、正しい塩基対に修復する役割を担っている。

[0009] (g) ヌクレオチド除去修復

ヌクレオチド除去修復は、紫外線照射によって染色体DNA中に生じる、シクロブタン型ピリミジン2量体や6-4光産物、またシスプラチンによって染色体DNA中の隣り合った塩基の間に生じる、DNA鎖内架橋などの損傷を認識して、損傷部を除去して修復する役割を担っている。

[0010] (h) 相同組換え修復

相同組換え修復は、塩基除去修復、ミスマッチ除去修復、ヌクレオチド除去修復などの修復機構が不完全で生じたDNA損傷、また染色体DNA中に生じた切断、ギャップなどを含む様々なDNA損傷を、損傷をもたない相同染色体を鋳型として修復する役割を担っている。

[0011] (i) 非相同末端結合修復(非相同組換え修復)

非相同末端結合修復(非相同組換え修復)は、染色体DNA中に生じた二重鎖切断の末端を結合して修復する役割を担っている。

[0012] (j) 二本鎖DNA切断修復

二本鎖DNA切断修復は、染色体DNA中に生じた二重鎖切断を修復する役割を担っており、相同組換え修復や非相同末端結合修復(非相同組換え修復)がこの修復機構に含まれる。

[0013] (k) DNA複製後修復(DNA損傷トレランス)

DNA複製後修復(DNA損傷トレランス)は、損傷をもつ染色体DNAが複製される場合に、損傷が存在するDNA鎖の複製を可能にする機構で、残されたDNA損傷は複製後に修復される。

[0014] (l) DNA架橋損傷修復

DNA架橋損傷修復は、シスプラチンなどの架橋剤によって生じた、染色体内や染色体間におけるDNA架橋損傷を修復する役割を担っている。

[0015] (m) DNA-タンパク質架橋損傷修復

DNA-タンパク質架橋損傷修復は、DNA修復の反応中間体である酵素タンパク質-DNAの共有結合体が形成された場合、また、染色体DNA中の塩基とタンパク質の架橋結合が形成された場合に、共有結合体や架橋結合体を除去する役割を担っている。

[0016] (n) DNAポリメラーゼ

DNAポリメラーゼは、複製、組換え、修復などの染色体安定化機構において、DNA合成反応を行う役割を担っている。

[0017] (o)ヌクレアーゼ

ヌクレアーゼは、複製、組換え、修復などの染色体安定化機構において、DNA分解反応を行う役割を担っている。

[0018] (p)ヌクレオチド浄化

ヌクレオチド浄化は、DNA合成反応の基質となるヌクレオチド中の塩基に酸化やメチル化を含む化学修飾損傷が生じた場合に、修飾された塩基を取り除く役割を担っている。

[0019] (q)クロマチン構造維持

クロマチン構造維持は、染色体の高次構造を介した複製、組換え、修復などの染色体安定化機構に働く。

[0020] (r)テロメア構造維持

テロメア構造維持は、染色体末端のテロメア長の制御、テロメア領域の特殊な高次構造の形成・維持を介して、染色体安定化に重要な役割を担っている。

[0021] また、上記の機能に関連する種々の遺伝子について、染色体の安定化に関与することが報告されている。例えば、染色体の安定化に関与する種々の遺伝子について、様々な知見が報告されている(非特許文献1～83参照)。

しかしながら、染色体の安定化に関与する上述の機能(遺伝子)と、癌細胞特異的なアポトーシス誘導との関連は、これまでのところ知られていなかった。

- [0022] 非特許文献1:Wood, R.D., Mitchell, M., Sgourou, J. and Lindahl, T. (2001). Human DNA repair genes *Science*, 291, 1284–1289.
- 非特許文献2:Nyberg, K.A., Michelson, R.J., Putnam, C.W. and Weinert, T.A. (2002). Toward maintaining the genome: DNA damage and replication checkpoints *Annu.Rev.Genet.* 36, 617–656.
- 非特許文献3:Sogo, J.M., Lopes, M. and Foiani, M. (2002). Fork reversal and ssDNA accumulation at stalled replication forks owing to checkpoint defects *Science*, 297, 599–602.
- 非特許文献4:Casper, A.M., Ngheim, P., Arlt, M.F. and Glover, T.W. (2002). ATR regulates fragile site stability *Cell*, 111, 779–789.
- 非特許文献5:Zhou, B.-B.S. and Bartek, J. (2004). Targeting the checkpoint kinases: chemosensitization versus chemoprotection *Nature Review*, 4, 1–10.
- 非特許文献6:Rich, T., Allen, R. and Wyllie, A.H. (2000). Defying death after DNA damage *Nature*, 407, 777–783.
- 非特許文献7:Nigg, E.A. (2002). Centrosome aberrations:cause or consequence of cancer progression *Nature Review*, 2, 815–825.
- 非特許文献8:Miller, H. and Grollman, A.P. (2003). DNA repair investigations using siRNA *DNA repair*, 2, 759–763.
- 非特許文献9:Merchant, A.M., Kawasaki, Y., Chen, Y., Lei, M., Tye, B.K. (1997). A lesion in the DNA replication initiation factor Mcm10 induces pausing of elongation forks through chromosomal replication origins in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol.*, 17, 3261–3271.
- 非特許文献10:Tugal, T., Zou-Yang, X.H., Gavin, K., Pappin, D., Canas, B., Kobayashi, R., Hunt, T. and Stillman, B. (1998). The Orc4p and Orc5p subunits of the *Xenopus* and human origin recognition complex are related to Orc1p and Cdc6p *J.Biol.Chem.*, 273,32421–32429.
- 非特許文献11:Stoeber, K., Mills, A.D., Kubota, Y., Krude, T., Romanowski, P., Marheineke, K., Laskey, R.A. and Williams, G. (1998). Cdc6 protein causes

premature entry into S phase in a mammalian cell-free system *EMBO J.*, 17, 7219–7229.

非特許文献12: Wohlschlegel, J.A., Dwyer, B.T., Dhar, S., Cvetič, C., Walter, J.C. and Dutta, A. (2000). Inhibition of eukaryotic DNA replication by Geminin binding to Cdt1 *Science*, 290, 2309–2312.

非特許文献13: McGarry, T. and Kirschner, M.W. (1998). Geminin, an inhibitor of DNA replication, is degraded during mitosis *Cell*, 93, 1043–1053.

非特許文献14: Ishimi, Y., Komamura, Y., You, Z., Kimura, H. (1998). Biochemical function of mouse minichromosome maintenance 2 protein *J Biol Chem.*, 273, 8369–8375.

非特許文献15: Ishimi, Y. (1997) A DNA helicase activity is associated with an MCM4,–6, and –7 protein complex *J. Biol. Chem.*, 272, 24508–24513.

非特許文献16: Gozuacik, D., Chami, M., Lagorce, D., Faivre, J., Murakami, Y., Poch, O., Biermann, E., Knippers, R., Brechot, C. and Paterlini-Brechot, P. (2003) Identification and functional characterization of a new member of the human Mcm protein family: hMcm8 *Nucleic Acids Res.*, 31, 570–579.

非特許文献17: Sato, N., Arai, K., Masai, H. (1997). Human and *Xenopus* cDNAs encoding budding yeast Cdc7-related kinases: in vitro phosphorylation of MCM subunits by a putative human homologue of Cdc7 *EMBO J.* 16, 4340–4351.

非特許文献18: Bernstein, H.S., Coughlin, S.R. (1998). A mammalian homolog of fission yeast Cdc5 regulates G2 progression and mitotic entry. *J Biol Chem.*, 273, 4666–4671.

非特許文献19: Kubota, Y., Takase, Y., Komori, Y., Hashimoto, Y., Arata, T., Kamimura, Y., Araki, H., Takisawa, H. (2003). A novel ring-like complex of *Xenopus* proteins essential for the initiation of DNA replication. *Genes Dev.*, 17, 1141–1452.

非特許文献20: Kukimoto, I., Igaki, H. and Kanda, T. (1999). Human CDC45 protein binds to minichromosome maintenance 7 protein and the p70 subunit of

DNA polymerase alpha. *Eur J Biochem.* 265, 936–943.

非特許文献21: Stadlbauer, F., Brueckner, A., Rehfuess, C., Eckerskorn, C., Lottspeich, F., Forster, V., Tseng, B.Y. and Nasheuer, H.P. (1994). DNA replication in vitro by recombinant DNA-polymerase-alpha-primase. *Eur J Biochem.* 222, 781–793.

非特許文献22: Bochkarev, A., Pfuetzner, R.A., Edwards, A.M. and Frappier, L. (1997). Structure of the single-stranded-DNA-binding domain of replication protein A bound to DNA. *Nature.*, 385, 176–181.

非特許文献23: Erdile, L.F., Wold, M.S. and Kelly, T. (1990). The primary structure of the 32-kDa subunit of human replication protein A. *J. Biol. Chem.*, 265, 3177–3182.

非特許文献24: Krishna, T.S., Kong, X.P., Gary, S., Burgers, P.M. and Kuriyan, J. (1996). Crystal structure of the eukaryotic DNA polymerase processivity factor PCNA. *Cell.*, 79, 1233–1243.

非特許文献25: Barnes, D.E., Johnston, L.H., Kodama, K., Tomkinson, A.E., Lasko, D.D. and Lindahl, T. (1990). Human DNA ligase I cDNA: cloning and functional expression in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 87, 6679–6683.

非特許文献26: Poot, R.A., Dellaire, G., Hulsmann, B.B., Grimaldi, M.A., Corona, D.F., Becker, P.B., Bickmore, W.A. and Varga-Weisz, P.D. (2000). HuCHRAC, a human ISWI chromatin remodelling complex contains hACF1 and two novel histone-fold proteins. *EMBO J.*, 19, 3377–3387.

非特許文献27: D'Arpa, P., Machlin, P.S., Ratrie, H. 3rd, Rothfield, N.F., Cleveland, D.W. and Earnshaw, W.C. (1988). cDNA cloning of human DNA topoisomerase I: catalytic activity of a 67.7-kDa carboxyl-terminal fragment. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 85, 2543–2547.

非特許文献28: Pouliot, J.J., Yao, K.C., Robertson, C.A., Nash, H.A. (1999). Yeast gene for a Tyr-DNA phosphodiesterase that repairs Topoisomerase I complex

Science, 286, 552–555.

非特許文献29:Cheng, T.J., Rey, P.G., Poon, T. and Kan, C.C. (2002). Kinetic studies of human tyrosyl-DNA phosphodiesterase, an enzyme in the topoisomerase I DNA repair pathway. *Eur J Biochem.*, 269, 3697–3704.

非特許文献30:Merkle, C.J., Karnitz, L.M., Henry-Sanchez, J.T. and Chen J. (2003). Cloning and characterization of hCTF18, hCTF8, and hDCC1. Human homologs of a *Saccharomyces cerevisiae* complex involved in sister chromatid cohesion establishment *J Biol Chem.*, 278, 30051–30056. Epub 2003 May 23.

非特許文献31:Sumara, I., Vorlaufer, E., Gieffers, C., Peters, B.H. and Peters, J.M. (2000). Characterization of vertebrate cohesin complexes and their regulation in prophase. *J Cell Biol.*, 151, 749–762.

非特許文献32:Shiloh, Y. (2001). ATM and ATR: networking cellular responses to DNA damage. *Curr Opin Genet Dev.*, 11, 71–77.

非特許文献33:Sanchez, Y., Wong, C., Thoma, R.S., Richman, R., Wu, Z., Piwnicka-Worms, H., Elledge, S.J. (1997). Conservation of the Chk1 checkpoint pathway in mammals: linkage of DNA damage to Cdk regulation through Cdc25. *Science.*, 277, 1497–1501.

非特許文献34:Carney, J.P., Maser, R.S., Olivares, H., Davis, E.M., Le Beau, M., Yates, JR. 3rd, Hays, L., Morgan, W.F. and Petrini, J.H. (1998). The hMre11/hRad50 protein complex and Nijmegen breakage syndrome: linkage of double-strand break repair to the cellular DNA damage response. *Cell.*, 93, 477–486.

非特許文献35:Volkmer, E. and Karnitz, L.M. (1999). Human homologs of *Schizosaccharomyces pombe* rad1, hus1, and rad9 form a DNA damage-responsive protein complex. *J Biol Chem.*, 274, 567–70.

非特許文献36:Parker, A.E., Van de Weyer, I., Laus, M.C., Oostveen, I., Yon, J., Verhasselt, P. and Luyten, W.H. (1998). A human homologue of the *Schizosaccharomyces pombe* rad1+ checkpoint gene encodes an exonuclease. *J Biol*

Chem., 273, 18332–18339.

非特許文献37:Koken, M.H., Reynolds, P., Jaspers–Dekker, I., Prakash, L., Prakash, S., Bootsma, D., and Hoeijmakers, J.H. (1991). Structural and functional conservation of two human homologs of the yeast DNA repair gene RAD6. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 88, 8865–8869.

非特許文献38:Xin, H., Lin, W., Sumanasekera, W., Zhang, Y., Wu, X. and Wang, Z. (2000). The human RAD18 gene product interacts with HHR6A and HHR6B. *Nucleic Acids Res.*, 28, 2847–2854.

非特許文献39:Kim, J., Kim, J.H., Lee, S.H., Kim, D.H., Kang, H.Y., Bae, S.H., Pan, Z.Q. and Seo, Y.S. (2002). The novel human DNA helicase hFBH1 is an F-box protein. *J Biol Chem.*, 277, 24530–24537. Epub 2002 Apr 15.

非特許文献40:Masutani, C., Sugasawa, K., Yanagisawa, J., Sonoyama, T., Ui, M., Enomoto, T., Takio, K., Tanaka, K., van der Spek, P.J., Bootsma, D., et al. (1994). Purification and cloning of a nucleotide excision repair complex involving the xeroderma pigmentosum group C protein and a human homologue of yeast RAD23. *EMBO J.*, 13, 1831–1843.

非特許文献41:Schauber, C., Chen, L., Tongaonkar, P., Vega, I., Lambertson, D., Potts, W. and Madura, K. (1998). Rad23 links DNA repair to the ubiquitin/proteasome pathway. *Nature.*, 391, 715–8.

非特許文献42:Henning, K.A., Li, L., Iyer, N., McDaniel, L.D., Reagan, M.S., Legerski, R., Schultz, R.A., Stefanini, M., Lehmann, A.R., Mayne, L.V., et al. (1995). The Cockayne syndrome group A gene encodes a WD repeat protein that interacts with CSB protein and a subunit of RNA polymerase II TFIIH. *Cell.*, 82, 555–564.

非特許文献43:Selby, C.P. and Sancar, A. (1997). Human transcription–repair coupling factor CSB/ERCC6 is a DNA–stimulated ATPase but is not a helicase and does not disrupt the ternary transcription complex of stalled RNA polymerase II. *J Biol Chem.*, 272, 1885–1890.

非特許文献44:O'Donovan, A., Davies, A.A., Moggs, J.G., West, S.C. and Wood, R.D. (1994). XPG endonuclease makes the 3' incision in human DNA nucleotide excision repair. *Nature.*, 371, 432-435.

非特許文献45:Sijbers, A.M., de Laat, W.L., Ariza, R.R., Biggerstaff, M., Wei, Y.F., Moggs, J.G., Carter, K.C., Shell, B.K., Evans, E., de Jong, M.C., Rademakers, S., de Rooij, J., Jaspers, N.G., Hoeijmakers, J.H. and Wood, R.D. (1996). Xeroderma pigmentosum group F caused by a defect in a structure-specific DNA repair endonuclease. *Cell.*, 86, 811-822.

非特許文献46:Keeney, S., Chang, G.J. and Linn, S. (1993). Characterization of a human DNA damage binding protein implicated in xeroderma pigmentosum E. *J Biol Chem.*, 268, 21293-21300.

非特許文献47:Nakatsu, Y., Asahina, H., Citterio, E., Rademakers, S., Vermeulen, W., Kamiuchi, S., Yeo, J.P., Khaw, M.C., Saijo, M., Kodo, N., Matsuda, T., Hoeijmakers, J.H. and Tanaka, K. (2000). XAB2, a novel tetratricopeptide repeat protein involved in transcription-coupled DNA repair and transcription. *J Biol Chem.*, 275, 34931-34937.

非特許文献48:Olsen, L.C., Aasland, R., Wittwer, C.U., Krokan, H.E. and Helland, D.E. (1989). Molecular cloning of human uracil-DNA glycosylase, a highly conserved DNA repair enzyme. *EMBO J.*, 8, 3121-3125.

非特許文献49:Hendrich, B. and Bird, A. (1998). Identification and characterization of a family of mammalian methyl-CpG binding proteins. *Mol Cell Biol.*, 18, 6538-6547.

非特許文献50:Aspinwall, R., Rothwell, D.G., Roldan-Arjona, T., Anselmino, C., Ward, C.J., Cheadle, J.P., Sampson, JR., Lindahl, T., Harris, P.C. and Hickson, I.D. (1997). Cloning and characterization of a functional human homolog of *Escherichia coli* endonuclease III. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 94, 109-114.

非特許文献51:Hazra, T.K., Kow, Y.W., Hatahet, Z., Imhoff, B., Boldogh, I., Mookapati, S.K., Mitra, S. and Izumi, T. (2002). Identification and characterization

of a novel human DNA glycosylase for repair of cytosine-derived lesions. *J Biol Chem.*, 277, 30417–30420. Epub 2002 Jul 03.

非特許文献52: Morland, I., Rolseth, V., Luna, L., Rognes, T., Bjoras, M. and Seeberg, E. (2002). Human DNA glycosylases of the bacterial Fpg/MutM superfamily: an alternative pathway for the repair of 8-oxoguanine and other oxidation products in DNA. *Nucleic Acids Res.*, 30, 4926–4036.

非特許文献53: Hadi, M.Z., Ginalski, K., Nguyen, L.H. and Wilson, D.M. 3rd. (2002). Determinants in nuclease specificity of Ape1 and Ape2, human homologues of *Escherichia coli* exonuclease III. *J Mol Biol.*, 316, 853–866.

非特許文献54: Ikejima, M., Noguchi, S., Yamashita, R., Ogura, T., Sugimura, T., Gill, D.M. and Miwa, M. (1990). The zinc fingers of human poly(ADP-ribose) polymerase are differentially required for the recognition of DNA breaks and nicks and the consequent enzyme activation. Other structures recognize intact DNA. *J Biol Chem.*, 265, 21907–21913.

非特許文献55: Jilani, A., Ramotar, D., Slack, C., Ong, C., Yang, X.M., Scherer, S.W. and Lasko, D.D. (1999). Molecular cloning of the human gene, PNKP, encoding a polynucleotide kinase 3'-phosphatase and evidence for its role in repair of DNA strand breaks caused by oxidative damage. *J Biol Chem.*, 274, 24176–24186.

非特許文献56: Jezewska, M.J., Galletto, R. and Bujalowski, W. (2002). Dynamics of gapped DNA recognition by human polymerase beta. *J Biol Chem.*, 277, 20316–20327. Epub 2002 Mar 23.

非特許文献57: Fishel, R., Ewel, A. and Lescoe, M.K. (1994). Purified human MSH2 protein binds to DNA containing mismatched nucleotides. *Cancer Res.*, 54, 5539–5542.

非特許文献58: Yuan, Z.Q., Gottlieb, B., Beitel, L.K., Wong, N., Gordon, P.H., Wang, Q., Puisieux, A., Foulkes, W.D. and Trifiro, M. (2002). Polymorphisms and HNPCC: PMS2-MLH1 protein interactions diminished by single nucleotide

polymorphisms. *Hum Mutat.*, 19, 108–113.

非特許文献59:Wilson, D.M. 3rd, Carney, J.P., Coleman, M.A., Adamson, A.W., Christensen, M. and Lamerdin, J.E. (1998). Hex1: a new human Rad2 nuclease family member with homology to yeast exonuclease 1. *Nucleic Acids Res.*, 26, 3762–3768.

非特許文献60:Vaisman, A., Tissier, A., Frank, E.G., Goodman, M.F. and Woodgate, R. (2001). Human DNA polymerase iota promiscuous mismatch extension. *J Biol Chem.* 2001 Aug 17;276(33):30615–22. Epub 2001 Jun 11.

非特許文献61:Tomblin, G. and Fishel, R. (2002). Biochemical characterization of the human RAD51 protein. I. ATP hydrolysis. *J Biol Chem.* 277, 14417–14425. Epub 2002 Feb 11.

非特許文献62:Tomblin, G., Shim, K.S. and Fishel, R. (2002). Biochemical characterization of the human RAD51 protein. II. Adenosine nucleotide binding and competition. *J Biol Chem.*, 277, 14426–14433. Epub 2002 Feb 11.

非特許文献63:Tomblin, G., Heinen, C.D., Shim, K.S. and Fishel, R. (2002). Biochemical characterization of the human RAD51 protein. III. Modulation of DNA binding by adenosine nucleotides. *J Biol Chem.*, 277, 14434–14442. Epub 2002 Feb 11.

非特許文献64:Masson, J.Y., Tarsounas, M.C., Stasiak, A.Z., Stasiak, A., Shah, R., McIlwraith, M.J., Benson, F.E. and West, S.C. (2001). Identification and purification of two distinct complexes containing the five RAD51 paralogs. *Genes Dev.*, 15, 3296–3307.

非特許文献65:Johnson, R.D., Liu, N. and Jasin, M. (1999). Mammalian XRCC2 promotes the repair of DNA double-strand breaks by homologous recombination. *Nature.*, 401, 397–399.

非特許文献66:Kanaar, R., Troelstra, C., Swagemakers, S.M., Essers, J., Smit, B., Franssen, J.H., Pastink, A., Bezzubova, O.Y., Buerstedde, J.M., Clever, B., Heyer, W.D. and Hoeijmakers, J.H. (1996). Human and mouse homologs of the

Saccharomyces cerevisiae RAD54 DNA repair gene: evidence for functional conservation. *Curr Biol*, ;6, 828–838.

非特許文献67:Yarden, R.I., Pardo-Reoyo, S., Sgagias, M., Cowan, K.H. and Brody, L.C. (2002). BRCA1 regulates the G2/M checkpoint by activating Chk1 kinase upon DNA damage. *Nat Genet.*, 30, 285–289. Epub 2002 Feb 11.

非特許文献68:Mimori, T., Ohosone, Y., Hama, N., Suwa, A., Akizuki, M., Homma, M., Griffith, A.J. and Hardin, J.A. (1990). Isolation and characterization of cDNA encoding the 80-kDa subunit protein of the human autoantigen Ku (p70/p80) recognized by autoantibodies from patients with scleroderma-polymyositis overlap syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 87, 1777–1781.

非特許文献69:Li, Z., Otevrel, T., Gao, Y., Cheng, H.L., Seed, B., Stamatou, T.D., Taccioli, G.E. and Alt, F.W. (1995). The XRCC4 gene encodes a novel protein involved in DNA double-strand break repair and V(D)J recombination. *Cell.*, 83, 1079–1089.

非特許文献70:Kim, S.H., Kaminker, P. and Campisi, J. (1999). TIN2, a new regulator of telomere length in human cells. *Nat Genet.*, 23, 405–412.

非特許文献71:Afshar, G. and Murnane, J.P. (1999). Characterization of a human gene with sequence homology to *Saccharomyces cerevisiae* SIR2. *Gene.*, 234, 161–168.

非特許文献72:Koike, G., Maki, H., Takeya, H., Hayakawa, H. and Sekiguchi, M. (1990). Purification, structure, and biochemical properties of human O6-methylguanine-DNA methyltransferase. *J Biol Chem.*, 265, 14754–14762.

非特許文献73:Ladner, R.D., McNulty, D.E., Carr, S.A., Roberts, G.D. and Caradonna, S.J. (1996). Characterization of distinct nuclear and mitochondrial forms of human deoxyuridine triphosphate nucleotidohydrolase. *J Biol Chem.*, 271, 7745–7751.

非特許文献74:Sangoram, A.M., Saez, L., Antoch, M.P., Gekakis, N., Staknis, D., Whiteley, A., Fruechte, E.M., Vitaterna, M.H., Shimomura, K., King, D.P., Young,

M.W., Weitz, C.J. and Takahashi, J.S. (1998). Mammalian circadian autoregulatory loop: a timeless ortholog and mPer1 interact and negatively regulate CLOCK-BMAL1-induced transcription. *Neuron.*, 21, 1101-13.

非特許文献75:Hiraoka, L.R., Harrington, J.J., Gerhard, D.S., Lieber, M.R. and Hsieh, C.L. (1995). Sequence of human FEN-1, a structure-specific endonuclease, and chromosomal localization of the gene (FEN1) in mouse and human. *Genomics.*, 25, 220-225.

非特許文献76:Liu, L., Mo, J., Rodriguez-Belmonte, E.M. and Lee, M.Y. (2000). Identification of a fourth subunit of mammalian DNA polymerase delta. *J Biol Chem.*, 275, 18739-18744.

非特許文献77:Li, Y., Pursell, Z.F. and Linn, S. (2000). Identification and cloning of two histone fold motif-containing subunits of HeLa DNA polymerase epsilon. *J Biol Chem.*, 275, 23247-23252.

非特許文献78:Hofmann, R.M. and Pickart, C.M. (1999). Noncanonical MMS2-encoded ubiquitin-conjugating enzyme functions in assembly of novel polyubiquitin chains for DNA repair. *Cell.*, 96, 645-653.

非特許文献79:Neddermann, P. and Jiricny, J. (1993). The purification of a mismatch-specific thymine-DNA glycosylase from HeLa cells. *J Biol Chem.*, 268, 21218-21224.

非特許文献80:Budd, M.E., Choe, W.C. and Campbell, J.L. (1995). DNA2 encodes a DNA helicase essential for replication of eukaryotic chromosomes. *J Biol Chem.*, 270, 26766-26769.

非特許文献81:Budd, M.E. and Campbell, J.L. (1995). A yeast gene required for DNA replication encodes a protein with homology to DNA helicases. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 92, 7642-7646.

非特許文献82:Tang, J. and Chu, G. (2002). Xeroderma pigmentosum complementation group E and UV-damaged DNA-binding protein. *DNA Repair (Amst).*, 1, 601-616.

非特許文献83:Martin-Lluesma, S., Stucke, V.M. and Nigg, E.A. (2002). Role of Hec1 in spindle checkpoint signaling and kinetochore recruitment of Mad1/Mad2. Science., 297, 2267-2270.

発明の開示

発明が解決しようとする課題

- [0023] 本発明は、癌細胞特異的なアポトーシス誘導剤の提供を課題とする。より詳しくは、染色体の安定化を阻害する化合物、染色体の安定化に関与する遺伝子の発現を阻害する化合物、または、該遺伝子によってコードされるタンパク質の機能を阻害する化合物を有効成分とする癌細胞特異的なアポトーシス誘導剤、並びに該アポトーシス誘導剤のスクリーニング方法の提供を課題とする。さらに、アポトーシス誘導剤を医薬組成物として製造する方法の提供を課題とする。

課題を解決するための手段

- [0024] 本発明者らは上記の課題を解決すべく、細胞において染色体の安定化に関連する種々の機能について、該機能の異常によってアポトーシスが癌細胞特異的に誘導されるか否かについての検討を行った。細胞における染色体の安定化に関連する機能としては、染色体の安定化に深く関与する以下の機能を選択した。(a)ヒト染色体不安定性疾患関連遺伝子、(b)染色体DNAの複製開始、複製フォークの進行を含む染色体DNA複製反応、(c)DNA損傷チェックポイント、(d)姉妹染色分体凝集・分離、(e)塩基除去修復、(f)ミスマッチ除去修復、(g)ヌクレオチド除去修復、(h)相同組換え修復、(i)非相同末端結合修復(非相同組換え修復)、(j)二本鎖DNA切断修復、(k)DNA複製後修復(DNA損傷トレランス)、(l)DNA架橋損傷修復、(m)DNA-タンパク質架橋損傷修復、(n)DNAポリメラーゼ、(o)ヌクレアーゼ、(p)ヌクレオチド浄化、(q)クロマチン構造維持、(r)テロメア構造維持。
- [0025] 本発明者らは、上記の各種機能に関与する種々の遺伝子について、該遺伝子の発現抑制効果を有するsiRNAを用いて、該遺伝子の癌細胞におけるアポトーシス誘導効果を検討した。その結果、前記の各機能に関与する複数の遺伝子について、その発現を抑制することにより、癌細胞においてアポトーシスが誘導され、細胞増殖の抑制が引き起こされることを見出した。さらに本発明者らは、該遺伝子の発現を抑制

しても、正常細胞(野生型細胞)についてはアポトーシスの誘導が起こらないことを初めて見出した。該遺伝子は、非常に優れた副作用の少ない抗癌剤(制癌剤)のターゲット分子と考えられる。

[0026] 上述の結果から、上記の各種機能に関与する遺伝子の発現を抑制することにより、アポトーシスを誘導することが可能であることが示された。また、該遺伝子は、上記の各種機能に深く関与しており、通常、該遺伝子の発現が抑制されることにより、上記機能は細胞において正常に働かなくなる。従って、本発明者らによって見出された上記知見は、とりまなおさず、上記の各種機能の異常によって、癌細胞特異的にアポトーシスが誘導されることを示すものである。よって、上記の各種機能を阻害させる化合物は、癌細胞特異的なアポトーシス誘導作用を有するものと考えられる。

[0027] さらに、上記の各種機能の異常により、染色体が不安定化することが知られている。従って、細胞における染色体の不安定化が、癌細胞特異的なアポトーシス誘導の引き金となっていることが考えられる。即ち、細胞における染色体安定化を阻害する化合物、あるいは、染色体安定化に関与する遺伝子の機能を阻害する化合物は、癌細胞特異的なアポトーシス誘導剤となることが期待される。

[0028] 本発明は、染色体の安定化を阻害する化合物、染色体の安定化に関与する遺伝子の発現を阻害する化合物、または、該遺伝子によってコードされるタンパク質の機能を阻害する化合物を有効成分とする癌細胞特異的なアポトーシス誘導剤、並びに該アポトーシス誘導剤のスクリーニング方法に関し、より詳しくは、

[1] 染色体の安定化を阻害する化合物を含む、癌細胞特異的なアポトーシス誘導剤、

[2] 染色体の安定化の阻害が、以下の(a)～(r)のいずれかの機能を阻害することによる、[1]に記載のアポトーシス誘導剤、

(a) ヒト染色体不安定性疾患関連遺伝子

(b) 染色体DNAの複製開始、複製フォークの進行を含む染色体DNA複製反応

(c) DNA損傷チェックポイント

(d) 姉妹染色分体凝集・分離

(e) 塩基除去修復

- (f) ミスマッチ除去修復
- (g) ヌクレオチド除去修復
- (h) 相同組換え修復
- (i) 非相同末端結合修復 (非相同組換え修復)
- (j) 二本鎖DNA切断修復
- (k) DNA複製後修復 (DNA損傷トレランス)
- (l) DNA架橋損傷修復
- (m) DNA-タンパク質架橋損傷修復
- (n) DNAポリメラーゼ
- (o) ヌクレアーゼ
- (p) ヌクレオチド浄化
- (q) クロマチン構造維持
- (r) テロメア構造維持

[3] [2]の(a)～(r)のいずれかの機能に関与する遺伝子の発現を阻害する化合物を含む、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤、

[4] 以下のいずれかに記載の遺伝子の発現を抑制する化合物を有効成分として含有する、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤、

APE2、ATR、BRCA1、Chk1、Cdc5、Cdc6、Cdc7、Cdc45、Cdt1、CSA、CSB、Ctf18、DDB1、DDB2、DNA2、DUT、Elg1、EndoV、Esp1、Exonuclease1、FBH1、FEN1、Geminin、Hus1、KNTC2 (NDC80)、Ku80、Ligase1、Mad2、MBD4、Mcm3、Mcm4、Mcm5、Mcm6、Mcm7、Mcm8、Mcm10、MGMT、MLH3、Mms4、MPG、MSH2、Mus81、NBS1、NEIL2、NEIL3、NTH1、Orc1、Orc3、PARP1、PCNA、Pif1、PMS1、PMS2、PNK、Pola p180、Pola p70、Pola Spp1(Prim2a)、Polb、Pold p125、Pole Dpb3、Pole Dpb4、Pole Pol2、Poli、Poll、Polm、Psf1、Psf2、Psf3、Rad1、Rad18、Rad23A、Rad23B、Rad51、Rad51D、Rad54、Rad6A、RPA34、RPA70、Scc1、Scc3、Sir2、SIRT1 (Sirtuin)、TDG、TDP1、TIMELESS、Tin2、Topoisomerase I、Topoisomerase IIIa、Topoisomerase IIIb、Ubc13、UNG、XAB2、XPC、XPF、XPG、Xrcc2、XRCC4

[5] [4]に記載の各遺伝子の塩基配列が、配列番号:1～637、810～908に記載

- の塩基配列からなる群より選択される、[4]に記載のアポトーシス誘導剤、
- [6] [4]に記載のいずれかの遺伝子の発現を抑制する化合物が、該遺伝子に対してRNAi効果を有する二本鎖RNA(siRNA)である、[4]に記載のアポトーシス誘導剤、
- [7] 二本鎖RNAが、[4]に記載のいずれかの遺伝子のmRNAにおける連続する任意の20～30塩基と相同な配列からなるセンスRNAおよび該センスRNAに相補的な配列からなるアンチセンスRNAからなる二本鎖RNAである、[6]に記載のアポトーシス誘導剤、
- [7b] RNAi効果を有する二本鎖RNAが、該二本鎖の一方の鎖が配列番号:724～809(ただし、該配列において、末端のTTを除いた領域が二本鎖の一方の鎖を構成する)、または974～1063のいずれかに記載の塩基配列であり、他方の鎖が該塩基配列と相補的な塩基配列であることを特徴とする二本鎖RNAである、[6]に記載のアポトーシス誘導剤、
- [7c] RNAi効果を有する二本鎖RNAが、該二本鎖の一方の鎖が配列番号:724～809(ただし、該配列において、末端のTTを除いた領域が二本鎖の一方の鎖を構成する)、または974～1063のいずれかに記載の塩基配列において1もしくは少数の塩基が付加、欠失、置換された塩基配列であり、他方の鎖が該塩基配列と相補的な塩基配列であることを特徴とする二本鎖RNAであって、上記[4]に記載のいずれかの遺伝子の発現を抑制する機能を有する二本鎖RNAである、[6]に記載のアポトーシス誘導剤、
- [7d] 前記二本鎖RNAの一方の末端が閉じた構造である(ヘアピンを形成する)分子を有効成分として含有する、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤、
- [8] [4]に記載のいずれかの遺伝子に対してRNAi効果を有する二本鎖RNAを発現し得るDNAを有効成分として含有する、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤、
- [9] [4]に記載のいずれかの遺伝子の発現を抑制する化合物が以下の(a)または(b)である、[4]に記載のアポトーシス誘導剤、
- (a)前記遺伝子の転写産物、またはその一部に対するアンチセンス核酸
- (b)前記遺伝子の転写産物を特異的に開裂するリボザイム活性を有する核酸
- [10] [4]に記載のいずれかの遺伝子によってコードされるタンパク質の機能を抑制

する化合物を有効成分として含有する、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤、
[11] [4]に記載のいずれかの遺伝子によってコードされるタンパク質の機能を抑制する化合物が、以下の(a)～(c)のいずれかの化合物である、[10]に記載のアポトーシス誘導剤、

(a)前記遺伝子によってコードされるタンパク質に対してドミナントネガティブの性質を有する変異体タンパク質

(b)前記遺伝子によってコードされるタンパク質に結合する抗体

(c)前記遺伝子によってコードされるタンパク質に結合する低分子化合物

[12] [1]～[11]のいずれかに記載のアポトーシス誘導剤を有効成分とする、抗癌剤、

[13] 以下の(a)～(c)の工程を含む、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤のスクリーニング方法、

(a) [4]に記載のいずれかの遺伝子によってコードされるタンパク質またはその部分ペプチドと被検化合物を接触させる工程

(b)前記タンパク質またはその部分ペプチドと被検化合物との結合活性を測定する工程

(c)前記遺伝子によってコードされるタンパク質またはその部分ペプチドと結合する化合物を選択する工程

[14] 以下の(a)～(c)の工程を含む、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤のスクリーニング方法、

(a) [4]に記載のいずれかの遺伝子を発現する細胞もしくは細胞抽出液と、被検化合物を接触させる工程

(b)前記遺伝子の発現レベルを測定する工程

(c)被検化合物の非存在下において測定した場合と比較して、該発現レベルを低下させる化合物を選択する工程

[15] 以下の(a)～(c)の工程を含む、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤のスクリーニング方法、

(a) [4]に記載のいずれかの遺伝子の転写調節領域とレポーター遺伝子とが機能的

に結合した構造を有するDNAを含む細胞または細胞抽出液と、被検化合物を接触させる工程

(b) 前記レポーター遺伝子の発現レベルを測定する工程

(c) 被検化合物の非存在下において測定した場合と比較して、前記発現レベルを低下させる化合物を選択する工程

[16] 以下の(a)～(c)の工程を含む、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤のスクリーニング方法、

(a) [4]に記載のいずれかの遺伝子によってコードされるタンパク質、または該タンパク質を発現する細胞もしくは細胞抽出液と、被検化合物を接触させる工程

(b) 前記タンパク質の活性を測定する工程

(c) 被検化合物の非存在下において測定した場合と比較して、前記タンパク質の活性を低下させる化合物を選択する工程

[17] 以下の工程(a)および(b)を含む、[4]または[10]に記載のアポトーシス誘導剤を医薬組成物として製造する方法、

(a) [13]～[16]のいずれかに記載の方法によって、化合物をスクリーニングする工程

(b) 該化合物を薬学上許容される担体と混合する工程、を提供するものである。

また、本発明の具体的な一態様においては、配列番号:724～809、974～1063のいずれかに記載の塩基配列を該二本鎖RNAの一方の鎖とするsiRNA分子(配列番号:724～809、974～1063のいずれかに記載の塩基配列と、その相補鎖からなるsiRNA分子)を有効成分として含む、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤、

[18] 対象細胞へ、上記のいずれかのアポトーシス誘導剤を投与する(接触させる)工程を含む、該細胞のアポトーシスを誘導する方法、

[19] 上記のアポトーシス誘導剤もしくは上記の抗癌剤を個体(癌患者等)へ投与する工程を含む、癌の治療方法、

[20] 染色体の安定化を阻害する化合物(例えば、上記[4]に記載のいずれかの遺伝子の発現、または該遺伝子によってコードされるタンパク質の機能を抑制する化合物)のアポトーシス誘導剤の製造における使用、

〔21〕 上記のアポトーシス誘導剤の抗癌剤の製造における使用、
を提供する。

図面の簡単な説明

- [0029] 〔図1〕図1は、実施例にて用いた遺伝子名、アクセッション番号 (Accession no.)、
siRNA配列、配列番号、HeLa細胞における遺伝子発現抑制、MTTアッセイ (HeLa細胞)、
Tunel法の結果、TIG3細胞における遺伝子発現抑制、MTTアッセイ (TIG3細胞)
を示す。「HeLa細胞における遺伝子発現抑制」の列は、各遺伝子に対するsiRNAを
それぞれHeLa細胞に導入し、導入48時間後の各mRNAの発現をTaqman PCRにより
定量した結果を示す。「MTTアッセイ (HeLa細胞)」の列は、各遺伝子に対するsiRNA
をHeLa細胞に導入し、導入4日後の細胞生存率をMTTアッセイで調べた結果を示
す。「Tunel法」の列は、染色が認められた場合、即ちアポトーシス陽性の場合をYES
と表示した。「TIG3細胞における遺伝子発現抑制」の列は、各遺伝子に対するsiRNA
をTIG3細胞に導入し、72時間後のmRNAの発現をTaqman PCRにより定量した結果
を示す。NDは検出不能を示す。「MTTアッセイ (TIG3細胞)」の列は、各遺伝子に対
するsiRNAをそれぞれTIG3細胞に導入し、4日後の細胞生存率をMTTアッセイで調
べた結果を示す。なお、遺伝子はそれぞれの有する機能によって分別した。
- 〔図2〕図2は、図1の続きの図である。
- 〔図3〕図3は、図2の続きの図である。
- 〔図4〕図4は、図3の続きの図である。
- 〔図5〕図5は、HeLa細胞における各遺伝子のmRNA発現の抑制によるアポトーシスの
誘導を示す写真である。各遺伝子に対するsiRNAをそれぞれHeLa細胞に導入し、
TUNEL法を用いて導入48時間後のHeLa細胞におけるアポトーシス誘導を検討した
結果を示す。各図左の緑色 (モノクロ図面を掲載) はアポトーシスが誘導された核を、
各図右は視野に存在する細胞の核を示す。
- 〔図6〕図6は図5の続きの写真である。
- 〔図7〕図7は図6の続きの写真である。
- 〔図8〕図8は図7の続きの写真である。
- 〔図9〕図9は図8の続きの写真である。

[図10]図10は、anti-ssDNA抗体を用いて染色体DNA中の一本鎖DNAが露出した領域を免疫染色した結果を示す写真である。1遺伝子に対し、3枚組みの写真を示す。左からanti-ssDNA像、核染色像、重ね合わせ像である。

[図11]図11は、図10の続きの図である。

[図12]図12は、図11の続きの図である。

[図13]図13は、図12の続きの図である。

[図14]図14は、図13の続きの図である。

[図15]図15は、図14の続きの図である。

[図16]図16は、図15の続きの図である。

[図17]図17は、図16の続きの図である。

[図18]図18は、図17の続きの図である。

[図19]図19は、図18の続きの図である。

[図20]図20は、図19の続きの図である。

[図21]図21は、図20の続きの図である。

[図22]図22は、図21の続きの図である。

[図23]図23は、図22の続きの図である。

[図24]図24は、図23の続きの図である。

[図25]図25は、図24の続きの図である。

[図26]図26は、図25の続きの図である。

[図27]図27は、図26の続きの図である。

[図28]図28は、実施例にて用いた遺伝子名、アクセッション番号(アクセッションNo.)、その他アクセッションNo.、siRNA配列、配列番号、HeLa細胞における遺伝子発現抑制、HeLa細胞における増殖抑制、TIG3細胞における遺伝子発現抑制、TIG3細胞における増殖抑制を示す。「40nM HeLa細胞における遺伝子発現抑制」の列は、各遺伝子に対するsiRNA配列をそれぞれHeLa細胞に導入し、導入48時間後の各mRNAの発現をTaqman PCRにより定量した結果を示す。「40nM HeLa細胞における増殖抑制」の列は、各遺伝子に対するsiRNA配列をそれぞれHeLa細胞に導入し、導入4日後の細胞生存率をMTTアッセイで調べた結果を示す。「40nM TIG3細胞にお

ける遺伝子発現抑制」の列は、各遺伝子に対するsiRNAをTIG3細胞に導入し、72時間後のmRNAの発現をTaqman PCRにより定量した結果を示す。なお、図中の「**」は、“未決定(Not determined)”を表す。「40nM TIG3細胞における増殖抑制」の列は、各遺伝子に対するsiRNA配列をそれぞれTIG3細胞に導入し、導入4日後の細胞生存率をMTTアッセイで調べた結果を示す。なお、遺伝子はそれぞれの有する機能によって分別した。

[図29]図29は、図28の続きの図である。

[図30]図30は、図29の続きの図である。

[図31]図31は、KNTC2(NDC80)遺伝子の別名、アクセッション番号(アクセッションNo.)、mRNA登録、siRNA ID、siRNA配列、配列番号、HeLa細胞におけるmRNA発現、HeLa細胞における増殖抑制、HeLa細胞におけるアポトーシス、HDF細胞におけるmRNA発現、HDF細胞における増殖抑制、HDF細胞におけるアポトーシスを示す。HeLa細胞における「mRNA発現」の列は、KNTC2(NDC80)遺伝子に対するsiRNA配列をそれぞれHeLa細胞に導入し、導入48時間後の各mRNAの発現をTaqman PCRにより定量した結果を示す。HeLa細胞における「増殖抑制」の列は、KNTC2(NDC80)遺伝子に対するsiRNA配列をそれぞれHeLa細胞に導入し、導入4日後の細胞生存率をMTTアッセイで調べた結果を示す。HeLa細胞における「アポトーシス」の列は、染色が認められた場合、即ちアポトーシス陽性の場合をYESと表示した。HDF細胞における「mRNA発現」の列は、KNTC2(NDC80)遺伝子に対するsiRNA配列をそれぞれHDF細胞に導入し、導入48時間後の各mRNAの発現をTaqman PCRにより定量した結果を示す。HDF細胞における「増殖抑制」の列は、KNTC2(NDC80)遺伝子に対するsiRNA配列をそれぞれHDF細胞に導入し、導入4日後の細胞生存率をMTTアッセイで調べた結果を示す。HDF細胞における「アポトーシス」の列は、染色が認められた場合、即ちアポトーシス陽性の場合をYESと表示した。

[図32]図32は、実施例にて用いた遺伝子名、siRNA ID、siRNA配列、配列番号、HeLa細胞におけるmRNA発現、HeLa細胞における増殖抑制、HeLa細胞におけるアポトーシス、HDF細胞におけるmRNA発現、HDF細胞における増殖抑制、HDF細胞におけるアポトーシスを示す。HeLa細胞におけるmRNA「発現」の列は、各遺伝子に

対するsiRNA配列をそれぞれHeLa細胞に導入し、導入48時間後の各mRNAの発現をTaqman PCRにより定量した結果を示す。HeLa細胞における「増殖」抑制の列は、各遺伝子に対するsiRNA配列をそれぞれHeLa細胞に導入し、導入4日後の細胞生存率をMTTアッセイで調べた結果を示す。HeLa細胞における「アポトーシス」の列は、染色が認められた場合、即ちアポトーシス陽性の場合を+（プラス）と表示した。

HDF細胞におけるmRNA「発現」の列は、各遺伝子に対するsiRNA配列をそれぞれHDF細胞に導入し、導入48時間後の各mRNAの発現をTaqman PCRにより定量した結果を示す。HDF細胞における「増殖」抑制の列は、各遺伝子に対するsiRNA配列をそれぞれHDF細胞に導入し、導入4日後の細胞生存率をMTTアッセイで調べた結果を示す。HDF細胞における「アポトーシス」の列は、染色が認められた場合、即ちアポトーシス陽性の場合を+（プラス）、アポトーシス陰性の場合を-（マイナス）と表示した。

[図33]図33は、HeLa細胞およびTIG3細胞におけるPif1、Mms4、TopoisomeraseIIIa、Mus81、SIRT1 (Sirtuin)、Esp1、MPG、Poll、Polm、EndoVの各遺伝子のmRNA発現の抑制によるアポトーシスの誘導を示す写真である。各遺伝子に対するsiRNAをそれぞれHeLa細胞およびTIG3細胞に導入し、TUNEL法を用いて導入48時間後のHeLa細胞および導入72時間後のTIG3細胞におけるアポトーシス誘導を検討した結果を示す。

[図34]図34は、図33の続きの写真である。

[図35]図35は、HeLa細胞およびTIG3細胞におけるKNTC2(NDC80)遺伝子のmRNA発現の抑制によるアポトーシスの誘導を示す写真である。KNTC2(NDC80)遺伝子に対するsiRNAをそれぞれHeLa細胞およびTIG3細胞に導入し、TUNEL法を用いて導入48時間後のHeLa細胞および導入72時間後のTIG3細胞におけるアポトーシス誘導を検討した結果を示す。左側の写真にはアポトーシスが誘導された核が写っている。右側の写真には視野に存在する細胞の核が写っている。

[図36]図36は、anti-ssDNA抗体を用いて染色体DNA中の一本鎖DNAが露出した領域を免疫染色した結果を示す写真である。

発明を実施するための最良の形態

[0030] 本発明者らによって、細胞における染色体の安定化を阻害することにより、癌細胞（腫瘍細胞）において特異的にアポトーシスが誘導されることが見出された。

本発明はまず、染色体の安定化を阻害する化合物を含む、癌細胞特異的（癌細胞に対する）アポトーシス誘導剤を提供する。

[0031] 本発明のアポトーシス誘導剤は、癌細胞に対して選択的にアポトーシス誘導作用を有することを特徴とするものである。本発明において「癌細胞特異的」とは、正常細胞に対しては実質的なアポトーシス誘導作用を示さず、癌細胞に対して実質的にアポトーシス誘導作用を示すことを言うが、好ましくは、正常細胞に対しては、アポトーシス誘導作用が見られず、癌細胞に対してアポトーシス誘導作用を有することを言う。

[0032] アポトーシスとは一般的に、生理的条件下で細胞自らが積極的に引き起こす細胞死を言う。アポトーシスの形態としては、例えば、細胞核の染色体凝集、細胞核の断片化、細胞表層微絨毛の消失、細胞質の凝集等が挙げられる。従って、本発明におけるアポトーシス誘導作用とは、例えば、細胞において上記のアポトーシスの形態を誘導する作用を指すが、必ずしも、上記の形態の誘導のみに限定されるものではない。当業者においては、細胞のアポトーシス誘導が起こっているか否かについて、適宜、判断することが可能である。

[0033] 本発明の、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤は、例えばアポトーシス誘導作用を機序とする抗癌剤（制癌剤）となるものと考えられる。本発明のアポトーシス誘導剤は、癌細胞特異的にアポトーシスを誘導し、正常細胞にはアポトーシスが誘導されないことから、副作用の少ない、安全な抗癌剤となるものと期待される。

[0034] なお、本発明における「抗癌剤」は、制癌剤と表記することも可能である。また、前記「抗癌剤」は、「抗腫瘍剤」、「抗腫瘍薬剤」または「抗腫瘍医薬組成物」等と表現される場合もある。

[0035] 本発明において「染色体の安定化が阻害される」とは、例えば、染色体DNA中に修復されずに残った損傷が蓄積した状態となること等を指し、具体的には、染色体DNA中に一本鎖が露出した領域が蓄積したり、二本鎖DNA切断部分が多数出現する状態を指すが、必ずしもこのような状態に限定されない。

[0036] 本発明における「染色体の安定化」は、例えば、細胞における以下の機能によって

維持されている。従って、以下の機能を阻害することによって、染色体の安定化が阻害される。

- (a) ヒト染色体不安定性疾患関連遺伝子
- (b) 染色体DNAの複製開始、複製フォークの進行を含む染色体DNA複製反応
- (c) DNA損傷チェックポイント
- (d) 姉妹染色分体凝集・分離
- (e) 塩基除去修復
- (f) ミスマッチ除去修復
- (g) ヌクレオチド除去修復
- (h) 相同組換え修復
- (i) 非相同末端結合修復 (非相同組換え修復)
- (j) 二本鎖DNA切断修復
- (k) DNA複製後修復 (DNA損傷トレランス)
- (l) DNA架橋損傷修復
- (m) DNA-タンパク質架橋損傷修復
- (n) DNAポリメラーゼ
- (o) ヌクレアーゼ
- (p) ヌクレオチド浄化
- (q) クロマチン構造維持
- (r) テロメア構造維持

[0037] 本発明の好ましい態様において、染色体の安定化阻害とは、例えば、上記の(a)～(r)のいずれかの機能を阻害することを挙げることができる。

即ち本発明の好ましい態様においては、上記(a)～(r)のいずれかの機能を阻害する化合物を含む、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤に関する。

[0038] 本発明において、上記(a)～(r)のいずれかの機能を阻害するためには、例えば、該機能に関与する遺伝子(本明細書においては、「染色体安定化関連遺伝子」と記載する場合あり)の発現を阻害する、もしくは該遺伝子によってコードされるタンパク質の機能(活性)を阻害することが挙げられる。

[0039] 上記の各機能に関与する遺伝子としては、例えば、以下の遺伝子を挙げることができるが、上記の各機能に関与する遺伝子であれば、特に制限されない。

[0040] (a) ヒト染色体不安定性疾患関連遺伝子

ヒト染色体不安定性疾患としては、例えば色素性乾皮症、コケイン症、ナイミーヘン症、血管拡張性失調症、ファンコニー貧血症、あるいは早老症等が挙げられる。これら各疾患に関連する遺伝子を以下に記載する。

・色素性乾皮症: (a1)XPB、(a2)XPD、(a3)XPG、(a4)XPF、(a5)XPC、(a6)RAD23B、(a7)CETN2、(a8)RAD23A、(a9)ERCC1

・コケイン症: (a10)CSA、(a11)CSB、(a12)XAB

・ナイミーヘン症: (a13)NBS1

・血管拡張性失調症: (a14)ATM

・ファンコニー貧血症: (a15)FANCA、(a16)FANCC、(a17)FANCD2、(a18)FANCE、(a19)FANCF、(a20)FANCG

・早老症: (a21)WRN、(a22)BLM、(a23)RTS

[0041] (b) 染色体DNAの複製開始、複製フォークの進行を含む染色体DNA複製反応

(b1)Mcm10、(b2)Orc1、(b3)Orc3、(b4)Cdc6、(b5)Cdt1、(b6)Geminin、(b7)Mcm3、(b8)Mcm4、(b9)Mcm5、(b10)Mcm6、(b11)Mcm7、(b12)Mcm8、(b13)Cdc7、(b14)Cdc5、(b15)Psf1、(b16)Psf2、(b17)Psf3、(b18)Cdc45、(b19)Pola p180、(b20)Pola p70、(b21)Pola Spp1(Prim2a)、(b22)RPA70、(b23)RPA34、(b24)PCNA、(b25)Elg1、(b26)Ligase1、(b27)Pol2、(b28)Pole Dpb3、(b29)Topoisomerase I、(b30)TDP1、(b31)Orc2、(b32)Orc4、(b33)Orc5、(b34)Orc6、(b35)Mcm2、(b36)Dbf4、(b37)TopBP1、(b38)Sld5、(b39)Pola Spp2、(b40)RFC1、(b41)RFC2、(b42)RFC3、(b43)RFC4、(b44)RFC5、(b45)Pif1、(b46)Pold p50、(b47)Pole Dpb2、(b48)Topoisomerase Iia、(b49)Topoisomerase Iib、(b50)RPA14、(b51)FEN1、(b52)DNA2、(b53)Pold p125、(b54)Pold p68、(b55)Pold p12、(b56)Pole Dpb4

[0042] (c) DNA損傷チェックポイント

(c1)ATR、(c2)Chk1、(c3)NBS1、(c4)Hus1、(c5)Rad1、(c11)Mad2、(c12)BubR1、(c12)ATM、(c13)Rad50、(c14)Mre11、(c15)Mdc1、(c16)53BP1、(c17)Rad17、

(c22)BubR1、(c23)ATRIP、(c24)Chk2、(c25)H2AX、(c26)RFC1、(c27)RFC2、
(c28)RFC3、(c29)RFC4、(c30)RFC5、(c31)ATM、(c32)BRCA1、(c33)Chk1、
(c34)Chk2、(c35)14-3-3eta、(c36)14-3-3sigma、(c37)cdc25A、(c38)cdc25c、
(c39)wee1、(c40)ATR、(c41)ATRIP、(c42)Rad17、(c43)RFC2、(c44)RFC3、(c45)RFC4
、(c46)RFC5、(c47)HUS1、(c48)Rad1、(c49)Rad9、(c50)P53、(c51)Rad50、(c52)Mre11
、(c53)NBS1、(c54)TopBP1、(c55)53BP1、(c56)H2AX

[0043] (d) 姉妹染色分体凝集・分離

(d1)Ctf18、(d2)Scc1、(d3)Scc3、(d4)Dcc1、(d5)Trf4-1、(d6)Trf4-2、(d7)Smc1、
(d8)Smc3、(d9)Pds1(Securin)、(d10)Mad2、(d11)BubR1、(d12)Esp1

[0044] (e) 塩基除去修復

(e1)UNG、(e2)MBD4、(e3)TDG、(e4)NTH1、(e5)NEIL2、(e6)NEIL3、(e7)APE2、
(e8)PARP1、(e9)PNK、(e10)Polb、(e11)OGG1、(e12)APE1、(e13)XRCC1、
(e14)Ligase3、(e15)SMUG1、(e16)TDG、(e17)MYH、(e18)MPG、(e19)NEIL1、
(e20)ADPRT、(e21)ADPRTL2、(e22)MGMT、(e23)ABH1、(e24)ABH2、(e25)ABH3

[0045] (f) ミスマッチ除去修復

(f1)MSH2、(f2)PMS1、(f3)PMS2、(f4)MLH3、(f5)Exonuclease1、(f6)MSH3、(f7)MSH6、
(f8)MSH5、(f9)MLH1、(f10)MSH4、(f11)PMS2L3、(f12)Trex1、(f13)Trex2、
(f14)PMS2L4

[0046] (g) ヌクレオチド除去修復

(g1)XPC、(g2)Rad23A、(g3)Rad23B、(g4)CSA、(g5)CSB、(g6)XPG、(g7)XPF、
(g8)DDB1、(g9)DDB2、(g10)XAB2、(g11)XPB、(g12)ERCC1、(g13)XPD、(g14)XPA、
(g15)DDB2、(g16)Mms19、(g17)CETN2、(g18)RPA70、(g19)RPA34、(g20)RPA14、
(g21)GTF2H1、(g22)GTF2H2、(g23)GTF2H3、(g24)GTF2H4、(g25)CDK7、
(g26)CCNH、(g27)MNAT1、(g28)LigaseI、(g29)CSA、(g30)CSB

[0047] (h) 相同組換え修復

(h1)Rad51、(h2)Rad51L1、(h3)Rad51C、(h4)Rad51L3、(h5)DMC1、(h6)XRCC2、
(h7)XRCC3、(h8)Rad52、(h9)Rad54L、(h10)Rad54B、(h11)BRCA1、(h12)BRCA2、
(h13)Rad50、(h14)Mre11、(h15)NBS1、(h16)TopoisomeraseIIIa、

- (h17)TopoisomeraseIIIb、(h18)WHIP、(h19)WRN、(h20)BLM、(h21)RecQ1、
(h22)RecQ5
- [0048] (i) 非相同末端結合修復(非相同組換え修復)
(i1)Ku70、(i2)Ku80、(i3)DNA-pk、(i4)Ligase4、(i5)XRCC4、(i6)Artemis、(i7)WRN
- [0049] (j) 二本鎖DNA切断修復
(j1)Rad51、(j2)Rad51D、(j3)Xrcc2、(j4)Rad54、(j5)BRCA1、(j6)Ku80、(j7)XRCC4、
(j8)Rad52、(j9)Rad51C、(j10)Dmc1、(j11)Rad54B、(j12)DNA-pk、(j13)Ku70、
(j14)Ligase4、(j15)Rad51B、(j16)XRCC3、(j17)BRCA2、(j18)Artemis
- [0050] (k) DNA複製後修復(DNA損傷トレランス)
(k1)Rad6A、(k2)Rad6B、(k3)Rad18、(k4)Ubc13、(k5)FBH1
- [0051] (l) DNA架橋損傷修復
(l1)FANCA、(l2)FANCC、(l3)FANCD2、(l4)FANCE、(l5)FANCF、(l6)FANCG
- [0052] (m) DNA-タンパク質架橋損傷修復
(m1)TDP1
- [0053] (n) DNAポリメラーゼ
(n1)Poli、(n2)Polh、(n3)Polq、(n4)Polk、(n5)Polz(REV3)、(n6)Poll、(n7)Polm、(n8)Rev1
、(n9)Polb、(n10)Polg、(n11)Pold p50、(n12)Pole Pol2、(n13)REV7、(n14)Poln、
(n15)Pola P180、(n16)Pola p70、(n17)Pola Spp1、(n18)Pola Spp2、(n19)Pold p68、
(n20)Pold p12、(n21)Pole Dpb2、(n22)Pole Dpb3、(n23)Pole Dpb4
- [0054] (o)ヌクレアーゼ
(o1)FEN1、(o2)TREX1、(o3)TREX2、(o4)Exonuclease1、(o5)SPO11、(o6)ENDO V、
(o7)APE1、(o8)APE2、(o9)Mre11、(o10)Artemis
- [0055] (p)ヌクレオチド浄化
(p1)MTH1、(p2)DUT、(p3)p53R2
- [0056] (q)クロマチン構造維持
(q1)H2AX、(q2)Sir2、(q3)SIRT1 (Sirtuin)
- [0057] (r)テロメア構造維持
(r1)Tin2、(r2)Sir2、(r3)hTert、(r4)TRF1、(r5)TRF2、(r6)Tankyrase、(r7)Pot1、

(r8)Rap1、(r9)Pif1

[0058] 上記(a)～(r)の各機能に関与する遺伝子としては、好ましくは、後述の実施例に記載された遺伝子を好適に示すことができる。具体的には、以下に記載の遺伝子を挙げることができる。

APE2、ATR、BRCA1、Chk1、Cdc5、Cdc6、Cdc7、Cdc45、Cdt1、CSA、CSB、Ctfl8、DDB1、DDB2、DNA2、DUT、Elg1、EndoV、Esp1、Exonuclease1、FBH1、FEN1、Geminin、Hus1、KNTC2 (NDC80)、Ku80、Ligase1、Mad2、MBD4、Mcm3、Mcm4、Mcm5、Mcm6、Mcm7、Mcm8、Mcm10、MGMT、MLH3、Mms4、MPG、MSH2、Mus81、NBS1、NEIL2、NEIL3、NTH1、Orc1、Orc3、PARP1、PCNA、Pif1、PMS1、PMS2、PNK、Pola p180、Pola p70、Pola Spp1(Prim2a)、Polb、Pold p125、Pole Dpb3、Pole Dpb4、Pole Pol2、Poli、Poll、Polm、Psf1、Psf2、Psf3、Rad1、Rad18、Rad23A、Rad23B、Rad51、Rad51D、Rad54、Rad6A、RPA34、RPA70、Scc1、Scc3、Sir2、SIRT1 (Sirtuin)、TDG、TDP1、TIMELESS、Tin2、Topoisomerase I、Topoisomerase IIIa、Topoisomerase IIIb、Ubc13、UNG、XAB2、XPC、XPF、XPG、Xrcc2、XRCC4

[0059] 本発明の好ましい態様においては、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の発現、または、該遺伝子によってコードされるタンパク質の機能を抑制する化合物を有効成分として含有する、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤を提供する。

[0060] 本明細書において記載された遺伝子名は、広く一般的に知られた名称であることから、当業者であれば、該遺伝子の塩基配列についての情報を、遺伝子名を基に、公共の文献データベース、あるいは、遺伝子データベース(例えば、GenBank等)から、適宜取得することができる。

[0061] 本発明の上記のいずれかに記載の各遺伝子の塩基配列、および該遺伝子によってコードされるタンパク質のアミノ酸配列の具体例を、配列表に掲載する。上記遺伝子の配列情報が取得可能なNCBIのアクセッション番号、および該番号によって取得される遺伝子の塩基配列の配列番号との関係を表1～16に示す。また、本発明の上記の各遺伝子によってコードされるタンパク質のアミノ酸配列の一例についても、配列表に示す。

[0062] [表1]

遺伝子名	アクセッション番号	配列番号	
		塩基配列	アミノ酸配列
Mcm10	NM_182751	1	638
	NM_018518	2	
	AB042719	3	
	AL136840	4	
	AK055695	5	
	BC009108	6	
	BC004876	7	
	AF119869	8	
Orc1	NM_004153	9	639
	U43416	10	
	U40152	11	
	BC011539	12	
Orc3	NM_181837	13	640
	NM_012381	14	
	BC035494	15	
	AF125507	16	
	AF135044	17	
	AL080116	18	
	AF093535	19	
	BC047689	20	
	U50950	21	
	AK094135	22	
Cdc6	NM_001254	23	641
	AF022109	24	
	BC025232	25	
	U77949	26	
Cdt1	NM_030928	27	642
	BC008676	28	
	AF321125	29	
	AB053172	30	
	BC000137	31	
	BC008860	32	
	BC009410	33	
	BC049205	34	
	BC021126	35	
	AF070552	36	
	BC014202	37	
Geminin	NM_015895	38	643
	BC005389	39	
	BC005185	40	
	AF067855	41	
	AK021685	42	
Mcm3	BC003509	43	
	NM_002388	44	644
	BC001626	45	
	AY032603	46	
	X62153	47	
	D38073	48	
	U41843	49	

[0063] [表2]

Mcm4	NM_005914	50	645
	XM_030274	51	
	X74794	52	
	NM_182746	53	
	BC031061	54	
	AK022899	55	
Mcm5	NM_006739	56	646
	X74795	57	
	BC003656	58	
	BC000142	59	
	D83986	60	
	AK130620	61	
Mcm6	AK122853	62	
	NM_005915	72	647
	BC020268	73	
	D84557	74	
	BC032374	75	
	U46838	76	
Mcm7	BC008774	77	
	NM_005916	65	648
	BC013375	63	
	D55716	70	
	AK096959	71	
	X74796	68	
	NM_182776	64	
	D28480	66	
	AK055379	67	
	AY007130	69	
	BC009398	78	
Mcm8	AF279900	79	
	NM_032485	80	649
	AJ439063	81	
	BC008830	82	
	AK027644	83	
	NM_182802	84	
	AY158211	85	
	BC005170	86	

[0064] [表3]

Cdc7	NM_003503	87	650
	AF015592	88	
	AB003698	89	
	AF005209	90	
Cdc5	BC001568	91	
	NM_001253	92	651
	U86753	93	
	AK128737	94	
	AB007892	95	
	D85423	96	
Psf1	NM_021067	97	652
	D80008	98	
	BC012542	99	
Psf2	BC010164	100	
	NM_016095	101	653
	AF151880	102	
	AF125098	103	
	AK001275	104	
	AF201939	105	
	BC022839	106	
	BC003186	107	
	BC062444	108	
	AK091519	109	
Psf3	NM_022770	110	654
	BC014437	111	
	BC005879	112	
	AK127454	113	
	AK023974	114	
	AL137379	115	
Cdc45	BC005879	112	
	NM_003504	116	655
	BC006232	117	
	BT006792	118	
	BC010022	119	
	AF081535	120	
	AF053074	121	
	AY358971	122	
	AF062495	123	
	AJ223728	124	
Pola p180	NM_016937	125	656
	X06745	126	
	BX648513	127	
Pola p70	L24559	128	
	BC002990	129	
	NM_002689	130	657
	BC001347	131	
	BC018813	132	
	BC018814	133	
	AK025315	134	
	AK094569	135	
Pola Spp1(Prim2a)	NM_000947	136	658
	X74331	137	
	BC017833	138	

[0065] [表4]

RPA70	BC018126	139	
	NM_002945	140	659
	M63488	141	
RPA34	NM_002946	142	660
	BC021257	143	
	BC012157	144	
	BC001630	145	
	J05249	146	
PCNA	NM_002592	147	661
	NM_182649	148	
	BC000491	149	
	M15796	150	
Elg1	AJ314648	151	
	NM_024857	152	662
	AL832103	153	
	AK022797	154	
	BC015051	155	
FEN1	NM_004111	156	663
	BC000323	157	
	X76771	158	
	L37374	159	
	XM_209325	160	
DNA2	D42046	161	
	XM_166103	162	664
	BC063664	163	
	BC053574	164	
	BC041115	165	
	BC028188	166	
	BC017003	167	
Ligase1	NM_000234	168	665
	M36067	169	
Pold p125	NM_002691	170	666
	M80397	171	
	BC008800	172	
	M81735	173	
Pole Pol2	NM_006231	174	667
	L09561	175	
	U49356	176	
	S60080	177	
	BX647647	178	
	BC007599	179	
	BC021559	180	
	AK093003	181	
	AK025087	182	
	BC011376	183	
	AL080203	184	
	AK128248	185	
	NM_012332	186	
	AF132950	187	

[0066] [表5]

Pole Dpb3	NM_017443	188	668
	AK074762	189	
	BC004170	190	
	BC003166	191	
	AK074629	192	
	AF226077	193	
	AK074782	194	
	AK096050	195	
	AK092840	196	
Pole Dpb4	AF261688	197	
	BC031331	198	
	NM_019896	199	669
	AY034104	200	
Topoisomerase I	NM_003286	201	670
	J03250	202	
	U07806	203	
	U07804	204	
	X16479	205	
TDP1	BC015474	206	
	NM_018319	207	671
	AK001952	208	
	AF182002	209	
	BX161451	210	
	AK093235	211	
	BC006083	212	
	AL832288	213	
	AF182003	214	
Ctf18	AK023514	215	
	BC018184	216	
	NM_022092	217	672
	BC006278	218	
	BC006437	219	
	AK024476	220	
Scc1	AK128869	221	
	BC050381	222	
	NM_006265	223	673
	D38551	224	
	X98294	225	
	AK098521	226	
	AK097915	227	
	BC001229	228	
	AK125620	229	

Scc3	NM_005862	230	674
	Z75330	231	
	BC017735	232	
	BC040708	233	
	AF070586	234	
	BC001765	235	
	NM_006603	236	
	BX641003	237	
	AK098737	238	
	Z75331	239	
	BX641002	240	
	BX640970	241	
	AL831939	242	
	AK124202	243	
	NM_012447	244	
	AJ007798	245	
	BC047490	246	
	BC028684	247	
ATR	NM_001184	248	675
	Y09077	249	
	U76308	250	
	U49844	251	
Chk1	BC017575	252	
	NM_001274	253	676
	AF016582	254	
	BC004202	255	
	AF032874	256	
NBS1	NM_002485	257	677
	AF051334	258	
	AF058696	259	
	BX640816	260	
	BC040519	261	
	BC005293	262	
	BC016762	263	
	AK001017	264	
Hus1	NM_004507	265	678
	BC007013	266	
	AF110393	267	
	AF076844	268	
	Y16893	269	
	AJ227901	270	
	AK097182	271	

Rad1	BC037857	272	
	BC009804	273	
	NM_133377	274	
	NM_002853	275	679
	BC006837	276	
	AK002112	277	
	AF074717	278	
	AF076841	279	
	AF030933	280	
	AF084512	281	
	AF058392	282	
	AF011905	283	
	AJ004974	284	
	BT006908	285	
	AF073524	286	
	NM_133282	287	
	AF090170	288	
	AF084513	289	
	AF058393	290	
	AJ004975	291	
Topoisomerase IIIb	NM_003935	292	680
	AF053082	293	
	AF017146	294	
	AF125216	295	
	BC002432	296	
	AL833505	297	
	AK096695	298	
	AF070585	299	
	XM_066339	300	
	BC051748	301	
	NM_004618	302	
	U43431	303	
Rad6A	BC010175	304	
	NM_003336	305	681
	M74524	306	
	NM_181777	307	
	BC042021	308	
	NM_181762	309	
	BC005979	310	
	BC008404	311	
	BC008470	312	
	NM_003337	313	
	BT007071	314	
	X53251	315	
	M74525	316	
Rad18	NM_020165	317	682
	AF169796	318	
	AK023075	319	
	AB035274	320	
	BC001302	321	
	AY004333	322	

Ubc13	BC000396	323	
	BC003365	324	
	NM_003348	325	683
	D83004	326	
	BT006873	327	
	XM_372257	328	
	AK098233	329	
FBH1	NM_178150	330	
	NM_032807	331	684
	AF380349	332	
	AF456237	333	
	AK095343	334	
	AF454502	335	
	BC020266	336	
	BC032674	337	
	AK122753	338	
	AK027496	339	
	AK027381	340	
	BC006430	341	
	BC012762	342	
	AL133069	343	
	AL832251	344	
Mad2	NM_002358	345	685
	BC000356	346	
	BC005945	347	
	U31278	348	
	AJ000186	349	
	U65410	350	
	NG_002592	351	
	AF394735	352	
	XM_374193	353	
XPC	BC016620	354	
	NM_004628	355	686
	D21089	356	
	X65024	357	
Rad23A	BC014026	358	
	NM_005053	359	687
	D21235	360	
	M77024	361	
	L37720	362	
	BC020973	363	
	NM_002874	364	
	AY313777	365	
	AK125226	366	
	D21090	367	

[0070] [表9]

Rad23B	NM_002874	364	688
	D21090	367	
	BC020973	363	
	AK125226	366	
	AY313777	365	
	XM_067249	368	
	BC014026	358	
	NM_005053	359	
	D21235	360	
	AK122683	369	
CSA	NM_000082	370	689
	U28413	371	
	AK056931	372	
	BC009793	373	
CSB	NM_000124	374	690
	L04791	375	
	AK130100	376	
XPG	X69978	377	
	NM_000123	378	691
	BC031522	379	
	AF462447	380	
	BX647399	381	
	L20046	382	
	D16305	383	
XPF	L77890	384	
	NM_005236	385	692
	U64315	386	
	BC020741	387	
DDB1	NM_001923	388	693
	U32986	389	
	BC050530	390	
	BC011686	391	
	BC051764	392	
	HSU18299	393	
	AJ2955	394	
	L40326	395	
	BC021044	396	
	BC032080	397	
	AL831958	398	
DDB2	NM_000107	399	694
	U18300	400	
	BC000093	401	
	BT007139	402	
	BC001160	403	
	BC050455	404	
	AK091640	405	

[0071] [表10]

XAB2	NM_020196	406	695
	AF226051	407	
	BC007208	408	
	AF258567	409	
	AB026111	410	
	AB033003	411	
	BC008778	412	
	AK025858	413	
	AK074035	414	
UNG	BC050634	415	
	NM_003362	416	696
	BC015205	417	
	X15653	418	
	NM_080911	419	
	Y09008	420	
MBD4	NM_003925	421	697
	AF072250	422	
	AF114784	423	
	AF532602	424	
	BC034463	425	
	BC011752	426	
	U56428	427	
	U56254	428	
TDG	BC037557	429	
	NM_003211	430	698
	U51166	431	
	BC019925	432	
	BC010945	433	
NTH1	NM_002528	434	699
	U79718	435	
	AB001575	436	
	U81285	437	
	BC000391	438	
	BC003014	439	
	Y09687	440	
NEIL2	BC013964	441	
	BC013952	442	
	NM_145043	443	700
	AK056206	444	
	AB079070	445	
	AK097389	446	
	BX537529	447	
	BC045822	448	
NEIL3	NM_018248	449	701
	AK001720	450	
	AB079071	451	
	BC025954	452	
APE2	BC002959	453	
	NM_014481	454	702
	AJ011311	455	
	AB021260	456	
	AB049211	457	
	AF119046	458	

[0072] [表11]

PARP1	NM_001618	459	703
	M32721	460	
	M18112	461	
	J03473	462	
	BC037545	463	
	NG_002655	464	
	M17081	465	
	BC018620	466	
	BC021045	467	
	BC014206	468	
	BC008660	469	
	AK125650	470	
	AF401218	471	
	AJ236912	472	
	AJ236876	473	
	AK001980	474	
	NM_005484	475	
	AF085734	476	
PNK	BC033822	477	
	NM_007254	478	704
	AF125807	479	
	AF126486	480	
	AF120499	481	
	BC002519	482	
	BC009339	483	
	BC013034	484	
Polb	NM_002690	485	705
	D29013	486	
	L11607	487	
	M13140	488	
MSH2	NM_000251	489	706
	BC021566	490	
	L47581	491	
	U04045	492	
	L47577	493	
	L47574	494	
	L47582	495	
	L47583	496	
	U03911	497	
	L47579	498	
	L47578	499	
	BX649122	500	
	L47580	501	
	L47576	502	
	L47575	503	
	BC001122	504	
	BC012599	505	
PMS1	NM_000534	506	707
	U13695	507	
	BC036376	508	
	BC008410	509	
	BT006947	510	

[0073] [表12]

PMS2	NM_000535	511	708
	U14658	512	
	BC031832	513	
	BC008400	514	
	XM_208368	515	
	AB116525	516	
MLH3	NM_014381	517	709
	AF195657	518	
	AB039667	519	
Exonuclease1	NM_003686	520	
	AF091740	521	
	AF042282	522	
	NM_006027	523	710
	BC007491	524	
	NM_130398	525	
	AF060479	526	
	AF084974	527	
	AL080139	528	
Poli	AF140501	529	
	NM_007195	530	711
	BC032662	531	
	AF245438	532	
	AL136670	533	
	BC032617	534	
	BX649100	535	
	AK093688	536	
Rad51	NM_002875	537	712
	D14134	538	
	D13804	539	
	NM_133487	540	
Rad51D	NM_002878	541	713
	Y15572	542	
	BC014422	543	
	BX647297	544	
	AB013341	545	
	NM_133627	546	
	AB016223	547	
	AF034956	548	
	BC002723	549	
	NM_133628	550	
	AL117459	551	
	NM_133630	552	
	AB016224	553	
	NM_133629	554	
	AB016225	555	
	AK097811	556	
	AB020412	557	
	AB018363	558	
	AB018360	559	
	AB018362	560	
	AB018361	561	

[0074] [表13]

Xrcc2	BC042137	562	
	NM_005431	563	714
	AF035587	564	
	Y08837	565	
Rad54	NM_003579	566	715
	X97795	567	
BRCA1	NM_007295	568	716
	NM_007296	569	
	NM_007294	570	
	NM_007306	571	
	NM_007302	572	
	NM_007297	573	
	U14680	574	
	AF005068	575	
	NM_007301	576	
	NM_007300	577	
	NM_007299	578	
Ku80	NM_021141	579	717
	M30938	580	
	BC019027	581	
	J04977	582	
	X57500	583	
XRCC4	NM_022550	584	
	NM_003401	585	718
	U40622	586	
	NM_022406	587	
	BC016314	588	
	AB017445	589	
	BC005259	590	
	BT007216	591	
Tin2	BC010655	592	
	NM_012461	593	719
	AF195512	594	
	BC019343	595	
	BC005030	596	
	AK023166	597	
Sir2	BX161478	598	
	NM_012237	599	720
	BC003012	600	
	BC003547	601	
	AK025876	602	
	AF095714	603	
	AF083107	604	
	NM_030593	605	
	AJ505014	606	
	AK054642	607	
	AF160214	608	
	AF131800	609	
	AK092940	610	

[0075] [表14]

MGMT	NM_002412	611	721
	X54228	612	
	M60761	613	
	BC000824	614	
	M29971	615	
	BT006714	616	
	M31767	617	
DUT	NM_001948	618	722
	AB049113	619	
	BC033645	620	
	U62891	621	
	U31930	622	
	L11877	623	
	M89913	624	
	AK000629	625	
	U90223	626	
	NM_182746	53	
	BC031061	54	
	AK022899	55	
TIMELESS	BC050557	627	
	BC031514	628	
	AB015597	629	
	AF098162	630	
	NM_003920	631	723
	BC039842	632	
	AK022702	633	
	BX640990	634	
	AK000721	635	
	AY207390	636	
	AY207391	637	

[0076] [表15]

遺伝子名	アクセッション 番号	配列番号	
		塩基配列	アミノ酸配列
Pif1	AF108138.1	810	909
	BC033254.1	811	
	AK026345.1	812	910
	NM_025049.1	813	911
	BC018978.2	814	
Mms4	NM_152463.1	815	912
	AK021607.1	816	
	BC016470.2	817	913
	AK055926.1	818	914
TopoisomeraseIIIa	NM_004618.2	819	915
	BC051748.1	820	916
	AK126869.1	821	
	U43431.1	822	917
Mus81	NM_025128	823	918
	AK126820.1	824	
	CR604400.1	825	
	CR601399.1	826	
	AL353934.1	827	919
	AK024665.1	828	920
	NM_025128.3	829	921
	BC009999.2	830	922
	AF425646.1	831	923
	AK095326.1	832	
SIRT1 (Sirtuin)	NM_012238.3	833	924
	BX648554.1	834	
	AF083106.2	835	925
	AF235040.1	836	926
	AL136741.1	837	
	AK027686.1	838	
	BC012499.1	839	927
	AK074805.1	840	
Esp1	NM_012291	841	928
	BC047603.1	842	929
	AK128350.1	843	
	AY455930.1	844	930
	D79987.1	845	931
MPG	NM_002434	846	932
	M99626.1	847	933
	NM_002434.1	848	934
	CR619346.1	849	
	CR612592.1	850	
	CR606356.1	851	
	CR600098.1	852	
	CR598824.1	853	
	L10752.1	854	935
	M74905.1	855	936
	X56528.1	856	937
	BC014991.1	857	938
	M71215.1	858	939
	S51033.1	859	940

PolI	NM_013274	860	941
	AK128521.1	861	
	AK127896.1	862	942
	BC068529.1	863	943
	AJ131890.1	864	944
	CR619817.1	865	
	CR615868.1	866	
	NM_013274.2	867	945
	AF161019.1	868	946
	AK021600.1	869	947
	AK022476.1	870	948
	AF218027.1	871	949
	AF283478.1	872	950
	BC003548.1	873	951
	AK094956.1	874	
Polm	NM_013284	875	952
	BC049202.1	876	953
	BC062590.1	877	954
	BC026306.1	878	955
	AJ131891.2	879	956
	CR620839.1	880	
	CR606869.1	881	
	NM_013284.1	882	957
	AF176097.1	883	958
	AK023002.1	884	959
	AK092903.1	885	
	AK092801.1	886	960
	BC035685.1	887	
EndoV	NM_173627	888	961
	NM_173627.2	889	962
	BC045824.1	890	963
	BX647411.1	891	
	AK123689.1	892	964
	BC059781.1	893	
	BC064545.1	894	965
	CR617882.1	895	
	CR599326.1	896	
	AK056045.1	897	
	AK096802.1	898	
	AK096344.1	899	966
	AK092539.1	900	967
	BC037889.2	901	968
KNTC2 (NDC80)	NM_006101	902	969
	NM_006101.1	903	970
	CR609890.1	904	
	BC010171.2	905	971
	BC005239.1	906	
	BC035617.1	907	972
	AF017790.1	908	973

[0078] なお、上記に記載の各遺伝子は、塩基配列中の多型の有無等により、同一の遺伝子であっても複数のアクセッション番号が付与されている場合がある。この「多型」とは

、一塩基の置換、欠失、挿入変異からなる一塩基多型(SNPs)に限定されず、連続する数塩基の置換、欠失、挿入変異も含まれる。従って、上記の各遺伝子の塩基配列としては、必ずしも表1～表16に記載のアクセッション番号によって取得される配列、あるいは、配列番号:1～637、810～908に記載された配列に限定されない。同様に、上記の各遺伝子によってコードされるタンパク質のアミノ酸配列も、配列番号:638～723、909～973に記載されたアミノ酸配列に特に限定されない。

[0079] 本発明の上記タンパク質は、配列番号:638～723、909～973に記載されたアミノ酸配列に限定されず、該アミノ酸配列において、1もしくは複数のアミノ酸残基が付加、欠失、置換、挿入されたアミノ酸配列からなるタンパク質であって、配列番号:638～723、909～973に記載されたタンパク質と機能的に同等なタンパク質が含まれる。

[0080] また、本発明の染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記の各遺伝子)は特に制限されるものではないが、通常、動物由来であり、より好ましくは哺乳動物由来であり、最も好ましくはヒト由来である。

[0081] 即ち、本発明はヒトの癌細胞についての特異的なアポトーシス誘導剤に限定されず、ヒト以外の動物の癌細胞に対するアポトーシス誘導剤も本発明に含まれる。従って、本発明の遺伝子には、上記の各遺伝子についてのヒト以外の動物におけるホモログ(カウンターパート)遺伝子が含まれる。例えば、配列番号:1～637、810～908に記載の各塩基配列からなる遺伝子に対応する他の動物における内在性の遺伝子(ホモログ等)が含まれる。該塩基配列からなるDNAに対応する他の動物の内在性のDNAは、一般的に、該配列番号に記載のDNAと高い相同性を有する。高い相同性とは、50%以上、好ましくは70%以上、さらに好ましくは80%以上、より好ましくは90%以上(例えば、95%以上、さらには96%、97%、98%または99%以上)の相同性を意味する。この相同性は、mBLASTアルゴリズム(Altschul et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 2264-8; Karlin and Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-7)によって決定することができる。また、該DNAは、生体内から単離した場合、該配列番号に記載のDNAとストリンジентな条件下でハイブリダイズすると考えられる。ここで「ストリンジентな条件」としては、例えば「2×SSC、0.1%SDS、50℃」、

「2×SSC、0.1%SDS、42℃」、「1×SSC、0.1%SDS、37℃」、よりストリンジェントな条件として「2×SSC、0.1%SDS、65℃」、「0.5×SSC、0.1%SDS、42℃」および「0.2×SSC、0.1%SDS、65℃」の条件を挙げることができる。当業者においては、他の動物における本発明の上記の各遺伝子に相当する内在性遺伝子に関する情報(配列等)について、配列表に掲載された塩基配列を基に適宜取得することが可能である。

[0082] また本発明は、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の発現を抑制する化合物を提供する。

[0083] 本発明の染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の発現を抑制する化合物としては、例えば、該遺伝子に対してRNAi(RNA interference; RNA干渉)効果を有する二本鎖RNAを好適に挙げることができる。一般的にRNAiとは、標的遺伝子のmRNA配列と相同な配列からなるセンスRNAおよびこれと相補的な配列からなるアンチセンスRNAとからなる二本鎖RNAを細胞内に導入することにより、標的遺伝子mRNAの破壊を誘導し、標的遺伝子の発現が阻害される現象を言う。

[0084] RNAi機構の詳細については未だに不明な部分もあるが、DICERといわれる酵素(RNase III核酸分解酵素ファミリーの一種)が二本鎖RNAと接触し、二本鎖RNAがsmall interfering RNAまたはsiRNAと呼ばれる小さな断片に分解されるものと考えられている。本発明におけるRNAi効果を有する二本鎖RNAには、このsiRNAも含まれる。さらに、本発明の二本鎖RNAを発現し得るDNAもまた、本発明に含まれる。

[0085] 本発明の好ましい態様においては、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の発現をRNAi効果により抑制し得るRNA(siRNA)であって、配列番号:724~809、974~1063のいずれかに記載の塩基配列からなるRNAと、該RNAと相補的な配列からなるRNAとがハイブリダイズした構造を含む二本鎖RNAを有効成分として含む、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤を提供する。

[0086] 例えば、配列番号:724に記載の塩基配列(5'-ggaaaaucuggccacucucTT-3')を含む本発明のsiRNAとは、以下のような構造のRNA分子を例示することができる。

5'-ggaaaaucuggccacucuc-3'

|||||

3'-ccuuuuagaccggugagag-5'

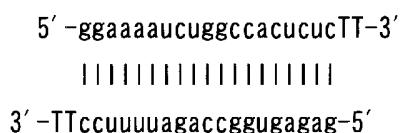
(上記「|」は水素結合を表す。)

- [0087] なお、上記RNA分子において一方の端が閉じた構造の分子、例えば、ヘアピン構造を有するsiRNA(shRNA)も本発明に含まれる。即ち、分子内において二本鎖RNA構造を形成し得る分子もまた本発明に含まれる。
- [0088] 例えば、
5'-ggaaaucuggccacucuc (xxxx)n gagaguggccagauuuucc-3' のような分子もまた本発明に含まれる。(上記「(xxxx)n」は任意塩基および配列数からなるポリヌクレオチドを表す。)
- [0089] 上記siRNAの好ましい態様としては、染色体安定化関連遺伝子(例えば上記のいずれかに記載の遺伝子)の発現をRNAi効果により抑制し得るRNA(siRNA)であって、配列番号:724~809、974~1063のいずれかに記載の塩基配列からなるRNAと、該RNAと相補的な配列からなるRNAとがハイブリダイズした構造を含む二本鎖RNAを好適に示すことができる。ただし、二本鎖RNAの末端において、例えば、1もしくは複数のRNAが付加もしくは欠失された構造の二本鎖RNAもまた、本発明に含まれる。
- [0090] 即ち本発明は、本発明の二本鎖RNAを発現し得るDNA(ベクター)を提供する。本発明の上記二本鎖RNAを発現し得るDNA(ベクター)は、通常、該二本鎖RNAの一方の鎖をコードするDNA、および該二本鎖RNAの他方の鎖をコードするDNAが、それぞれ発現し得るようにプロモーターと連結した構造を有するDNAである。本発明の上記DNAは、当業者においては、一般的な遺伝子工学技術により、容易に作製することができる。より具体的には、本発明のRNAをコードするDNAを公知の種々の発現ベクターへ適宜挿入することによって、本発明の発現ベクターを作製することが可能である。
- [0091] RNAiのために使用されるRNAは、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)もしくは該遺伝子の部分領域と完全に同一(相同)である必要はないが、完全な同一(相同)性を有することが好ましい。
- [0092] 本発明のRNAi効果を有する二本鎖RNAは、通常、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)のmRNAにおける連続する任意のRNA領域と相同な配列からなるセンスRNA、および該センスRNAに相補的な配列からなるアンチセンスRNAからなる二本鎖RNAである。上記「連続する任意のRNA領域」の長さは

、通常20～30塩基であり、好ましくは21～23塩基である。例えば、配列番号：724～809、974～1063のいずれかに記載のRNAを一方の鎖とするsiRNAの長さを挙げることができるが、必ずしもこれらの長さ限定されない。しかしながら、そのままの長さではRNAi効果を有さないような長鎖のRNAであっても、細胞においてRNAi効果を有するsiRNAへ分解されることが期待されるため、本発明における二本鎖RNAの長さは、特に制限されない。また、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)のmRNAの全長もしくはほぼ全長の領域に対応する長鎖二本鎖RNAを、例えば、予めDICERで分解させ、その分解産物を本発明のアポトーシス誘導剤として利用することが可能である。この分解産物には、RNAi効果を有する二本鎖RNA分子(siRNA)が含まれることが期待される。この方法によれば、RNAi効果を有することが期待されるmRNA上の領域を、特に選択しなくともよい。即ち、RNAi効果を有する染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)のmRNA上の領域は、必ずしも正確に規定される必要はない。ただし、より好ましくは、後述の実施例において用いた各種siRNAを好適に示すことができる。

[0093] また、通常、末端に数塩基のオーバーハングを有する二本鎖RNAは、RNAi効果が高いことが知られており、本発明の二本鎖RNAは、末端に数塩基のオーバーハングを有することが望ましい。このオーバーハングを形成する塩基の長さは特に制限されない。また、このオーバーハングは、DNAおよびRNAのいずれであってもよい。好ましくは、2塩基のオーバーハングを例示することができる。本発明においては例えば、TT(チミンが2個)、UU(ウラシルが2個)、その他の塩基のオーバーハングを有する二本鎖RNA(最も好ましくは19塩基の二本鎖RNAと2塩基(TT)のオーバーハングを有する分子)を好適に用いることができる。本発明の二本鎖RNAには、このようにオーバーハングを形成する塩基がDNAであるような分子や、標的mRNA配列と相同な配列も含まれる。

[0094] 例えば、オーバーハング部分の塩基がTTである場合には、本発明のsiRNA分子としては、



のような分子(3'側にTTが付加された分子)を例示することができる。

- [0095] 本発明の上記「染色体安定化関連遺伝子に対してRNAi効果を有する二本鎖RNA」は、当業者においては、該二本鎖RNAの標的となる染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の塩基配列をもとに、適宜作製することができる。染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の塩基配列は、上述のように公共の遺伝子データベースから容易に取得することができる。一例を示せば、配列番号:1~637、810~908のいずれかに記載の塩基配列をもとに、本発明の二本鎖RNAを作製することができる。即ち、配列番号:1~637、810~908のいずれかに記載の塩基配列をもとに、該配列の転写産物であるmRNAの任意の連続するRNA領域を選択し、この領域に対応する二本鎖RNAを作製することは、当業者においては、容易に行い得ることである。また、該配列の転写産物であるmRNA配列から、より強いRNAi効果を有するsiRNA配列を選択する方法は、例えば文献(Reynold et al. Nature biotechnology 22. 326-330 (2004)、Ui-Tei et al. Nucleic Acids Res. 32. 936-948 (2004)、Boese Q, Leake D, Reynolds A, Read S, Scaringe SA, Marshall WS, Khvorova A. Mechanistic insights aid computational short interfering RNA design. Methods Enzymol. 2005;392:73-96.、Snove O Jr, Nedland M, Fjeldstad SH, Humberset H, Birkeland OR, Grunfeld T, Saetrom P. Designing effective siRNAs with off-target control. Biochem Biophys Res Commun. 2004;325(3):769-73.、Yiu SM, Wong PW, Lam TW, Mui YC, Kung HF, Lin M, Cheung YT. Filtering of Ineffective siRNAs and Improved siRNA Design Tool. Bioinformatics. 2005;21(2):144-51.、Chalk AM, Wahlestedt C, Sonnhhammer EL. Improved and automated prediction of effective siRNA. Biochem Biophys Res Commun. 2004;319(1):264-74.、Amarzguioui M, Prydz H. An algorithm for selection of functional siRNA sequences. Biochem Biophys Res Commun. 2004;316(4):1050-8.、Sioud M, Leirdal M. Potential design rules and enzymatic synthesis of siRNAs. Methods Mol Biol. 2004;252:457-69.)等を参考にして、当業者においては、適宜実施することが可能である。また、一方の鎖(例えば、配列番号:724~809、974~1063のいずれかに記載の塩基配列)が判明していれば、当業者

においては容易に他方の鎖(相補鎖)の塩基配列を知ることができる。siRNAは、当業者においては市販の核酸合成機を用いて適宜作製することが可能である。また、所望のRNAの合成については、一般の合成受託サービスを利用することが可能である。

[0096] また、本発明におけるsiRNAは、必ずしも全てのヌクレオチドがリボヌクレオチド(RNA)でなくともよい。即ち、本発明において、siRNAを構成する1もしくは複数のリボヌクレオチドは、対応するデオキシリボヌクレオチドであってもよい。この「対応する」とは、糖部分の構造は異なるものの、同一の塩基種(アデニン、グアニン、シトシン、チミン(ウラシル))であることを指す。例えば、アデニンを有するリボヌクレオチドに対応するデオキシリボヌクレオチドとは、アデニンを有するデオキシリボヌクレオチドのことを言う。また、前記「複数」とは特に制限されないが、好ましくは2～5個程度の少数を指す。

[0097] また、本発明の二本鎖RNAの基となる遺伝子(標的遺伝子)の配列は、必ずしも遺伝子全長の塩基配列が判明している必要はない。選択すべき任意の連続するRNA領域(例えば、20～30塩基)が判明していればよい。従って、EST(Expressed Sequence Tag)等のようにmRNAの一部は判明しているが、全長が判明していない遺伝子断片からも、該断片の塩基配列を基に本発明の二本鎖RNAを作製することが可能である。以下に、GenBankデータベースにおいて、上記のいずれかに記載の遺伝子と高い相同性を示したEST配列のアクセッション番号を、各遺伝子名ごとに分けて記載する。但し、これらは多数存在するEST配列のうちの一例に過ぎず、当業者においては、適切なEST断片に関する情報を公共のデータベースから容易に取得することができる。

[0098] Mcm10: BQ230201、CK000876、BX324498、BM466246、BI086715、BE561621、BM781578、BE397209、BM781561、BF797760、BE268770、AI133628、BI860489、CA488245、BE018388、BM794417、AI005288、AV759891、BE536223、AI078425、BI023355、CB120985、AA305452、BX324497、AI636632、CB143720、BM465842、BM833978、AI962581、BE206240、BE536858、BQ432059、BX099770、BX346400、BE890219、BU542039、AI750442、BU542210、BQ929138、BG323332、AA312197、

BG942019、BM755471、AA091854、BX346399、BG493975、T97047、BU615340、
BG777950、BU618352、BG323324

[0099] Orc1:BM556110、AL558857、AL528479、AL530422、AU125429、BQ229865、
BX370588、AL563154、BU552785、BQ055912、CD642483、BE903488、BU854876、
BM908744、BF205157、BX372245、BQ230059、BX110476、BM743410、BG821765
、AL530421、BI222366、BU198520、BF796650、BM476715、AL552393、AU127396
、BM740840、BE781976、AL580583、BG391980、BM852299、CD654548、
BQ423782、AW378723、AL582531、AL561250、BU194186、BQ048846、BG822626
、AL552501、BU854819、BQ433201、BE782505、BG257286、BX281133、CF140351
、BF795920、BG390855、BG831652、BF794915、BF797918、BG325714、AI651655、
BM833692、BQ883238、BX474463、AI038384、AU129034、BP431296、BG328342、
BP430683、H51719、AI739661、T96858、BE782390、BU630113、BG025019、
BE937466、AA332534、AI343281、AU149094、BP430714、BI087773、AW393255、
AU151220、BE076727、AI452809、AW877655、AI003527、AI391554、AW602975、
AW877662、AA633915、BF108860、AU149996、T96859、R83277

[0100] Orc3:BM478060、BU509511、BQ718539、BU153003、AL533919、BQ220405、
AU118962、BM550235、BG187255、AU117920、BQ719965、BQ716606、BQ953945
、BU166296、AU119182、BI769170、BI819545、CD655888、BX409716、BI520392、
BG214275、BI770086、BI091781、BM802602、BG187780、BU170385、BI769508、
BX433033、BX507848、AU124361、BX488094、BM785800、BG205874、CD679490
、BX490513、CB153029、AW967051、BM826548、AU139285、BG572634、
AL533918、CB152486、AU136510、BE536929、BX352629、BQ102522、AW369628
、AW449272、BF672680、BE882468、BX343146、BG943457、BF698289、CD702536
、BF667912、AU280292、CA842624、BF674961、BF184165、BQ441255、BF794512
、CD699734、AL600904、BX462706、BF215571、AL709158、AV753736、AI904063
、CB123265、BX486937、BG214276、CD245870、BF059711、AI651375、BQ102253
、AL711211、BF964587、AW500090、BM751168、CB963370、BI862225、AA442539
、AW887723、AW801684、AV708200、BM152858、H17704、BF683230、BM848524

、BQ772810、BQ361466、AL710982、CD242978、H11812、AA305227、AW607564、
H94935、BU632641、BX328353、BI255412

[0101] Cdc6:AL562624、AL521818、BM465884、BQ064897、BX451346、BX349920、
BU846236、BQ675107、BI260747、BU633837、BG256606、BM464160、BQ228599、
BG252312、BM559225、AL521819、BE907412、BQ070080、BU619893、BF698043、
BE741201、AL526150、BG765988、BU173127、BF699051、AA502608、BG165110、
AU129648、CA488634、BM450676、BF028885、CB135870、BF185000、BG026757、
CA429336、BF977528、BF240966、BG766090、AI478744、BM803439、AA045217、
AA813386、BE565947、BF571756、AL710150、BF307679、AA723372、BG721945、
AI433558、BF208758、BI559407、BX482661、BF102841、BE779410、BQ441118、
N69246、BF310791、CF123750、BI006635、BQ775002、AA907374、BM011340、
CA429634、W03300、BM845715、AA113790、BF210909、BM706052、H59204、
BI255053、AI424746、H59203、AI052065、BE073887、BE550416、AI341585、
BG025851、BF221502、T83032、T90351、BG720011、AI953729、AI699473、
BF115521、BF223422、AI808683、BE085836、AI699980、BX355209、BE086769、
AW518847、AA099980、BE965778、AA836395、AI766778、BE869748、AI802324、
AA584340、BE693538、AI567411

[0102] Cdt1:BX332414、BQ935210、BU931977、BM811548、BU849056、BQ062875、
BQ053758、BU187852、BX406047、AL555432、BQ278148、BX402195、BU845736、
AL580756、BQ058496、AL581992、BX332413、AL557066、BU930971、BM016975、
BX421258、BU190377、BQ960305、BG824304、AL520240、BM917547、BQ053108
、AL582018、BG393757、AL520239、BF791881、BM019024、AL556319、BI092793、
BI258203、AL559054、AL527465、AL558613、BU856820、AL524910、AL580393、
BX333703、BQ063175、BG259986、BI335580、BG327660、BM556535、BI222927、
BG251456、AL520887、BI224536、BI335105、AL524909、BQ053124、BI093258、
BG745159、BX405984、AL515463、BE910713、AL518299、BQ054892、BQ053069、
BI333817、AL518300、BU189533、BI260243、BF972427、BQ684815、BM695575、
BQ652285、BQ649771、BQ647760、BQ647212、BQ645148、BG822442、AL581566

、BQ652445、BQ649937、BE544515、AL577935、BX405983、BM927844、BE727635
、AL515464、BU176676、BU931060、BU859159、BX366934、BX355022、BM800496
、BM463356、BG389325、BU164161、BE388067、BX464574、BE778380、BF237902
、BU158281、BM917445、BM809482

[0103] Geminin:BM550773、AL522354、BI092791、BX375519、BX414734、AL562503、
BI861855、BM471496、AL518006、BQ430578、AL580178、BG577005、BG032232、
AL525229、AL518005、AL522353、CA417249、AU118695、BQ645204、BG612964、
BI855710、BQ718513、BG577324、BI086620、AL558330、BG776051、BG777134、
BE893489、BF967933、BG776192、AW996997、BF666338、BQ015308、BQ064691、
CD366250、BE910343、BM699599、BG776218、BF029154、BU629613、CB992796、
BG825264、BE613337、CB131959、CB049968、BQ772723、BE564333、BI759810、
BF666672、BF808421、BF700297、BG337926、BE565866、BG776386、CD367234、
BF213350、CB136099、BI830428、BG612435、BE535264、BQ575533、BF667576、
BG505022、AA447810、CA442918、BU623074、BF696555、AA393139、CD708137、
BF699912、BF967209、BF056288、CA503202、CA312813、BG530534、BF109418、
AV756510、BG778341、AA235222、BI093913、BF248391、AI968057、CD686529、
BU685799、BG777305、AV734242、AV689368、BF240393、AW006287、AI828103、
BF003138、CB049969、BF947954、BF594599、BE048465、BG429246、BG180421、
AI803434、AV734302、BE219705

[0104] Mcm3:BM467763、AL551465、BQ066322、BQ061652、AL559830、BQ059704、
BM471050、BU849776、AL545116、BQ063041、BU541430、BU860117、BM542415
、AU124791、BU857116、BM453648、BQ056448、BM927480、BQ218351、
BQ057647、BQ940737、AU119321、BX462455、BQ898140、CF995699、BI772155、
AL549372、BQ214499、BU856617、BM007763、BI223143、BQ652945、BQ649476、
BU509755、BQ058522、BQ641758、BQ064200、BG281527、AU133404、BE249947
、BU601317、BU154249、BQ927115、BI457651、BX462766、BU558287、BQ051029
、BM917594、AU134083、BM561561、CD656673、BQ422727、BQ058080、
BM478599、BQ881515、BE795211、BI196606、BG034961、BE892181、BQ649956、

BM479437、BG765473、AL527918、BE560376、BI261474、BI599305、BX348989、
BE793456、BM461732、BE620320、BE783059、BE799563、BE561200、BQ064568、
BE620857、BG681460、BE616575、AU124152、BM832703、BG392301、BG259417、
AW083217、BI086286、BQ650935、BI259905、BG686972、CD642696、BI091236、
CD655620、BI551396、BE778348、BG773437、BU193733、BE274144、BE891644、
AW732422、AU131124、BG742232、BU178300、AU123260

[0105] Mcm4:BX363316、BM557639、BM479183、BU163628、BX341147、BQ956710、
BQ689703、BU855555、BM423607、BQ689028、BQ684773、BU149764、BM917541
、BQ877570、BQ962733、BQ213101、BQ679476、BQ931933、BQ670123、
BQ680471、BQ878671、BU196152、BQ218770、BQ687458、BQ058022、BU838204
、BQ231069、AU124599、BQ060869、AI936566、BQ066067、BQ066435、BU182872
、BQ065206、BQ061896、AL710281、AU125558、BM560344、AU124716、AU1300
95、BX341146、BQ060907、BG683134、AU131502、BM909380、BI259276、
BQ676347、BQ054534、BU601939、BQ056963、BQ883247、AU124662、AU134265
、BQ681631、BI092911、AU124469、BU151359、AU131979、BU860012、BQ058401
、AU126357、BE740475、BG772025、BU154598、BF058934、BQ670493、BI520579
、BQ681697、CD643530、CD655257、BQ948077、BE796484、BQ681384、AI738700
、BF569146、AU124670、BQ772225、BI117233、AI923706、BX100324、BF059052、
BQ652623、AU131348、CF265157、CF594355、BU940867、BG339157、BF116228、
BQ682913、BG029854、BG421025、BG248645、BI223223、BE891270、BE741088、
AU130533、BG684174、BQ675821、BI830911、AU136189

[0106] Mcm5:BX446933、BX443180、BU179314、BX465121、BX360307、BQ219621、
BQ059059、BX374727、BM560991、BM802651、BU148505、BM478574、BM480184
、BX407417、BM558890、BU538182、BX331301、BX465031、BQ893665、
BQ671418、BM559170、BX331344、BU156108、BQ645833、BQ069574、BX458285
、BQ895922、BQ057750、BQ054136、BQ957762、BX367432、BG767144、
BQ065023、BQ055590、BM470663、BU839673、BQ065213、BX368805、BU192073
、BQ065931、BQ232104、BM917136、BQ880654、BX346462、BU163845、

BQ672003、BQ434878、BQ647973、BG770644、BU557340、BU165017、BG760478、
、BQ671606、BU541449、BQ670216、BQ649375、BI086963、BQ669996、BI909897
、BQ935556、BM043366、BQ642797、BU195081、BQ222354、BU190738、BI869446
、BX346537、BQ066237、BG770167、BU557310、BX465120、BX388269、BQ943544
、BQ069268、BQ679299、BQ683703、BG576914、BX341163、BM051781、
BM719141、BQ440728、BQ431588、BQ643976、BX381461、BU845031、BU839453
、BQ213876、BX407118、AU131148、BG685544、BU178502、BQ929382、
BU556785、BM457715、BU166135、BM927634、BE735173、BX428497、BX407353、
BE253723

[0107] Mcm6:BM563815、BQ689609、BU178707、BU185218、BM917146、BU180530、
BQ691498、BM917702、BQ721374、BQ430793、BQ710328、BQ276415、AU124829
、BM551692、BM457121、BQ919455、BQ688139、BQ685964、BQ424418、
BM453163、BQ671824、AU143594、BU542273、BU146898、BU178966、BQ072203
、BM461535、AU131056、AU133299、AU125636、BU180371、BE383991、
BU181929、BQ691761、AU125495、BG686841、CD242701、BG685821、AU117647
、BX483567、BM564401、BG390247、AU133321、BI870675、BI084962、BE731324、
BI084168、BG532524、AU126102、BM803211、BE734309、BM450955、BG419290、
BU146822、BM013848、BG680470、CD643818、BU176030、BM917579、BM045567
、BE733405、BG877987、BG538573、AU142944、AU130133、AU124506、BE796828
、AU137338、BG253660、BQ879136、BG386500、BM048943、BG914034、
AU124893、BX451899、BM012817、BG389994、BG030690、BE731558、BG877979、
BE407913、BG878155、BX416717、BE385730、AU128720、BE618973、BE268695、
BX118733、BG256582、BG878151、BE513514、BG877982、BG335342、BE281191、
BE778969、BM842510、BG878152、BG877994、BU506698、BE280389

[0108] Mcm7:BX446600、BM916932、AL555833、BM451540、BX342306、BX424231、
BQ279230、BM462954、BM468766、BU500250、BM803547、BM557336、BX443366
、BQ070647、AL561620、BX355367、BM908241、BQ924446、BQ887320、
BM912799、CD108811、BX324854、BQ643995、BM463747、BU183306、BM927622

、BQ055649、BQ053452、BX428085、BQ673910、BM921077、BQ887860、
BQ883251、BU147232、BQ071179、BQ935246、BQ652903、BQ883056、BQ674104
、BQ641811、BQ053620、BM917214、BU162886、BQ052004、BQ891995、
BQ878240、BQ953990、BQ063971、BX405959、BQ898941、BQ061151、BQ054401
、BQ917453、BM564271、BU189313、BQ058499、BU161199、BM469583、
BQ218009、BI522846、BU855416、BQ056795、BQ643247、BQ069037、BQ920442、
AU125112、BU194965、BU854868、BU183465、BQ720104、BQ228405、BQ214543
、BQ064840、BQ650571、BQ642612、AU125755、BQ956957、BU526752、
BE740091、AL561593、BU165222、BE792286、BQ643233、BQ676107、BQ070446、
BQ225752、BQ670399、BQ932333、BM810332、CD051232、BU527906、BU942698
、BI335520、BQ057726、BM554740、BE799854、AU124962、BM914800、BI825746、
BX324853

[0109] Mcm8: BQ055956、BQ070426、BM454681、BU556999、BM904262、BQ441929、
BM559514、BM808018、BM459480、BM808016、BQ070219、BM009484、BQ940417
、BU162199、BM558689、BM912457、BQ434761、BI862190、BM810194、CD642958
、BG422937、BG338287、BM015340、BI859244、BG762185、BU509003、BG420680
、BG023796、BF309111、BM453735、BM466057、CA495297、BF306586、BE513731
、BI086506、BM009302、BX504348、BE898012、BG338630、AW955317、BE273079
、BG827920、BG396259、BE269095、BM793002、CF137101、BF308208、BM913291
、CA425682、AW960988、BX282225、BG168597、BF973469、BE278386、AV645497
、AA325061、BE311854、BG339877、BF754616、W94454、CB136734、BI225492、
BG434327、CA445505、BG761050、W25728、BM751186、BE842789、BM825974、
BU955551、BF127844、BQ007416、CD299273、AI086063、BE928109、BF088599、
AA225696、BQ071854、AA226268、AW440309、AA370141、AA193063、BQ334627
、AW845751、W94336、AA609373、CA436668、AI609077、BQ320963、AA563920、
AI537281、AI200790、BG259140、AI219139、AA192859

[0110] Cdc7: CA441701、BG170872、BM463748、AL044123、BE789148、AU120443、
AU129167、AU116849、AW968900、AW574512、BI462237、AL602215、BM789148

、CB959717、AL039323、AA814975、AA936081、BG721963、BU657893、CB216422
、AU117631、AA768993、AA131310、BF366907、W76628、N40295、BF982876、
AA488999、AW405542、AL044122、BF031756、BQ221549、AA291015、BX419687
、BF696442、AA488783、CD523327、BG116756、D20593、CD689440、BG116838、
BU568048、CD642993

[0111] Cdc5:BX350355、BU192616、BQ427813、BQ961587、BI222621、BQ962695、
BX331396、CD107746、BQ427606、BE275179、BF982513、BU195085、BX483740、
AL558731、BG431157、BM450338、BM925609、BU073210、BG028239、CB306835
、AL706102、BG178910、BF025810、BX446071、BU508497、BM718344、BX349125
、BQ423785、BM505336、BF977508、BI823054、CD103634、AL135197、AU135978
、BF132826、CB160730、AL710914、AI679458、BE617311、BG390164、AW959030
、BU933396、BF217466、BG502998、BM894208、AW268817、CF135420、
BM146535、BU071659、BE884277、CD101983、BF035463、BG424071、AI143113、
AA044750、CF143619、BG722285、BM127700、BG327622、AI122932、BM804765、
AV682172、AW954903、AI279537、AL580487、BM894481、BE781164、CK024078、
AV762357、BF744457、BM834441、BG121920、BE541230、BF679988、AA811533、
AI221677、BG897659、CB052718、AU136923、BU623810、BG497404、CA448370、
BF813646、BI048250、BF214089、AU131684、BG540599、BG942273、AA191036、
BP429997、AA249176、AL710062、BE140574、AU127833、BG614948、BE140795、
AI583919、AI909768、BI918547、BF795413

[0112] Psf1:BM458856、BU171017、BM450503、BX384069、BQ070512、AW499844、
BM151985、AA860312、BF692084、BU430742、AI190765、BQ440331、BM152648、
AA725561、AA383128、BM465819、BU659306、BI333600、AA355925、BG910353、
BI223929、BF892016、AU099454、AL044646、AI184188、N39921、N39947、
AU076561、AL597443

[0113] Psf2:BU597296、BU184963、BM449472、BM043804、BF683514、BF311745、
BE514071、BE513254、BE382866、BQ277667、BQ229290、BG825252、BG772776、
BG284180、BG104289、BF795157、AU126087、BF035586、BE796384、BE795838、

BE795306、BE561044、BE274253、BE312319、AW249012、CK001498、AL560880、AL560669、BQ233393、BG420251、BE267495、BE258240、CA455226、BE251065、BU957713、BE791539、BE267221、BX415204、BI196248、BG118214、AL529785、BU595469、BF310321、BI257993、BF684568、BE561525、BE251621、BG475509、BG527542、BE793125、BE562088、BG519560、BG475384、BE259285、BU601226、BG339264、BX456910、AV712739、BF312439、AL526847、BU603101、BE260083、BI832397、BU940719、BE255698、BE514978、AA521273、BG469677、BF209856、AL563552、AI828992、AI583174、AL582217、CB112523、BF238335、BG531588、CB129701、BF312015、BE878751、BU625683、AL582077、BE222543、AA262870、AL562756、AW958853、BU506537、BQ361100、AA251319、BM832297、BE296429、AI827298、AL560926、BE907417、BU729618、BE799212、BE268868、BM126492、BE262182、AA053046、AL582250

[0114] Psf3: BQ231741、BQ948256、BI489800、AL555105、AL524624、BM904357、AL525185、BX406244、AL529159、AL550963、AL524746、BI753591、BI770007、AL561070、BM016893、BG387533、BQ422835、BE782757、BF316873、BF797649、BG765190、BF796771、BM925118、BM722252、BG769825、CF141388、CD676320、BE749159、AL711201、BE297646、AW674872、BQ645203、BM926055、CD693113、BM804294、BG257517、CF552524、BM786881、BF797402、AU142374、BE208552、BF239248、BF310190、BQ890204、BE256868、BG249299、BE907809、W79671、BM754989、BX328153、BU939987、BE281396、CA430225、BQ304813、BQ027991、BM542908、BF769732、BG744402、AA353408、BP430213、BM564422

[0115] Cdc45: BM550683、BX366266、BX358668、BM478173、BX345270、BX355266、BX366366、BM557094、BM557313、BX358667、BX346442、BX371229、BX352708、BX366365、BX451104、BX352909、BX349664、BX331394、BX328445、BQ069733、BX448615、CA454819、BX448616、BX447114、BX349663、BU184174、BX328421、BQ427880、BX328446、BX451105、BX352910、BX334120、BX409672、BQ214084、BU171037、BQ233704、BX391089、BE747427、BX346464、BX428526、BX422691、BX331393、BX367431、BX367477、BX391088、BX367513、BX325504、BX352709、

BX362080、BX367505、BF026159、BE869669、BX325558、BX366268、BE260534、
CB124085、BX371230、BG122390、BG387745、BG252967、BG180337、BE897594、
BX367410、BM917964、BX346526、BX328422、BQ674776、BM912689、BQ436443
、BF965716、BX376594、BG720395、BF125841、BI546622、BQ216400、BU537659
、AL711006、CF139190、BU618386、BX367472、BX328725、AI768340、CA454402
、AW081615、BX366267、BM751026、BX328423、BE795241、BU618460、BE255146
、BG386934、AI369688、BX367409、AW674262、BE903958、AW674908、AA700904
、BX389190、CF141215、BE501602

[0116] Pola p180:BU508486、AL543898、AU121118、CB134498、AU132112、BX327138、
BQ883339、CB121808、AW674983、CB149914、CB140712、CB152927、BQ882043
、AL570197、BF210579、BE835570、BE818389、AA379019、BE837514、BQ312037
、BE837504、AI354751、BM475170、CB122291、AL044294、BE771020、AA355814
、BQ351870、AW589637、AA383406、BE717631、R72191、BX117096、AA828105、
BF888988、AI261685、BE163167、BE817842、CD000139、CB999470、BF899310、
BG926114

[0117] Pola p70:BU508486、AL543898、AU121118、CB134498、AU132112、BX327138、
BQ883339、CB121808、AW674983、CB149914、CB140712、CB152927、BQ882043
、AL570197、BF210579、BE835570、BE818389、AA379019、BE837514、BQ312037
、BE837504、AI354751、BM475170、CB122291、AL044294、BE771020、AA355814
、BQ351870、AW589637、AA383406、BE717631、R72191、BX117096、AA828105、
BF888988、AI261685、BE163167、BE817842、CD000139、CB999470、BF899310、
BG926114

[0118] Pola Spp1(Prim2a):AL556161、AL513776、BM546142、AL549894、BX401418、
BU187783、BM459297、BU193561、BI523986、BI907286、BG034836、BG215267、
CF595567、CA406143、BX280180、BM926617、BF572603、BQ947185、BX404971、
BM852865、BM756079、BI547222、BF978626、AL578476、BF747008、BX401417、
AL573915、BF745947、AV757142、CF140555、AI557036、T75233、BF745931、
BF744295、BM464505、AA465014、T10253、BG183395、BE697488、BG205656、

BG209815、BG195945、AA434502、CB113799、BG184433、BF746454、BE766105、AA361880、AA255550、BG191366、BE766167、BE766098、BE766038、BE765690、BE769157、N80963、AI216670、BX114039、AW951150、N80656、BE714429、AA255569、BE843957、R61073、BE714404、BF000349、AA093814、BE538394、T93658、R00642、F12922、BE543709、BF172325、T05292、BQ001605、CA411912、BX455830、BM551302

[0119] RPA70:BM456944、BQ222582、AU119564、AL576308、AU124434、AU125631、AU122638、BM556841、BQ222302、BM542894、BU177749、BU508590、BM456314、BM466291、BG108961、BX425090、BU633264、BU153418、BU184357、BU517134、BG251944、BG828190、BG764082、BI858388、BG758555、BG035161、BG287240、BF796027、BG036436、BG826869、BX488619、BF971387、BM790584、BG119012、BG765594、BG685852、BE292972、BG761657、BE898956、BE743787、BE897915、BF983057、BF665538、BM792560、BI253949、BG755233、AU125797、BE178302、BI093003、BG120570、BQ218906、BM743518、BM742537、BF698180、BE178464、CD579303、BM848213、BM844440、CF121414、BF344035、BM838207、BE927446、CB121597、BE542431、BF664182、CB115068、BM847443、CD580024、BM848384、BF028723、BM851538、BE927448、BE773962、BE773949、BF751549、BM016568、BQ214159、AA460805、BE764622、AU128580、BG029093、BF082772、BX339968、CB130706、BQ230034、BM711058、CB160550、BE927450、BU501405、BE932015、BE773964、BF699259、BF919259、BE932029、BM541370、BM462468、BE171973、BM845370、BX477548、AL553255

[0120] RPA34:BX333932、BQ064852、BX442975、BQ069120、BQ943330、BQ063763、BQ674220、AU118399、BQ059648、AU143441、BQ673815、BQ439053、BQ278675、BU856528、BE741729、BQ066157、BG825398、BQ668543、BI600038、BQ641985、BI757393、BG333934、BQ054635、BQ070050、BQ066715、BI518754、AI419040、BE271646、BQ063545、BQ058415、AI890508、BM543895、BG336979、BE898769、BI818496、BG421195、BE901546、BG469742、BE887147、AU134052、BI756891、BF308713、BM312218、BE902956、BG433978、BG334708、AI744901、BG254134、

BU943380、AI929664、CA488595、BE298500、BG826547、BE394497、BI599375、CK002534、BG779099、BE313107、BE298150、BG501316、BG826213、AU129936、BQ059808、AU126353、BI113916、BE297131、BG424340、BQ642824、BI193274、BI546749、BG716673、BQ055902、BG777777、BG428439、BE019650、AV762431、CD687322、CA842220、BE898527、BE294795、BG616118、BG615827、BF791819、BE568731、BQ059622、BQ054654、BG436837、BF686542、CD702944、CD710078、BG479643、BE898609、BM698831、BQ924421、BE394931、AI961707、BX283385、AA641800、CB145745、BF692608

[0121] PCNA:BM464765、AL547405、BU162573、BQ233597、BM923901、BM475636、BM809424、BU506972、AL549034、AL549068、BI254350、BU187589、BG686220、BQ716438、BM477662、BM542830、AL572455、BM474328、BQ231284、BU195180、BU161781、BG774625、BQ681114、BQ649204、BU634227、BM474327、BI765443、BM979950、CD519986、BU626265、BQ682146、BI767353、BG707111、BQ679867、BG755768、CD367344、BI254540、BG166783、BQ014636、BI598197、BM977646、BU624262、BG686801、BM016212、CA442951、CA443088、BM976306、BU628431、BQ009665、BE889822、BE738456、AA910951、BQ218579、BI829094、BI226337、BQ050978、CD238945、BG503955、BE888544、CD367010、BQ429019、BM466077、AI348072、AA843679、BE739511、BG540339、BF685141、BM842748、BM829821、AI125272、BU656120、AV717345、BU154500、BI831672、BG533644、BM850147、BQ016237、CB529827、CA446890、BQ447329、BM781704、BG503385、CD364739、BG614065、BG290688、BQ681737、BE887284、BE883191、BG613869、BE746433、CB529409、BQ016228、BQ003193、BG502601、BX473856、CA443057、AV649575、BM995025、BU154811、BG532459

[0122] Elg1:BX435523、CD643489、AW976468、CB161634、CB051111、BE551573、AW514252、BE042824、AI621250、AI623298、BF669931、AA651909、AW450012、BG389184、CD644045、AA972691、AU149697、BU509262、AA724028、AU126948、AI656767、BI094506、BU428574、BF243394、BE886708、BX102408、AA744478、W87913、BF212165、BE834403、AA857981、AA136031、AA703271、D29036、

BE152409、BX109066、H56423、H68973、BE005696、BX461696、AA610813、
BE834436、BM312382、AI078312、BG207827、N90506、BG197401、BM724358、
CB051112、BE148289、AA806690、AW978010、BX108248、BX104136、AL712199、
BG619264、BE163388、AA976805、AA707097、AA705010、AA702235、AA436301、
AA436174、H59615、BU682299、BF993160

[0123] FEN1:BU538692、BX397634、BQ058498、BX424210、BX333531、BU170538、
BX443166、BU860300、BQ888965、BQ880548、CA489528、BX433300、BM015629
、BX448621、AL560007、AL531350、BX331605、BU535646、BQ957039、BU931957
、BX445725、BG828048、BU167885、BM561765、BM560757、BG575417、
BU931950、AL519300、BQ918754、BM546237、BX425258、BQ642352、BU538026
、BQ641309、BU178840、BU553925、BQ690414、BU539094、BG574950、
BX448789、BG337603、BM552061、BQ053379、BQ424018、BF686180、BU176039
、BG676364、BQ064038、BU170972、CA454699、BU859837、BI116779、AL560377
、AL560395、BE793493、BG576479、BE792164、BG756459、BG773958、BE311755
、BE796307、BG474425、BI767742、BX394237、BM542385、BE795541、BI827898、
BU931956、BE799080、BE397382、BQ050062、BE796569、BI117469、BQ227585、
BI115669、BE780262、BE274648、BQ946363、CF131987、BM917670、BG825257、
BU189559、BM803891、BU856251、BU165752、BE794075、BE793759、BQ777102、
BI256835、BU541327、BU152651、BE799325、CD243456、BQ278519、BQ219034、
BG287218、BI334366、BI116455、BE798996、BG472198

[0124] DNA2:BX390869、BX329314、AL527195、BG289876、BI869219、BX384719、
CD644575、BG106738、BE866952、BG117032、BG036343、BG177711、BE748018、
AW134972、AA284382、BG501340、BX384718、AW369063、AW369067、BU658975
、BF213278、AW367239、AA282895、BE085640、BQ435874、C20980、BG944343、
CD514528、AA974495、AA830575、AA767191、AA748680、AA282803、AW977920
、AA732685、AW367310、BF089037、AI186294、AW361984、AI940759、AI940744、
AA812151、BF357542、AI248069、W86421、AW378978、BG961093、R05855、
BI091087、BI091081、BG505976

- [0125] Ligase1:BI916625、BM555654、BX325045、BU154275、BM044202、BM548700、AL530699、BG743952、BG678604、BU168385、BG774713、BM015149、BG825382、BG681554、BI755126、BU152699、BU543078、BG744633、AU120968、BX329161、BE747873、BM472230、BG257399、BI856896、AU143382、BE794374、BE744087、BM763360、AU120985、BG327553、BE512655、BE873444、AL570759、AL042689、BG747144、BX325044、BE047619、BQ072622、BF038182、BU159409、BM013639、CD579385、BM794429、BF529953、BQ923144、BE297514、BE263744、BQ648677、BG257587、BX362172、BG251839、BF205184、AL558263、BI765243、BM917641、BE512703、AU128254、BE294485、BQ644838、BG024771、CB109099、BQ654248、AA306774、BM711430、BG177788、BX370252、BM846234、CB270211、BI025622、BE257136、BM975458、BM819487、BE266691、BX475022、AL530700、BQ231386、BQ071175、AL710126、AL705975、AL705915、AL697933、BM749091、BI463850、AL602262、BG333926、BG116773、BE294757、BX362173、BM456382、BF797607、CB121210、BM458469、BX503423、BG685986、BM836632、BG469591、BE907368、BX475021、BM793401、BI829665
- [0126] Pold p125:AL578715、BX382861、BX366475、AL560083、AL556466、BX366474、BX402885、AL525375、AL514720、BX350425、BM479873、BM905305、BQ920464、BU855691、BQ054258、BU527550、CA455120、BM008549、BQ070749、AL559084、BQ688129、BQ068026、BQ955289、BU542295、BM048573、BE311672、BQ958499、BM044191、BU859048、BI859768、BG744446、BQ936440、BU173332、BU931011、BG826841、AL580780、BU527075、BQ918345、BE737103、BM008621、CF125207、BG745091、BG472420、CA455000、BQ890540、BU154168、BI334420、BF205093、BG340726、BE798460、BI118205、BG683283、BE547846、BU185961、AL514719、BQ071299、BG258722、BE796517、CD101690、BE274988、BU844535、BE298157、BQ953920、BG390567、BE731346、CD615429、BG029434、BF346914、BG911621、BG281172、BU944555、BF206631、BE513504、BE391305、BG832159、CB321982、BG749237、BG285702、BQ343533、BF312202、BE901507、BU553455、BF304095、BU501677、CD615427、BI227211、BG120642、BE255898、BU161275、

BM012106、BF529600、BQ232039、BU539859、BG115290、BM471494、BM742222、BF203965、BQ071659、BE514532、BF689201

[0127] Pole Pol2: BM799918、BX368245、CA489133、BX452508、AU124277、BX448917、BI524150、BX432893、BE613576、BX400486、BX448918、AI341337、AW629043、BX444300、BU617156、BF029073、BX280062、AW974329、AA448761、BE966475、AA709119、BX400487、BQ318645、BM784534、AI039222、BQ946037、BM454666、AW439589、BE782680、AA282380、BU742406、BM193890、AA448664、BM665497、BF738758、BF766844、BG473220、BM751106、AA333178、AW139478、AI636255、AW242762、BF766936、CA941526、CA941235、BM509588、BF766967、BF766969、BX384417、BM505194、AA812343、N53947、BF766934、BM751342、BG195865、BG185004、BX414432、BG219868、BG210945、BG207825、BG197398、BG193392、BG188146、BG195403、BG190325、BG207824、BG216817、BG216115、BG212524、BG209425、BG196918、BG190326、BG189205、BG188145、BG218864、BG203607、BG182912、BG215183、BG220834、BG216818、BG203604、BG195863、BG194393、BG194392、BG181396、BG212527、BG197926、BG195866、BG189206、M62099、BG214127、BG193903、BG192860、BG212525、BG207823、BG207822、BG204615、BG202577、BG202576、BG202042

[0128] Pole Dpb3: BX471071、AL544919、AL531155、CD171731、BX422049、BX403356、CB159628、CB152302、CA487866、BU956441、BU931411、BU844651、BU844620、BU193214、BU181445、BU178251、BU160282、BU153515、BQ956965、BQ932794、BQ896428、BQ883962、BQ691435、BQ688656、BQ643218、BQ437007、BQ425615、BQ421168、BQ227667、BQ224773、BQ220928、BQ057666、AL713425、AL711259、BM853361、BM830557、BM818099、BM811580、BM552527、BM478816、BM474837、BM465332、BM463844、BM451660、BI463584、BI224290、BI091613、BG181075、BG111071、BF978613、BE895839、BE883232、BE872164、AW246427、BE910559、BU161793、CD300569、AL542290、CB132298、BQ924495、BM920044、BM847093、BM451747、BM013495、BI668995、BG700033、BE781043、AL598822、AL550727、BM749328、BM477218、BI755256、BG720455、BG505578

、BG387715、BF983616、BF978547、AL541402、BM557688、BM558417、BM193306
、BG024009、BE543436、BI333822、BQ059205、BI561738、AU280159、AA524279、
BM753932、BM014466、BE880199、BE242720、CD710143、BU959989、AW136187
、W03622、BU571151、AI634435、AI991485、BI334810

[0129] Pole Dpb4:CD674888、BU597500、BU595433、BU594966、BM924454、BM555016、
BM551010、BM009306、BG491874、AW081785、BE910607、CD107195、CA307504
、BU520765、BQ233876、BM912894、BM809080、BM727074、BF237493、AI554783
、AI436367、AI886832、BU597812、CA454961、BM929605、AI432454、BI667558、
F26406、BQ954219、AI815728、BF025828、BE276764、BF764960、BM725423、
BF107426、BG760830、BU740914、BG740141、BU077279、BU963250、BF237693、
BG683544、AW970445、AA927473、AI142293、BM714678、BU739305、BM984649、
BI599890、BU076938、AI797479、R07547、AI188727、BG682813、AI815926、
AA513753、BP431280、BU537093、H27059、BP429067、BM677848、AA811357、
BQ219306、AI833007、AI090223、AW368694、AI148002、AA676886、AA353038、
AA740345、BQ640428、AI191303、BQ013037、BX112032、BU953216、AW955899、
AA400317、BQ011449、BM688755、BM687694、AA368986、CD693537、AA400632
、BF944449、BF378717、BE615920、BE408046、BF978324、BM723287、BM682293
、AA536076、AI336523、AF202331、BG461940、AA639692、AI970899、CF529348、
AI017725、AA468753、AA978356

[0130] Topoisomerase I:BU175449、BG574241、BQ918804、BQ720771、CA488073、
BG506927、BM788013、BG546269、BM722996、CF137671、BX403047、BX391491
、AI878932、BG493034、BU934394、BF977810、BE748187、BQ230349、BE733657、
AW025108、CA487823、BE070282、BG401860、CB242988、BF912374、BG433599
、BI561949、BG252538、BX406161、BI092973、CB959389、BF887734、CF145440、
BG529331、BF594476、BF726053、BI087263、BG540279、BF002422、BF214159、
AA765988、AA594329、R60159、AW368554、BF768633、BF923424、BF573926、
D55538、BF105824、BF741104、AW854287、BF095014、AV708869、AI493041、
CF127017、CD523275、AL559809、BU625720、BU195531、BQ950231、BQ718893

、BG778556、F07589、BI834633、BU940860、BG169393、BE818064、BQ438538、
BU429936、AI271876、BX389156、D54890、BX391490、BM541278、AA887955、
BM699908、BF216295、AW368250、AW368275、AI479910、BG532987、BM720782
、BF342838、BQ379859、AW003919、AA639463、BX403046、BE172121、BF924434
、BG942263、BG611737、AI337284、AA987503、BF030802、BP430593、AI637947、
BM985011、BF694314、BG569753、BF887735

[0131] TDP1:BM545366、BX357935、BX352942、BX368062、BU185781、BX336700、
BQ214685、BQ233509、BX367994、BX368251、BQ689475、BQ049211、BU163540
、CD654830、BI253420、BX388603、BX357934、BG291484、BQ277263、CD642861
、BX336701、BU174608、CK000808、BE894450、BE613472、BI490906、BX352941、
BM150331、BQ223905、BX472747、BX363837、AU136908、BX407827、BX461234、
AW968944、BX368068、BX474790、BE387073、BE614223、BE786331、BI222338、
BU429540、BG772310、AU135919、AW249271、BX367862、BU849335、BI822990、
AL602103、BX477415、AL598723、BI861569、BI489958、AW962673、AL705760、
BE909004、BE747879、BM712636、CA425849、BX401951、BE312937、AW849814、
AW849937、BG475315、CD641965、AW007897、H49893、BQ010512、BE246145、
W76100、AA332235、BF196744、BM462605、AW410205、AI480141、CD703683、
BE247287、AA609339、BX475227、AA477148、AI209111、AW961554、AA330280、
W72865、BU738356、AA336839、AA514317、AA620407、AW000979、AA504522、
H49894、AU156926、AW129282、AA628378、AW589860、AI636696、AI989590、
AA716609、AA489121、BF896143

[0132] Ctf18:BQ231004、BX447012、BM806765、AL562324、BX371387、BU553656、
BE795677、AL516520、BQ962210、BQ650965、BE797877、BQ645686、BU845747、
BQ646300、BE898071、BE901267、BU509771、BQ650789、BI457170、BI196074、
BG481033、BI823171、BU625412、BU633872、BE888887、BI766695、AL516519、
BE902046、BG168881、AL524240、BM674122、BQ648925、BQ651106、BQ646373
、BM715777、BM127632、BF308850、AW973666、BG761379、BU845239、
BM832965、BU616468、BF306837、BQ645867、BQ773121、BM127327、CA421425

、BE262702、BU159091、BM703773、BM793661、BF513105、BM005987、BE314193
、BF347314、BM906352、BE313266、BQ644028、BQ650233、BQ647544、AI831961
、D61532、BG480239、BX117345、BE780529、AI650845、BE300859、AW196692、
BM150350、BF093805、BQ367862、BQ073027、AA478378、AI824849、BE279389、
AI620989、BU540454、AW236312、BG825945、AI918000、BE242499、AW662226、
AA352175、AI355547、AI916173、BM701214、BF182688、AA610722、AI276362、
BQ651661、AW149595、AW631061、BF434726、AW467884、BF091910、BG488804
、AI401116、AW904596、AI689357、AI382635

[0133] Scc1:BM466374、BU146139、BU164770、BQ434145、BU190012、BQ222984、
CF552154、BM474979、BM477931、AU130565、BU156118、BX390631、CD657694
、CD654104、AU123599、AU131556、AU123557、BM927599、BI089741、AU124372
、BI869474、BU625171、AU137268、BM920285、BM479826、AU138617、BM803806
、BG779064、BG503734、AI905425、AU134242、AU130905、BU175990、BG289967
、CB959416、BQ437529、BE870127、BU940947、AU135199、BQ229673、BF797759
、BG254176、BU178041、CF619358、BM452576、BI093343、BE560508、AI627668、
BG390625、BQ638398、BQ230670、BU509303、CD358988、BQ574279、BE867847
、AW028126、BQ230181、BU181371、Z78332、BQ218011、BU598145、BF103682、
CB143108、AL705581、CD557703、AU134649、AU125960、BM833822、BM749176
、BM452530、BG505923、BU431249、Z78334、AI739002、BF540787、AU128854、
BE895809、AL540173、AU133303、CF135927、BM907180、AU129400、BF091717、
AA129353、AL558080、AL046011、BM833939、BM467920、AU135442、BF794442、
AW500227、BM461566、BF590668、BE748270、AI017447、BI093513、AI367597、
CB143109、AA699622、BM478563

[0134] Scc3:BQ946254、BQ224497、BG678247、AU131359、AU141951、BX643586、
CA488740、AW993480、BG284625、BM468092、AL042846、BX506229、BI223205、
AL582073、BQ229101、BF796496、BU431562、BG682345、BQ718426、BG114650、
BE871224、AU132652、BE929374、BM799307、AL701691、AW499961、BX505839、
BQ422046、BF085120、AW966123、BF085121、AW993214、AA311870、BE817052

、BU430955、N25477、AW937839、AW501973、BX503773、CB988449、AL701626、
BE541958、AL710194、BE817053、BF085130、BX505398、AW892743、CB963696、
AL582049、BX643342、BX643410、AA179766、BI088302、CA454732、AL708036、
AW999070、AW966631、BF367226、BE540683、AI064692、AL692142、AA334313、
BG698257、BX473973、CD238866、BQ371413、BF330420、BE832149、BU431563、
BE832148、AA385639、D78828、BE844082、AL710458、BE844095、AW993032、
BX473971、BM751899、BG951313、AA249600、BG187519、AL603592、AU117247、
BX102249、BX646186、BM718664、BX474425、BI771735、BM833941、AL600231、
BE708022、BG536049、AI351861、BG899130、BF830533、BX437683、BG167708、
H75808、BM561699、BG256800

[0135] ATR:BM452469、BU146099、BU193242、CD359676、AU133155、BQ226453、
BU616550、AU138930、BU521017、CA771525、BG679313、BI259481、BE894977、
BX476619、CB134903、CA771217、BU620031、BG770191、AI685264、BE221326、
BU676069、BQ432546、BM855140、BX646290、BX476608、BM141700、BX476618
、BM129429、BM129718、BM141963、AW769028、AA453176、AL707012、
BG768017AW029178、BG960271、BE646363、AU154536、AA746485、BQ025557、
AW769551、BG960875、BE091396、BG026395、AU157822、BM796532、AI584172、
BU431210、AI288527、BM459025、AA731840、BE859077、AL039634、AW976047、
BF222914、AA825525、AV751232、AW390089、AW152454、BG392173、BG223235
、AA551327、CD644383、BF094478、BF930497、AI962936、AI871554、AI279279、
AA837410、AW978820、AI394218、AI285634、AI280393、AI127664、AI078770、
AI027417、BU076885、BX497770、BG192205、BG189101、BG184889、AI088580、
BU077225、AA215661、BG208865、BF110182、AW237573、BG210328、BG221227
、BG201951、BG191706、BG182288、AI902747、BG194892、BG204028、BG208221
、AA747410、AW390065、CD642306、AI689705

[0136] Chk1:BX384024、BX425856、BX352948、BM458297、BM803862、BX363020、
BX384025、BX383978、BX363830、BX443777、BQ071454、AL515222、BQ919396、
BX346314、BX363829、BX414303、BQ424951、BX345096、BM048703、BM478961

、BU620586、BX386787、BX386786、BU181250、BG717056、BX440542、BG687019、AL523644、BG258170、CA441277、AI924526、BI088504、BF795495、AL708308、BG612596、BQ226720、BM968823、BG339614、BG944287、BE299090、BI521358、BX351192、BG828404、BQ223060、BF310022、BQ641604、BM558032、BG218896、BF242017、BF001625、BG470645、CB127107、BG192348、CB124258、BF204894、CB124369、BE464453、CB125201、BG256454、AL559804、BE298964、BX383977、CB124285、BG194802、CB998143、BE904400、AL559805、BG216281、BG191840、BX425855、BG215785、N99369、BG470702、BM193374、BX363019、BI197298、BE882051、BE297644、N53057、BE548526、BI824209、BG211479、BX346313、CB142976、AA224307、CD694666、BQ322635、AA962684、AI536947、BM455102、R86187、H67490、BF973418、AL515221、BF946916、N71469、AI750793、AL523643、H59530、BU927896

[0137] NBS1:BM542698、BX405940、BG182890、BU166634、BM461758、BG214621、BG388866、BG284646、CF593314、CB123692、BU517247、BU661996、BM014420、AW976050、AI796269、BG483074、AU118357、BG109073、AW978306、BG392111、CF994271、CB250418、AW183153、BF027776、BU620472、AI888159、BE694454、CB989468、BF511289、AL713597、BG292394、BI962748、BG202556、AW363125、BF028917、AI767797、BE142989、AV715636、BU686090、BE695861、AU144944、BF219376、AI478631、BF208284、AW237021、BF217323、AA535147、AL041061、AA741007、AA577530、N22869、BE694368、AA713939、BF222791、BE892618、BQ354782、BE566896、H98655、AW391193、BE694374、AW340253、BG197194、BF062731、BM835126、AI890179、AA807181、AW025671、AW593423、BE089552、BG194661、BG194211、BG187424、AA463450、BG184671、BG209170、BM833754、BE694416、BG198067、BG214402、AI478521、AA835830、BU172525、BQ380443、N36514、AI858133、AA907134、BF096050、N51586、BG196671、BU429506、BE694353、AI952672、AI377839、CF137847、BE142840、CB135538、R48068、AA535711、AW207441、BF219034

[0138] Hus1:BX510134、CD520767、AL554895、CD104810、BU933524、BU932644、

BU600981、BU171912、BF185772、BG386353、BG286955、BE874516、BM462752、
BU932377、BE568470、BE892098、BM546627、BF510091、BE543378、BG330719、
BU193379、BG703514、BM906889、BE644764、BF796878、BM822628、BE566605、
AA902233、AA280710、CA418558、BQ646867、CD678464、AI675254、AI968159、
BG028551、BU680921、AI968626、AI750426、BU784416、BE891273、BF056974、
AW518029、R29753、AW270395、CD357688、AI656993、BX115181、AI149713、
AI538328、CB992757、AW965692、BU588470、BF222727、AI654498、AA693873、
AA353895、AA828114、AA773515、AA897773、AA652723、BX500811、BF998283、
AI968739、AI656972、BX370241、AW467865、BF211281、BU928301

[0139] Rad1: BX439078、BX362814、BM915064、BU508168、AU142492、BG325636、
BG254417、BE739684、BU942019、CB997499、BG528822、BF305274、BU192569、
BE379759、BX472344、BM453151、BG502187、CD365064、BI821006、AW779759、
CD370483、BU567700、BE542464、BQ277303、BF381656、BF103945、AL697883、
BG687436、BU431185、AI732815、AI870850、BE866735、AA486301、BM875591、
BX362071、BU623683、CB126098、AW237104、BG687442、BF084168、BE565545、
AI052547、AI628587、BX105685、CA432131、AW373219、CB306975、BU682777、
BM875344、AW473643、AW473637、BM790461、BG777245、AW104439、
AW001011、BF667027、BQ214495、BG108349、BQ433094、CD513520、AI685362、
AI075030、CD672667、AA968417、AA029300、BF807890、BM264116、BG036263、
BE843169、AW779236、AW819703、BX373966、CB218092、AA768474、BF242093
、AW579006、AA464502、AA227739、BE930194、BF375637、BE549430、AA913007
、BI862650、AI871190、BX369672、BX369671、AA228124、BF748944、AU157657、
AU123712、BE928477、BX435862、BM015762、BE645342、BE379989、AI885817、
AI734194、BG612563、AV711443、AA464501

[0140] Topoisomerase IIIb: BX424738、BX425419、BQ651682、BX403442、CD107506、
BX446190、CA453925、BX346535、BX418504、BG763535、BM549973、BX403443、
BX388297、BQ649447、BQ279059、BX353337、BX428354、BM562369、BX389266、
BF690073、BM922961、BQ884077、BI254650、BG751464、BF348239、BG767127、

BX375918、BI199856、BQ425197、BX333417、BQ939934、BG748897、BX418503、
AI361851、BQ183439、BX428593、BM719837、BF689997、BG827105、BG180123、
BX431485、BM020904、BX431486、BG251915、BF568363、BX430251、BM982636、
BM542563、BX353336、BF839819、BX389265、BX456723、AW082912、BU739692
、BM668058、AA581879、BM929485、BX375917、BF569140、BF840332、
AW081400、BQ072301、BI908256、BI458744、BQ437166、BE262344、BX471363、
BX333418、AI653725、BG281858、AI432376、BG910301、AI271458、BQ018902、
AW594115、AW580188、BF683888、BQ052367、CB958279、BU733478、BU956077
、CD656636、AA576862、BX425418、BQ925386、BG519835、BQ267454、
AA789096、AI884361、BQ270362、BU194029、AI654571、AV724647、AI797309、
BX088825、AI252649、AI368666、H30621、BG281907、BF971171

[0141] Rad6A:CF242862、AL556664、AL554264、AL551212、AL545489、AL527666、
CD245975、BX420488、BU177002、BU176550、BU158774、BU155911、BQ938012、
BM904536、BM671147、BM547988、BM460782、AL601372、BG477320、AL557798
、AL552044、BU594647、BQ773667、BM127839、AU137774、BE873022、AI126625
、BM128123、AL547443、AL547028、BG771586、AL561578、BU596427、BE893452
、BG037200、BM128046、BM127780、AU135850、AI912983、AW051875、
AA917931、BM172179、BE280929、BE504240、BF308088、AI367248、BM888354、
BE465165、BI914734、BI562526、BG426078、BG399765、AU128974、BI117499、
BG709332、BI223209、AU123986、AU126997、AL540766、AL545955、BQ717080、
BX377743、BE276997、BG429673、AI830472、CB118540、CA398015、AU280101、
AI367259、BE001808、CD673205、AU128994、BQ050943、BE934281、AA314005、
BG249012、AW206875、AI984287、BM752230、AI097110、BF030505、CD299140、
CB962261、BE867709、AW205767、AI371888、AI087376、BG680605、AW139418、
BP431686、BM741851、BE002061、BF694346、AA442497、T80555、CB127128、
W77761、AA340148、R92832、AA808831

[0142] Rad18:AL515920、AL525404、AL562493、AL515921、BM479176、AL519429、
BX327634、BU633444、AU130305、AU124369、AL519379、BQ878144、BX118224、

BI260485、BX644573、CD657250、BQ002046、BG403172、BG187245、BG687139、
BQ438688、AL519378、AL602096、BG501779、AV689196、BG434615、BX506345、
BG528199、BU928268、BM827802、CB146761、BM783792、AU152279、AI674134、
BM987526、BF062100、BE538599、AW024863、AW188470、AW852547、AI140776
、BM739442、AI140772、AA625471、AA628928、BM820601、AA953817、AV689200
、AL600012、AV689197、BI463280、AV689198、AI075759、BQ012909、BU588168、
BE245247、AI826396、AW274711、R59255、AA311754、AI266146、BE715962、
AI051483、BI060361、R59197、AI292169、BQ305165、H79432、CD643305、
AA972797、AW607437、CD709390、BF241055、R42938、H79318、R17601、
AI262720、BQ013328、AL044563、AA494524、AI536060、R18043、R13366、
AW804426、AW607158、AW969432、AA745596、R40881、BI060362、AW804432、
BG992485

[0143] Ubc13:CF130960、CD710574、CD692115、CD673025、AL543503、CD245362、
CB988950、AU280192、CB215753、CB161684、CB161357、CB159339、CB158868、
CB147566、BX110715、CA453274、CA310015、BU959707、BU942968、BU941352、
BU935537、BU787955、BU509214、BU195662、BU177345、BQ670955、BQ651546
、BQ438057、BQ434581、BQ431772、BQ278353、BQ233659、BQ233603、
BQ233591、BQ220048、BQ212232、BQ071631、BQ053849、BQ053589、BM927363
、BM920802、BM916123、BM810273、BM805692、BM548060、BM480191、
BM456876、BM449746、BI830293、BI829065、BI822117、BI753449、BI603033、
BI193140、BG759142、BG758336、BG720632、BG716212、BG701931、BG613290、
BG548397、BG531270、BG503962、BG432626、BF974186、AU125145、AU119879、
AV758049、BE747116、BE266994、BE314665、BE207615、AW246428、CD685196、
CD558824、CB987518、BU940976、BU177313、BG715594、BG715088、BG714343
、BG701027、BG615565、BG504869、AW950789、AW250538、BG716471、
BE262841、AW673494、CD686244、CB957396、BI197667、BE313357、CD701933、
AL583561、CD385216、BU596184、BX415171、BX400510、AL534723

[0144] FBH1:BQ668450、CD518455、BM475590、BQ073711、BX350417、BM556786、

BX385835、BU171774、BM462614、CA976039、AL555827、BU527061、BG682347、
BQ932104、BU184837、BM811347、CD513292、BM051895、CF552522、BF792094
、BQ953076、BM469767、BU856754、BU507355、AL580250、BQ672631、
BM541777、BG575794、BG396523、BM019265、BI462395、AL578234、BQ710339、
BQ889679、BQ706264、CF125476、CA439526、BU535409、BM916651、BM014236
、BF683805、BG104902、BG385761、BX369664、BG483429、BQ722509、BQ894882
、BG028476、BG422497、CD722593、BE253172、BX483033、AL558429、BE513039
、BG117837、AW369165、BQ437287、BG479586、BG830784、BQ129343、
BM686491、BX117109、BE541008、BE736140、CA393619、BG109986、BG913455、
BM717015、BX356080、BG323256、BF684368、AA045149、BE730963、BG682808、
AL044721、BF349688、AW964614、BQ951138、BQ325260、BI006637、BM707421、
CB113655、BQ898291、BE378693、AW963805、AA430290、CB159047、CB161429
、CA438158、BX364723、BM707309、BM699811、AA428015、AW963835、
BQ129349、CA395354、CB321675、BM798328、AI459539、CA945183

[0145] Mad2:BX092337、BU509241、BQ959603、BQ440642、BQ428342、BM472395、
BM472304、BI766194、BU508933、BG532327、BQ425846、BG702724、BU509710、
BG614828、BG505458、BX443383、BU963707、BX325759、BU198649、BM016150、
BG503527、BX404037、BG679723、BG533781、BX449727、BX346251、BE270292、
BU177716、BU662541、BG530972、BG531198、BG116166、BG527529、BE886793、
BF305710、BU928412、CA489378、BG503886、BE311763、BX401098、BG496604、
AW950858、BE778450、BE270518、BG613007、BF034523、BG504712、BG249673、
AW411207、BG501915、BF219704、BE890707、BU598703、CA489522、BG504001、
BF130567、BE296423、BF030667、BG531869、BF694258、BE295856、BQ277112、
BE895923、BF666701、BI560148、BE543883、AW674988、CD700655、BU659357、
BG169697、BE960883、BM458351、BG615578、BM837848、BG506388、BE870543、
CA488467、AA490658、BF184132、BE567312、AV715949、BF667164、BG284883、
BF666681、BM450737、BU661109、CB137773、CB137684、CB134844、BF698236、
BU158230、BF701297、BF240809、BF185562、BF696854、BG613188、BE738000、

BG290170、BF696888、BE270517

[0146] XPC:AL537156、BQ898206、BM556322、BQ918948、BU506961、AU125870、
AU130697、BE260062、BQ892451、BG751164、CD643621、CK000090、BE730655、
BF981364、BG748625、BG341433、BF972749、BG338028、BU602325、BF317427、
BF306190、BI255928、BE278952、BM461420、BE733920、BE252615、BG752811、
BI670281、AU120699、AU130155、BE254313、BX474915、BM729318、BG340238、
BF314903、AU280283、BG489139、AA287404、BG337505、AU127391、CF995178、
BG335426、BQ308142、BG259049、BQ649424、BQ307301、BX505750、BE260137
、BF683997、CF140093、BF685974、BX470382、BE257840、AI123414、AU150414、
BQ477814、CF141168、BM827376、AA657557、BE221715、BG571695、BX475123、
BF090364、BF207269、AL709045、BM856351、BX497971、BM708556、AW504862
、BM833387、BG178613、BG620310、BX283619、BG749233、CB269927、
CB267080、BM700758、BX486869、AU143301、BX493543、BM852149、AU128095
、AA190694、BE702371、BE074001、BX644722、BG396899、CD250721、AL710884
、BE262208、AW903238、BF827957、BE766460、AV736879、BG116273、AA329947
、BX476805、BM454293、AV734541、BM908255

[0147] Rad23A:BX386817、BM555668、AL556689、BM923938、BX462941、BQ226301、
BX383110、AL518853、BM563676、BX346368、BX443456、BX458814、AL560403、
BM800629、BM546406、BM450093、BX400223、BM905361、BQ067487、AL538737
、BX448989、BX376642、BU182138、BU501586、BM460305、BM455101、
BM553961、BX405327、BX439481、BQ959921、BG397266、BQ231221、AL528006
、BQ649073、BU161613、CD516432、CD300604、BU161547、AL527519、
BU170588、BQ922155、BM922503、BM806531、BM811343、BQ878719、BX416323
、BQ431936、BX424587、BQ231191、BM553778、BU166711、BQ068184、BI115640
、BX336880、BE743148、BU902824、BM543659、CD517476、BX440266、
BM928421、BE793785、BM805413、BU663811、BM767302、BI771571、BU543634、
BI488410、BI831370、BG828123、BM702259、BG826357、BQ671655、AU120562、
BI756007、AL554211、BG575011、CD359531、BI092253、BQ923295、BG765676、

CF146536、BE254829、BM764880、BI768800、BE254847、BU186368、AL548714、
CD580418、BQ430734、AL708410、BU598395、BU160883、BI770418、BI458425、
CB243750、CD300680、BE296271、BU624195、BE792673、BF982409

[0148] Rad23B:AL542437、BU508207、CF242874、BI761813、BX385070、BX344701、
BX397027、BX406219、AL544467、AL540969、BG617563、AU135170、BM785167、
BG681545、CD516576、BM846302、BI094479、AL532383、AL554483、AL549735、
BI524081、BI086980、AW747914、BM843069、BF949974、AL570682、BE166667、
BI460482、BF696085、BG290212、BE018477、BE566434、AW117407、AW631016、
AW629978、BM919879、AL516156、BE218017、AA460535、AA305019、BM845855
、AW610521、BQ927520、BF082151、AL571657、AW080867、AI221288、BF239610
、BF116028、BE218477、BG035090、BF238781、AW610520、BE926034、BG718045
、CB995306、BM705797、AL569427、BX411441、BI868477、BF817189、AA316654
、AW821231、BF433951、BF906503、AW578686、BF762435、AA932185、
BG958581、CA406436、BX387819、AW389400、CA389879、BU959168、AI261824、
AW991331、AW663949、BF374886、AW770657、AI703064、AW510997、BE925443
、BE220051、BE674734、AW389398、CF553075、BF088680、BF762431、BF692478
、BF111238、BX422214、AA359699、BF994844、BE613559、BQ929186、BE817876
、BM480327、BF755677、BF795639、BX500679

[0149] CSA:BI918304、BM833676、BG611935、BM017684、BG722970、BG612963、
BI458951、AI950957、BI601669、BU603353、BU533681、AA454500、AW954940、
BI828404、BE540951、BF244952、BE567160、AL691658、CB160846、BG387575、
AW388466、AW388282、BF206366、AW301277、BI850241、BF665074、CD687697
、AW409745、W19086、BF790869、BM147057、BF665145、BG616128、BE568475、
BQ218876、BX116922、AA129369、CD109410、BG032140、BG037177、BF588485、
BF000147、CF552572、AA159858、BI561029、BM835908、BQ645232、AW418819、
BF247700、AU100233

[0150] CSB:CD653749、AL039860、BG723092、BX644251、BX474980、BF508753、
AL702189、BM759548、AL039851、BF094116、BG121679、BI020594、AU185158、

BE763975、AV725351、AI418429、AU185476、CA502920、BX485503、BE841244、
AA305555、BQ015647、BG259982

[0151] XPG:BX370344、AL537284、BQ215712、BM461711、BX383623、BI518401、
AL537285、BG754702、CD243930、BU680238、BG574639、BQ002437、BI836225、
CA503022、AW044617、BQ045373、BU608348、BG282989、CF619292、BQ014611
、BI091747、BU624982、AA843311、CA418268、BM793974、AW772514、BU617777
、BQ186957、BG400427、BU732780、BU608324、BQ221301、BM504121、
BG391687、BG286779、BI711387、AI680931、BQ775943、AI417946、CA424453、
BM875436、M797308、BE170510、AW317068、BF576042、BE552270、BM507072、
BM750705、BM675983、AI885477、CB142083、AI623400、BQ614576、BM830049、
BM875687、BE350942、AW854025、CD579376、BM677102、BF360483、BU740308
、BQ002355、BM504348、D250763、AI768283、BG282957、AA548114、CB270753、
BF515914、AW369265、AA312903、AI702437、BX471563、AA582936、AI907200、
BQ215703、BM712460、AW504101、AI452675、BI459976、BE772886、AW576371、
BM838528、AW401569、BE772887、AI218110、BE349982、BG723008、BM506721、
AA592904、AI458250、AI272121、AW966715、AI572661、AI023105、BM831424、
AI285500、AA808705、BU738082、AA506450

[0152] XPF:BI522552、CB956135、BG620282、BG181154、CF529228、BQ013114、
BX503907、BQ310815、BM671280、BQ011470、AW977575、BM710111、BG724387
、AL705565、BE818393、AA291199、AA770518、BE837466、CD674166、AA774566
、AI431784、AA256859、AW271424、AA638976、AV685090、BE818447、AA255461
、AW242081、AA723776、AV692790、BE814005、AI653508、AA721794、BX103000
、AA834535、AA292809、AA808363、BI459712、AA284141、AA639091

[0153] DDB1:BM927667、BM545266、AL547974、BM559217、BM474381、BQ057079、
BQ230722、BQ051604、BQ927173、BQ943701、BM799741、BU543084、BQ220481
、BQ070702、BQ061047、AL521541、BU931018、BM469013、BU153954、
BQ945468、BU165038、AL555048、BQ898580、BQ068618、BQ050859、BG764306
、BQ057811、BU159948、BU508051、BQ065776、BM804642、BU845856、

BM905933、BQ935651、BQ060859、BQ052770、BQ066316、BQ066118、AU125547、BM803322、BQ927550、BM552236、BM473607、AU121686、BG746666、BU535682、BM556709、BQ931953、BG831447、BG751027、BG677450、BQ683506、BQ642180、BM476800、BQ063089、AL549443、BM553844、BU178933、BI256821、BQ059091、CD652436、BQ962485、BU542556、BQ061252、BU156588、BQ642770、BU501977、BQ897254、BG762513、AU140587、BM046600、BQ070862、BI260236、BG747001、AU140248、BU154345、BQ060945、AU140289、BE743760、AU130230、BQ056360、BE794022、BG327224、BE747530、BI457215、AU140521、BM456004、BG481963、BG469259、BU943325、BQ943596、BQ213497、BM043469、BQ439584、AU140209、BG769813、CK000424、BQ279191、BQ438774、AU140418

[0154] DDB2:BX401847、BX400795、BM460187、BQ688926、BM563807、BU159281、BX384437、BM008599、BE792938、BG479004、BQ940060、BE797218、BM560871、BX117885、BM018420、BM455897、BI256001、BX360369、BI868487、BX385303、BE799933、BM009575、BM553220、CA487463、BU174903、BX366945、BM850079、CD518332、BI915455、BG756997、BM782789、BI915534、BM554617、BG118313、BE261143、BG913101、BE783395、AL566516、CB142981、BG035565、BX403426、BI838828、BG756904、BE885720、BX400794、BE018683、BI761524、BM746344、BX363265、AW247981、BM743623、BE536472、BE903342、AA309052、BG612441、BQ063694、BM744890、BX384436、BI255783、BM791178、BM924491、CD696204、BG106780、AL536826、BQ062583、BF974680、AW803143、BM783399、BF791778、BG759533、BX366944、BF974639、AL702736、AA278480、BG613246、BM840145、BM821166、AA311506、CD685541、BM920389、BF375336、BF576398、BX360368、BX384709、AL702729、BP431548、BI092193、BF382434、BQ001750、BI261116、BF184818、CF144601、AA128445、BE798846、AW802999、BF203187、BQ001644、BE247271、BQ003952、BQ575065

[0155] XAB2:BX356659、AL518679、AL519886、BX424193、BM922374、BX381810、BX381811、AL557238、AL535342、AL525436、AL538943、AL518678、BX342559、

AL565880、BX397557、BX383379、BX383380、BX382204、BQ053451、BX383814、
BQ643137、AL561830、BQ050225、AL519590、CA488373、BU845857、AL560324、
AL521338、AL534944、BX370726、AL560477、BQ935369、BU153161、BM476327、
BG488778、AL516161、BX336874、BX392023、BM806807、BX364648、BI771923、
BQ927835、BG488879、BM917523、BI822736、AL514374、BQ227702、BU541210、
BQ221081、BM451911、BI772072、BX446010、BU855544、BU179797、BI823391、
BM913999、BX448905、BQ054530、BG744221、BI910746、BQ956926、BG480524、
BI261656、BM469671、BX464425、BI767323、BE253641、BI768994、BG386812、
BQ063543、BI911058、BI518767、BE799838、BQ212885、BI459403、BU528530、
BQ073165、BM048645、BE898732、BG468301、BE531308、BF311851、BI561194、
BI560801、BF569424、BF686448、CD672626、BG425290、AL559075、BU170853、
BE728374、BE871613、BE274104、BF314780、BE280310、BM456485、BU856266、
BM020680、BI911907、AW837892

- [0156] UNG:BM926584、BM799989、BX438441、BX342506、BU165625、BU943452、
BX378897、BM471137、BM928006、BQ228775、AL559968、BX379137、CF551970
、BX378357、BX372231、BU161952、BU176423、BQ882986、BQ420300、BX361226
、AV705903、BM919577、BX440252、BI823926、BQ048928、BM458045、BG105781
、BQ962046、BU187892、CD643361、BX366166、BM541301、CD512104、
CD686190、AU126319、BM718553、BE793197、BM449708、AI879177、BX429498、
BE902908、BQ950839、BG326541、BG389571、BM012071、BQ670076、BF342799、
AA290918、BG392330、BM799653、BX368057、BE734542、BG717638、BI198939、
BI226322、CA454788、BG176725、BX347126、BE882172、BG256273、H09366、
BI226401、AL079771、BE781768、BQ348703、BG390499、BF701762、BG176633、
BE559523、BG282433、AU279887、BQ365552、BE883671、BE270595、BQ917973、
BE258817、BE546123、AW401453、BG106747、BE268637、BI259016、BU168154、
BX346912、T78215、BG481771、BX346928、CB130269、CB129289、BE261638、
BQ348874、AA573859、BP429782、CD672939、BM751245、R25268、AA356048、
BI766031、BM825376、BE263990、BQ322779

- [0157] MBD4:AL556619、BX372087、BM459663、BI767663、CD105484、BG032353、
CD367008、BM690016、AL549313、BQ722669、BE561716、BI521142、BG032516、
BI765468、BM465252、BI823689、BG686312、CA773665、BG716078、CD364595、
CB989176、BF446103、BE622249、CA943572、BM314436、BI596708、AW964068、
BI820928、BF033618、AW073379、BM857488、CA773226、AA741175、CA395073、
CB136245、CA867841、BE541307、CB995679、AL578833、BM749974、AL553305、
BE614377、CD557525、CB158348、AL553419、CB243592、BM462436、AU138081、
AW138783、BU789775、AW193960、AA167425、AW195025、BG621850、BF509234
、CA390195、BQ005967、BG613448、AW958704、AA939068、BF509053、
AA167418、BU619480、BM476709、BM314740、BI462718、BM015493、BI544324、
BF109031、AA905592、AA648364、BF109027、BF515981、AA167414、AI682256、
AA011232、AI225045、BU153530、CA487592、BM857715、AA954283、BX390695、
AW474165、AA825707、BI517400、BG742246、AA353798、CD678412、BG031116、
BU732453、BM836637、BM709307、AI217321、AA247185、AA618259、BU678959、
AW959666、CB144059、BI669635、AA171632
- [0158] TDG:BM479641、BM905541、BX370775、BM456725、AU128073、CD652973、
CD657696、BG621267、AV708234、BE779060、BX331941、BX483618、BX382383、
BF033788、BM476558、BX385505、AV649391、AV649244、AV649186、AA477864、
BE181979、BX338343、CB145292、CD642813、CD644103、BM729260、BI760123、
AL600750、BX509348、BX492385、BX476996、CD110168、CB994452、CB961815、
CB267807、AL701375、BM915474、BG114997、BF002914、AW590228、AW502250
、AW136393、AL120270、AW051610、AI916834、AI868982、AI767246、AI669518、
AI493141、AI360256、AI352697、AI332786、AA306938、AA257018、AA143198、
AA131695、AA316331、CD109607、CD109351、CB989389、CB959951、AL699594
、BF674842、BE502468、AI769788、BU566171、BX366012、AV654940、AL710869、
BE784882、AI272154、BX340488、T34101、AW408102、BM457221、BF001989、
AW138490、AW135094、H14409、BG940420、BU564446、AI869223、BE536675、
BF241047、BE882613、AI435880、BF195990、BE080436、AW955279、CD050602、

CA406412、AI272147、AI338205、BX646789、AA356499、BM556682、CB047650、
CB047649、AI937774、AA360035

[0159] NTH1:BM553336、AL536460、BM921161、AL566343、BM803928、BM472681、
BG760523、BX438358、BM019398、BQ052788、BG821962、BI868261、AL545181、
BI199103、BG766177、BI832477、BQ216562、BI757515、BQ431466、BQ052774、
BE799423、BG519584、BG490410、BG747350、BG472059、BE746343、BI839163、
BI196060、BG468596、CA488808、BF794685、BU182347、BG388749、BI226382、
BE792632、BG248655、BQ881995、BF525435、BE797167、BM917598、BM451836、
BF315844、BF312887、BG468607、BE790928、BG114969、BF337743、BE878633、
BM677868、BF205470、AL545152、BQ958991、BG827031、BE266472、BE314558、
BM811237、BF219845、BM831407、BX445525、BM424115、BM916696、BE313626
、BG678320、BE262196、BF220231、BG331307、CB142490、BQ647925、BU622908
、BQ575671、BF303821、BE891721、BE744813、BG468617、BU535559、BU634434
、BM982354、BM129563、BE250955、BM821556、BM851724、BM725444、
AW246140、BG469318、BX444894、AI610226、BX379864、CA488850、BE256091、
AI818303、BU957532、BM129299、BM831443、BU902454、BF002443、AI968475、
AW732463、AI424835、BU849457、AW103041

[0160] NEIL2:BX401292、BX418848、BX386695、AL529804、AL530971、BX341864、
BG759722、BQ942628、BG697467、BX427919、BI522685、BU158642、BX386994、
BX333648、BI224185、AW411371、BE887573、BI113772、AL555248、BF305600、
BI522781、BI520072、CB112109、BG700461、BM466367、BI601338、BU189576、
CF145781、BM011284、CD558091、CF147070、BE736612、BE736412、CF139009、
BF346473、AL524751、BF932051、CD671249、BF241652、BE153549、BI962581、
BI793306、Z43722、BX340965、BI548326、Z46109、BU165567、BU193072、
CB126915、BM729333、BM450046、BI789116、AI968247、BF761462、BF529055、
BI793006、BU168329、BE153640、BI439197

[0161] NEIL3:AL528028、BU170388、BX391576、BM458786、BU173488、BX112923、
BQ687469、AU133212、BQ054308、BQ220911、BX348730、AL528027、BF700528、

BG397668、BX391575、BE885006、BG026947、BF664630、BG758440、BF030084、
BG495300、BF103925、BF217043、BQ441413、BE882646、BE865481、BF183915、
BU689565、BG122779、BQ422423、T85431、AA373561、BG388415、AI307746、
AA815079、CB145683、AU154583、AA677552

[0162] APE2:BX325338、AL556617、AL519979、BQ277791、AL561128、BX395132、
AL531548、BX433301、BQ050352、BM541964、AL559217、BX385097、AL528954、
BI093915、BU931498、BM016132、BI859309、BQ921050、BI086544、AL582410、
BQ428526、BE531337、BU553240、BM015733、BE737187、BI767790、BU184166、
BU164122、CA495324、BE794688、CA495346、BI196397、BI912615、BX325337、
BI669515、BQ229782、BM807966、BG709216、BX382166、BI333249、AL527692、
BI909503、AL561839、BE616906、BM016478、BM726096、BE547006、BU942097、
BE885110、BI837686、AL527693、BG024450、BE794496、BI915874、BX452361、
BI911544、BG752268、BG386237、BF203315、BI858986、AL578831、BX394096、
BI859870、BI256178、BF308964、BF310943、BF307805、BI223857、BI160978、
BI160236、BE548576、BF981813、AL580878、BQ328004、BF931957、CB993692、
BE280661、BI033411、AL711190、BE729174、CF146056、AL564091、BM682530、
AL528953、BG438154、BX374269、BE265083、BX392349、CD366445、CD514757、
BE795242、AI547012、BU540750、BE076387、AI547003、BG897167、AW386829、
BI094006、AI907885、BF792036

[0163] PARP1:BX425285、BM474368、BM473858、BM458759、BM458491、BQ216584、
BM468375、BU164317、BM924278、BU149272、BM474022、BM905935、BG281447
、AL542989、BQ946216、BQ918876、BU849139、BX438143、BX443246、BX420713
、BU166033、BM012504、BM454330、BQ438889、BI091452、BX395490、BU844993
、BM472955、BM555163、BX368206、BU171470、BM472260、BG280821、
BX464445、BI833606、BQ882633、AU124412、BM463285、CK000195、CD653823、
CF552559、AU124072、BE740909、AU131873、BQ213230、CK000758、BQ954235
、BU156802、BX460089、BX450439、BI253230、BM450940、BM478605、BI334768、
BQ222114、BM805846、CD651914、CD108986、BX462212、AU125041、BQ708310

、BM043633、BM452637、BX388560、BM012492、CD521009、BF976506、
BX431987、AU138067、BX421686、BM469381、BU942653、BM545681、AL517083、
BG499313、BG533818、BU177793、BE270913、BU178223、BI908423、BE783663、
BI087079、BE270845、BE899131、BE561235、BG177824、BG031594、BG393066、
BE560200、CK000604、BE744678、BM799547、BM453457、BI093436、BG259918、
BQ691997、BI113824、BG123019、AA401836、BM472073

[0164] PNK:AL577752、AL542181、AL529432、AL578082、BX440754、AL529433、
AL531397、AL563677、AL563673、BM552937、AL530233、AL555192、BM811617、
BI523512、AL562615、BX385339、BM047190、AL582405、BI761490、BI765355、
BG519795、BU957084、AL518252、BU541073、AL561123、BG912156、AL531398、
AL529487、AL555795、BI488573、BQ943952、AL518253、AL555631、BI908075、
BF971606、AL525997、BX331554、BU552518、BF314736、BI522840、BE312745、
AL530223、BM011630、BI489474、BQ219713、BI766984、BI199796、AL519579、
AL563456、BQ877856、BI834426、BG252407、BE799855、BQ055605、BQ067892、
AL519578、BF315056、AL042657、BU956990、BI820868、BM045471、BM710277、
BE394572、BG330783、BI909140、CB529741、BU527521、BM974879、BU619715、
AV655619、BM917371、BI907002、AL526117、BU543115、BG118159、BE313034、
BM982849、BI599430、CA425985、BM910694、BQ772660、BI770327、BE734945、
BU622816、BG939419、AL525953、BI116338、BM923265、CF594119、BI822801、
CA439970、BI827695、BE272050、BM819357、BE266096、BM687914、BE260690、
AI984026、BX279591、AI830883

[0165] Polb:AL572526、AL547658、BU157194、BG743462、BX383155、BU166001、
BG251605、BI761008、BM790436、BQ430835、BQ434342、BG032291、AL705932、
BI753835、BI915120、BI559405、AL558615、BX646755、BE394043、CD641318、
BM928122、BX395185、CA314334、CD671591、CA313995、AU121247、AA916271
、CD579745、BF131951、BQ188410、AI654868、CA439409、BI598628、AA130183、
AL580395、BG506123、BU188474、CB125716、CB141008、AA172068、CB130159、
AL702696、AA706903、BG025809、BU933432、AI827117、BM852849、BE280856、

AL702481、AA172228、AA130175、BF693388、AI124907、AW957764、AW102789、AI825920、BM725613、BM678092、BX115761、BU934294、BF245489、AW070694、AI014834、BQ053443、BI461358、AW402160、AI689323、AA315716、BF219035、AI034273、AA856902、BM931013、BM684499、AA977230、BG339593、CB144384、AA809775、BQ574627、BM979958、BF590500、AW269977、AL120608、AI128173、AI057605、AI032461、AI017499、BF507649、AI087793、AW887363、AI949400、BG196141、AA723600、BG209074、BQ186692、BQ184899、BG212204、BE889161、CD110437、BG220062、BG200837

[0166] MSH2:BM479882、AL528268、BX461033、BM557852、BM457765、BX431195、CD247876、BM543463、AU125214、AU125592、BQ878410、BQ225922、BI256610、CD655479、AU118136、BI090516、BU154902、BG756122、AU123630、CD656123、AU133361、CD519566、AU133333、BG773440、BI769598、BU178986、CB955666、AU131598、AU124367、AL563106、BX436686、BM475467、BI093054、AU120648、BU182908、BE792530、BQ223894、BI757481、AU131477、AU124664、CD656999、CD652376、CD657313、BG716960、BQ431632、BM834569、CD557029、CD693039、BE778241、BU934097、CD653693、BE779907、BG773429、BQ643544、BQ422633、BG388582、BG759539、BE894244、BG721947、BE268484、BE297145、BF033549、BQ221216、BI561347、BG773147、BE870260、AU123223、AA502616、AI792246、BX436685、AU126323、BF205395、AU144782、AU129482、AI823868、AU151529、BE254661、AU123102、BQ334510、BX413346、AW951649、BF834144、AU129404、BM788022、BM455023、CA843563、BU620631、AV693408、BU600314、AA287480、BE897216、AW402832、AA219060、AV732547、CB135442、AW003984、BE550379、BG499470、AW515731、CB143683

[0167] PMS1:BX353664、BM479838、BX328949、BX327629、BM553209、BX117693、BM800196、BG193431、CB157373、BG168340、BQ429685、BX435290、BI464618、BG536475、BM723144、BF666456、BG163660、BG776017、BX452128、AL043809、AW945172、CB161021、BF699885、AL705101、CB131671、BG292439、BX419980、CB136057、CB268969、BG120880、BM677668、BQ771615、BF978494、BU599098、

BM742128, BI545790, BG401461, CA415469, AI811371, CB852984, BG827501, BG719470, BG772717, BU623174, AL043785, AI458470, BE779274, AI636100, AA278390, BM820659, AI076038, BE350913, BG222592, AA781041, BX353663, BF056020, BG716188, AA833518, Z36291, BM009631, BU597828, BE350907, BG614286, BI438347, BM996496, AV730735, BE972698, CB144057, BF210947, AW269877, AA573397, AA393893, BQ574496, AA573406, AI660351, BF570703, BU854630, BG196186, AI367805, AA210907, AA393809, BG215472, BG207030, AA092955, AI277404, BG195153, AI278080, AA297925, BQ220187, BG182167, AW661801, BG209122, AV732009, AV731296, BP431712, AI828829, AI655707, AL600680, BU561560, AA282075

[0168] PMS2:BQ951503, BM474394, BU153042, BQ881303, BU178449, BQ069438, AU140605, BG829980, BQ644101, BG720607, BQ436841, BU153051, AL708946, BU622416, BF568181, BU171754, BE884933, BQ221907, BM012037, BQ369274, BM701781, AL699728, AU280501, BE763779, BF840656, BG177103, BQ045117, BE304459, BX385541, BI548246, BM669686, BM144251, BX283912, BF674494, BU193656, BQ775383, AL701903, BQ232687, BI544939, BX283370, BM967072, BM148437, BE090126, BM967300, BI912345, BG565558, BU665027, BM147147, BX385540, BE090067, AL702122, BF114739, CB111334, BG708195, AA151500, BI752285, BF697242, BU934799, BU728992, BF381825, BM698903, AV655809, BQ322673, BQ050630, BG776255, AA428236, BU604958, AI096500, AA256227, AI147872, AA256169, BM893955, BI037161, BF840055, AI539402, BM893782, BX095320, BQ221253, BE675175, BQ368913, BI829104, BE676031, CF124711, BU622696, BU620584, AI831722, BQ644699, AI341574, BM714146, BQ129192, BG398558, BF216419, AA297413, CB306237, AA707711, AA458667, AA206606, AA078218, AA418026, AW968473

[0169] MLH3:AU121422, BQ878851, BQ716451, BG499557, BM551767, BU939998, BU183004, BM019183, CD103565, BX105329, CB118745, BM272299, Z78340, BM910096, BI752941, AV716905, AW340308, AW362032, BM738947, BE702562

、AA679054、AA910059、CD701194、BM977366、AA766226、CD691614、
BF540730、AI694991、AI792373、BG531828、BF207616、AA128984、H14680、
BG119667、T08142、AV763342、AV764126、AA128983、BF364343、BQ002635、
BQ008613、CA423918、BM792789、CA417441、CA418772、Z78339、W90440、
N28386、D59901、R24851、BM684959、BM931907、AI685618、BG621929、
AW007533、CA440408、AI768447、Z42933、AW385347、AI743250、AA649171、
BF593505、AI683070、BQ316181、BM989024、AW896052、BM021521、AA682848、
BQ428064、BM021241、AI768554、N99774、AI769320、BF197240、BF475901、
BM023592、AW814434、BM146299、R20012、AL709475、BM023291、BF197600、
AU147242、AA043269、AA043268、BM148801、CD678743、AI147056、N20033、
AI825216、BF507953、AI934949、AI452776、W90107、AI857356、N71335、
AA403079、N71385、AA249090

[0170] Exonuclease1:AL561030、BX416336、BU159140、AU124774、BU166252、
AL582335、AL517937、BU190454、BG762651、BG764476、BU179240、BU163048、
BG120654、BE780022、BE260617、AA486526、AL043793、BE385439、BM788680、
AL517936、AL530611、BG111229、BM837022、BX280790、AV712138、BU616763、
AL530610、CA419695、W79628、BF793400、AW390232、BE538507、BU178737、
BX437336、BQ576087、BE082055、BM988542、CA446317、BQ776150、BM983504
、BU617051、AW390243、BQ015148、BG251725、BU619316、BF435309、
CD644038、AI693533、AW665143、BE464836、BF240758、BM479145、AL043794、
AA489549、BM465399、BF478070、AA703000、AW977979、AI768937、AA485938、
AU148568、BF979589、AA122095、AA122096、N74770、W79484、AI653837、
AA972063、BE737930、AI968408、AA578654、AI859579、BE738387、BF870905、
AI683464、AA812220、BU623456、CA430743、BE154204、BQ012304、BE274208、
AI357911、AA485921、BF870910、AW663404、AI005418、AI023645、AA622919、
BE085798、AW080921、AI040508、AI084836、AW664078、AA909643、AA832160、
BI494500、BI494499、BG527833、BX470325、BF435984

[0171] Poli:BX360120、BX370036、BX329075、BX436380、BM453196、BX370037、

- BM470558、BM450274、BG428228、BG532401、CD642641、BX378703、BG564733、BQ316794、BX360119、BM788353、BM714817、BG724156、BI560521、AA156839、BU958811、W60418、BG678675、BF219796、BG718281、CA431039、BI465231、BX378704、BE895738、BQ438265、AW852908、AW247603、CA418634、C18134、BQ086307、BM979833、BQ429462、BM918353、CA447232、BQ365259、CA446505、BU688625、C18844、BQ365051、CB243862、BU624232、BX386327、AW974469、AA878207、BQ102388、N57090、AA812734、AA856713、AA156602、AW418676、AW857684、R37923、AA648538、BM559425、AW150751、AA383550、AW880052、AW269829、AI634894、AW468818、BF111492、AA825419、AW070469、AA890447
- [0172] Rad51:AL541688、AL524788、AL530472、BQ053625、BM808716、BQ070341、AL526587、AL526399、BU182612、BX364160、BX349297、BQ438308、BU553012、BM910438、BM558629、AI347079、BM810067、BG826929、BG774318、BU508719、BI827729、BE262785、BU164989、AL563696、BQ278437、BE256767、BQ424388、BI826961、BF969466、BM804639、BQ918872、BU624430、BF311612、BF313593、AU118946、AL563755、BF970732、BG325079、AL524787、BM791694、BM018810、BG338607、AL530290、BE312219、BM011814、BM745228、BE883694、BG474115、BU931527、BF982698、AL526641、BG420079、AW732525、BF203788、BM557367、BG480368、BM972210、BE514829、BF684891、AU123935、BF313295、AL569030、AL526670、BE394150、BI197901、BQ070384、BG469700、AW006523、AA568782、AU145391、BG774691、AI419710、CF139164、BE280848、BI193363、BG470554、BM147841、BX475529、BX494877、BE890859、BU596395、BM555611、BM796675、AI670798、BQ224221、AW103435、AA873056、BE779265、BX475478、BE926933、BE186007、BQ316481、BQ316480、BF683589、BF764274、AI018041、AW392597、AU100170、BM145097、BQ316451
- [0173] Rad51D:BX443779、BM915550、BU681257、AL559564、BI915527、BI254468、BG829674、BI823883、BM476837、BU521767、BQ961661、BI916871、BG475664、CD387861、AI692982、AA707504、BX327473、AL581158、BE382759、AL597240、BI915277、AW631291、N57184、BU786480、AU098391、AA352205、AA868613、

BQ576251、AA868612、D59413、BU784751、BI561390、BX111725、BF905526、
CA423187、BF905698、BM559794、BE827486、AW948521

[0174] Xrcc2: BQ068576、BX283699、BQ430896、AW795339、BX490624、AL575509、
CD365380、CD364971、CD299443、BX452455、CD103503、CB998612、CB241699
、CB161449、CB160341、BX112725、CA436504、CA433495、BU681335、BU677265
、BU508799、BQ771572、BQ229516、BQ217842、BQ030362、BQ028254、BQ02
6904、BQ017903、BQ000324、BM992214、BM710721、BM707110、BM353061、
BM312475、BM054681、BM047586、BM023098、BI911022、BI907991、BI222447、
BG621955、BG259639、BG121288、BF695702、BF573900、BF475941、BE962487、
AV713355、BE768228、BE768138、BE716250、BE674520、BE617958、BE617517、
BE243767、BE046093、BE044165、AW856234、AW795333、AW469111、AW338249
、AW272847、AW192175、AW152595、AW081629、AI921359、AI866980、AI859056
、AI812052、AI807730、AI761522、AI693828、AI636343、AI587436、AI469779、
AI458271、AI423414、AI401226、AI357497、AI347767、AI346854、AI346825、
AI343926、AI304763、AI304314、AI299263、AI223196、AI222728、AI220037、
AI219853、AI140511、AI125306、AI094986、AI089590、AI051303、AI021980、
AI018616、AA928999、AA782270、AL574032

[0175] Rad54: BX403014、BX333113、BX363903、BQ277879、BU552753、BU932120、
BX363304、BU553867、BX402970、BG679516、BU170678、BU173543、AL520104、
BX414817、BU160045、BU932121、BQ225695、BX403013、AU124617、BG471582、
BX363902、BI819429、BX363303、BG393630、BX386730、BU553362、BQ048878、
BE797412、BG763599、BG258318、BF689785、BU855314、BM789908、BM720371、
BE378872、BE397391、BE270285、BG768944、BM739336、BG030016、BX414818、
BF304094、BM795109、BE742863、BU633988、BQ224151、BF308260、BM821481、
BF663661、BX483240、BG323434、BF690175、BE614490、BX329613、BU634286、
BG740710、CD696837、BE872543、CA414068、AI818766、BM754736、AI061463、
AL040507、BG395239、BM773411、BM825772、AA313874、BG944997、BG827295
、BU934008、BM772100、BF769132、AW516286、BM745768、BM765732、

BG720800、AU148441、BM746228、BM678712、AA227600、AW236802、AA582917、BG114710、BM753165、AI990748、BM753679、BM745825、AA724587、BU849113、BX106292、AL520105、BI255111、BE613982、AI372035、BM857179、BF913956、BE708827、AA227900、BM801845、AW003486

[0176] BRCA1:BQ679749、BQ068830、BU194336、BU155689、AU122476、BM452288、BQ683955、BU552955、BU163307、AU142729、BQ878445、BU171200、BG681276、BQ676829、BU163141、BQ681242、CF121736、BQ422380、AU125312、BF508987、BF791668、BM042892、BU147444、BQ677666、BQ215100、CB155501、BG178466、BF983078、BG777447、AI992040、AL704228、AI589028、BF794879、BG257190、AL135363、AA608570、BG530796、BM800251、BM042282、CB118225、BE264293、AW295197、AW968546、AA205436、BE043993、AW968720、AI915085、CB158976、AA804632、AW504244、AU148997、BE018878、BE206562、AA702344、BQ214737、AW514868、AA812019、BE564528、AI684595、BU617173、AA486004、BU679389、BX102233、CB150491、AA814998、AA484941、CF142324、CF138586、CB136844、CB108172、AA773331、AI680547、BU677011、BM755214、CF596982、CF143993、AA111870、CF144118、AI040685、BM988066、BF447679、BF028959、BQ308670、BX644276、H90415、AW673569、BM755305、AA086435、BF795489、AW408596、BQ378479、AW575729、BQ378695、AW964452、BE560149、BX497486、AI217721、AL043576、AA205474、AA917008

[0177] Ku80:AL542654、AL537322、AL556485、AL552210、BM927751、AL557736、BX418952、BM801948、AL541582、AL516832、BX425176、BM905671、BX458362、BU193782、AL540737、BQ679008、AL550730、BM471778、BX446693、BU146999、BM560171、AL548391、BQ213485、BQ220595、AL542266、BU542616、BQ651471、AL541946、BM803480、BX439845、BQ899268、BQ672013、BM800555、BX419500、BX415043、BM543372、AU131739、BQ679661、BU188691、BQ059109、BM451420、BQ880232、BQ645929、BM467250、BM453905、BQ650072、AU142506、BU188386、BM451883、AU124221、BU168862、BQ649861、BU170704、BU155107、BU146251、BQ226372、AU125704、BU177113、CF552735、BX439846

- 、BQ424597、BM549064、BU509423、BM809313、BI259161、BQ878391、BU158765、
、BQ226911、BX421454、AU119267、BQ898623、BQ425827、BG827810、
BQ642849、BU177743、CD107663、CF265072、BM466124、AU141293、CD243745
、AL575698、BQ921196、BQ427943、BM470728、AU131108、BG576028、
AU131971、BU150184、AU132099、BU176974、BQ223936、BX447056、BU153309、
BM466876、AU132244、AU122435、BQ229983、BQ881903、BM454471、BQ924231
- [0178] XRCC4:BX362079、BX340876、AL543920、BM471375、AL551668、BI760531、
AL558342、BI770803、CD580212、BG682493、BI758185、BG699970、BG505339、
BI822602、BI463813、BG772422、BM465969、BU664243、BG776379、CA394395、
BI464058、BQ226357、BI828556、BQ233170、BF183927、CB962180、BE748849、
BE748380、CB146884、BF211589、BX281210、BQ421318、AW950192、BF572503、
BM846671、AA314379、BF669890、CD706606、AL580186、AA447878、BX279574、
AL575167、AA258143、CB144620、BG500252、BF247013、BG499117、AA448976、
BF107431、BF214359、R19860、AV717223、CA453949、BG497598、AA065267、
BE254850、BU171074、BM564730、AU099389、BE781259、BE780721、BE778165、
AA398779、BE781955、BE783342、AA398935、AV743689、AL570210、BF895164、
BF242563、BX362078、R14027、CD358588、AI795996、BG282107、BG206341、
BG204714、BG199056、BG193494、BG219448、BG218328、BX389897、BG221405、
BG208423、BG204713、BG201112、BG196512、BG187196、BG192946、BG214239
、BG211030、BG208424、BG203200、BG198531、BG198530、BG186701、
BG186093、BG181983、BG213659、BG214740
- [0179] Tin2:BM911894、BQ941808、BX398174、BM915062、BQ066985、BX430064、
BX347075、BX387627、BI837194、BQ423479、BX347045、BI871294、BE747943、
BX429614、BX347087、BX337436、BU942629、CD244144、BX388585、BF793349、
BX346850、BX388520、BX423719、BX367761、BG420146、BE903807、BE727299、
BX388767、BX428959、BX430065、BX326045、BX346831、BX355414、BX428954、
BX367991、BI193188、BX388709、BX398173、BX394341、BX442338、BX326233、
BX432669、BQ707785、CK005692、BE562849、BU187043、BX429889、BM541314、

BX444001、BX474320、BX386120、BX355792、BX395024、BQ218393、BE408455、
BX381411、BX423718、BQ222471、BF125394、BE410701、BX388630、BI909268、
BX374920、BX375500、BX368189、BF125791、BM549897、BF125418、BE743717、
BX333804、BX450403、BI754471、BI760932、BX388787、BX356844、BI518422、
BI488522、BQ707493、AA428113、AV686147、BQ720769、BM545840、BE383960、
BI764031、BI767028、CB216205、BG824273、AW402903、BI835774、BQ707958、
BM452819、BI833476、BI755739、BM919172、BX326360、AV693747、BI116486、
BX368042、BE882159、BI821458

[0180] Sir2:BM544569、BX445007、BI834120、BM547962、BQ228980、BU507144、
AL550142、BX367337、BQ072979、BI766740、CD624348、BQ052789、BU182713、
BQ068262、BM920249、BQ951302、BE379525、BI862361、BX375262、CF264878、
BF528797、BM462565、BX340941、BM806242、BI518634、CD515474、BX453795、
BU195684、BQ068338、BQ058696、BE798693、BQ645221、BG437042、CD517619
、BX380923、BQ068347、AL519386、BU197397、BM903578、BI554088、CD624352
、BQ221442、BM473470、AL533183、BM924936、BI766260、BI918160、BI762157、
BF034485、CD674710、BQ653076、BI603360、BG723057、BG339784、BM546244、
BQ929517、CD624347、BI523850、BX428185、BG339736、BG468891、BG386360、
BI838558、BI771058、CD624353、BF345522、BI823957、CD558177、BI766390、
BI768954、BI768415、AL549311、BI907256、BM906233、BG819884、BI910251、
BI760600、BI517372、BM805816、BF529638、AL561653、BQ430510、BQ339694、
CB150996、BF975840、BG032959、BF531032、BI756237、BF975705、BU196170、
BI763858、BI918541、BI524122、BG332544、BG328012、CD624351、BF686436、
BG288542、BI838925、BE867361

[0181] MGMT:BU931774、BU859113、BU172662、BQ641434、BQ220709、BI771279、
BI520278、BG753063、BU850242、BQ228817、BQ710379、BI520938、BG764104、
BX094941、BQ279107、BI226276、BU858086、BX509195、BM759902、BI520029、
BU154192、AL520114、BM974121、CF130478、BM738844、CB992752、BI772512、
BG436862、AL520115、BM973348、BG249568、BI520980、AL524961、CB993639、

BM009017、BU845865、BM970224、BX373012、BU616455、CB055208、BI225271、BI333401、BX376972、CB055209、BU947266、CB997161、BE858532、BM972582、AI719186、BM670373、BU845870、AA978354、BM744653、BG340352、BQ222473、BM758658、CD369999、BG183775、BX351398、BE541556、CD249663、BM744647、BU737340、BM754382、BG181704、AW168149、BM712082、AI963126、AW274265、BF109578、BE464809、BM711175、AI016474、AA126722、AI143841、AA948354、BU786059、BM049297、AA779559、AI052155、W58681、N95214、AA988766、BU566480、BX349121、BQ072274、AI057145、BM823702、AI040746、W25247、AA677158、AA136191、BX383619、AI123988、R72558、BQ217761、AW804292、AA565025、BE774145、AA868690

[0182] DUT:AL576853、AL519489、BM757904、CD247125、BM457507、BI091680、BQ440183、BM915011、BM740990、BU600705、BE386365、AL532465、AI686520、BM475441、AW968574、BF338018、BF206146、AI680930、BG682494、BI836025、BE221492、BI255334、AI951891、BI868234、AW968748、BM470935、BG700386、BE897174、CB529208、BU677683、BU677665、BU620392、AL554011、BQ777742、BE254729、CA777885、BU597092、AU119115、BU623296、BG717317、BG655751、AW162006、BI670458、BG705392、BE902236、BG717215、BG53201、BG610639、BG677850、AI635074、AI261871、BI091131、BG163981、BG113287、BE706306、AA056738、BE644721、CB110414、BF317403、BE551158、AA737006、BM554499、BE222283、AL532464、BM840182、AA256721、AI373097、AW629827、CA778151、CB117412、BE549576、BG505144、BE218639、BF058963、AW341118、AW967946、AA278799、BE504213、AI191219、BI860728、AW962792、AI697600、CB137303、CB133275、BE502892、AA291243、AI199667、AA446533、BE673841、AI937879、AA434589、AI986329、AA433910、CA488337、BF938984、BU608498、BM559498、BU683317、BG403290、BM817453

[0183] TIMELESS:BM467715、BM927658、BM541298、BM801216、BQ052552、BQ945096、AL560919、BQ068552、BU845242、BQ071352、BU930918、BU854737、BQ068451、BQ961203、BQ055183、BU500665、BX390921、BX401304、BQ962781

- 、BQ672871、BG749383、BX346012、BU521442、CF242984、BU552412、CD653932、AU125640、BU543485、BQ927368、BQ051381、BI222498、BG822789、BQ944034、BM046877、BU146750、BU956003、BQ670516、BQ061549、BG757741、BE797452、CA430803、BG819936、BE746308、BU187951、BE794062、BM013386、BE795708、BU553769、BM552373、BQ424129、CD654639、BM910771、BG388233、BE729276、BM013167、BE791318、BE514198、BM740568、BX350660、BG110568、BX110927、BI087328、BQ958679、BE727460、BG823400、BE729002、BG289919、BF971197、BM048813、BE514731、BE314800、BQ887260、BE745259、BE408808、BE208475、CA489086、BG478136、BU188642、CD673319、BE389356、AW382754、BE793649、BQ214512、AW383633、BM793905、BM789297、BQ221649、AW383534、AW673493、BM018763、CB990372、AW383548、BQ937242、BQ678339、BU172010、BU167922、BU163559、BQ679317、BQ679254、BQ679251
- [0184] Pif1: AI655645.1、AI280491.1、AI654749.1、AI333976.1、AA743647.1、AA872541.1、AA279102.1、AA278838.1、AI827264.1、AI652391.1、AW004048.1、CN358868.1、CN358870.1、T85126.1、T88870.1、CN358869.1、T54683.1、T54599.1、CN358871.1、CN265097.1、AA464521.1、BG231673.1、AA642924.1、BX109827.1、AI696210.1、AI745642.1、AI984536.1、AW170361.1、AW590310.1、AW663962.1、AW801494.1、BF516453.1、BG951026.1、BI116535.1、BM043514.1、W60651.1、W60880.1、BM888249.1、BQ061682.1、BQ065272.1、BQ958807.1、BU502486.1、CA310274.1、AA464522.1、BE280562.1、BF316643.1、AA827755.1、CN259034.1、CN277199.1、AA973831.1、CN259037.1、CN259036.1、BX283578.1、AI889087.1、BG323851.1、BI063248.1、BI063942.1、BQ315498.1、BE148134.1
- [0185] Mms4: BI918962.1、BE613887.1、AW672839.1、R86709.1、R85191.1、H80469.1、CN290252.1、CN281043.1、CN342824.1、R83093.1、BX333338.2、BX327691.2、D25658.1、AW955836.1、BE378681.1、BE542457.1、CN484982.1、R87430.1、BE887145.1、BE895828.1、BE897152.1、AU118079.1、BF244395.1、BE547467.1、BG028794.1、BG000465.1、BG167025.1、BG167838.1、BG255030.1、BG256327.1、BG436043.1、BG393362.1、BG498016.1、BI084419.1、BI088431.1、BF793987.1、

- BG996952.1、BI255051.1、BI256195.1、BI258650.1、BM462968.1、BM800592.1、BM802118.1、BM809503.1、BM906256.1、BM918347.1、BQ072173.1、BG992888.1、BQ216341.1、BQ218372.1、BQ230208.1、BQ232225.1、BG116791.1、BG120099.1、AA243757.1、AA443229.1、AA481119.1、AA774064.1、BX108233.1、BX333337.2、BX443561.2、BX328975.1、AI305107.1、BP429202.1、BX509606.1、BP430970.1、AW250729.1、BP430731.1、CK023740.1、CN482590.1、BQ082456.1
- [0186] TopoisomeraseIIIa:BM462184.1、BQ226006.1、BQ215187.1、AI933546.1、AI694682.1、AW005757.1、AI871758.1、AI627306.1、AI357363.1、CN431712.1、CN431714.1、AI131044.1、CN431713.1、CN431717.1、CN431715.1、AI863107.1、N21546.1、AI652693.1、AI637907.1、AI917456.1、AW370762.1、AW375839.1、AW411282.1、AW411283.1、AW449041.1、AW449710.1、AW450373.1、CK300631.1、CD619024.1、CD619023.1、AW513442.1、AW748535.1、AW954652.1、BE062796.1、BE062799.1、BE062870.1、BE062878.1、BE275290.1、BE294390.1、BE297536.1、BE383990.1、BE384385.1、BE388003.1、BE389807.1、BE408865.1、BE410098.1、BE886538.1、AU125151.1、AU130137.1、BF307775.1、BF345890.1、AW601235.1、BF060985.1、AU148874.1、AU152155.1、BF772443.1、BF913078.1、AL555800.3、AL578214.3、BG281391.1、BG333658.1、BM046431.1、BM046548.1、BM049492.1、BM553540.1、BM683614.1、BM804018.1、BM817686.1、BM910465.1、BQ187307.1、BQ334676.1、BQ342906.1、BQ673046.1、BM929666.1、BQ883495.1、BQ897944.1、BQ929795.1、BU159208.1、AL601602.1、BU542042.1、BU191611.1、BU902730.1、AA307047.1、AA325934.1、AI206124.1、AI206134.1、CB123137.1、R45840.1、AL040785.1、BX394136.2、BX359327.2、BX359328.2、BX348607.2、AI969044.1、AI978571.1、BX499775.1、AW270386.1、AW351792.1、AW370749.1、AW370750.1、AW370754.1、AW370756.1、AW370757.1、AW370758.1、BU169620.1
- [0187] Mus81:BI828324.1、BI822910.1、BI772783.1、BI766615.1、BI551731.1、BE313033.1、BF317447.1、BG912942.1、BG388554.1、BG336401.1、BM926996.1、BG334598.1、BG330488.1、BG328798.1、BG327203.1、BG165822.1、BM561952.1、

BM795493.1, BI871701.1, BI909656.1, W05036.1, BM787599.1, BM015068.1, BM762869.1, BM715429.1, W46505.1, BM051590.1, BM193717.1, BM820646.1, BM673914.1, W46441.1, W46397.1, W46466.1, D81040.1, D81583.1, N66260.1, BI083900.1, BI084569.1, BI058696.1, N74665.1, BI015411.1, BI225125.1, BI261175.1, BI334628.1, BI520226.1, BI520852.1, BI495735.1, BI495736.1, N99229.1, BI818186.1, BI818415.1, BI821127.1, BI816797.1, AA278513.1, CA426286.1, CA428478.1, CA439511.1, CA488369.1, AA310067.1, AA321039.1, AA325265.1, AA353351.1, AA361208.1, AA361844.1, AA410784.1, AA412362.1, AA425903.1, AA483867.1, T24587.1, AA588568.1, AA742229.1, AA742315.1, R07365.1, AA767217.1, AA808486.1, AA811878.1, AA830456.1, AA831614.1, AA935774.1, BM828633.1, W86124.1, BQ004754.1, BQ007168.1, W94929.1, W92200.1, W96213.1, W96307.1, BQ219750.1, BQ421044.1, BQ673374.1, BQ716313.1, BM147893.1, BQ951454.1, BQ787518.1, BU626130.1, BU630449.1, AA195097.1, AA195293.1, AA235399.1, BU855063.1, AA256727.1, AA258031.1, AA261839.1, AA262485.1, AA262698.1, CB989437.1, CB995814.1, BX329339.2, BX363788.2, BX363789.2, BX364239.2, BX364240.2, BX376440.2, BX376441.2, BX352736.2, BX352737.2, BX400774.2, BX393197.2, AW008546.1, Z46145.1, Z41778.1, AW080590.1, AW081005.1, CF130974.1, AW057824.1, AI174987.1, CF272441.1, AW292451.1, AW296475.1, AA989261.1, AI004770.1, AI027750.1, AI078127.1, AI161039.1, BX117949.1, AI223161.1, AI198223.1, AI289132.1, AI291347.1, AI312012.1, AI423724.1, AI355186.1, AI444946.1, AI565701.1, AI568723.1, AI401565.1, AI589837.1, AI561084.1, AI696162.1, AI701699.1, AI708157.1, AI796616.1, AI809463.1, BE843407.1, AV683439.1, AV684455.1, AV692941.1, AV695347.1, BE871764.1, AV706138.1, AV737334.1, AV749817.1, D53819.1, BF337818.1, BF340725.1, BF345411.1, AA836608.1, H70568.1, BF594105.1, BF594519.1, BF742954.1, BF801584.1, BG026984.1, BF940759.1, AL535449.3, AL535450.3, BG393857.1, AW387757.1, CF995326.1, AW469599.1, CD632462.1, CD632461.1, AW905089.1, AW954207.1, CN336481.1,

CN336479.1、CN336477.1、CN336478.1、CN336480.1、AW967947.1、CN422010.1、CN422011.1、CN422012.1、AW978460.1、CV028339.1、BE328203.1、H25803.1、BE379473.1、BE396264.1、BE396772.1、BE513701.1BE564111.1、AW365100.1、AW365101.1

[0188] SIRT1 (Sirtuin): AI037953.1、AA236993.1、N23557.1、H98832.1、R86123.1、AA044634.1、AI381553.1、AA608812.1、AI378978.1、AI367389.1、CN357085.1、AI972705.1、H12698.1、AI217748.1、CN357086.1、BE072031.1、BE081871.1、BE245026.1、BE463430.1、AV660110.1、AV660133.1、D59300.1、BE883278.1、D62968.1、AV704288.1、AV704956.1、AV750129.1、BF445130.1、BF692058.1、BF848464.1、BF848494.1、AW615289.1、AV718812.1、AV720195.1、BF590111.1、BF796692.1、BG026102.1、BG036612.1、BF999696.1、BG178600.1、BG282746.1、BG283059.1、BG496097.1、BG498089.1、N68314.1、BI091351.1、BG705339.1、BG717615.1、BI258271.1、AL599794.1、BI520244.1、BI869083.1、BI918557.1、BM273130.1、BM475115.1、BM697223.1、BM905888.1、BM980158.1、BM986798.1、BQ025488.1、BQ219206.1、BQ226337.1、BQ631955.1、BQ632248.1、BM152225.1、BU186744.1、BM452557.1、AA251252.1、AA382573.1、AA452304.1、AA460952.1、AA461259.1、AA828109.1、BX105044.1、AI751813.1、AI751814.1、AI807525.1、AL042303.1、CD110682.1、AW007728.1、AW020605.2、AW021852.1、BX505161.1、AW504399.1、CK820052.1、CK820053.1、AW967429.1、AW996552.1、BU935054.1

[0189] Esp1: BM456594.1、BM051112.1、BM049903.1、BM044277.1、BM013405.1、BI262337.1、BI117483.1、BI200147.1、BI195989.1、BI023133.1、BG821987.1、BG767950.1、BG760762.1、BG756617.1、BG684814.1、BG493667.1、BG490228.1、BG480927.1、BG479609.1、BG469946.1、BG386315.1、BG337498.1、BG328178.1、BF932278.1、BF973206.1、BF972380.1、BF764335.1、BF742768.1、AA780037.1、AA581005.1、AA580948.1、AA548572.1、T86767.1、AA455415.1、T86675.1、AA339975.1、AA248889.1、BU856483.1、BU855930.1、BU844826.1、BQ958098.1、BQ939849.1、BQ894059.1、BQ893225.1、BQ882493.1、BQ881349.1、BF924624.1、

BQ361233.1、BQ069829.1、BQ052875.1、BQ052507.1、BQ014621.1、BM905149.1、
BM837056.1、BM797577.1、BM468940.1、AW207246.1、CF137736.1、
CF137709.1、CF137594.1、CF135495.1、BX483646.1、CD579284.2、AW009863.1、
AW008862.1、CD359905.1、CD299902.1、BX415621.2、AI816969.1、AL046060.1、
AI800823.1、R42883.1、AI458447.1、AI446360.1、AI283098.1、AI268609.1、
AI214569.1、AI127437.1、R21501.1、AA928961.1、AI023991.1、AI023899.1、
AI022797.1、AA948058.1、BF512245.1、BF698487.1、BF697145.1、BF686746.1、
BF683733.1、AA694341.1、BF314077.1、BF155328.1、BF154952.1、BF154938.1、
BE538398.1、BE467107.1、CR746800.1、BE019694.1、CN356489.1、CN356487.1、
CN356486.1、CN356485.1、CN356484.1、CN356488.1、CN356495.1、CN356494.1、
CN356493.1、CN356492.1、CN356491.1、CN356490.1、AW867242.1、AW497592.1

[0190] MPG:BE567173.1、BF678850.1、BG769688.1、BM663214.1、BM690361.1、
BM707428.1、BM750136.1、BM771938.1、BM796074.1、BM796301.1、BM822805.1、
BM823382.1、BM823606.1、BM825519.1、BM831379.1、W69334.1、W69335.1、
BM852297.1、BM909194.1、BM914408.1、W76127.1、BM922561.1、BM970297.1、
BQ053339.1、BQ224541.1、AA010929.1、AA011317.1、BQ416588.1、BQ416589.1、
BQ416891.1、BQ416892.1、BQ430971.1、BF174738.1、BG469815.1、BG479289.1、
BG574541.1、BG686214.1、BG779735.1、BG746848.1、BG763639.1、BG823448.1、
BG830627.1、BI253826.1、BI259059.1、BI524092.1、N90880.1、N91934.1、
BI552950.1、BI713520.1、BI759543.1、BI818264.1、BI820665.1、BI791744.1、
BI870400.1、BI858760.1、BI964886.1、BI906325.1、W17097.1、BM194361.1、
BM471029.1、BM543869.1、BM552363.1、BM556912.1、BU565588.1、BU631253.1、
AA187311.1、AA187412.1、BU684880.1、BU687924.1、BU858254.1、BU860310.1、
BU956115.1、CA337274.1、CA423548.1、CA438664.1、CA441991.1、CA488184.1、
CA488371.1、AA299077.1、AA285256.1、AA491244.1、AA503832.1、AA527886.1、
AA568795.1、AA578450.1、AA603076.1、AA621361.1、AA732078.1、AA761676.1、
AA767201.1、AA768478.1、AA768552.1、AA806008.1、AA853981.1、AA857130.1、
AA026824.1、AA026957.1、BQ447759.1、BQ668747.1、BQ675987.1、

BQ676108.1、BQ676179.1、BQ676405.1、BQ678708.1、BQ678722.1、BQ680099.1、
、BQ682489.1、BQ684616.1、BQ686780.1、BQ773643.1、BM147473.1、
BM149314.1、BQ888825.1、BQ921148.1、BQ927180.1、BQ945550.1、AA065084.1
、AA064997.1、BU195384.1、BU149567.1、BU157028.1、BU168113.1、BU172290.1
、AA113980.1、AA113972.1、AA115941.1、AA122238.1、AI695611.1、AI739369.1、
AI750356.1、AI754347.1、AI765874.1、AI798386.1、CB267218.1、BX281276.1、
AI817691.1、AI913581.1、AI922106.1、AI928586.1、CB997674.1、BX395164.2、
CD105357.1、BX353976.2、BX372753.2、BX392614.1、BX357530.2、BX391673.2、
AI961117.1、CD368856.1、AW007326.1、AW072347.1、AW083039.1、AW131829.1
、AW149104.1、AJ573841.1、AJ573842.1、AW204546.1、AW206735.1、AA971357.1
、AI015443.1、AI037999.1、AI089498.1、AI131317.1、AI143697.1、CB044049.1、
CB044050.1、CB048492.1、CB048493.1、CB048779.1、CB049248.1、CB049249.1、
AI149080.1、AI188471.1、AI205596.1、AI208926.1、AI209171.1、CB128954.1、
AI203215.1、AI345964.1、AI350908.1、AI382391.1、AI453105.1、AI457314.1、
AI521404.1、AI553664.1、AI569449.1、AI580320.1、AI679185.1、AI695608.1、
BF001487.1、BF002356.1、T28409.1、BF109116.1、BF219424.1、AA862053.1、
BF664362.1、BF669361.1、BF526924.1、BF572325.1、BF790595.1、BG033001.1、
BG033146.1、BF974328.1、BF940863.1、BG165742.1、BG153198.1、AL520051.3、
AL520052.3、AL521514.3、AL521515.3、N26769.1、AL524386.3、AL524387.3、
AL527543.3、AL527544.3、AL530961.3、AL530962.3、N30855.1、BG284431.1、
BG430698.1、F04542.1、AW291955.1、CF993786.1、AW452798.1、AW590115.1、
AW593038.1、CK902061.1、CN266626.1、CN266627.1、CN266628.1、CN266629.1
、CN266630.1、CN266631.1、CN266632.1、AW973756.1、BE045501.1、BE207420.1
、BE275484.1、BE385924.1、BE394756.1、BE408565.1、BE465105.1、BE502294.1、
BE538276.1、BE733520.1、BE735753.1、BE780181.1、AV694099.1、BE908188.1、
BE909470.1、BF000140.1、BF000556.1、CB114652.1、CN276703.1、N41382.1、
BQ694950.1

[0191] Poll: BQ052050.1、BQ072779.1、BQ232853.1、BG823706.1、BE264721.1、

BI758654.1、BE539840.1、BE541711.1、BG389885.1、BG331116.1、BI770175.1、
BE880092.1、BM544877.1、BI825514.1、BE974036.1、BI827122.1、BI910222.1、
BI906881.1、BI909106.1、BI906886.1、BI772047.1、BG945087.1、BI091406.1、
BG770791.1、BG764790.1、BG763955.1、BG751184.1、BG749688.1、BG490202.1、
BF171635.1、AL562678.3、AL541662.3、AL526446.3、BG149290.1、BG024414.1、
BF807384.1、BF591938.1、BF476040.1、BF475279.1、AA807380.1、AA742404.1、
T81701.1、CA406519.1、CA405484.1、BU855318.1、AA234405.1、BU618135.1、
BU194042.1、BU184350.1、BU191914.1、BU159682.1、BQ957310.1、BQ932866.1、
BM148925.1、M145476.1、BG118565.1、BG056482.1、BQ311579.1、BQ276405.1、
AL702021.1、AL702011.1、AL698041.1、M923533.1、BM908370.1、W69888.1、
BM824844.1、BM801377.1、BM354225.1、BM273229.1、BI912822.1、BI909369.1、
AW406239.1、AW418802.1、AW377370.1、AW377335.1、AW377300.1、
AW377298.1、AW377264.1、AW377257.1、AW367852.1、CF147037.1、CF140209.1
、CF140207.1、BX426881.2、BX372137.1、BX384565.2、BX384564.2、AA991853.1
、AA927738.1、AA922738.1、CA976110.1、CB151800.1、CB131141.1、AI538103.1
、AI922500.1、BX333693.2、BX351220.1、BX361517.2、BX382774.2、BX398077.2、
BX398078.2、BX400678.2、BX374468.2、BX390819.1、BE144586.1、BE162920.1、
BP871239.1、CV025896.1、BE392666.1、BE562674.1、BE744935.1、BE819364.1、
BE905104.1、BE938379.1、BE938389.1、AV705731.1、AU118033.1、AU122737.1、
AU141478.1、AU144697.1、BF433511.1、AW673654.1、AW731648.1、AW752914.1
、AW752922.1、AW768836.1、AW769721.1、CK820138.1、CK820139.1、
CN304569.1、CN304570.1、CN304571.1、CN304572.1、CN304573.1、CN304574.1
、CN304575.1、CN304576.1、H11886.1、CD243848.1、BX448084.2、BG488800.1、
BI027900.1、BI460283.1、BM479907.1、BM541632.1、BM563437.1、BQ232479.1、
BQ923975.1、BQ954336.1、BU195355.1

[0192] Polm:BI914097.1、BI908863.1、BI907196.1、BI858799.1、BG700584.1、
BM920340.1、BI769194.1、BG483069.1、BG499408.1、BG910514.1、BI029339.1、
BI001584.1、BI752559.1、BI838830.1、BI857029.1、BM739081.1、BM739884.1、

BM739966.1、BM744174.1、AV692664.1、AV697631.1、AV697781.1、AV699741.1、
、BF102699.1、AU129189.1、AA694217.1、AA766124.1、AW613566.1、BF530871.1
、BF819685.1、BF895261.1、BG253328.1、AL523598.3、AL529987.2、AL529988.3
、AL562232.3、BG231904.1、BG386713.1、BM148157.1、BM148944.1、
BM149019.1、BM151641.1、BU517199.1、BU520948.1、AA077726.1、CA388951.1
、CA487306.1、CA487434.1、AA298793.1、CA944555.1、AA507121.1、AA605050.1
、AA769270.1、AA814924.1、AA815032.1、AA832314.1、AA917987.1、BM744180.1
、BM747399.1、BM752457.1、BM755685.1、BM756419.1、BM756478.1、
BM804478.1、BM808078.1、BM853841.1、BM911482.1、BM911832.1、AL700896.1
、BQ015336.1、BQ214851.1、BQ686436.1、AA046576.1、AA046663.1、BG116876.1
、BM147833.1、BX390956.2、BX350666.1、BX385063.2、BX385064.2、CD109226.1
、BX354131.1、BX354132.2、BX351215.2、BX376517.2、BX376518.2、BX395027.2
、BX335337.2、BX335338.2、BX383403.1、BX383404.2、BX383221.2、BX402828.2
、BX402829.2、BX384388.2、AI025113.1、AA928729.1、AI057140.1、AI208523.1、
AA910584.1、AI365238.1、AI365240.1、AI392687.1、AI419960.1、AI458707.1、
AI459543.1、AI469103.1、AI627311.1、AI652512.1、AI654109.1、AI738949.1、
AI767982.1、AI638032.1、CB990757.1、BE241524.1、BE241656.1、BE241950.1、
BE242681.1、BE242829.1、BE242932.1、BE243489.1、BE244287.1、BE247085.1、
BE247483.1、CR735361.1、BE503442.1、BE789823.1、AV685517.1、AV688018.1、
AV688777.1、AV689313.1、AV689923.1、AV691130.1、BX393262.2、BX435165.2、
BX419627.2、CD252488.1、BX477278.1、AW070683.1、AW137352.1、AW182301.1
、CF529830.1、AW207742.1、AW296010.1、AW361738.1、AW402473.1、
AW575118.1、AW578625.1、AW592532.1、CN480773.1、CN304577.1、CN304578.1
、CB104684.1、AI438940.1、CB266611.1、CN293022.1、AA078383.1

[0193] EndoV: BQ279208.1 BM554738.1、BM911430.1、BI830073.1、BI829389.1、
BG681481.1、BG819544.1、BI117355.1、BI551407.1、BQ287914.1、BQ050806.1、
BQ024655.1、BQ021027.1、W87446.1、BM926784.1、BM128679.1、BM128571.1、
BM128352.1、AA720808.1、AA452047.1、AA363057.1、AA351281.1、BU621053.1、

BU553848.1、BU527982.1、BQ957094.1、AA056490.1、BQ923151.1、BQ923003.1、
BQ772531.1、BQ435901.1、BQ429806.1、BQ429804.1、BQ427432.1、BQ417371.1
、BQ342726.1、R14533.1、CB143295.1、AI370900.1、BX334744.2、BX355957.2、
Z41683.1、AW157406.1、CK819308.1、CN288502.1、CN310874.1、CN310875.1、
CN310876.1、AW975617.1、H09974.1、BE619534.1、BE905153.1、BE938460.1、
BF686490.1、BF477753.1、AL541721.3、AL569045.3、BG749082.1、BI549266.1、
BI550542.1、BI550562.1、BI837982.1、BI917934.1、BM007984.1、BM008131.1、
BM043073.1、BM047737.1、BX092874.1、AI219827.1、AI249283.1、AA926664.1、
AI223657.1、AI290823.1、AI300416.1、AI311040.1、AI349370.1、AI393803.1、
AI307620.1、AI571214.1、AI635870.1、AI660440.1、AI681370.1、AI702794.1、
AW001931.1、AW136860.1、AW204051.1、AW438764.1、BE041666.1、BE043347.1
、BE049112.1、BE219425.1、BE219749.1、BE672512.1、BF194919.1、BF196166.1、
BF718311.1、BF840896.1、BM662670.1、BM665527.1、BM671155.1、BM684408.1、
BM689003.1、BM710007.1、BM711618.1、BM930887.1、AA451847.1、AA593804.1
、AA617805.1、T96971.1

[0194] KNTC2(NDC80):BG612856.1、BG532554.1、BG531886.1、BI093871.1、
BG500282.1、BI825656.1、BE561023.1、BE564344.1、BE565202.1、BE566742.1、
BE903220.1、BQ233581.1、BQ425406.1、BF029347.1、CD557751.1、BU507911.1、
BF977553.1、BF976962.1、BF700934.1、BF219086.1、BF244797.1、BF700668.1、
BF246890.1、BF684028.1、BF667950.1、BF666100.1、BF665251.1、AU151690.2、
BF540908.1、AU099103.1、BF576929.1、BG403284.1、BF589484.1、AL583281.3、
AL583241.3、AL531915.3、AL531914.3、AL527360.3、BF984727.1、AL527307.3、
BG257162.1、BF899120.1、BF994346.1、BF978548.1、BU633554.1、AA188980.1、
AA188981.1、AA189047.1、AA211359.1、BU943322.1、AA249583.1、AA249666.1、
CA311030.1、CA446863.1、AA312280.1、T89463.1、AA492580.1、AA628019.1、
AA639709.1、AA700427.1、AA857356.1、AA878068.1、BG679506.1、BI087094.1、
BI260526.1、N88235.1、BI861865.1、BM194061.1、BM453009.1、BM476696.1、
BM806248.1、BM828736.1、BM995677.1、W72679.1、AL711170.1、AL710845.1、

BQ307283.1、BQ307306.1、BQ776047.1、BQ776118.1、CN294243.1、CN294241.1、CN294240.1、CN294239.1、CN294238.1、CN294237.1、AW821289.1、AW955129.1、AW573107.1、AW449014.1、BP430527.1、AW069561.1、AI979323.1、BX453617.2、AI955047.1、AI954614.1、BX431751.2、BX372554.2、BX353230.2、BX351284.2、BX333981.2、AI913466.1、AI866885.1、BX284007.1、BF246242.1、AI660156.1、AI380253.1、BP369219.1、BF218992.1、BP282259.1、AU129601.1、BP283529.1、AI341287.1、BF084870.1、BP290528.1、BP242960.1、BP239153.1、CV030676.1、CN294245.1、CN294236.1、BF082771.1、BE503512.1、AI341285.1、BF038467.1、BE543964.1、CB150849.1、CB160181.1、BF001266.1、BE672102.1、CN294234.1、CN294233.1、R94766.1、CV363738.1、BE927464.1、AA911686.1、AV718407.2、BE940500.1、BE857720.1、BE889796.1、AV718036.1、BF687621.1、BF447144.1、CN294232.1、CN294235.1、CN294244.1、R92253.1

[0195] 本発明の好ましい態様においては、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)もしくは上記各ESTに対応するmRNAにおける、連続するRNA領域を一方の鎖とするRNAi効果を有する二本鎖RNA、を含むアポトーシス誘導剤を提供する。

[0196] 上述のように上記のいずれかに記載の遺伝子には、同一の遺伝子であっても種々の多型が含まれている場合がある。当業者においては、配列番号:1～637、810～908のいずれかに記載の塩基配列もしくは上記のEST配列に対し、例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子に関する公共の多型データベースからの情報を加味し、RNAi効果を有することが期待されるRNAの配列を適宜設計することができる。このようなRNAを含むアポトーシス誘導剤もまた本発明に含まれる。また、当業者においては、複数種作製された本発明の二本鎖RNAから、最適なRNAi効果を有するRNAを適宜選択してアポトーシス誘導剤とすることも可能である。

[0197] 本発明の上記「RNAi効果を有する二本鎖RNA」の具体例として、図1～図4および図28～32に記載の塩基配列(配列番号:724～809、974～1063のいずれかに記載の塩基配列)を該二本鎖RNAの一方の鎖とするsiRNA分子(配列番号:724～809、974～1063のいずれかに記載の塩基配列と、その相補鎖からなるsiRNA分子)を

挙げることができる。即ち本発明の一つの態様としては、RNAi効果を有する二本鎖RNAの一方の鎖が配列番号:724~809、974~1063のいずれかに記載の塩基配列からなるsiRNA分子(配列番号:724~809、974~1063のいずれかに記載の塩基配列と、その相補鎖からなるsiRNA分子)を有効成分として含む、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤を提供する。

また、上記siRNA分子において二本鎖を形成する領域の一方のRNA配列は、必ずしも、上記の配列番号:724~809、974~1063のいずれかに記載の塩基配列と完全に同一であることに制限されない。例えば、該塩基配列において1もしくは複数の塩基が改変された配列からなる塩基配列を二本鎖RNAの一方の鎖とするsiRNA分子であっても、本発明の遺伝子の発現を抑制する機能を有するものであればよい。

即ち、本発明の好ましい態様において、RNAi効果を有する二本鎖RNAとは、該二本鎖の一方の鎖が配列番号:724~809、または974~1063のいずれかに記載の塩基配列において1もしくは複数の塩基が付加、欠失、置換された塩基配列であり、他方の鎖が該塩基配列と相補的な塩基配列であることを特徴とする二本鎖RNAであって、本発明の遺伝子の発現を抑制する機能を有する二本鎖RNAである。なお、上記「複数」とは、通常、少数を意味し、より具体的には、2~10を意味し、好ましくは2~5を意味し、より好ましくは2~3を意味する。

[0198] また、本発明の好ましい態様としては、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の発現を抑制する化合物が以下の(a)または(b)である、アポトーシス誘導剤を提供する。

(a) 本発明の染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の転写産物、またはその一部に対するアンチセンス核酸

(b) 本発明の染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の転写産物を特異的に開裂するリボザイム活性を有する核酸

[0199] 本発明における「核酸」とはRNAまたはDNAを意味する。特定の内在性遺伝子の発現を阻害(抑制)する方法としては、アンチセンス技術を利用する方法が当業者によく知られている。アンチセンス核酸が標的遺伝子の発現を阻害する作用としては、以下のような複数の要因が存在する。すなわち、三重鎖形成による転写開始阻害、

RNAポリメラーゼによって局所的に開状ループ構造が作られた部位とのハイブリッド形成による転写阻害、合成の進みつつあるRNAとのハイブリッド形成による転写阻害、イントロンとエキソンとの接合点におけるハイブリッド形成によるスプライシング阻害、スプライソソーム形成部位とのハイブリッド形成によるスプライシング阻害、mRNAとのハイブリッド形成による核から細胞質への移行阻害、キャッピング部位やポリ(A)付加部位とのハイブリッド形成によるスプライシング阻害、翻訳開始因子結合部位とのハイブリッド形成による翻訳開始阻害、開始コドン近傍のリボソーム結合部位とのハイブリッド形成による翻訳阻害、mRNAの翻訳領域やポリソーム結合部位とのハイブリッド形成によるペプチド鎖の伸長阻害、および発現制御領域と転写調節因子との相互作用部位とのハイブリッド形成による遺伝子発現阻害などである。このようにアンチセンス核酸は、転写、スプライシングまたは翻訳など様々な過程を阻害することで、標的遺伝子の発現を阻害する(平島および井上著、新生化学実験講座2 核酸IV遺伝子の複製と発現、日本生化学会編、東京化学同人、1993年、p.319-347)。

- [0200] 本発明で用いられるアンチセンス核酸は、上記のいずれの作用により染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の発現を阻害してもよい。一つの態様としては、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)のmRNAの5'端近傍の非翻訳領域に相補的なアンチセンス配列を設計すれば、遺伝子の翻訳阻害に効果的と考えられる。また、コード領域もしくは3'側の非翻訳領域に相補的な配列も使用することができる。このように、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の翻訳領域だけでなく、非翻訳領域の配列のアンチセンス配列を含む核酸も、本発明で利用されるアンチセンス核酸に含まれる。使用されるアンチセンス核酸は、適当なプロモーターの下流に連結され、好ましくは3'側に転写終結シグナルを含む配列が連結される。また臨床応用を考慮する場合、使用されるアンチセンス核酸は、通常、合成オリゴマーであり、ヌクレアーゼ分解に対する感受性を減らし、且つアンチセンス核酸としての活性を維持するために、リン酸エステル結合部のO(酸素)をS(硫黄)に置換したSオリゴ(ホスホロチオエート型オリゴヌクレオチド)の利用が一般に知られている。このSオリゴは現在ではアンチセンス薬として、直接患部に注入される臨床試験が行なわれている。本発明にお

いてもこのSオリゴを好適に使用することができる。アンチセンス核酸の配列は、標的遺伝子またはその一部と相補的な配列であることが好ましいが、遺伝子の発現を有効に抑制できる限り、完全に相補的でなくてもよい。転写されたRNAは、標的遺伝子の転写産物に対して好ましくは90%以上、最も好ましくは95%以上の相補性を有する。アンチセンス核酸を用いて標的遺伝子の発現を効果的に抑制するには、アンチセンス核酸の長さは少なくとも15塩基以上であり、好ましくは100塩基以上であり、さらに好ましくは500塩基以上である。

[0201] また、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の発現の阻害は、リボザイム、またはリボザイムをコードするDNAを利用して行うことも可能である。リボザイムとは触媒活性を有するRNA分子を指す。リボザイムには種々の活性を有するものが存在し、RNAを部位特異的に切断するリボザイムの設計も可能である。リボザイムには、グループIイントロン型やRNase Pに含まれるM1 RNAのように400ヌクレオチド以上の大きさのものもあるが、ハンマーヘッド型やヘアピン型と呼ばれる40ヌクレオチド程度の活性ドメインを有するものもある(小泉誠および大塚栄子、蛋白質核酸酵素、1990年、35、2191)。

[0202] 例えば、ハンマーヘッド型リボザイムの自己切断ドメインは、G13U14C15という配列のC15の3'側を切断するが、その活性にはU14とA9との塩基対形成が重要とされ、C15の代わりにA15またはU15でも切断され得ることが示されている(Koizumi, M.ら著、FEBS Lett、1988年、228、228.)。基質結合部位が標的部位近傍のRNA配列と相補的なリボザイムを設計すれば、標的RNA中のUC、UUまたはUAという配列を認識する制限酵素的なRNA切断リボザイムが作出できる(Koizumi, M.ら著、FEBS Lett、1988年、239、285.、小泉誠および大塚栄子、蛋白質核酸酵素、1990年、35、2191.、Koizumi, M.ら著、Nucl Acids Res、1989年、17、7059.)。

[0203] また、ヘアピン型リボザイムも本発明の目的に有用である。このリボザイムは、例えばタバコリングススポットウイルスのサテライトRNAのマイナス鎖に見出される(Buzayan, JM., Nature, 1986年、323、349.)。ヘアピン型リボザイムからも、標的特異的なRNA切断リボザイムを作出することが示されている(Kikuchi, Y. & Sasaki, N., Nucl Acids Res, 1991, 19, 6751.、菊池洋, 化学と生物, 1992, 30, 112.)。このように、リボザイム

を用いて本発明における染色体安定化関連遺伝子の転写産物を特異的に切断することで、該遺伝子の発現を阻害することができる。

[0204] さらに本発明は、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質の機能(活性)を抑制する化合物を有効成分として含有する、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤に関する。

[0205] 本発明の染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質には、該タンパク質のアミノ酸配列において1若しくは複数のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列を含む、染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質の変異タンパク質もしくはホモログタンパク質であって、染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質と機能的に同等なタンパク質も含まれる。ここで「機能的に同等なタンパク質」とは、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質における機能(例えば、上述の(a)～(s)のいずれかの機能)と同様の機能を備えたタンパク質である。

[0206] あるいは染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質のアミノ酸配列に対して、たとえば90%以上、望ましくは95%以上、更に望ましくは99%以上の相同性を有するタンパク質を、染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質と機能的に同等なタンパク質として示すことができる。

[0207] 本発明の好ましい態様においては、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質の機能(活性)を抑制する化合物が、以下の(a)～(c)のいずれかに記載の化合物である、アポトーシス誘導剤を提供する。これらの化合物は、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質の機能もしくは活性を阻害する(低下させる)ことにより、癌細胞に対してアポトーシス誘導作用を有するものと考えられる。

(a) 本発明の染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質に対してドミナントネガティブの性質を有する変異体タンパク質

(b) 本発明の染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質に結合する抗体

(c) 本発明の染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質に結合する低分子化合物

[0208] 上記(a)において「ドミナントネガティブの性質を有する変異体タンパク質」とは、内在性の野生型タンパク質の活性を消失もしくは低下させる機能を有する、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質変異体を指す。

[0209] また上記(b)の「抗体」は、当業者に公知の方法により調製することが可能である。ポリクローナル抗体であれば、例えば、次のようにして得ることができる。天然もしくは組換えの染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質、あるいはGSTとの融合タンパク質として大腸菌等の微生物において発現させたリコンビナントである染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質、またはその部分ペプチドをウサギ等の小動物に免疫し血清を得る。これを、例えば、硫酸沈殿、プロテインAカラムおよびプロテインGカラム、DEAEイオン交換クロマトグラフィー、染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質や合成ペプチドをカップリングしたアフィニティーカラム等により精製することにより調製する。また、モノクローナル抗体であれば、例えば、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質若しくはその部分ペプチドをマウスなどの小動物に免疫を行い、同マウスより脾臓を摘出し、これをすりつぶして細胞を分離し、該細胞とマウスミエローマ細胞とをポリエチレングリコール等の試薬を用いて融合させ、これによりできた融合細胞(ハイブリドーマ)の中から、染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質に結合する抗体を産生するクローンを選択する。次いで、得られたハイブリドーマをマウス腹腔内に移植し、同マウスより腹水を回収し、得られたモノクローナル抗体を、例えば、硫酸沈殿、プロテインAカラムおよびプロテインGカラム、DEAEイオン交換クロマトグラフィー、染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質や合成ペプチドをカップリングしたアフィニティーカラム等により精製することで、調製することが可能である。

- [0210] 本発明の抗体は、本発明の染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質に結合し得るものであれば特に制限されず、上記ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体のほかに、ヒト抗体、遺伝子組み換えによるヒト型化抗体、さらにその抗体断片や抗体修飾物等も含まれる。
- [0211] 抗体取得の感作抗原として使用される本発明の染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質は、その由来となる動物種に制限されないが哺乳動物、例えばマウス、ヒト由来のタンパク質が好ましく、特にヒト由来のタンパク質が好ましい。
- [0212] 本発明において、感作抗原として使用されるタンパク質は、完全なタンパク質の他に該タンパク質の部分ペプチドであってもよい。タンパク質の部分ペプチドとしては、例えば、タンパク質のアミノ基(N)末端断片やカルボキシ(C)末端断片が挙げられる。本明細書における「抗体」とは通常、タンパク質の全長又は断片に反応する抗体を意味する。
- [0213] また、ヒト以外の動物に抗原を免疫して上記ハイブリドーマを得る他に、ヒトリンパ球、例えばEBウィルスに感染したヒトリンパ球をin vitroでタンパク質、タンパク質発現細胞又はその溶解物で感作し、感作リンパ球をヒト由来の永久分裂能を有するミエローマ細胞、例えばU266と融合させ、タンパク質への結合活性を有する所望のヒト抗体を産生するハイブリドーマを得ることもできる。本発明の抗体を人体に投与する目的(抗体治療)で使用する場合には、免疫原性を低下させるため、ヒト抗体やヒト型抗体が好ましい。
- [0214] 染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質と結合することが既に知られている化合物として、例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子によってコードされるタンパク質に対するモノクローナルもしくはポリクローナル抗体を挙げることができる。
- [0215] 本発明の染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の発現もしくは該遺伝子によってコードされるタンパク質の機能(活性)を抑制する化合物は、天然または人工の化合物のいずれであってもよい。通常、当業者に公知の方法を用いることによって製造または取得・単離可能な化合物である。例えば、有機化

合物、無機化合物、核酸、タンパク質、ペプチド、糖などの単一化合物、あるいは、化合物ライブラリー、遺伝子ライブラリーの発現産物、細胞抽出物、細胞培養上清、発酵微生物産生物、海洋生物抽出物、植物抽出物等もしくは該抽出物から単離精製される化合物を挙げることができる。

[0216] さらに本発明は、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤のスクリーニング方法を提供する。

本発明の上記方法の好ましい態様においては、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質またはその部分ペプチドと被検化合物との結合活性を指標とする方法である。通常、染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質またはその部分ペプチドと結合する化合物は、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質の機能を阻害する効果を有することが期待される。

[0217] 本発明の上記方法においては、まず、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質またはその部分ペプチドと被検化合物を接触させる。染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質またはその部分ペプチドは、被検化合物との結合を検出するための指標に応じて、例えば、染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質またはその部分ペプチドの精製された形態、細胞内または細胞外に発現した形態、あるいはアフィニティーカラムに結合した形態であり得る。この方法に用いる被検化合物は必要に応じて適宜標識して用いることができる。標識としては、例えば、放射標識、蛍光標識等を挙げることができる。

[0218] 本方法においては、次いで、染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質またはその部分ペプチドと被検化合物との結合活性を測定する。染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質またはその部分ペプチドと被検化合物との結合活性は、例えば、染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質またはその部分ペプチドに結合した被検化合物に付された標識によって測定することができる。また、細胞内または細胞外に発現している染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質またはその部分ペプチドへの被検化合物の結合により生

じる該タンパク質の活性の変化を指標として測定することも可能である。

- [0219] 本方法においては、次いで、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質またはその部分ペプチドと結合する被検化合物を選択する。
- [0220] 本方法に用いる被検化合物としては、特に制限はない。例えば、天然化合物、有機化合物、無機化合物、核酸、タンパク質、ペプチド、糖などの単一化合物、並びに、化合物ライブラリー、遺伝子ライブラリーの発現産物、細胞抽出物、細胞培養上清、発酵微生物産物、海洋生物抽出物、植物抽出物、人工作出化合物等が挙げられるが、これらに限定されない。
- [0221] 本発明のスクリーニング方法の別の態様においては、まず染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)を発現する細胞もしくは細胞抽出液と、被検化合物を接触させる。上記「染色体安定化関連遺伝子を発現する細胞」としては、内因性の染色体安定化関連遺伝子を発現している細胞、または外来性の染色体安定化関連遺伝子が導入され、該遺伝子を発現している細胞を利用することができる。外来性の染色体安定化関連遺伝子が発現した細胞は、通常、該遺伝子を含む発現ベクターを宿主細胞へ導入することにより作製することができる。この発現ベクターは、当業者においては一般的な遺伝子工学技術によって作製することができる。本発明のスクリーニング方法において、染色体安定化関連遺伝子を発現する細胞として例えば、MCF7(乳癌)、A549(肺癌)、U2OS(骨肉腫)、C33A(子宮頸癌)、HT1080(繊維肉腫)、PA-1(卵巣の奇形癌)、Tera2(胎生期癌)、T24(膀胱癌)、K562(慢性骨髄性白血病)、Molt4(急性リンパ芽球性白血病)、A172(神経膠芽細胞腫)、HeLa(子宮頸癌)、HepG2(肝癌)、ACC62(メラノーマ)、KP4(膵臓癌)、CaKi-1(腎臓癌)、MKN45(胃癌)、LNCap(前立腺癌)、MDA-MB435(乳癌)、EJ 1(膀胱癌)、OVCA3(卵巣癌)等の各種腫瘍細胞を好適に使用することができる。
- [0222] 上記染色体安定化関連遺伝子を発現する細胞への被検化合物の「接触」は、通常、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)を発現する細胞の培養液に被検化合物を添加することによって行うが、この方法に限定されない。被検化合物がタンパク質等の場合には、該タンパク質を発現するDNAベクターを

、該細胞へ導入することにより、「接触」を行うことができる。

[0223] 次いで本方法においては、染色体安定化関連遺伝子の発現レベルを測定する。ここで「遺伝子の発現」には、転写および翻訳の双方が含まれる。遺伝子の発現レベルの測定は、当業者に公知の方法によって行うことができる。例えば、染色体安定化関連遺伝子を発現する細胞からmRNAを定法に従って抽出し、このmRNAを鋳型としたノーザンハイブリダイゼーション法またはRT-PCR法を実施することによって、該遺伝子の転写レベルの測定を行うことができる。また、上記の染色体安定化関連遺伝子を発現する細胞からタンパク質画分を回収し、該遺伝子によってコードされるタンパク質の発現をSDS-PAGE等の電気泳動法で検出することにより、遺伝子の翻訳レベルの測定を行うこともできる。さらに、上記遺伝子によってコードされるタンパク質に対する抗体を用いて、ウェスタンブロッティング法を実施することにより、該タンパク質の発現を検出し、遺伝子の翻訳レベルの測定を行うことも可能である。上記遺伝子によってコードされるタンパク質の検出に用いる抗体としては、検出可能な抗体であれば、特に制限はないが、例えばモノクローナル抗体、またはポリクローナル抗体の両方を利用することができる。

[0224] 本方法においては更に、被検化合物の非存在下において測定した場合(対照)と比較して、該発現レベルを低下させる化合物を選択する。このようにして選択された化合物は、癌細胞に対してアポトーシスを誘導する作用を有することが期待される。さらに、該化合物は、アポトーシス誘導を作用機序とする制癌剤(抗癌剤)となることが期待される。

[0225] 本発明の方法の更に別の態様においては、本発明の染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の発現レベルを低下させるような化合物を、レポーター遺伝子を利用してスクリーニングする方法である。

[0226] 本方法においては、まず、上記の染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の転写調節領域とレポーター遺伝子とが機能的に結合した構造を有するDNAを含む細胞または細胞抽出液と、被検化合物を接触させる。ここで「機能的に結合した」とは、上記の染色体安定化関連遺伝子の転写調節領域に転写因子が結合することにより、レポーター遺伝子の発現が誘導されるように、該遺伝子

の転写調節領域とレポーター遺伝子とが結合していることをいう。従って、レポーター遺伝子が他の遺伝子と結合しており、他の遺伝子産物との融合タンパク質を形成する場合であっても、該遺伝子の転写調節領域に転写因子が結合することによって、該融合タンパク質の発現が誘導されるものであれば、上記「機能的に結合した」の意に含まれる。染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)のcDNA塩基配列に基づいて、当業者においては、ゲノム中に存在する該遺伝子の転写調節領域を周知の方法により取得することが可能である。

[0227] 本方法に用いるレポーター遺伝子としては、その発現が検出可能であれば特に制限されず、例えば、CAT遺伝子、lacZ遺伝子、ルシフェラーゼ遺伝子、およびGFP遺伝子等が挙げられる。「染色体安定化関連遺伝子の転写調節領域とレポーター遺伝子とが機能的に結合した構造を有するDNAを含む細胞」として、例えば、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の転写調節領域とレポーター遺伝子とが機能的に結合した構造を有するベクターが導入された細胞等が挙げられる。上記ベクターは、当業者においては一般的な遺伝子工学技術によって作製することができる。ベクターの細胞への導入は、一般的な方法、例えば、リン酸カルシウム沈殿法、電気パルス穿孔法、リポフェタミン法、マイクロインジェクション法等によって実施することができる。「染色体安定化関連遺伝子の転写調節領域とレポーター遺伝子とが機能的に結合した構造を有するDNAを含む細胞」には、染色体に該構造が挿入された細胞も含まれる。染色体へのDNA構造の挿入は、当業者に一般的に用いられる方法、例えば、ランダムインテグレーションや、相同組み換えを利用した遺伝子導入法により行うことができる。

[0228] 「染色体安定化関連遺伝子の転写調節領域とレポーター遺伝子とが機能的に結合した構造を有するDNAを含む細胞抽出液」とは、例えば、市販の試験管内転写翻訳キットに含まれる細胞抽出液に、染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)の転写調節領域とレポーター遺伝子とが機能的に結合した構造を有するDNAを添加したものを挙げることができる。

[0229] 本方法における「接触」は、「染色体安定化関連遺伝子の転写調節領域とレポーター遺伝子とが機能的に結合した構造を有するDNAを含む細胞」の培養液に被検化

合物を添加する、または該DNAを含む上記の市販された細胞抽出液に被検化合物を添加することにより行うことができるが、これらの方法に限定されない。被検化合物がタンパク質の場合には、例えば、該タンパク質を発現するDNAベクターを、該細胞へ導入することにより接触を行うことも可能である。

- [0230] 本方法においては、次いで、該レポーター遺伝子の発現レベルを測定する。レポーター遺伝子の発現レベルは、該レポーター遺伝子の種類に応じて、当業者に公知の方法により測定することができる。例えば、レポーター遺伝子がCAT遺伝子である場合には、該遺伝子産物によるクロラムフェニコールのアセチル化を検出することによって、レポーター遺伝子の発現量を測定することができる。レポーター遺伝子がlacZ遺伝子である場合には、該遺伝子発現産物の触媒作用による色素化合物の発色を検出することにより、また、ルシフェラーゼ遺伝子である場合には、該遺伝子発現産物の触媒作用による蛍光化合物の蛍光を検出することにより、さらに、GFP遺伝子である場合には、GFPタンパク質による蛍光を検出することにより、レポーター遺伝子の発現量を測定することができる。
- [0231] 本方法においては、次いで、測定したレポーター遺伝子の発現レベルを、被検化合物の非存在下において測定した場合と比較して、低下させる化合物を選択する。このようにして選択された化合物は、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤となる。
- [0232] 本発明の方法の別の態様においては、本発明の染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質の活性を指標とする、化合物のスクリーニング方法である。
- [0233] 本方法においては、まず染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質、または該タンパク質を発現する細胞もしくは細胞抽出液と、被検化合物を接触させる。次いで、該タンパク質の活性を測定する。該タンパク質の活性としては、例えば、上記(a)～(r)に示した機能(活性)等を挙げることができる。当業者においては、スクリーニングにおいて指標とするタンパク質についての機能(活性)、および該機能(活性)の評価(測定)方法についての情報を、例えば、文献データベース等により適宜、入手することができる。
- [0234] 一例を示せば、指標とされるタンパク質がMcm10である場合は、例えば、

ARS(Autonomously replicating sequences)の挙動を二次元電気泳動で検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(MCB(1997)3261-3271.)。

[0235] 指標とされるタンパク質がOrc1である場合は、例えば、該タンパク質を含むOrc1-6の複合体形成、あるいはCaCl₂存在下でのOrc1-6複合体の電気泳動的移動度の変化を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(1998)273,32421-32429.)。

[0236] 指標とされるタンパク質がOrc3である場合は、例えば、該タンパク質を含むOrc1-6の複合体形成、該タンパク質のOri特異的な結合を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JCB(1998)273,32421-32429.)。

[0237] 指標とされるタンパク質がCdc6である場合は、例えば、Cell-free DNA replication assayを用いて、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(EMBO(1998)17,7219-7229.)。

[0238] 指標とされるタンパク質がCdt1である場合は、例えば、該タンパク質とGemininとの結合を検出することによって、あるいはCell-free DNA replication assayを用いて、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Science(2000)290,2309-2312.)。

[0239] 指標とされるタンパク質がGemininである場合は、例えば、Cell-free DNA replication assayを用いたDNA複製阻害活性を検出することにより、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Cell(1998)93,1043-1053.)。

[0240] 指標とされるタンパク質がMcm3である場合は、例えば、該タンパク質を含むMcm2,3,5複合体によるMcm4,6,7のhelicase活性阻害活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(1998)273,8369-8375.)。

[0241] 指標とされるタンパク質がMcm4である場合は、例えば、該タンパク質を含むMcm4,6,7複合体によるssDNA結合活性、ATPase活性、Helicase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(1997)272,24508-24513.)。

[0242] 指標とされるタンパク質がMcm5である場合は、例えば、該タンパク質を含むMcm2,3,5複合体によるMcm4,6,7のhelicase活性阻害活性を検出することによって、

該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(1998)273,8369-8375.)。

- [0243] 指標とされるタンパク質がMcm6である場合は、例えば、該タンパク質を含むMcm4,6,7複合体によるssDNA結合活性、ATPase活性、Helicase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(1997)272,24508-24513.)。
- [0244] 指標とされるタンパク質がMcm7である場合は、例えば、該タンパク質を含むMcm4,6,7複合体によるssDNA結合活性、ATPase活性、Helicase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(1997)272,24508-24513.)。
- [0245] 指標とされるタンパク質がMcm8である場合は、例えば、該タンパク質とMcm4,6,7複合体との結合を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Nucleic.Acids Res.(2003)31,570-579.)。
- [0246] 指標とされるタンパク質がCdc7である場合は、例えば、MCM複合体を基質とした該タンパク質のリン酸化活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(EMBO(1997)16,4340-4351.)。
- [0247] 指標とされるタンパク質がcdc5である場合は、例えば、該タンパク質の転写活性化能を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(1998)273,4666-4671.)。
- [0248] 指標とされるタンパク質がPsflである場合は、例えば、該タンパク質を含むPsfl-4とSld5によるGINS複合体形成、GINSによるDpb11,Sld3,Cdc47のOri配列への結合を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Genes&Dev.(2003)17,1153-1165.)。
- [0249] 指標とされるタンパク質がPsf2である場合は、例えば、該タンパク質を含むPsfl-4とSld5によるGINS複合体形成、GINSによるDpb11,Sld3,Cdc47のOri配列への結合を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Genes&Dev.(2003)17,1153-1165.)。
- [0250] 指標とされるタンパク質がPsf3である場合は、例えば、該タンパク質を含むPsfl-4とSld5によるGINS複合体形成、GINSによるDpb11,Sld3,Cdc47のOri配列への結合を検

出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Genes&Dev. (2003)17,1153-1165.)。

[0251] 指標とされるタンパク質がCdc45である場合は、例えば、該タンパク質とMcm7、Pola p70との結合を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Eur.J.Biochem.265,936-943.)。

[0252] 指標とされるタンパク質がPola p180である場合は、例えば、該タンパク質を含むPola p180、p70、p58、p48による4量体形成、あるいはこの複合体のPrimerse、Polymerase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Eur.J.Biochem.222,781-793.)。

[0253] 指標とされるタンパク質がPola p70である場合は、例えば、該タンパク質を含むPola p180、p70、p58、p48による4量体形成、あるいはこの複合体のPrimase、Polymerase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Eur.J.Biochem.222,781-793.)。

[0254] 指標とされるタンパク質がPola Spp1(p58)である場合は、例えば、該タンパク質を含むPola p180、p70、p58、p48による4量体形成、あるいはこの複合体のPrimase、Polymerase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Eur.J.Biochem.222,781-793.)。

[0255] 指標とされるタンパク質がRPA70である場合は、例えば、該タンパク質のssDNAへの結合を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Nature(1997)385,176-181.)。

[0256] 指標とされるタンパク質がRPA34である場合は、例えば、該タンパク質のssDNAへの結合を検出することによって、あるいは該タンパク質を含むin vitro replication assayを用いて、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる。JBC(1990)265,3177-3182.

[0257] 指標とされるタンパク質がPCNAである場合は、例えば、該タンパク質を含むin vitro replication assayを用いて、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC (1990) 265,3177-3182.)。

[0258] 指標とされるタンパク質がLigase1である場合は、例えば、該タンパク質を含むDNA

ligation活性によって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる
(PNAS(1990)87,6679-6683.)。

[0259] 指標とされるタンパク質がPole Pol2である場合は、例えば、該タンパク質を含むPole精製標品のDNA合成活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(PNAS 1990 87: 6664-6668.)。

[0260] 指標とされるタンパク質がPole Dpb3である場合は、例えば、該タンパク質を含むPole精製標品のDNA合成活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(PNAS 1990 87: 6664-6668.)。

[0261] 指標とされるタンパク質がTopoisomerase1である場合は、例えば、plasmid DNAを基質とした該タンパク質のリラクシング活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(PNAS(1988)85,2543-2547.)。

[0262] 指標とされるタンパク質がTDP1である場合は、例えば、ssDNAの3'末端に結合させたチロシン残基の、該タンパク質による遊離活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Science(1999)286,552-555.)。

[0263] 指標とされるタンパク質がFEN1である場合は、例えば、5'-overhanging flap構造をもつ二本鎖DNAを基質とした、flap構造の除去活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Genomics(1995)25,220-225.)。

[0264] 指標とされるタンパク質がPold P125である場合は、例えば、該タンパク質とPold P68, P50, P12とのヘテロ4量体形成を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Biochemistry. 2002 41(44):13133-13142.)。

[0265] 指標とされるタンパク質がPole Dpb4である場合は、該タンパク質を含むPole精製標品のDNA合成活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(PNAS 1990 87: 6664-6668.)。

[0266] 指標とされるタンパク質がDNA2である場合は、例えば、ssDNA結合能、ATPase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(PNAS(1995)92,7642-7646.)。

[0267] 指標とされるタンパク質がATRである場合は、例えば、UV損傷部位をもった二本鎖DNAへの該タンパク質の結合、あるいはp53タンパク質を基質とした該タンパク質によ

るリン酸化を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(PNAS (2002) 99, 6673-6678.)。

[0268] 指標とされるタンパク質がChk1である場合は、例えば、p53タンパク質を基質とした該タンパク質によるリン酸化を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Genes Dev. (2000) 14, 289-300)。

[0269] 指標とされるタンパク質がNBS1である場合は、例えば、DNA損傷に応答した該タンパク質とMre11/Rad50との複合体形成を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Cell(1998)93,477-486.)。

[0270] 指標とされるタンパク質がHus1である場合は、例えば、DNA損傷に応答した該タンパク質とRad1,Rad9との複合体形成を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JCB(1999)274,567-570.)。

[0271] 指標とされるタンパク質がRad1である場合は、例えば、DNA損傷に応答した該タンパク質とRad1,Rad9との複合体形成を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JCB(1999)274,567-570.)。

[0272] 指標とされるタンパク質がMad2である場合は、例えば、該タンパク質とMad1との複合体形成を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Science274 (1996)246-248)。

[0273] 指標とされるタンパク質がCtf18である場合は、例えば、該タンパク質とCtf8,Dcc1との複合体形成を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(2003)30051-30056.)。

[0274] 指標とされるタンパク質がScc1である場合は、例えば、該タンパク質とSmc1,Smc3,Scc1との14S cohesin複合体形成を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JCB(2000)151,749-761.)。

[0275] 指標とされるタンパク質がScc3である場合は、例えば、該タンパク質とSmc1,Smc3,Scc1との14S cohesin複合体形成を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JCB(2000)151,749-761.)。

[0276] 指標とされるタンパク質がUNGである場合は、例えば、ssDNA中のdeoxyuridineを基質としたグリコシラーゼ活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(

測定) することができる(EMBO(1989)8,3121-3125.)。

- [0277] 指標とされるタンパク質がMBD4である場合は、例えば、該タンパク質のメチル化 CpG配列への結合活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定) することができる(MCB(1998)18,6538-6547.)。
- [0278] 指標とされるタンパク質がNTH1である場合は、例えば、該タンパク質のグリコシラーゼ活性やAP lyase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定) することができる(PNAS(1997)94,109-114.)。
- [0279] 指標とされるタンパク質がNEIL2である場合は、例えば、塩基に損傷をもったDNAを基質とした該タンパク質のAP lyase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定) することができる(JBC(2002)277,30417-30420.)。
- [0280] 指標とされるタンパク質がNEIL3である場合は、例えば、8-oxo, AP site, 5-ヒドロキシシトシンを含むDNAを基質とした該タンパク質のAP lyase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定) することができる(Nucleic Acids Res.(2002)316,853-866.)。
- [0281] 指標とされるタンパク質がAPE2である場合は、例えば、該タンパク質のAP endonuclease活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定) することができる(JMB(2002)316,853-866.)。
- [0282] 指標とされるタンパク質がPARP1である場合は、例えば、ADP-riboseを基質とした該タンパク質のニックDNA へのADP-ribose polymerase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定) することができる(JBC(1990)35,21907-21913.)。
- [0283] 指標とされるタンパク質がPNKである場合は、例えば、oligo(dT)を基質にした polynucleotide kinase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定) することができる(JBC(1999)274,24176-24186.)。
- [0284] 指標とされるタンパク質がPolbである場合は、例えば、該タンパク質のgap-filling polymerase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定) することができる(Biochemistry(1988)901-909.)。
- [0285] 指標とされるタンパク質がMGMTである場合は、例えば、該タンパク質によるメチル化DNAからのメチル基転移反応を検出することによって、該タンパク質の機能を評価

(測定) することができる(JBC(1990)265,14754-14762.)。

- [0286] 指標とされるタンパク質がTDGである場合は、例えば、該タンパク質によるミスマッチチミジンの切断活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(1993)268,21218-21224.)。
- [0287] 指標とされるタンパク質がMSH2である場合は、例えば、該タンパク質のミスマッチを含む二本鎖DNAへの結合を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Cancer Res.(1994)54,5539-5542.)。
- [0288] 指標とされるタンパク質がPMS1である場合は、例えば、該タンパク質のDNA結合能、ATPase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Nucleic Acids Res. (2003) 31, 2025-2034.)。
- [0289] 指標とされるタンパク質がPMS2である場合は、例えば、該タンパク質とMLH1との相互作用を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Hum.Mutat.19,108-113.)。
- [0290] 指標とされるタンパク質がExonuclease1である場合は、例えば、該タンパク質のexonuclease活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Nucleic Acids Res.(1998)26,3762-3768.)。
- [0291] 指標とされるタンパク質がXPCである場合は、例えば、該タンパク質のssDNAへの結合能を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(EMBO(1994)15,1831-1843.)。
- [0292] 指標とされるタンパク質がRad23Aである場合は、例えば、該タンパク質のN末端での26S proteasomeとの相互作用、C末端でのRad4との結合を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Nature(1998)391,715-718.)。
- [0293] 指標とされるタンパク質がRad23Bである場合は、例えば、該タンパク質のN末端での26S proteasomeとの相互作用、C末端でのRad4との結合を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Nature(1998)391,715-718.)。
- [0294] 指標とされるタンパク質がCSAである場合は、例えば、該タンパク質とCSB,TFIIHとの相互作用を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Cell(1995)82,555-564.)。

- [0295] 指標とされるタンパク質がCSBである場合は、例えば、該タンパク質のDNA依存的ATPase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(1997)272,1885-1890.)。
- [0296] 指標とされるタンパク質がXPGである場合は、例えば、バブル構造をもつpartial duplexを基質とした該タンパク質のendonuclease活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Nature(1994)371,423-425.)。
- [0297] 指標とされるタンパク質がXPFである場合は、例えば、該タンパク質とERCC1との複合体形成、stem-loop構造DNAを基質とした該タンパク質のendonuclease活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Cell(1996)86,811-822.)。
- [0298] 指標とされるタンパク質がDDB1である場合は、例えば、該タンパク質のUV照射DNAへの結合を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(1993)268,21293-21300.)。
- [0299] 指標とされるタンパク質がXAB2である場合は、例えば、該タンパク質とXPA, CSA, CSB, RNA polymeraseIIとの相互作用を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(2000)275,34931-34937.)。
- [0300] 指標とされるタンパク質がDDB2である場合は、例えば、該タンパク質のUV損傷DNAへの結合活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(DNA repair(2002)6,601-616.)。
- [0301] 指標とされるタンパク質がTopoisomeraseIIIbである場合は、例えば、RecQ5 helicaseとの相互作用を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Nucleic Acids Res. (2000) 28, 1647-1655.)。
- [0302] 指標とされるタンパク質がRad51である場合は、例えば、該タンパク質のssDNA依存性ATPase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(2002)277,14417-14425.)。
- [0303] 指標とされるタンパク質がRad51Dである場合は、例えば、該タンパク質を含むRad51B/ Rad51C/ Rad51D/Xrcc2複合体のssDNAへの結合能、ssDNA依存的ATPase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することがで

きる(Genes.Dev.(2001)15,329-3307.)。

- [0304] 指標とされるタンパク質がXRCC2である場合は、例えば、該タンパク質を含むRad51B/ Rad51C/ Rad51D/Xrcc2複合体のssDNAへの結合能、ssDNA依存的ATPase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Nature(1999)401,397-399.)。
- [0305] 指標とされるタンパク質がRad54である場合は、例えば、該タンパク質のDNA依存的ATPase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Curr.Biol(1996)6,828-838.)。
- [0306] 指標とされるタンパク質がBRCA1である場合は、例えば、該タンパク質のE3 ubiquitin ligase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(EMBO J. (2002) 21, 6755-6762.)。
- [0307] 指標とされるタンパク質がKu80である場合は、例えば、該タンパク質のDNA末端への結合、およびKu70との複合体形成を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(PNAS(1990)87,1777-1781.)。
- [0308] 指標とされるタンパク質がXRCC4である場合は、例えば、該タンパク質とLigase4との結合、および該タンパク質のDNA結合を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Cell(1995)83,1079-1089.)。
- [0309] 指標とされるタンパク質がUbc13である場合は、例えば、該タンパク質のユビキチンconjugating活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Cell(1999)96,645-653.)。
- [0310] 指標とされるタンパク質がRad6Aである場合は、例えば、該タンパク質とRad18との複合体形成を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(PNAS(1991)88,8865-8869.)。
- [0311] 指標とされるタンパク質がRad18である場合は、例えば、該タンパク質のDNA結合を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Nucleic.Acids Res.(2000)28,2847-2854.)。
- [0312] 指標とされるタンパク質がFBH1である場合は、例えば、該タンパク質のhelicase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる

(JCB(2002)277,24530-24537.)。

- [0313] 指標とされるタンパク質がPoliである場合は、例えば、ミスマッチpartial duplex DNAからのprimer extension活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(2001)276,30615-30622.)。
- [0314] 指標とされるタンパク質がDUT1である場合は、例えば、該タンパク質のdUTPase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(J. Biol. Chem., (1996) 271, 7745-7751.)。
- [0315] 指標とされるタンパク質がTin2である場合は、例えば、該タンパク質とTRF1との相互作用を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Nat Genet(1999)23,405-412.)。
- [0316] 指標とされるタンパク質がSir2である場合は、例えば、該タンパク質のヒストン脱アセチル化アッセイによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Gene(1999)234,161-168.)。
- [0317] 指標とされるタンパク質がElg1である場合は、例えば、該タンパク質とRFC2、RFC3、RFC4、RFC5との複合体形成を検出する事によって、該タンパク質の機能を評価する事ができる(EMBO J. (2003) 22, 4304-4313.)。
- [0318] 指標とされるタンパク質がTIMELESSである場合は、例えば、該タンパク質とmammalian clock Period proteins (mPERs)との複合体形成を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Science (2003) 302, 439-442.)。
- [0319] 指標とされるタンパク質がPif1である場合は、例えば、該タンパク質のATP依存的 helicase活性、DNA依存的ATPase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる。
- [0320] 指標とされるタンパク質がMms4である場合は、例えば、該タンパク質とMus81タンパク質と複合体が有するendonuclease活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(2003)278,21715-21720.)。
- [0321] 指標とされるタンパク質がTopoisomeraseIIIaである場合は、例えば、該タンパク質のtopoisomerase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Nucleic Acids Res.(2002)30,4823-4829.)。

- [0322] 指標とされるタンパク質がMus81である場合は、例えば、該タンパク質とMms4タンパク質との複合体が有するendonuclease活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(JBC(2003)278,21715-21720.)。
- [0323] 指標とされるタンパク質がSIRT1である場合は、例えば、該タンパク質のNAD依存性 histone deacetylaseを検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Nature(2000)403,795-800.)。
- [0324] 指標とされるタンパク質がESP1である場合は、例えば、該タンパク質のプロテアーゼ活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(FEBS Lett.(2002)528,246-250.)。
- [0325] 指標とされるタンパク質がMPGである場合は、例えば、該タンパク質のglycosylase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Carcinogenesis(1996)17,2177-2182.)。
- [0326] 指標とされるタンパク質がPollである場合は、例えば、該タンパク質のDNA polymerase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(J Biol Chem.(2000)275,31233-31238.)。
- [0327] 指標とされるタンパク質がPolmである場合は、例えば、該タンパク質のDNA polymerase活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(J Biol Chem.(2002)277,44582-44587.)。
- [0328] 指標とされるタンパク質がEndoVである場合は、例えば、該タンパク質のendonuclease活性を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる。
- [0329] 指標とされるタンパク質がKNTC2 (NDC80)である場合は、例えば、該タンパク質とヒトNuf2タンパク質との複合体形成を検出することによって、該タンパク質の機能を評価(測定)することができる(Mol Biol Cell.(2005)16,519-531.)。
- [0330] 次いで、被検化合物の非存在下において測定した場合と比較して、染色体安定化関連遺伝子によってコードされるタンパク質の活性を低下させる化合物を選択する。上記方法に使用する該遺伝子によってコードされるタンパク質は、変異を含まない全長タンパク質であることが好ましいが、該タンパク質と同等の活性を有するものであれ

ば、一部のアミノ酸配列が置換および／あるいは欠失されたタンパク質であってもよい。

- [0331] また本発明は、本発明の癌細胞特異的アポトーシス誘導剤を有効成分として含有する抗癌剤(癌治療のための医薬組成物)を提供する。
- [0332] さらに本発明は、アポトーシス誘導剤もしくは抗癌剤を医薬組成物として製造する方法を提供する。本方法においてはまず、本発明の上記スクリーニング方法によって、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤となる化合物を選択する。次いで、選択された化合物を薬学上許容される担体と混合する。これら薬学上許容される担体として、例えば界面活性剤、賦形剤、着色料、着色料、保存料、安定剤、緩衝剤、懸濁剤、等張化剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、流動性促進剤、矯味剤等が挙げられるが、これらに制限されず、その他常用の担体を適宜使用することができる。
- [0333] 本発明のアポトーシス誘導剤もしくは抗癌剤等の薬剤の製剤化にあたっては、常法に従い、必要に応じて上記担体を添加することができる。具体的には、軽質無水ケイ酸、乳糖、結晶セルロース、マンニトール、デンプン、カルメロースカルシウム、カルメロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、中鎖脂肪酸トリグリセライド、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60、白糖、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチ、無機塩類等を挙げるることができる。
- [0334] 上記薬剤の剤型の種類としては、例えば経口剤として錠剤、粉末剤、丸剤、散剤、顆粒剤、細粒剤、軟・硬カプセル剤、フィルムコーティング剤、ペレット剤、舌下剤、ペースト剤等、非経口剤として注射剤、坐剤、経皮剤、軟膏剤、硬膏剤、外用液剤等が挙げられ、当業者においては投与経路や投与対象等に応じた最適の剤型を選ぶことができる。染色体安定化関連遺伝子(例えば、上記のいずれかに記載の遺伝子)によってコードされるタンパク質を発現するDNA、染色体安定化関連遺伝子を抑制するアンチセンスRNA、リボザイム、siRNAを発現するDNAを生体内に投与する場合、レトロウイルス、アデノウイルス、センダイウイルスなどのウイルスベクターやリポソームなどの非ウイルスベクターを利用することができる。また、染色体安定化関連遺伝子を抑制する合成アンチセンス核酸や合成siRNAを生体内に投与する場合、リポソ

ーム、高分子ミセル、カチオン性キャリアなどの非ウイルスベクターを利用することができる。投与方法としては、例えばin vivo法およびex vivo法を挙げることができる。

[0335] 本発明には、アポトーシス誘導作用を有する上記の医薬組成物も含まれる。

本発明の薬剤または医薬組成物の投与量は、剤型の種類、投与方法、患者の年齢や体重、患者の症状等を考慮して、最終的には医師の判断により適宜決定することができる。

[0336] また本発明は、所望の癌細胞についてアポトーシスを誘導する方法に関する。該方法の好ましい態様としては、アポトーシスを誘導させたい細胞(対象細胞)へ、本発明のアポトーシス誘導剤を投与する(接触させる)工程を含む、該細胞のアポトーシスを誘導する方法である。例えば、本発明のアポトーシス誘導剤の有効成分が核酸である場合には、該薬剤(核酸)を対象細胞内へ導入させることが好ましい。

[0337] さらに本発明は、本発明のアポトーシス誘導剤もしくは本発明の抗癌剤を個体(癌患者等)へ投与する工程を含む、癌の治療方法に関する。

上記の治療方法における個体とは、通常、癌疾患の患者を指し、特に制限されないが、好ましくはヒトである。個体への投与は、一般的には、例えば、動脈内注射、静脈内注射、皮下注射など当業者に公知の方法により行うことができる。投与量は、患者の体重や年齢、投与方法などにより変動するが、当業者であれば適当な投与量を適宜選択することが可能である。また、該化合物がDNAによりコードされうるものであれば、該DNAを遺伝子治療用ベクターに組み込み、遺伝子治療を行うことも考えられる。遺伝子治療用ベクターとしては、例えば、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクターなどのウイルスベクターやリポソームなどの非ウイルスベクターなどを例示することができる。該ベクターを利用して、ex vivo法やin vivo法などにより患者へ目的のDNAの投与を行うことができる。また本発明の核酸を直接、個体へ投与することも可能である。

[0338] さらに本発明は、染色体の安定化を阻害する化合物(例えば、本発明の遺伝子の発現、または該遺伝子によってコードされるタンパク質の機能を抑制する化合物等)のアポトーシス誘導剤もしくは抗癌剤の製造における使用に関する。

[0339] なお、本明細書において引用された全ての先行技術文献は、参照として本明細書

に組み入れられる。

実施例

[0340] 以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明は、これに限定されるものではない。

[0341] 本実施例において「染色体安定化に関連する遺伝子」として用いた遺伝子は、以下に示す97個の遺伝子である：

APE2、ATR、BRCA1、Chk1、Cdc5、Cdc6、Cdc7、Cdc45、Cdt1、CSA、CSB、Ctf18、DDB1、DDB2、DNA2、DUT、Elg1、EndoV、Esp1、Exonuclease1、FBH1、FEN1、Geminin、Hus1、KNTC2 (NDC80)、Ku80、Ligase1、Mad2、MBD4、Mcm3、Mcm4、Mcm5、Mcm6、Mcm7、Mcm8、Mcm10、MGMT、MLH3、Mms4、MPG、MSH2、Mus81、NBS1、NEIL2、NEIL3、NTH1、Orc1、Orc3、PARP1、PCNA、Pif1、PMS1、PMS2、PNK、Pola p180、Pola p70、Pola Spp1(Prim2a)、Polb、Pold p125、Pole Dpb3、Pole Dpb4、Pole Pol2、Poli、Poll、Polm、Psf1、Psf2、Psf3、Rad1、Rad18、Rad23A、Rad23B、Rad51、Rad51D、Rad54、Rad6A、RPA34、RPA70、Scc1、Scc3、Sir2、SIRT1 (Sirtuin)、TDG、TDP1、TIMELESS、Tin2、Topoisomerase I、Topoisomerase IIIa、Topoisomerase IIIb、Ubc13、UNG、XAB2、XPC、XPF、XPG、Xrcc2、XRCC4

[0342] 〔実施例1〕 細胞培養

ヒト培養細胞として、HeLa(ヒト子宮頸部癌細胞)、TIG3(正常二倍体線維芽細胞)を使用した。これらのヒト培養細胞を10% 牛胎児血清、50 μ g/mlゲンタマイシンを含むDulbecco's modified Eagle's mediumで37度、5% CO₂条件下で培養した。

[0343] 〔実施例2〕 染色体安定化に関連する遺伝子の発現抑制が癌細胞の増殖に及ぼす影響の検討

染色体安定化に関連する遺伝子の発現抑制が癌細胞の増殖に及ぼす影響を検討する目的で、上記各遺伝子に対するsiRNAを選定した。siRNAの合成は、株式会社キアゲン(東京)および、Dharmacon, Inc. (Colorado, USA)において行われた。

上記各遺伝子のsiRNA配列を図1～4の「siRNA配列」の列に示す。なお、配列表にはセンス鎖のみ記載し、対応するアンチセンス鎖は配列表から省略した。また、各siRNA配列の「dTdT」の記載は配列表では「TT」と省略した。

[0344] これらsiRNAをヒト子宮頸部癌由来HeLa細胞に導入した。具体的には、siRNAのトランスフェクションを行う24時間前に、24ウェルプレートにHeLa細胞を播種して生着させ、20～50%コンフルエントの状態で行ったトランスフェクションを行った。トランスフェクション試薬として、Oligofectoamine (Invitrogen)を使用し、添付のマニュアルに従ってトランスフェクションを行った。導入48時間後に上記各遺伝子のmRNAの発現をTaqman PCRにより定量した。

[0345] 詳しくは、siRNAをトランスフェクション後、48時間の細胞から、RNeasy Mini Kit (Qiagen)を用いて、全RNAを抽出した。定量的PCRには、ABI PRISM 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems)を用いた。上記各遺伝子および、 β -アクチン遺伝子のRT-PCR用プライマーおよび、TaqManプローブを、Applied Biosystemsより購入した。RT-PCR反応試薬として、TaqMan One-Step RT-PCR Master Mix Reagents Kit (Applied Biosystems)を用い、添付のマニュアルに従いRT-PCRを行った。 β -アクチンを標準として用いて、比較定量を行った。

[0346] コントロールRNA (NS)を導入した細胞における各mRNAの発現を100%として、各siRNAを導入した細胞における各mRNAの発現を比較したところ、図1～4の「HeLa細胞における遺伝子発現抑制」の列に示すように、各遺伝子に対するsiRNAはそれぞれのmRNA発現を効率的に抑制した。

[0347] [実施例3] HeLa細胞の生存率

実施例2で選定した上記各遺伝子に対するsiRNAをそれぞれHeLa細胞に導入し、導入4日後の細胞生存率をMTTアッセイにより調べた。導入96時間後の生細胞数を、生細胞数測定試薬SF (ナカライテスク)を用いて測定した。

その結果、図1～4の「MTTアッセイ(HeLa細胞)」の列に示すように、上記各遺伝子のsiRNAを導入したHeLa細胞において、顕著な生存率の低下が認められた。

[0348] [実施例4] siRNAのHeLa細胞におけるアポトーシス誘導効果

上記各遺伝子に対するsiRNAを導入したHeLa細胞における生存率の低下がアポトーシスによるものかどうかを調べた。各遺伝子に対するsiRNAをそれぞれHeLa細胞に導入し、TUNEL法を用いて導入48時間後のHeLa細胞におけるアポトーシス誘導を検討した。

[0349] 結果、図1～4の「Tunel法」の列、および図5から図9の写真に示すように、上記各遺伝子に対するsiRNAを導入したHeLa細胞全てにおいて、顕著にアポトーシスの誘導が認められた。一方、コントロールRNA(NS)が導入されたHeLa細胞ではアポトーシスの誘導は認められなかった(図5の左上「非特異的」)。

即ち、本発明の上記の各遺伝子の発現を抑制することにより、効果的なアポトーシスの誘導が起こることが明らかとなった。

[0350] [実施例5] siRNAが正常細胞の増殖に及ぼす影響

上記各遺伝子に対するsiRNAが正常細胞であるヒト胎児肺由来二倍体線維芽細胞株TIG3細胞の増殖に及ぼす影響を検討した。トランスフェクション試薬としてLipofectoamine2000 (Invitrogen)を用い、TIG3細胞に上記各遺伝子に対するsiRNAをそれぞれ導入し、導入48時間後に上記各遺伝子のmRNAの発現をTaqman PCRにより測定した。この実験ではコントロールRNA(NS)を導入したTIG3細胞における各mRNAの発現を100%として、各siRNAを導入したTIG3細胞における各mRNAの発現を比較した。

[0351] その結果、図1～4の「TIG3細胞における遺伝子発現抑制」の列に示すように、各siRNAを導入したTIG3細胞では上記各遺伝子のmRNAの発現は、コントロールRNA(NS)を導入したTIG3細胞におけるこれらのmRNAの発現と比較して、顕著に抑制されていた。

[0352] [実施例6] TIG3細胞の生存率

上記のsiRNAをそれぞれTIG3細胞に導入し、導入4日後の細胞生存率をMTTアッセイにより調べた。その結果、図1～4の「MTTアッセイ(TIG3細胞)」の列に示すように、上記各遺伝子に対するsiRNAを導入したTIG3細胞の生存率は、該siRNAを導入したHeLa細胞の生存率と比較して高く、顕著な低下は認められなかった。

上述の結果から、本発明の遺伝子の発現を抑制することによって、癌細胞特異的にアポトーシスが誘導されるものと考えられる。

[0353] [実施例7] 抗シングル鎖DNA抗体を用いたゲノム崩壊過程の解析

anti-ssDNA(抗シングル鎖DNA)抗体は、一本鎖DNAを特異的に認識する抗体である。本来、二重鎖からなるDNAにおいて、DNA損傷等の染色体不安定化によりゲノ

ム構造が崩壊すると、部分的に一本鎖領域が露出されると言われている。したがって本抗体を用いることにより、このゲノムの崩壊過程を特異的に認識し、可視化することが可能である。

- [0354] スライドガラス上にHeLa細胞を播種し、上記各遺伝子に対するsiRNAをトランスフェクションした。siRNA導入約30時間後に細胞をホルマリンにて固定し、一次抗体としてanti-ssDNA抗体を反応させた。anti-ssDNA抗体に対する蛍光標識抗体を二次抗体として用い、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。その結果、図10～27に示すように、一本鎖DNAを有する核が緑色に染色された。

即ち、上記の各遺伝子の発現を抑制することにより、一本鎖DNAの生成を伴うDNA損傷が生じることが確認された。

- [0355] [実施例8] 細胞培養

下記の実施例においては、「染色体安定化に関連する遺伝子」として、以下に示す11個の遺伝子を用いた。

Pif1、Mms4、TopoisomeraseIIIa、Mus81、SIRT1 (Sirtuin)、Esp1、MPG、Poll、Polm、EndoV、KNTC2(NDC80)

また、ヒト培養細胞として、実施例1に記載のHeLa細胞およびTIG3細胞の他に、正常細胞としてヒト皮膚由来二倍体線維芽細胞(HDF細胞)を使用した。培養は、実施例1と同様の条件にて行った。

- [0356] [実施例9] 染色体安定化に関連する遺伝子の発現抑制が癌細胞の増殖に及ぼす影響の検討

染色体安定化に関連する上記11個の遺伝子の発現抑制が癌細胞の増殖に及ぼす影響を検討する目的で、上記各遺伝子に対するsiRNAを選定した。siRNAの合成は、実施例2と同様に行った。

上記11個の各遺伝子のsiRNA配列を図28～32の「siRNA配列」の列に示す。なお、配列表にはセンス鎖のみ記載し、対応するアンチセンス鎖は配列表から省略した。

これらsiRNAをHeLa細胞へ導入した。具体的には、実施例2に記載の条件と同様にして実施した。導入48時間後に上記11遺伝子のmRNAの発現をTaqman PCRにより定量した。定量方法は実施例2と同様にして行った。

コントロールRNA(NS)を導入した細胞における各mRNAの発現を100%として、各siRNAを導入した細胞における各mRNAの発現を比較したところ、図28～30の「40nM HeLa細胞における遺伝子発現抑制」の列、図31のHeLa細胞における「mRNA発現」の列、あるいは図32のHeLa細胞における「発現」の列に示すように、各遺伝子に対するsiRNAはそれぞれのmRNA発現を効率的に抑制した。

[0357] [実施例10] HeLa細胞の生存率

上記11個の各遺伝子に対するsiRNAをそれぞれHeLa細胞に導入し、導入4日後の細胞生存率をMTTアッセイにより調べた。導入96時間後の生細胞数を、生細胞数測定試薬SF(ナカライテスク)を用いて測定した。

その結果、図28～30の「40nM HeLa細胞における増殖抑制」の列、図31のHeLa細胞における「増殖抑制」の列、あるいは図32のHeLa細胞における「増殖」の列に示すように、上記各遺伝子のsiRNAを導入したHeLa細胞において、顕著な生存率の低下が認められた。

[0358] [実施例11] siRNAのHeLa細胞におけるアポトーシス誘導効果

上記11個の各遺伝子に対するsiRNAを導入したHeLa細胞における生存率の低下がアポトーシスによるものかどうかを調べた。各遺伝子に対するsiRNAをそれぞれHeLa細胞に導入し、TUNEL法を用いて導入48時間後のHeLa細胞におけるアポトーシス誘導を検討した。

結果、図31のHeLa細胞における「アポトーシス」の列、図32のHeLa細胞における「アポトーシス」の列、さらに図33および34の「HeLa細胞」の写真、および図35のHeLa細胞のTUNEL染色の写真に示すように、上記各遺伝子に対するsiRNAを導入したHeLa細胞全てにおいて、顕著にアポトーシスの誘導が認められた。

即ち、本発明の上記の各遺伝子の発現を抑制することにより、効果的なアポトーシスの誘導が起こることが明らかとなった。

[0359] [実施例12] siRNAが正常細胞の増殖に及ぼす影響

上記11個の各遺伝子に対するsiRNAが正常細胞であるヒト胎児肺由来二倍体線維芽細胞株TIG3細胞あるいはヒト皮膚繊維芽細胞株HDF細胞の増殖に及ぼす影響を検討した。トランスフェクション試薬としてLipofectoamine2000 (Invitrogen)を用い、

TIG3細胞あるいはHDF細胞に上記各遺伝子に対するsiRNAをそれぞれ導入し、導入48時間後に上記各遺伝子のmRNAの発現をTaqman PCRにより測定した。この実験ではコントロールRNA (NS)を導入したTIG3細胞あるいはHDF細胞における各mRNAの発現を100%として、各siRNAを導入したTIG3細胞あるいはHDF細胞における各mRNAの発現を比較した。

[0360] その結果、図28～30の「40 nM TIG3細胞における遺伝子発現抑制」の列、図31のHDF細胞における「mRNA発現」の列、あるいは図32のHDF細胞における「発現」の列に示すように、各siRNAを導入したTIG3細胞あるいはHDF細胞では上記各遺伝子のmRNAの発現は、コントロールRNA (NS)を導入したTIG3細胞あるいはHDF細胞におけるこれらのmRNAの発現と比較して、顕著に抑制されていた。

[0361] [実施例13] TIG3細胞あるいはHDF細胞の生存率

上記11個の各遺伝子のsiRNAをそれぞれTIG3細胞あるいはHDF細胞に導入し、導入4日後の細胞生存率をMTTアッセイにより調べた。その結果、図28～30の「40 nM TIG3細胞における増殖抑制」の列、図31のHDF細胞における「増殖抑制」の列、あるいは図32のHDF細胞の「増殖」の列に示すように、上記各遺伝子に対するsiRNAを導入したTIG3細胞あるいはHDF細胞の生存率は、該siRNAを導入したHeLa細胞の生存率と比較して高く、顕著な低下は認められなかった。

上述の結果から、本発明の遺伝子の発現を抑制することによって、癌細胞特異的にアポトーシスが誘導されるものと考えられる。

[0362] [実施例14] 抗シングル鎖DNA抗体を用いたゲノム崩壊過程の解析

スライドガラス上にHeLa細胞を播種し、Pif1、Mms4、TopoisomeraseIIIa、Mus81、SIRT1 (Sirtuin)、Esp1、MPG、Poll、Polm、EndoVの各遺伝子に対するsiRNAをトランスフェクションした。siRNA導入約30時間後に細胞をホルマリンにて固定し、一次抗体としてanti-ssDNA抗体を反応させた。anti-ssDNA抗体に対する蛍光標識抗体を二次抗体として用い、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。その結果、図36に示すように、一本鎖DNAを有する核が緑色に染色された。

即ち、上記の各遺伝子の発現を抑制することにより、一本鎖DNAの生成を伴うDNA損傷が生じることが確認された。

産業上の利用可能性

- [0363] 本発明の、細胞における染色体安定化を阻害する化合物、あるいは、染色体安定化に関与する遺伝子の機能を阻害する化合物は、癌細胞特異的なアポトーシス誘導作用を有する。該化合物を含む医薬組成物は、アポトーシス誘導作用を機序とする副作用の少ない抗癌剤となるものと考えられる。本発明によって、染色体安定化に関する遺伝子を標的としたアポトーシス誘導作用を機序とする癌細胞特異的な抗癌剤が初めて提供された。
- [0364] ある化合物についてアポトーシス誘導作用を有することが分かった場合であっても、正常細胞に対するアポトーシス誘導作用の有無が不明な化合物は、医薬品として使用することは難しい。該化合物が正常細胞においてもアポトーシス誘導作用が見られる場合、副作用の危険を伴うからである。即ち、アポトーシス誘導作用が癌細胞特異的なものでなければ、実際に医薬品として使用することは、通常困難である。本発明の薬剤(化合物)は、アポトーシス誘導作用が癌細胞特異的である点で、非常に実用的かつ実効性の高い薬剤であると言える。
- [0365] また、染色体安定化の阻害により、癌細胞特異的にアポトーシスが誘導されるメカニズムについて、本発明者らによって見出された知見から、以下のように考察することが可能である。
- [0366] 多くの癌細胞では癌抑制遺伝子であるp53に突然変異や欠損のあることが知られており、またDNA損傷チェックポイント機構に異常が生じて癌化するケースも知られている。p53やDNA損傷チェックポイント機構の異常な癌細胞では、機能的な染色体安定化遺伝子の発現がsiRNA等により抑制され機能しなくなると、染色体安定化機構が破綻して染色体DNAに生じた損傷を修復することができず、このような細胞では、修復されずに残っているDNA損傷が原因でアポトーシスが誘導されるものと考えられる。一方、二倍体線維芽細胞のような正常細胞では、機能的な染色体安定化遺伝子の発現がsiRNA等により抑制され機能しなくなると、p53やDNA損傷チェックポイント機構の作用により細胞周期が一時的に停止して、染色体DNAに生じた損傷が修復されるものと考えられる。
- [0367] 本発明は、癌細胞特異的なアポトーシス誘導剤を提供したことに加えて、癌細胞特

異的なアポトーシス誘導のメカニズムの解明における非常に有用な学術的な知見を提供するものである。

請求の範囲

- [1] 染色体の安定化を阻害する化合物を含む、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤。
- [2] 染色体の安定化の阻害が、以下の(a)～(r)のいずれかの機能を阻害することによる、請求項1に記載のアポトーシス誘導剤。
- (a) ヒト染色体不安定性疾患関連遺伝子
 - (b) 染色体DNAの複製開始、複製フォークの進行を含む染色体DNA複製反応
 - (c) DNA損傷チェックポイント
 - (d) 姉妹染色分体凝集・分離
 - (e) 塩基除去修復
 - (f) ミスマッチ除去修復
 - (g) ヌクレオチド除去修復
 - (h) 相同組換え修復
 - (i) 非相同末端結合修復(非相同組換え修復)
 - (j) 二本鎖DNA切断修復
 - (k) DNA複製後修復(DNA損傷トレランス)
 - (l) DNA架橋損傷修復
 - (m) DNA-タンパク質架橋損傷修復
 - (n) DNAポリメラーゼ
 - (o) ヌクレアーゼ
 - (p) ヌクレオチド浄化
 - (q) クロマチン構造維持
 - (r) テロメア構造維持
- [3] 請求項2の(a)～(r)のいずれかの機能に関与する遺伝子の発現を阻害する化合物を含む、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤。
- [4] 以下のいずれかの遺伝子の発現を抑制する化合物を有効成分として含有する、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤。
- APE2、ATR、BRCA1、Chk1、Cdc5、Cdc6、Cdc7、Cdc45、Cdt1、CSA、CSB、Ctfl8、DDB1、DDB2、DNA2、DUT、Elg1、EndoV、Esp1、Exonuclease1、FBH1、FEN1、

Geminin、Hus1、KNTC2 (NDC80)、Ku80、Ligase1、Mad2、MBD4、Mcm3、Mcm4、Mcm5、Mcm6、Mcm7、Mcm8、Mcm10、MGMT、MLH3、Mms4、MPG、MSH2、Mus81、NBS1、NEIL2、NEIL3、NTH1、Orc1、Orc3、PARP1、PCNA、Pif1、PMS1、PMS2、PNK、Pola p180、Pola p70、Pola Spp1(Prim2a)、Polb、Pold p125、Pole Dpb3、Pole Dpb4、Pole Pol2、Poli、Poll、Polm、Psf1、Psf2、Psf3、Rad1、Rad18、Rad23A、Rad23B、Rad51、Rad51D、Rad54、Rad6A、RPA34、RPA70、Scc1、Scc3、Sir2、SIRT1 (Sirtuin)、TDG、TDP1、TIMELESS、Tin2、Topoisomerase I、Topoisomerase IIIa、Topoisomerase IIIb、Ubc13、UNG、XAB2、XPC、XPF、XPG、Xrcc2、XRCC4

- [5] 請求項4に記載の各遺伝子の塩基配列が、配列番号:1～637、810～908に記載の塩基配列からなる群より選択される、請求項4に記載のアポトーシス誘導剤。
- [6] 請求項4に記載のいずれかの遺伝子の発現を抑制する化合物が、該遺伝子に対してRNAi効果を有する二本鎖RNAである、請求項4に記載のアポトーシス誘導剤。
- [7] 二本鎖RNAが、請求項4に記載のいずれかの遺伝子のmRNAにおける連続する任意の20～30塩基と相同な配列からなるセンスRNAおよび該センスRNAに相補的な配列からなるアンチセンスRNAからなる二本鎖RNAである、請求項6に記載のアポトーシス誘導剤。
- [8] 請求項4に記載のいずれかの遺伝子に対してRNAi効果を有する二本鎖RNAを発現し得るDNAを有効成分として含有する、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤。
- [9] 請求項4に記載のいずれかの遺伝子の発現を抑制する化合物が以下の(a)または(b)である、請求項4に記載のアポトーシス誘導剤。
(a) 前記遺伝子の転写産物、またはその一部に対するアンチセンス核酸
(b) 前記遺伝子の転写産物を特異的に開裂するリボザイム活性を有する核酸
- [10] 請求項4に記載のいずれかの遺伝子によってコードされるタンパク質の機能を抑制する化合物を有効成分として含有する、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤。
- [11] 請求項4に記載のいずれかの遺伝子によってコードされるタンパク質の機能を抑制する化合物が、以下の(a)～(c)のいずれかの化合物である、請求項10に記載のアポトーシス誘導剤。
(a) 前記遺伝子によってコードされるタンパク質に対してドミナントネガティブの性質を

有する変異体タンパク質

(b) 前記遺伝子によってコードされるタンパク質に結合する抗体

(c) 前記遺伝子によってコードされるタンパク質に結合する低分子化合物

[12] 請求項1～11のいずれかに記載のアポトーシス誘導剤を有効成分とする、抗癌剤。

[13] 以下の(a)～(c)の工程を含む、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤のスクリーニング方法。

(a) 請求項4に記載のいずれかの遺伝子によってコードされるタンパク質またはその部分ペプチドと被検化合物を接触させる工程

(b) 前記タンパク質またはその部分ペプチドと被検化合物との結合活性を測定する工程

(c) 前記遺伝子によってコードされるタンパク質またはその部分ペプチドと結合する化合物を選択する工程

[14] 以下の(a)～(c)の工程を含む、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤のスクリーニング方法。

(a) 請求項4に記載のいずれかの遺伝子を発現する細胞もしくは細胞抽出液と、被検化合物を接触させる工程

(b) 前記遺伝子の発現レベルを測定する工程

(c) 被検化合物の非存在下において測定した場合と比較して、該発現レベルを低下させる化合物を選択する工程

[15] 以下の(a)～(c)の工程を含む、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤のスクリーニング方法。

(a) 請求項4に記載のいずれかの遺伝子の転写調節領域とレポーター遺伝子とが機能的に結合した構造を有するDNAを含む細胞または細胞抽出液と、被検化合物を接触させる工程

(b) 前記レポーター遺伝子の発現レベルを測定する工程

(c) 被検化合物の非存在下において測定した場合と比較して、前記発現レベルを低下させる化合物を選択する工程

- [16] 以下の(a)～(c)の工程を含む、癌細胞特異的アポトーシス誘導剤のスクリーニング方法。
- (a) 請求項4に記載のいずれかの遺伝子によってコードされるタンパク質、または該タンパク質を発現する細胞もしくは細胞抽出液と、被検化合物を接触させる工程
 - (b) 前記タンパク質の活性を測定する工程
 - (c) 被検化合物の非存在下において測定した場合と比較して、前記タンパク質の活性を低下させる化合物を選択する工程
- [17] 以下の工程(a)および(b)を含む、請求項4または10に記載のアポトーシス誘導剤を医薬組成物として製造する方法。
- (a) 請求項13～16のいずれかに記載の方法によって、化合物をスクリーニングする工程
 - (b) 該化合物を薬学上許容される担体と混合する工程

[図1]

機能	遺伝子名	アクセッションNo.	siRNA配列	配列番号	HeLa細胞における遺伝子発現抑制	MTTアッセイ (HeLa細胞)	Tunel法	TIG3細胞における遺伝子発現抑制	MTTアッセイ (TIG細胞)
複製開始 (Replication initiation)	Mcm10	NM_182751, NM_018518	ggAAAAUcUgCCACUCUCdtdt	724	2%	52%	YES	15%	110%
	Orc1	NM_004153	ggUUGUCCACCCgAgAUUCdtdt	725	2%	29%	YES	9%	111%
	Orc3	NM_181837, NM_012381	ggAUGAACUGAUGACCAUAdtdt	726	17%	54%	YES	20%	132%
	Cdc6	NM_001254	ggCAAgAAAgAgAAUgguCCdtdt	727	0%	58%	YES	6%	122%
	Cdt1	NM_030928	gCAGCUGgCACAgAUGACgdttdt	728	9%	56%	YES	19%	111%
	Geminin	NM_015895	ggCgCUGUAUGAAgCACUUCdtdt	729	1%	69%	YES	2%	112%
	Mcm3	NM_002388	gAUGCaggAUGACAAUCAgdttdt	730	2%	43%	YES	18%	109%
	Mcm4	NM_005914, X74794	CAAAUGCAUUCUUCAGCUAdtdt	731	15%	49%	YES	24%	107%
	Mcm5	NM_006739	ggAgUUCUgCggCAGUACdtdt	732	7%	47%	YES	10%	95%
	Mcm6	NM_005915	gACCgUAAAgAgAUCCUCdtdt	733	0%	25%	YES	12%	53%
	Mcm7	NM_005916	gCUCAGAggCgUUACAUAAdtdt	734	1%	48%	YES	16%	111%
	Mcm8	NM_032485	gUCUCAAAUgCggAAgAAgdttdt	735	2%	32%	YES	8%	66%
	Cdc7	NM_003503	gUAUGCCUUGgUAGACUUCdtdt	736	6%	36%	YES	16%	93%
	Cdc5	AK128737, NM_001253	gAAGACgUUCAGCgACAACdtdt	737	0%	29%	YES	17%	106%
	Psf1	NM_021067	gUUCUgAggAgAUGAAAgdttdt	738	0%	49%	YES	13%	69%
	Psf2	AF201939	gCUGgAUAAACUUGACCUUGdtdt	739	0%	54%	YES	10%	63%
	Psf3	BC005879	ggACUUUUUGACAACAAGCdtdt	740	5%	69%	YES	20%	94%
	Cdc45	BC005879	gAUGAUGACCUUGAAgUUCdtdt	741	17%	69%	YES	18%	69%

[2]

フォーク進行 (Fork progression)	Pola p180	X06745	gAgCCAAccUgUCgCAAUCdTdT	742	2%	53%	YES	18%	96%
	Pola p70	L24559, NM_002689	gCAUGAACAGgUGgAGAAUdTdT	743	9%	24%	YES	3%	45%
	Pola Spp1(Prim2a)	NM_000947	ggAUAAAuUcAggAUUUCdTdT	744	0%	65%	YES	4%	101%
	RPA70	NM_002945	gACggAAggAgAgUgUUAdTdT	745	0%	25%	YES	7%	96%
	RPA34	NM_002946	gUggCAggCCACCUGAgAUdTdT	746	5%	69%	YES	12%	99%
	PCNA	NM_002592	AAAgCCACUCCACUCUCUdTdT	747	2%	33%	YES	2%	84%
	Elg1	AJ314648	gACUGUACgACACCUUUGdTdT	748	11%	61%	YES	3%	63%
	FEN1	NM_004111	gCACAAGAgCAUCgAggAgdTdT	749	2%	63%	YES	26%	61%
	DNA2	XM_166103	gAUAAUgCCgCUGgAACUUdTdT	750	12%	47%	YES	31%	49%
	Ligase1	NM_000234	gUCCUGgAAgAgCAGAgUgdTdT	751	0%	57%	YES	7%	80%
	Pold p125	M80397	ggUGAgAgCUACgAgAAGdTdT	752	7%	55%	YES	39%	100%
	Pole Pol2	L09561, NM_006231	ggUggCUUUgCCCUAUAAAAdTdT	753	0%	36%	YES	16%	65%
	Pole Dpb3	AF226077, NM_017443	gAggAAgAAgUAgACAACUdTdT	754	2%	29%	YES	11%	68%
	Pole Dpb4	AF261688, NM_019896	gAUgCCUACUGUUgCgCUCdTdT	755	1%	20%	YES	21%	40%
	Topoisomerase I	NM_003286	gUCCUGAgCCAgAUAAcAdTdT	756	0%	40%	YES	12%	92%
	TDP1	NM_018319	gACgAgUAUgAgACAUCAgdTdT	757	9%	45%	YES	12%	44%

[3]

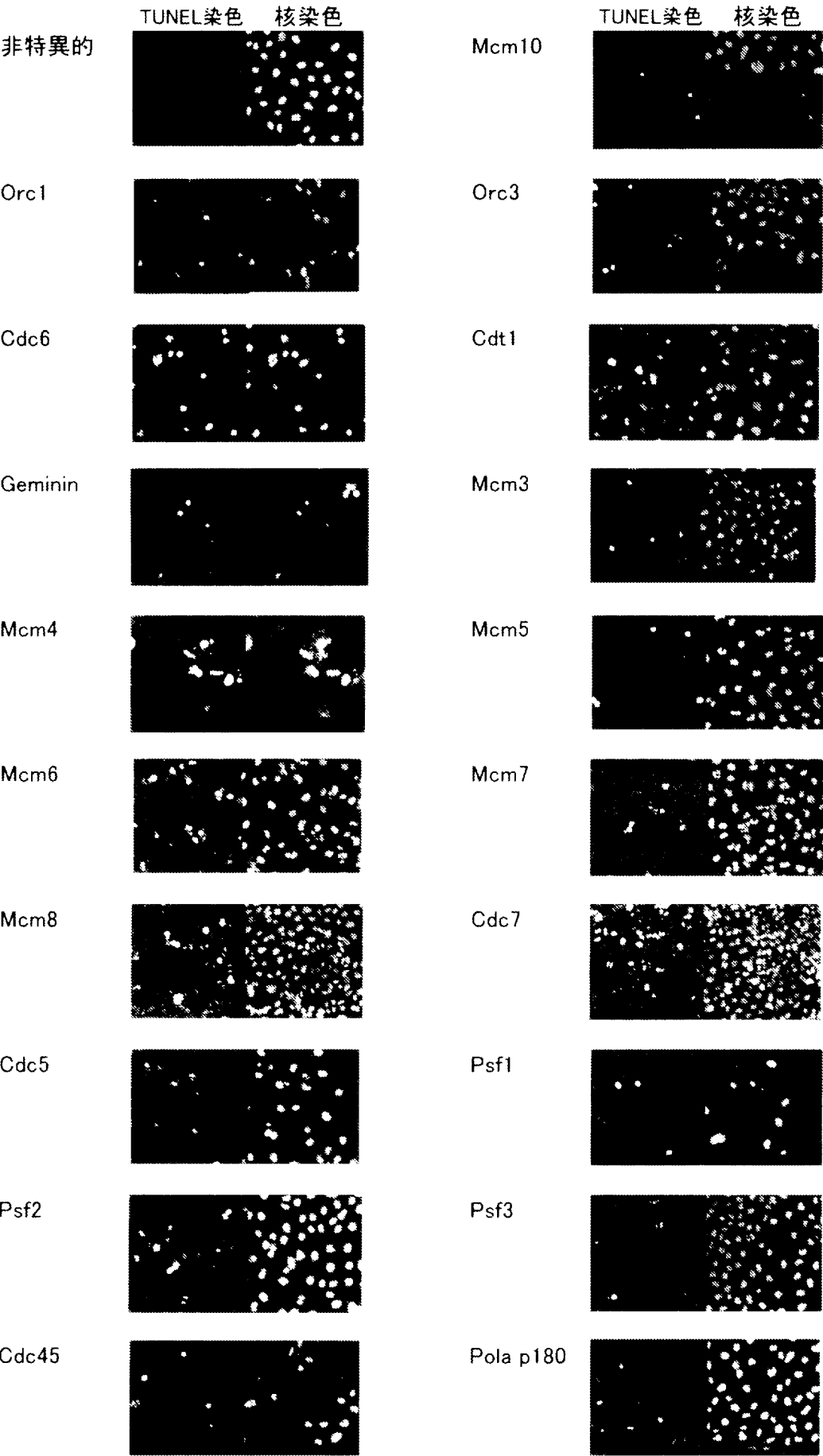
姉妹染色体分離 (Sister chromatid separation)	Ctf18	NM_022092	GUGGAAGAGCCACGAAACAGdTdT	758	10%	41%	YES	22%	66%
	Scc1	NM_006265	GAACCGUACAGUGACAUCAdTdT	759	1%	58%	YES	9%	57%
	Scc3	Z75330.							
細胞周期チェックポイント (Cell cycle checkpoint)		NM_005802	GAGAGUGCUAAACUGCCAAAAdTdT	760	0%	61%	YES	12%	53%
	ATR	NM_001184	GACGGUGUCUAGCUGCGCdTdT	761	1%	61%	YES	19%	88%
	Chk1	NM_001274	GCGUGCCGUAAGACUGUCCAdTdT	762	7%	40%	YES	2%	96%
	NBS1	NM_002485	GCAGUACCAAGAAAGUAGCAAdTdT	763	6%	28%	YES	12%	55%
	Hus1	NM_004507	GCUGGCUAAUGGAGGAGUGdTdT	764	13%	26%	YES	18%	59%
	Rad1	NM_002853	GCUAUUCAUUCCGAGAACdTdT	765	7%	62%	YES	13%	51%
	Topoisomerase IIIb	AF053082.							
		NM_003935	GGUUAACACUGACAAAGACdTdT	766	8%	59%	YES	12%	76%
	Rad6A	NM_003336	GAAUAUCCAAAUAAACCACdTdT	767	8%	66%	YES	12%	98%
	Rad18	NM_020165	GAAAUGAGUGGUUCUACAAdTdT	768	4%	47%	YES	11%	129%
	Ubc13	NM_003348	GUACGUUUCAGUACCAAAAdTdT	769	1%	33%	YES	4%	94%
	FBH1	AF380349	GUUAACAUCAGGAAUCCAdTdT	770	2%	37%	YES	16%	88%
	Mad2	NM_002358	GAUUGGUUAUAACAAGUGUAdTdT	771	0%	29%	YES	10%	69%
	XPC	NM_004628	GAAAGCCUUCUCUCCAAAdTdT	772	1%	29%	YES	29%	35%
	Rad23A	NM_005053	GAUAGAGCUGAGAAggUdTdT	773	3%	28%	YES	8%	81%
	Rad23B	NM_002874	GAUGCAACGAGUGCACUUGdTdT	774	0%	66%	YES	10%	80%
	CSA	NM_000082	GUCACAAgCUGUUGAAUUCAdTdT	775	6%	49%	YES	14%	76%
	CSB	NM_000124	GCCUAAgAACUCUAAAGCAUdTdT	776	2%	34%	YES	12%	148%
ヌクレオチド除去修復 (Nucleotide excision repair)	XPG	NM_000123	GAGAGGCAUAAACAUAUACCCdTdT	777	0%	21%	YES	17%	85%
	XPF	NM_005236	CAGUCGCUAUGAAGUUUACdTdT	778	5%	37%	YES	18%	104%
	DDB1	NM_001923	GGUUGUGGAGGAGCUAACUdTdT	779	4%	24%	YES	5%	76%
	DDB2	NM_000107	GAGCGAGAUCCGAGUUUACdTdT	780	0%	56%	YES	0%	104%
	XAB2	NM_020196	GUUUUAUGAGGACAACGAdTdT	781	3%	23%	YES	10%	77%

[図4]

塩基除去修復 (Base excision repair)	UNG	NM_003362	gUcUgGcAaGAAgCCCAUuUdTdT	782	4%	37%	YES	15%	88%
	MBD4	NM_003925	gGAUgUAgGAAGAgCUGuUdTdT	783	5%	39%	YES	14%	85%
	TGD	NM_003211	gAggCUCCAAAAgAAgAAdTdT	784	17%	40%	YES	45%	61%
	NTH1	NM_002528	gGAUGCAccUGgACCAUdTdT	785	4%	53%	YES	10%	98%
	NEIL2	NM_145043	GUUCCAUCgAggACAAGCCdTdT	786	0%	51%	YES	4%	91%
	NEIL3	NM_018248	gCUACCgACUAgAAAUACUdTdT	787	8%	47%	YES	9%	95%
	APE2	NM_014481	gAUgCgCUUCUAUCgUUUGdTdT	788	6%	67%	YES	27%	97%
	PARP1	NM_001618	gCCACAgCUAggCAUGAUdTdT	789	1%	42%	YES	25%	75%
	PNK	NM_007254	gAAgCgUAUGCgAAgUCAdTdT	790	14%	54%	YES	35%	96%
	Polb	NM_002690	gAAUCCUCgUGAAgAgAUdTdT	791	13%	41%	YES	12%	71%
ミスマッチ修復 (Mismatch repair)	MSH2	NM_000251	ggUgUcUgUGAUCAAAGUUdTdT	792	3%	29%	YES	25%	67%
	PMS1	NM_000534	gAACggCUGCUGAUAAUUdTdT	793	10%	69%	YES	36%	81%
	PMS2	NM_000535	ggUUGgAACUCgACUGAUgdTdT	794	7%	63%	YES	9%	68%
	MLH3	NM_014381	gUUGUGCagUGUGUUAACAdTdT	795	6%	67%	YES	10%	80%
	Exonuclease1	NM_003686	gAgACUggUUgACACAgAUdTdT	796	2%	44%	YES	11%	84%
	Poli	NM_007195			3%	44%	YES	23%	74%
			ggACCUAAGAAACCUCAAgdTdT	797					
	Rad51	NM_002875	gCUAUgUUCgCCAUAUAUgdTdT	798	0%	42%	YES	7%	101%
	Rad51D	NM_002878	gAggUAgCUCAgAAAAUgUgdTdT	799	13%	54%	YES	27%	81%
	Xrcc2	NM_005431	gCCUCgAgCUCAUCAgAAgdTdT	800	8%	25%	YES	29%	83%
二本鎖切断修復 (Double strand break repair)	Rad54	NM_003579	gUGUUGgUCUGgUCAUAUgdTdT	801	11%	43%	YES	7%	97%
	BRCA1	NM_007295	gCAGAUAgUUUCUACCAGUAdTdT	802	0%	46%	YES	13%	71%
	Ku80	NM_021141	ggAUgAgAUUGCUUUAUgUCdTdT	803	1%	65%	YES	3%	91%
	XRCC4	NM_003401	gAGUCUUGUUUAUUUCUUCdTdT	804	1%	46%	YES	9%	91%
	Tin2	NM_012461	ggAAgAACAUgCGAUUAUACdTdT	805	4%	56%	YES	16%	85%
	Sir2	AF095714			8%	61%	YES	26%	69%
			CAACCUAgAgAAgUAACCAUdTdT	806					
	MGMT	NM_002412	gUGAUUUUCUUUACCAgCAAUdTdT	807	3%	58%	YES	13%	93%
	DUT	NM_001948	gAAGUUUCAAGCCUUGgAUgdTdT	808	4%	45%	YES	17%	101%
	TIMELESS	NM_003920, BC050557			0%	31%	YES	ND	86%
テロメア維持 (Telomere maintenance)			ggAgCUACCAGCagAAUAUgdTdT	809					
その他 (Others)									

ND: 検出不能。

[図5]

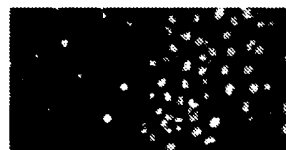


[図6]

Pola p70



Prim2a,
Pola Spp1



RPA70



RPA34



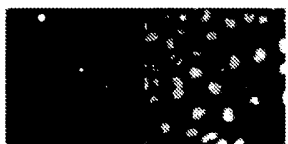
PCNA



Elg1



FEN1



DNA2



Ligase1



Pold p125



Pole Pol2



PoleDpb3



Pole Dpb4



Topoisomerase1



TDP1



Cft18



Scc1



Scc3



ATR



Chk1



[図7]

NBS1



Hus1



Rad1

Topoisomerase
III b

Rad6A



Rad18



Ubc13



FBH1



Mad2



XPC



Rad23A



Rad23B



CSA



CSB



XPG



XPF



DDB1



DDB2



XAB2



UNG



[図8]

MBD4



TGD



NTH1



NEIL2



NEIL3



APE2



PARP1



PNK



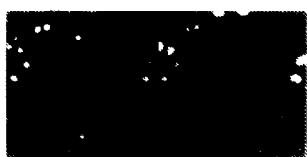
Polb



MSH2



PMS1



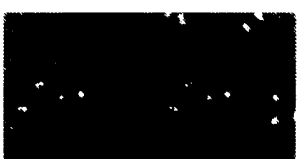
PMS2



MLH3



Exonuclease1



Poli



Rad51



Rad51D



XRCC2



Rad54

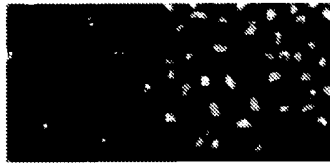


BRCA1



[図9]

Ku80



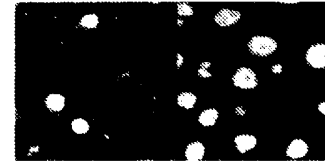
XRCC4



Tin2



Sir2



MGMT



DUT

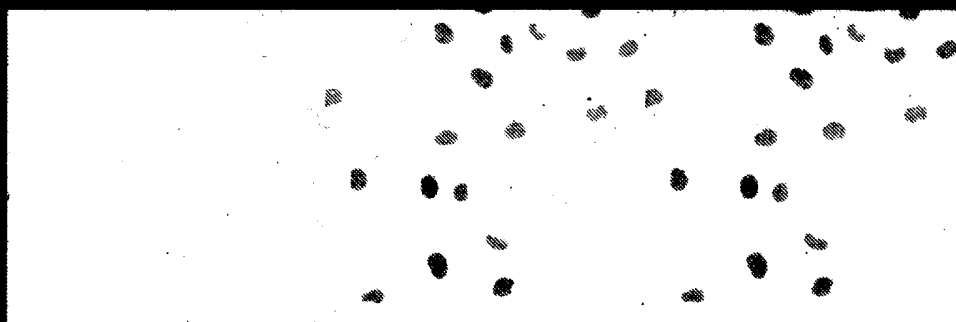


Timeless

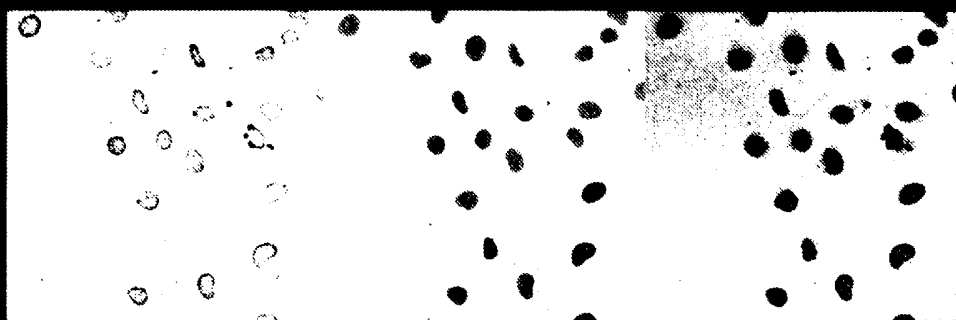


[図10]

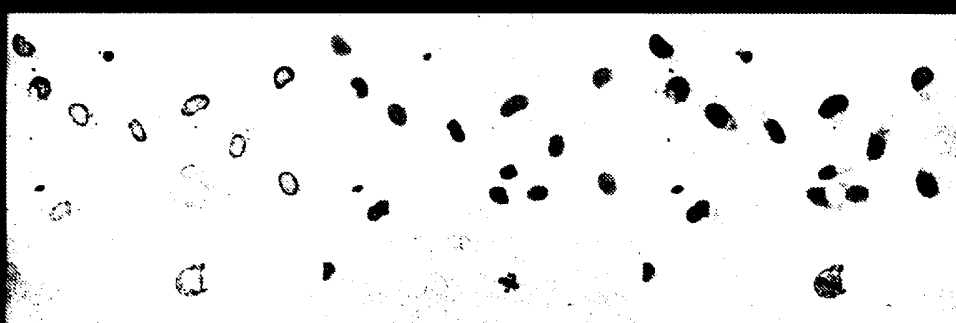
NS



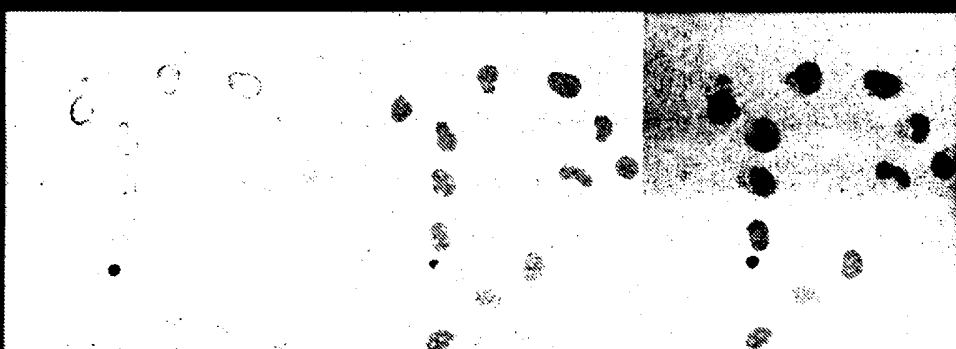
Mcm10



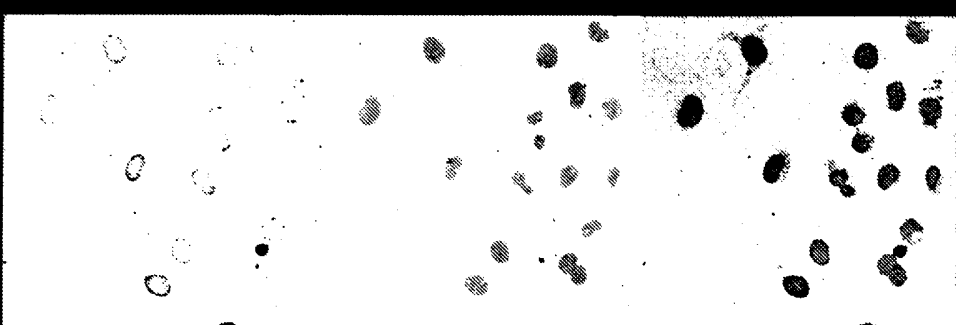
Orc1



Orc3



Cdc6



[図11]

Cdt1



Geminin



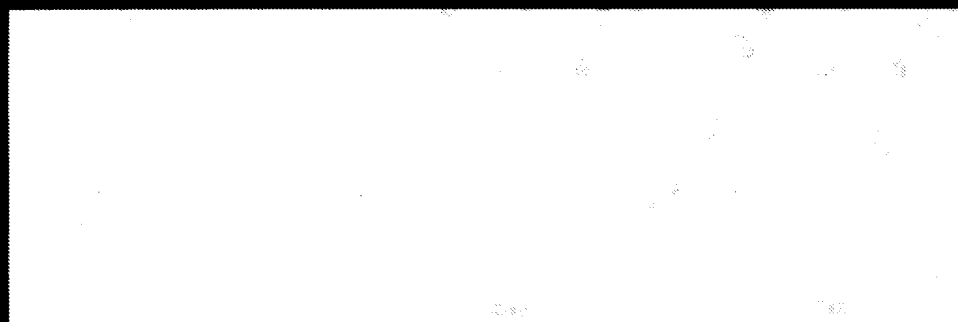
Mcm3



Mcm4

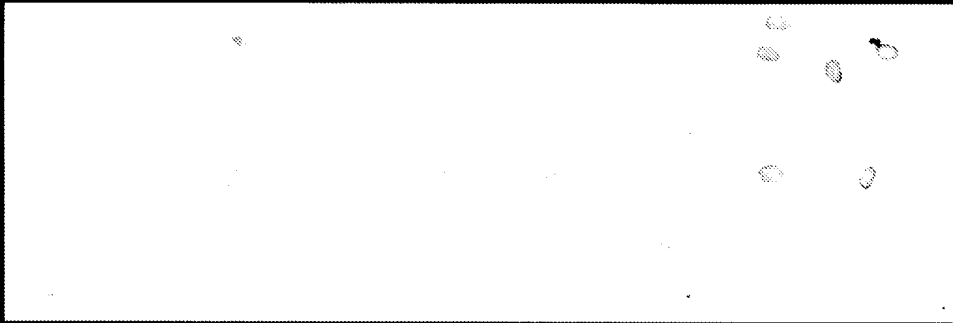


Mcm5

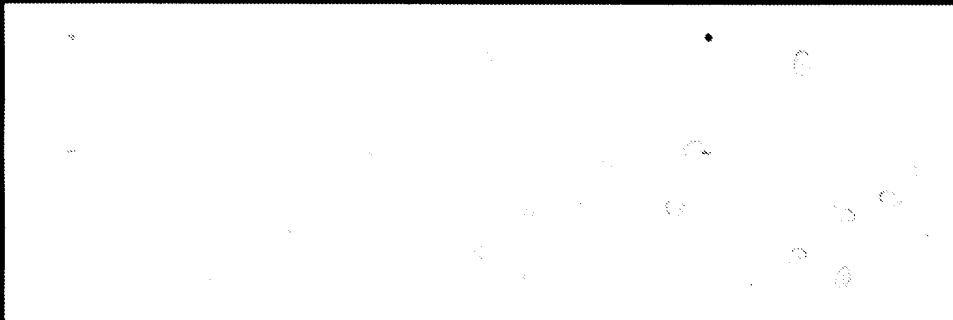


[図12]

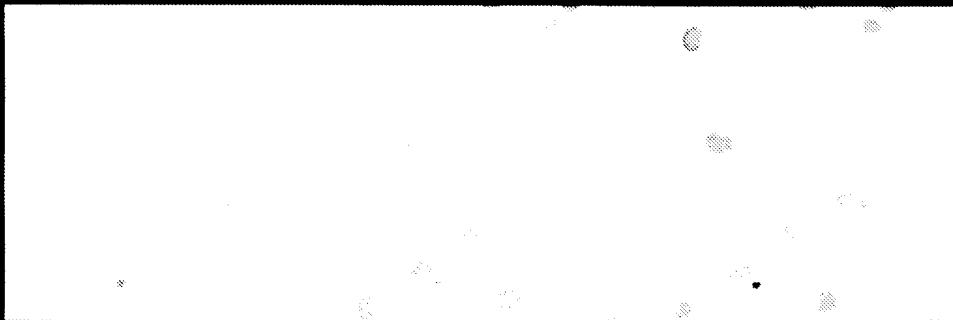
Mcm6



Mcm7



Mcm8



Cdc7

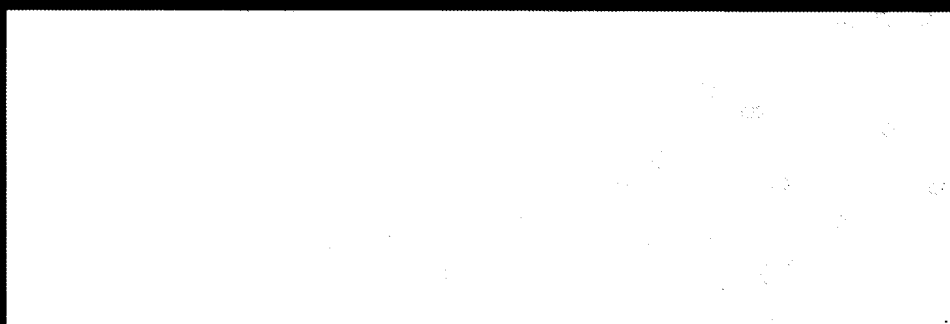


Cdc5

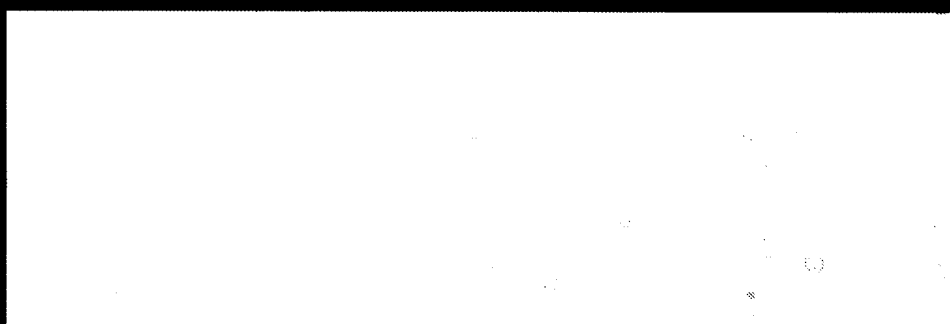


[図13]

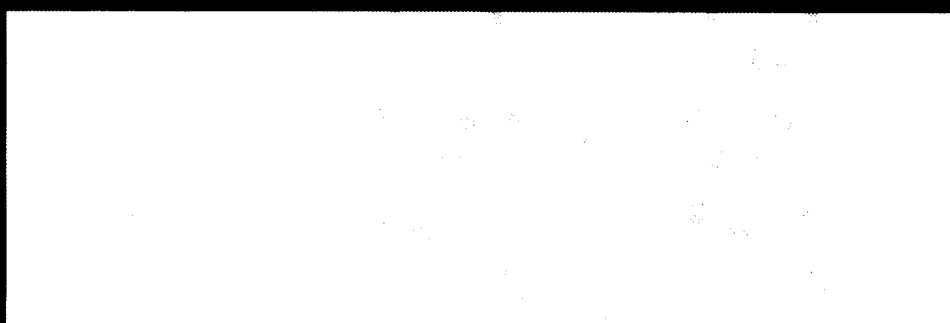
Psf1



Psf2



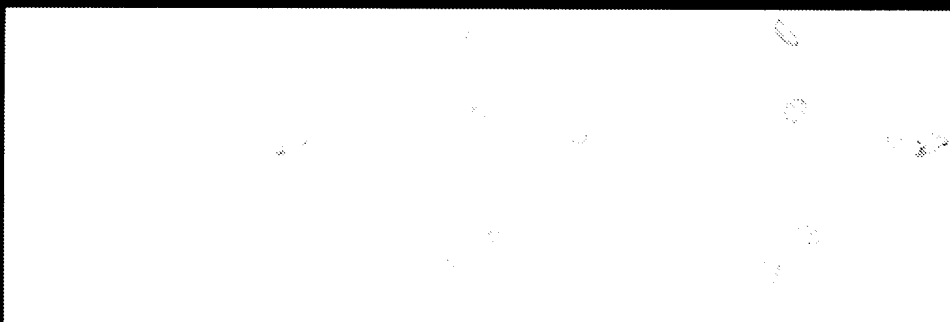
Psf3



Cdc45



Pola p180

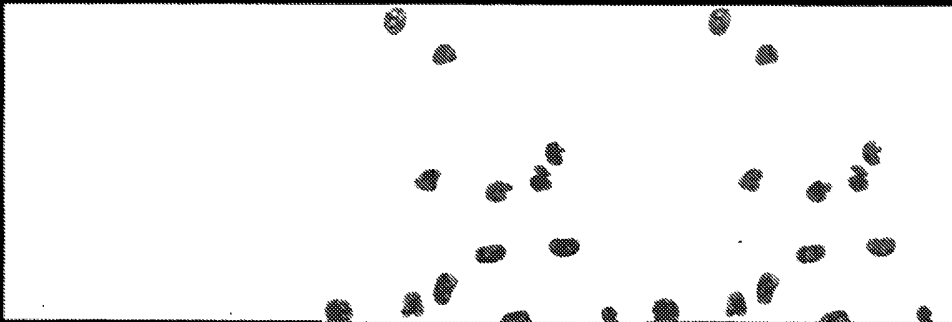


[図14]

Pol p70



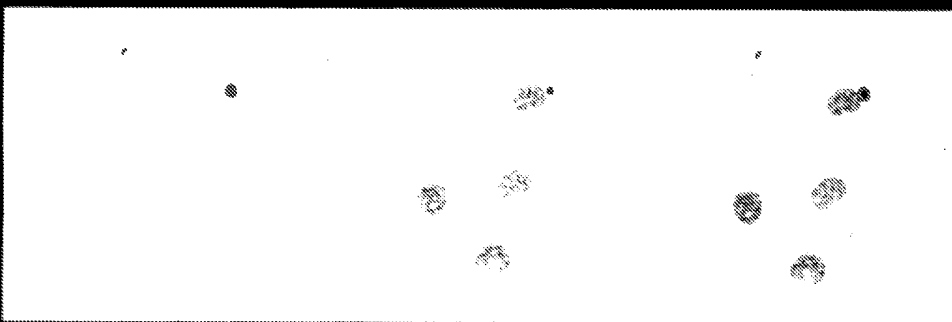
Pola Spp1



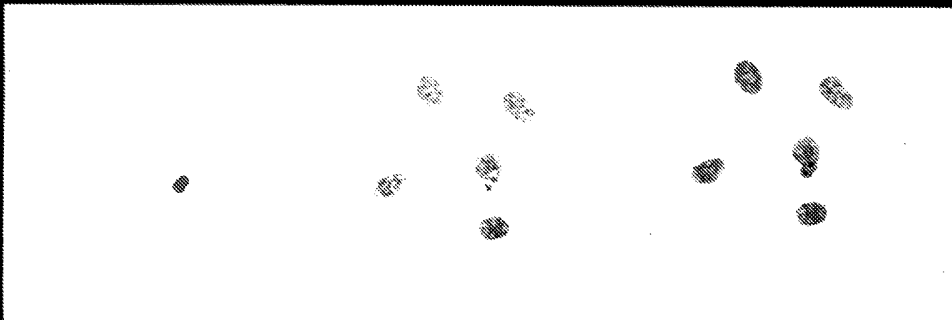
RPA70



RPA34



PCNA

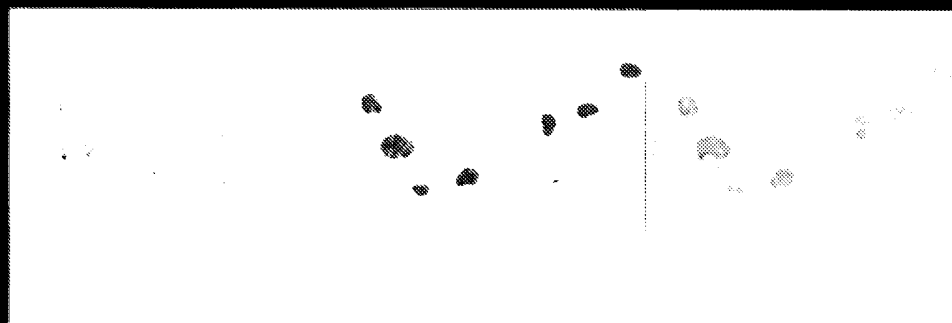


[図15]

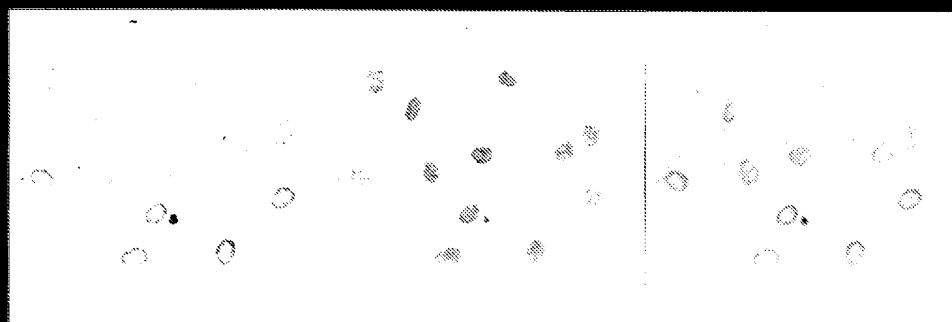
Elg1



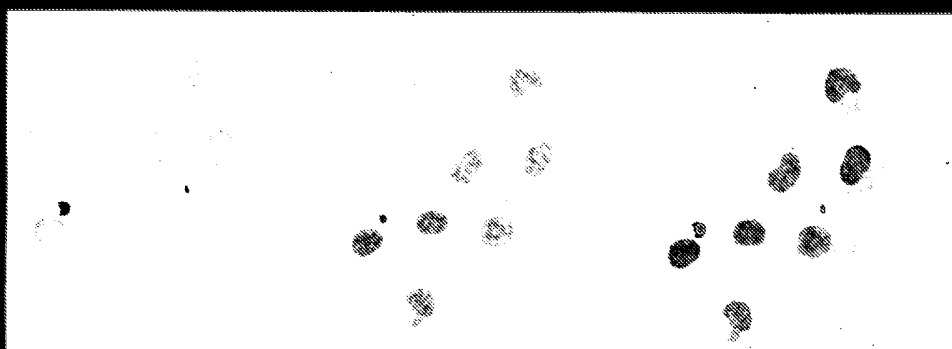
FEN1



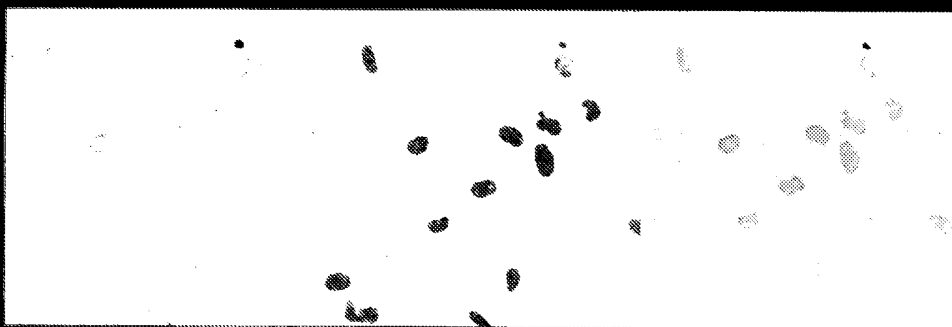
DNA2



Ligase1

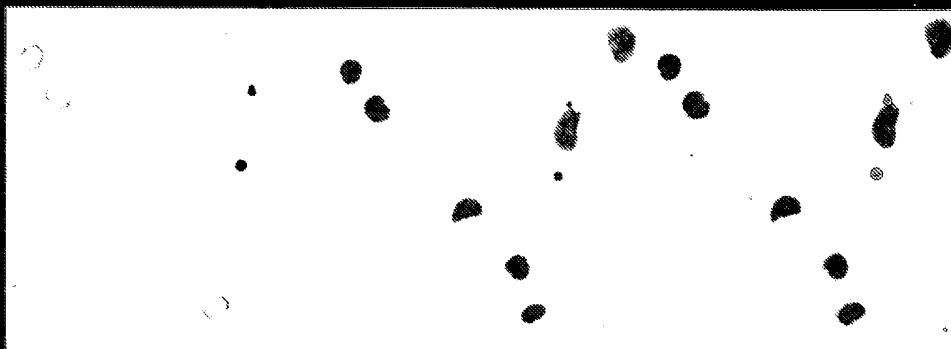


P125



[図16]

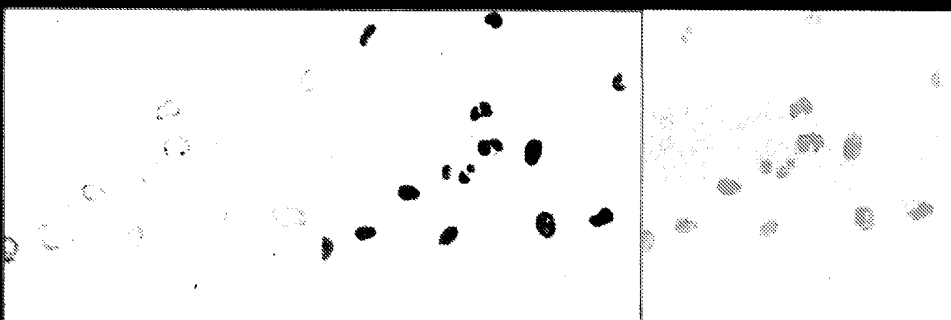
Pole Pol2



Pole Dpb3



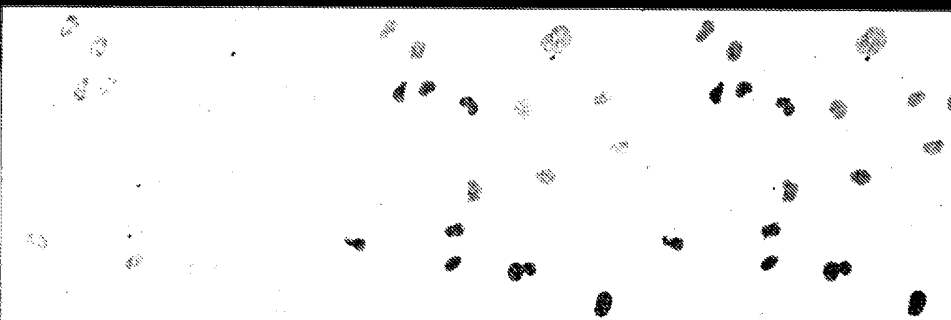
Dpb4



TopI

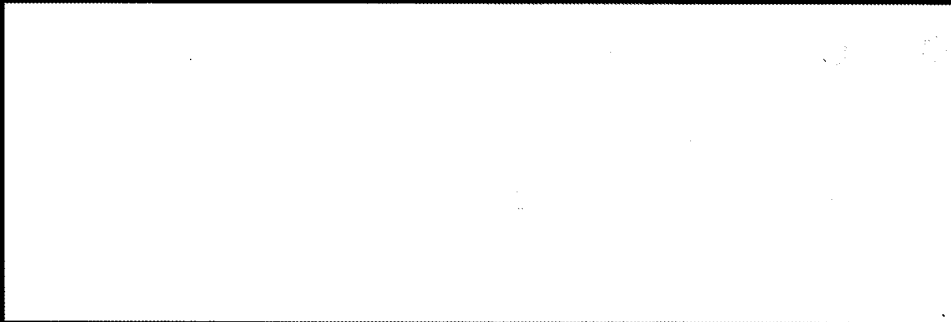


TDP1



[図17]

Ctf18



Scc1



Scc3



ATR

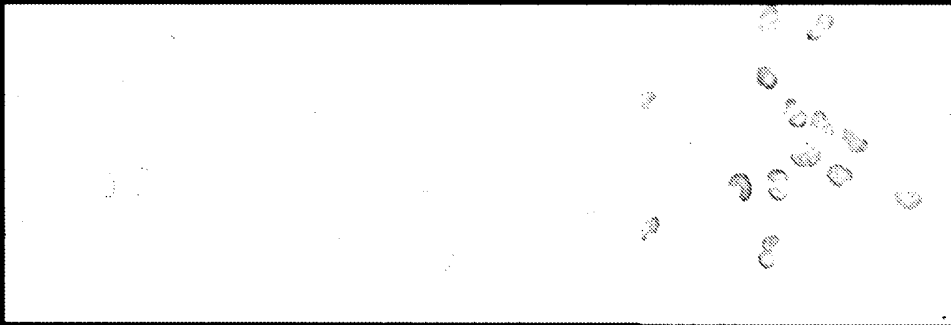


Chk1

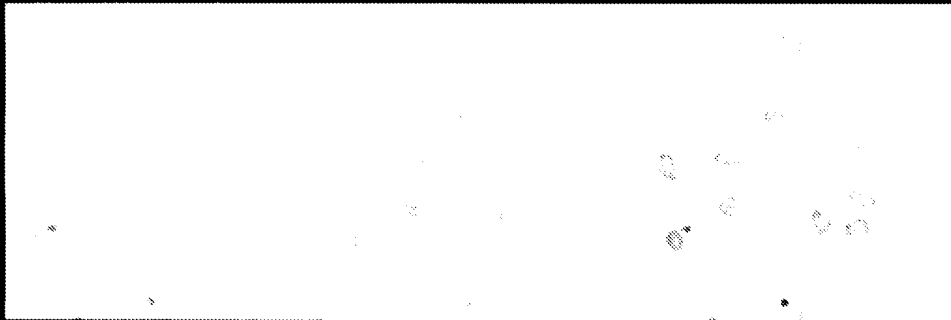


[図18]

NBS1



Hus1



Rad1



TopIIIb



Rad6A



[図19]

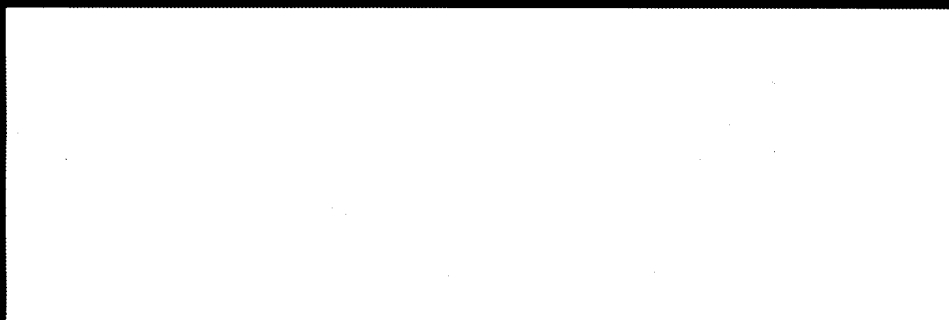
Rad18



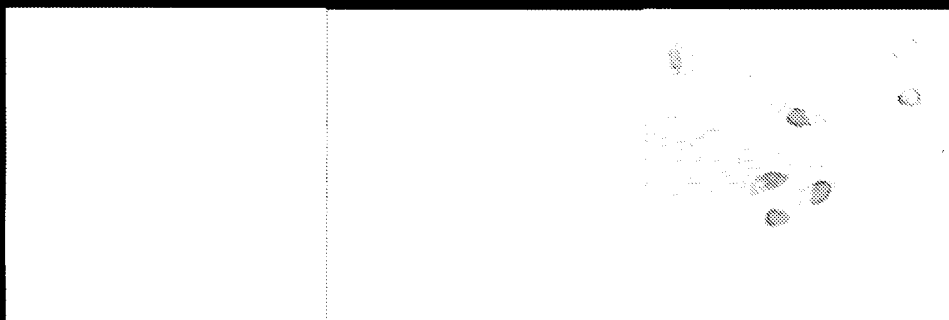
UBC13



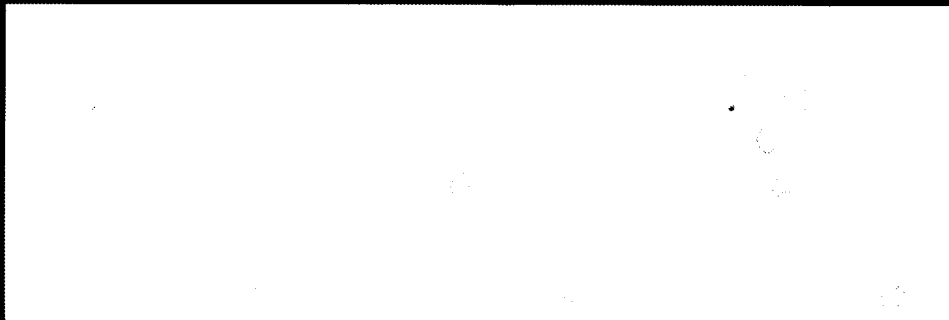
FBH



MAD2

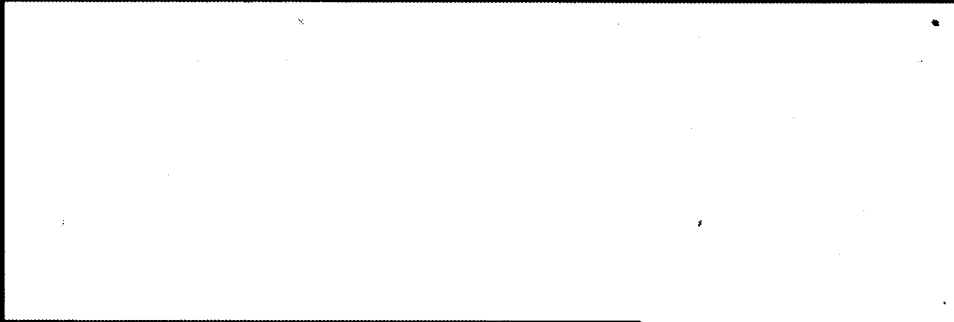


XPC

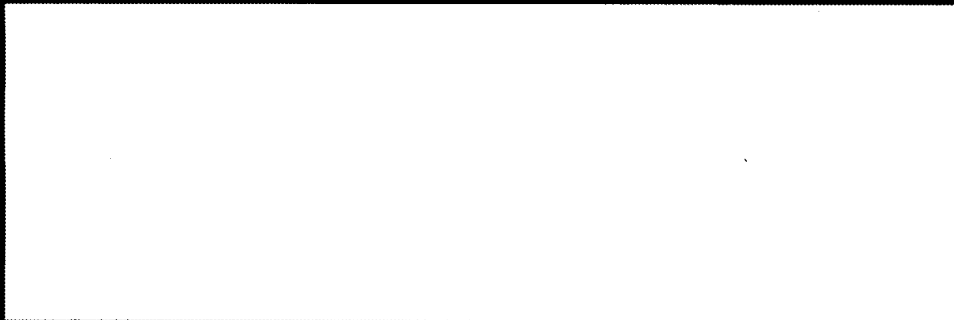


[図20]

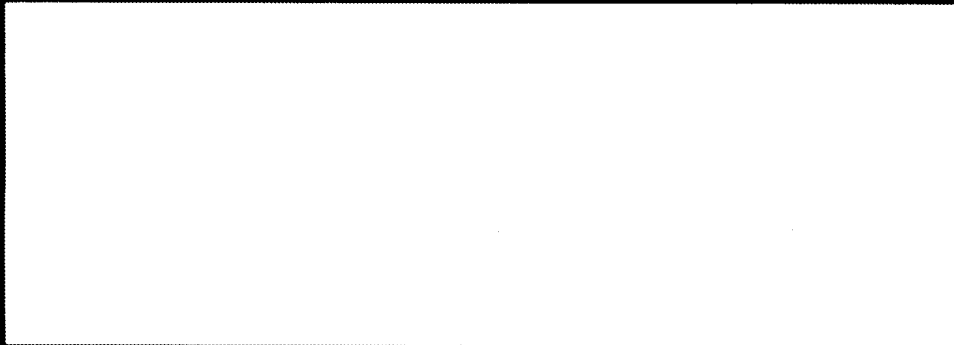
Rad23A



Rad23B



CSA



CSB

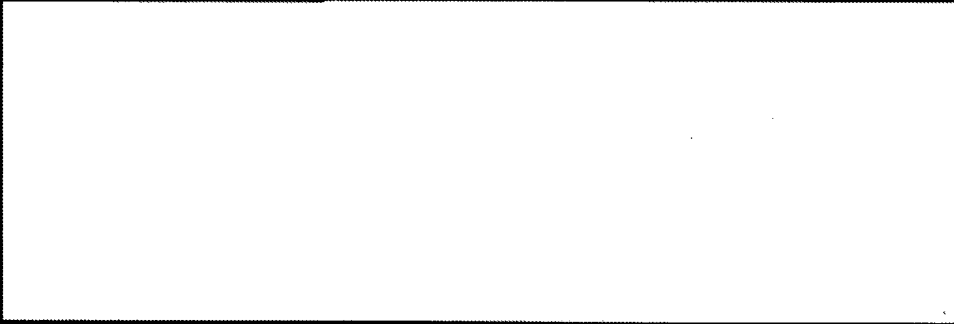


XPG

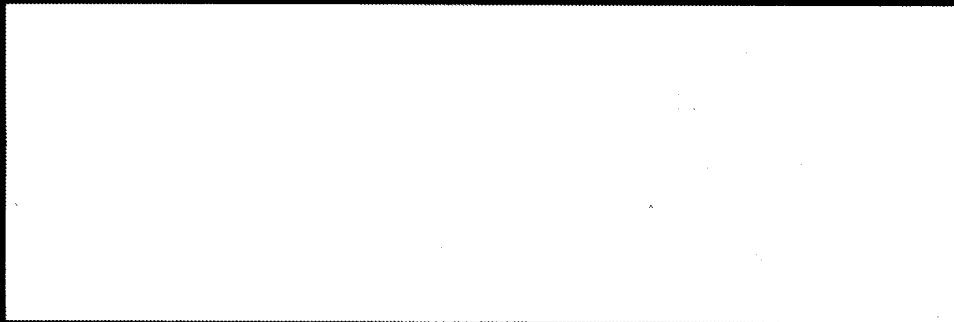


[図21]

XPF



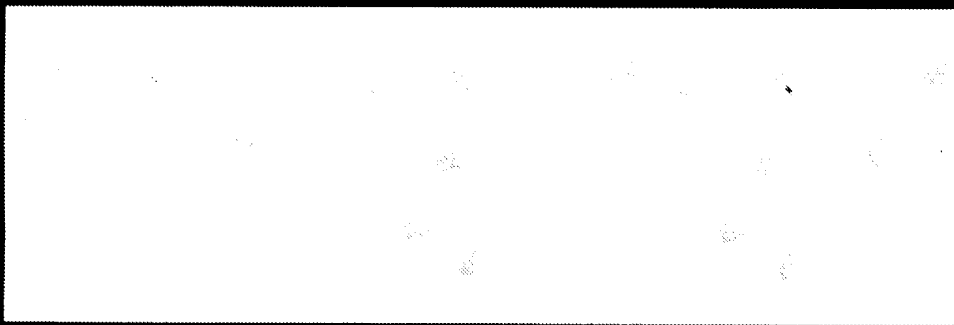
DDB1



DDB2



XAB2

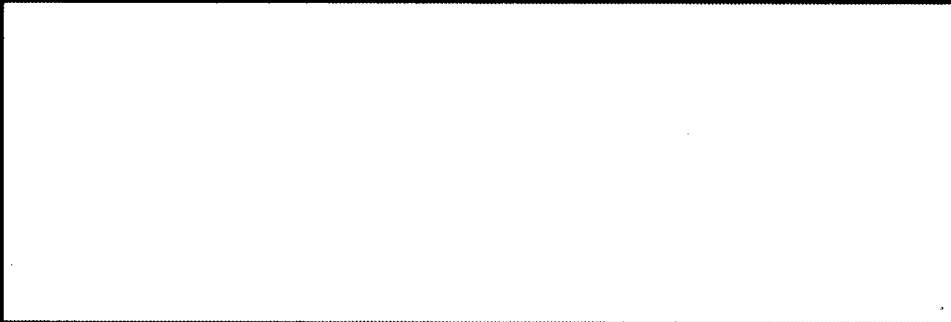


UNG

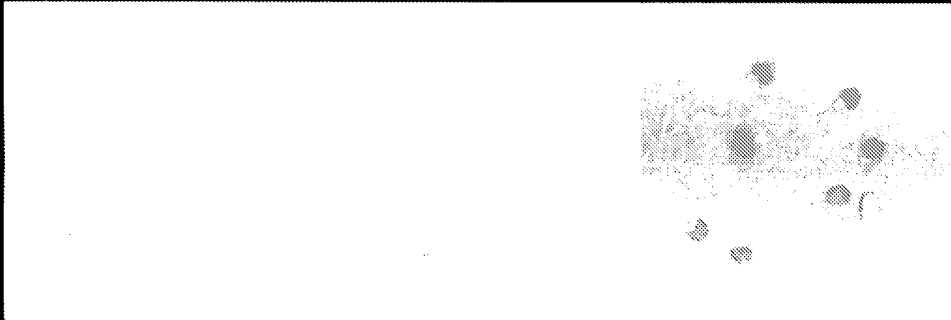


[図22]

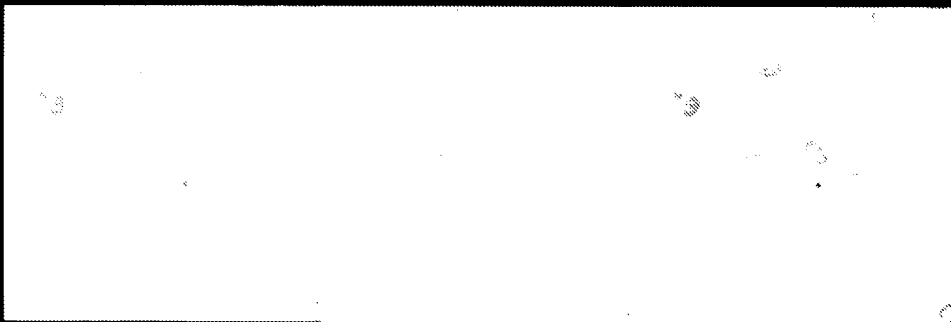
MBD4



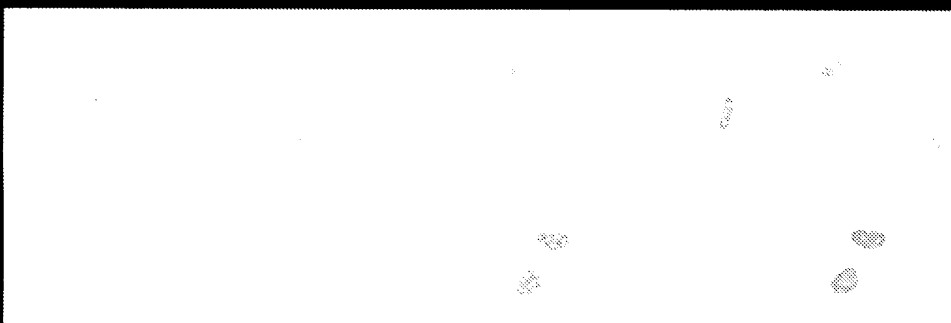
TDG



NTH1



NEIL2

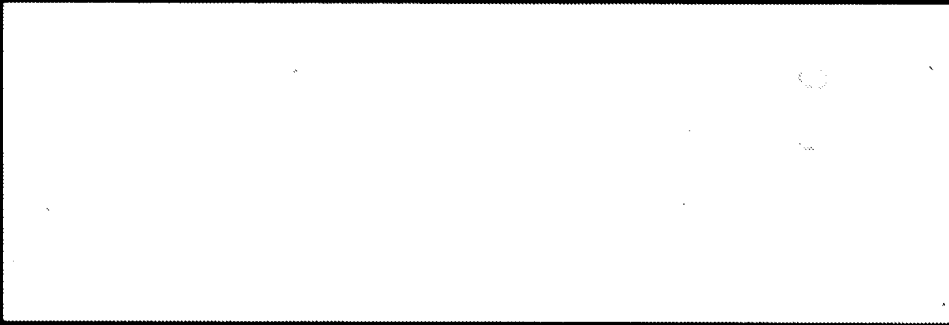


NEIL3



[図23]

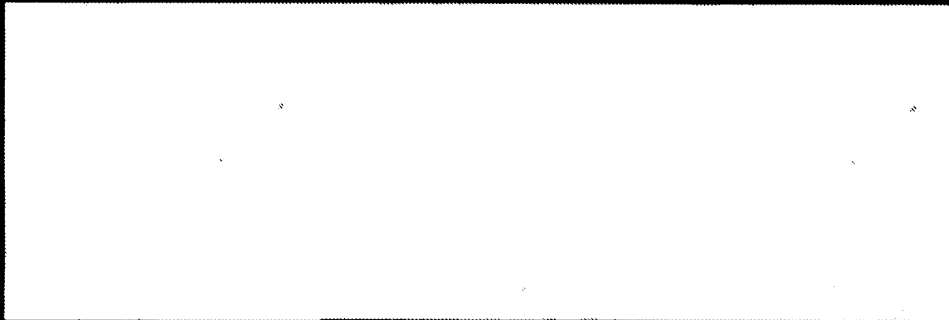
APE2



PARP1



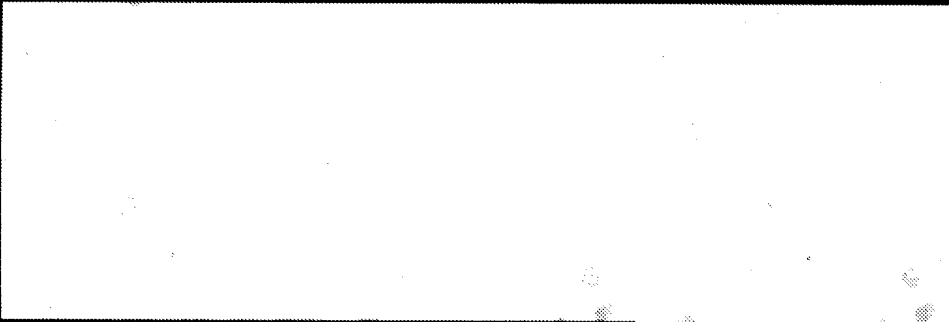
PNK



Polb



MSH2



[図24]

PMS1



PMS2



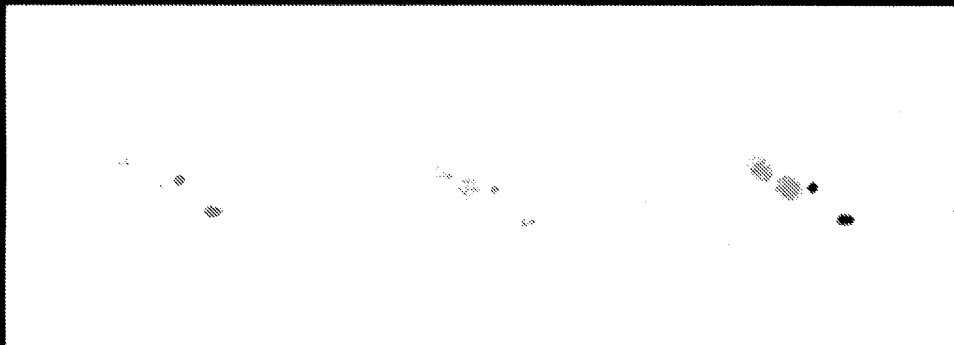
MLH3



Exo1

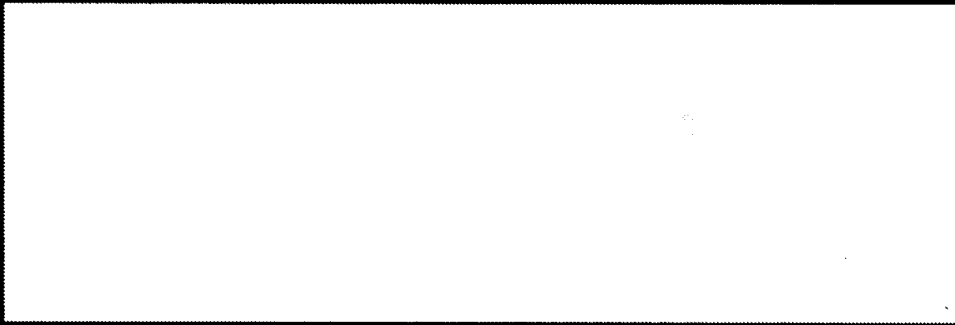


Poli

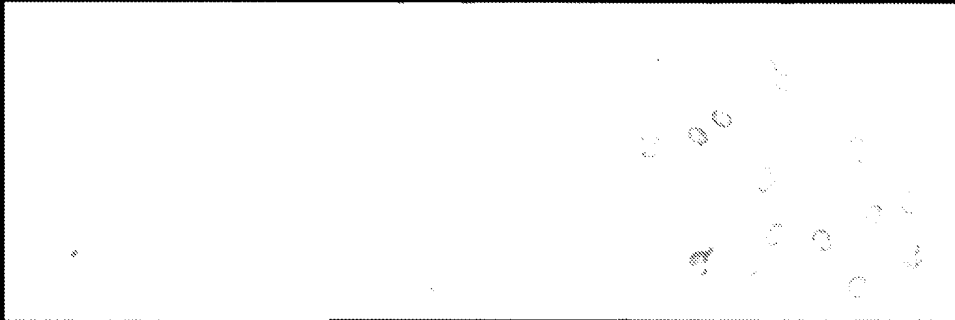


[図25]

Rad51



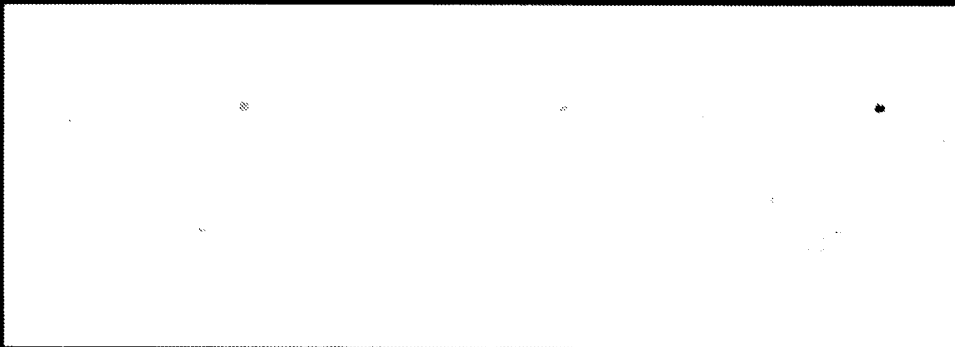
Rad51D



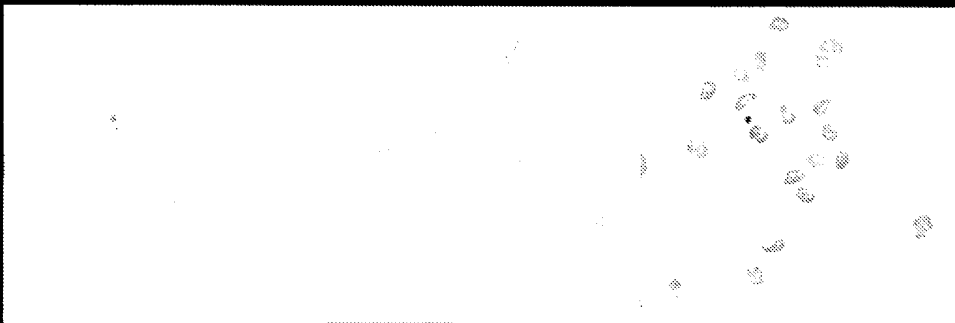
XRCC2



Rad54

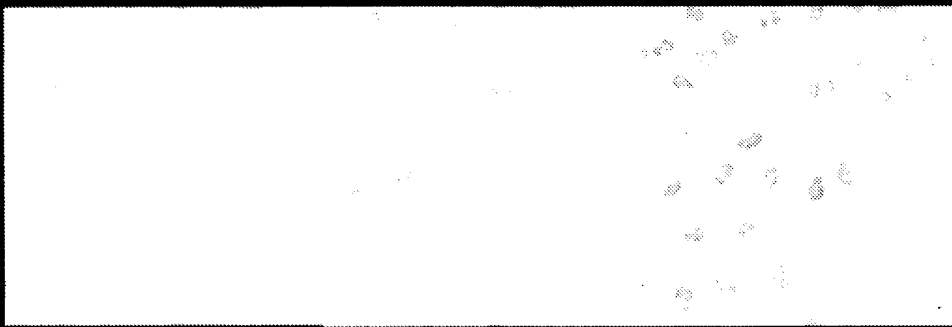


BRCA1



[図26]

Ku86



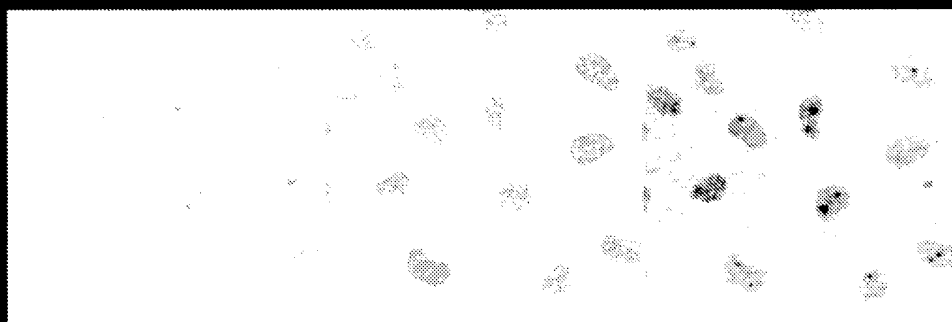
XRCC4



Tin2



Sir2

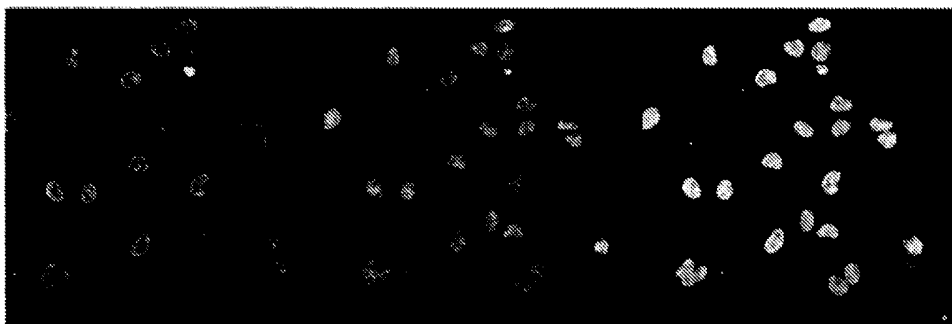


MGMT

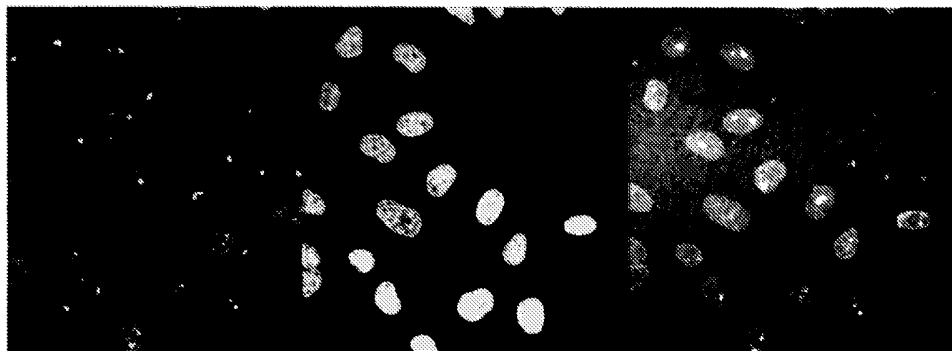


[図27]

Dut



Timeless



[図28]

機能	遺伝子名	アクセッション No.	その他アクセ ションNo.	siRNA配列	配列 番号	40nM HeLa細胞にお ける遺伝子発 現抑制	40nM HeLa 細胞にお ける増殖 抑制	40nM TIG3細胞 における 遺伝子発現 抑制	40nM TIG3細胞 における 増殖抑制
複製フォーク の進行	Pif1	NM_025049.1	AF108138.1、 BC033254.1、 AK026345.1、 BC018978.2	ggCCAagCAUUCUUCUICA	974	24%	73%	**	**
				gAgCUggAAgAggUgUg	975	19%	61%	**	**
				ggCAUgACCCUggAUUgUg	976	11%	50%	6%	73%
DNA損傷 チェックポ イント	Mms4	NM_152463.1	AK021607.1、 BC016470.2、 AK055926.1	AAUUGgCAGAgCUggAAA	977	24%	60%	**	**
				AAgAAgCUCCgAgAUgAAA	978	30%	57%	**	**
	Topoisomerase I	NM_004618.2	BC051748.1、 AK126869.1、 U43431.1	gggAAAgAgAAgAUUgUgU	979	9%	43%	22%	72%
				gAUggUAUCgUgAAUUA	980	11%	60%	9%	100%
				ggCAUCgACUCUUUAACCA	981	8%	67%	**	**
				gCUGgCUUCUCgAAAgUUG	982	16%	84%	**	**
	Mus81	NM_025128	AK126820.1、 CR604400.1、 CR601399.1、 AL353934.1、 AK024665.1、 NM_025128.3、 BC009999.2、 AF425646.1、 AK095326.1	CCAUCAgAAUAaggCCCA	983	25%	52%	14%	93%
				AggCCUgAgCUUgCUgAAU	984	27%	37%	**	**
				CACCAACACUCAggUCAU	985	19%	45%	**	**
				gACACUGCUGAgCACC AU	986	22%	58%	**	**
クロマチン構 造維持	SIRT1 (Sirtuin)	NM_012238.3	BX648554.1、 AF083106.2、 AF235040.1、 AL136741.1、 AK027686.1、 BC012499.1、 AK074805.1	gCCACggAAUaggUCCAUAU	987	34%	69%	29%	77%
				gCgAUgUUUUGAUUAUgAA	988	6%	72%	**	**

[図29]

姉妹染色体凝集・分離	Espi	NM_012291	BC047603.1、	AAAGAGAACAGCAGCUGUA	989	23%	34%	21%	79%
			AK128350.1、	AAAGCAAAAUACAGGAAGG	990	23%	45%	**	**
			AK128350.1、	gCUGUCAGAUAGUUGAUUU	991	21%	35%	**	**
			AY455930.1、	gCUCUGCUCUggaUGCUAU	992	17%	32%	**	**
			D79987.1	gUUUgUAGCAGCACggaUA	993	17%	59%	**	**
塩基除去修復	MPG	NM_002434	M99626.1、	UgAAgAAACCAAGCagUU	994	5%	45%	**	**
			NM_002434.1、	gAUgAAgAAACCAAGCag	995	4%	40%	33%	82%
			CR619346.1、	eggUgUUUgUgCCUCAUAA	996	10%	55%	**	**
			CR612592.1、						
			CR606356.1、						
			CR600098.1、						
			CR598824.1、						
			L10752.1、						
			M74905.1、						
			X56528.1、						
			BC014991.1、						
			M71215.1、						
			S51033.1						

DNAポリメ ラーゼ	Pol I	NM_013274	AK128521.1 AK127896.1 BC068529.1 AJ131890.1 CR619817.1 CR615868.1 NM_013274.2 AF161019.1 AK021600.1 AK022476.1 AF218027.1 AF283478.1 BC003548.1 AK094956.1	gCAGAAAAUUCAGUCUGAU UgCggAAgCUGgACCAUUAU gggCAUgAgUCUgUCAgAA AggCAAAAgAggCACCAAA	997 998 999 1000	22% 27% 25% 26%	57% 67% 49% 64%	26% ** ** **	82% ** ** **
	Pol m	NM_013284	BC049202.1、 BC062590.1、 BC026306.1、 AJ131891.2、 CR620839.1、 CR606869.1、 NM_013284.1、 AF176097.1、 AK023002.1、 AK092903.1、 AK092801.1、 BC035685.1	gAgAgAAgUUUCUGCAUUU CUggACAUAAGCUggUUAA CCGgUCgCAGAgCCCUUA	1001 1002 1003	23% 4% 7%	30% 65% 52%	24% ** **	85% ** **
ヌクレアーゼ	EndoV	NM_173627	NM_173627.2、 BC045824.1、 BX647411.1、 AK123689.1、 BC059781.1、 BC064545.1、 CR617882.1、 CR599326.1、 AK056045.1、 AK096802.1、 AK096344.1、 AK092539.1、 BC037889.2	UgUggAUggAAACggggUA	1004	7%	62%	13%	90%

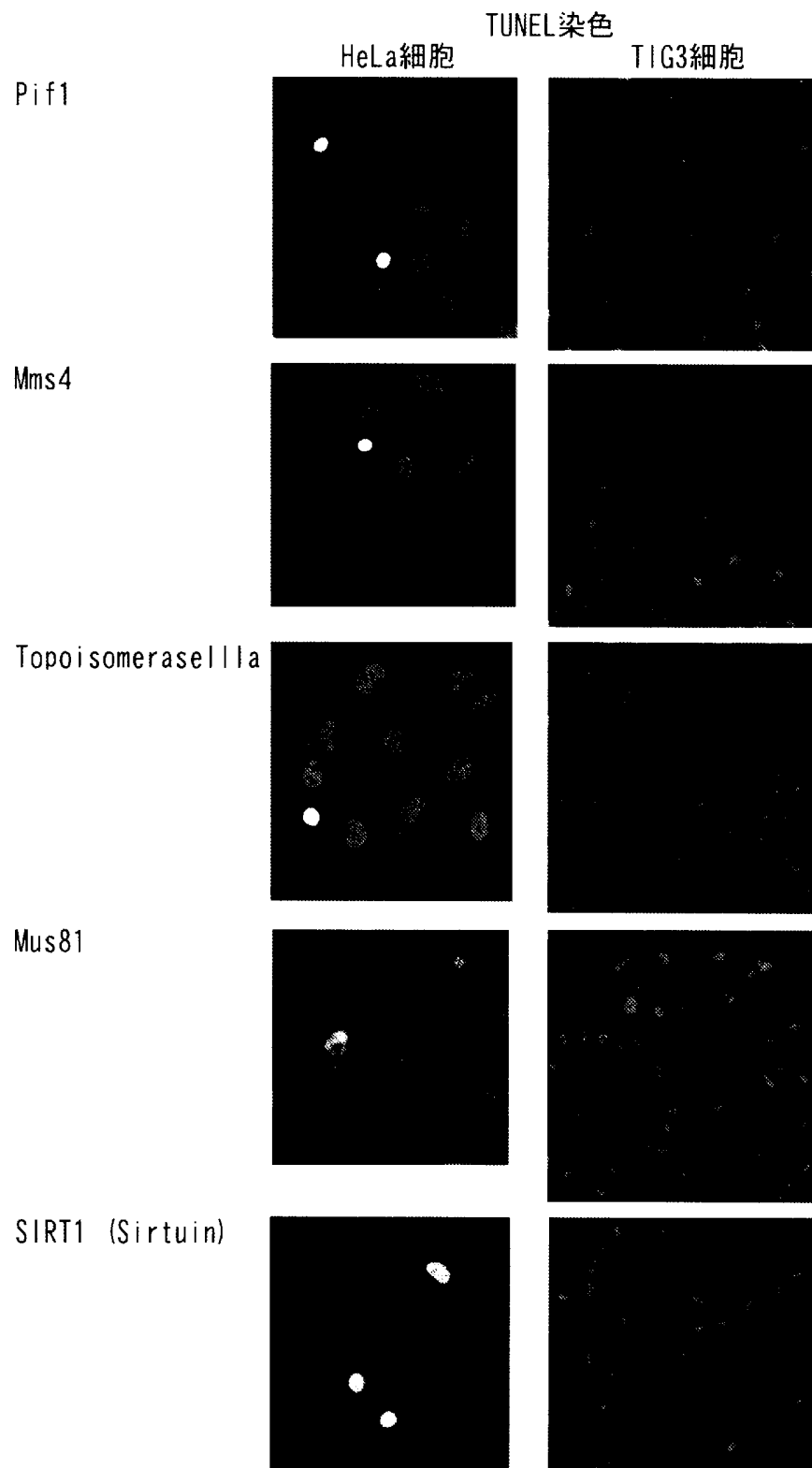
[図31]

機能	遺伝子名	別名	NCBI アクセッションNo.	mRNA登録	siRNA配列	siRNA ID	Hela			HDF		
							mRNA発現	増殖抑制	7ボトシ	mRNA発現	増殖抑制	7ボトシ
姉妹染色体 複製・分離	KNTC2 (NDC80)	KNTC2 HEC HEC1	NM_006101	NM_006101.1 CR609890.1 BC010171.2 BC005239.1 BC035617.1 AF017790.1	(Nagayama) 40nM (Futami) 20nM	hNDC80-1	7%	9%	Yes	13%	29%	検出不能
						hNDC80-2	15%	5%	Yes	16%	12%	検出不能
						hNDC80-3	15%	10%	Yes	14%	16%	検出不能
						KNTC2-N1	21%	27%	Yes	19%	52%	検出不能
						KNTC2-N2	9%	18%	Yes	25%	40%	検出不能
						KNTC2-N3	23%	59%	Yes	44%	80%	検出不能
						KNTC2-N4	20%	17%	Yes	15%	33%	検出不能
						KNTC2-N5	21%	15%	Yes	9%	60%	検出不能
						KNTC2-N6	24%	17%	Yes	7%	39%	検出不能
						KNTC2-N7	21%	17%	Yes	6%	50%	検出不能
						KNTC2-N8	25%	18%	Yes	9%	59%	検出不能
						KNTC2-N9	20%	18%	Yes	28%	45%	検出不能
						KNTC2-N10	18%	20%	Yes	39%	65%	検出不能

[図32]

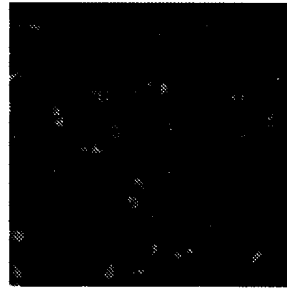
遺伝子名	siRNA ID	siRNA配列	配列番号	HeLa			HDF		
				発現	増殖	7 ^日 トーシ	発現	増殖	7 ^日 トーシ
Mcm3	mcm3-N2	gCUUCUgAACAAUgCCUUU	1018	5%	54%	+	12%	69%	-
	mcm3-N3	ggACgUCAUUCUggAUgAU	1019	15%	19%	+	20%	41%	-
	mcm3-N6	gCUUCUgCggUAUgUgCUU	1020	8%	49%	+	24%	50%	-
	mcm3-N7	gCAggUAUgACCAgUAUAA	1021	11%	45%	+	23%	65%	-
	mcm3-N8	gCAUgACAACCUUCUACA	1022	10%	55%	+	13%	51%	-
	mcm3-N10	gCAAgAUgCAggAUgACAA	1023	7%	28%	+	10%	57%	-
Cdc5	cdc5-N1	ggAAgAAgCAAgACgUCUU	1024	12%	20%	+	28%	40%	-
	cdc5-N2	ggAgUggAACAAACUCCAA	1025	29%	35%	+	49%	64%	-
	cdc5-N3	CCUCUUCgAgACAAGUAAA	1026	5%	45%	+	19%	55%	-
	cdc5-N4	gCCAAgACCAUCAgAAgUA	1027	7%	44%	+	16%	66%	-
	cdc5-N5	gCUUCAUUAUgACCUUCUA	1028	2%	46%	+	13%	50%	-
	cdc5-N6	CCUUCUACAUCACCCUUAU	1029	3%	34%	+	13%	45%	-
	cdc5-N7	CCAAUAAUUCAgAgCACAU	1030	4%	40%	+	14%	60%	-
	cdc5-N8	ggAAgAAUgCUACAgUCAA	1031	7%	40%	+	13%	45%	-
	cdc5-N9	ggACAgAAUUGAAUCACUU	1032	8%	22%	+	12%	45%	-
	cdc5-N10	gCUCAUgAAACAgUgAAU	1033	7%	30%	+	15%	50%	-
Pole Dpb3	dpb3-N1	CCACAUCUgUgCUAACAA	1034	12%	54%	+	32%	58%	-
	dpb3-N3	gggAgCagAAAgCAAgAA	1035	11%	37%	+	45%	44%	-
Pole Dpb4	dpb4-N1	UgCgCUCAgCAGggAAAAA	1036	2%	63%	+	9%	97%	-
	dpb4-N2	gAggAgAgACUUGgAUAAU	1037	1%	65%	+	1%	90%	-
	dpb4-N3	ggCCUUGgUgAAggCAgAU	1038	12%	42%	+	9%	64%	-
	dpb4-N5	CCgggAUAAgCAGAgAUCU	1039	1%	57%	+	2%	72%	-
	dpb4-N6	AgAggAgAgACUUGgAUAA	1040	0%	47%	+	0%	87%	-
	dpb4-N7	UgCAAggUCUUCACUAU	1041	1%	62%	+	5%	92%	-
	dpb4-N9	AggCCUCAgCUUUGAAgAA	1042	3%	65%	+	9%	67%	-
	dpb4-N10	gAgCAGAgAUgAAgAAgU	1043	2%	38%	+	7%	53%	-
Esp1	ESP1-N1	gCgggAUgAUggUgUgUAU	1044	17%	35%	+	39%	40%	-
	ESP1-N2	gCUgUCAgAUgUgAUUUU	1045	20%	58%	+	34%	66%	-
	ESP1-N3	gCUUCUACACCAgUAAUU	1046	16%	29%	+	31%	65%	-
	ESP1-N4	gCUCUgCUCUggAUgCUAU	1047	14%	25%	+	21%	40%	-
	ESP1-N5	gCUCUUAUgACUCCCAUA	1048	10%	35%	+	13%	48%	-
	ESP1-N6	gCUgAUgggCAgUgACAUA	1049	18%	41%	+	19%	53%	-
	ESP1-N7	ggAUgAgAUCUUGgCUCAA	1050	32%	44%	+	41%	47%	-
	ESP1-N8	gCCAAGAAgUggCAUCAAA	1051	8%	17%	+	13%	38%	-
	ESP1-N9	gCCUgACAgUACCAAGCAA	1052	28%	23%	+	27%	36%	-
	ESP1-N10	gCAUCgUgCUCAAgUACAUA	1053	22%	57%	+	27%	45%	-
XAB2	xab2-N1	ggACCUUgUCUUCgAggAA	1054	11%	22%	+	10%	50%	-
	xab2-N2	ggAAAUCAUgCggAACCAA	1055	27%	23%	+	22%	45%	-
	xab2-N3	ggAACCAAUUCUCUgUCAA	1056	6%	18%	+	12%	50%	-
	xab2-N4	CCUCgUCUgUggCUAgAUU	1057	6%	19%	+	8%	60%	-
	xab2-N5	gggACUUCACACAggUgUU	1058	7%	19%	+	14%	22%	-
	xab2-N6	CCACCAAggUgAACUUCAA	1059	5%	15%	+	10%	18%	-
	xab2-N7	gCCgAgUACUUUgAUggUU	1060	7%	27%	+	14%	25%	-
	xab2-N8	CCCgCAGUAUgACAUGUU	1061	38%	49%	+	35%	40%	-
	xab2-N9	gCAUCUACCAgAAggCCAUA	1062	9%	12%	+	10%	23%	-
	xab2-N10	gCAGACgUggAaggACUUU	1063	35%	65%	+	16%	35%	-

[図33]

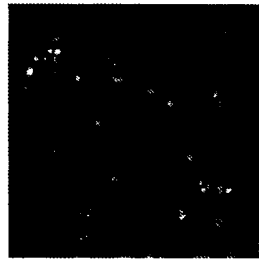


[図34]

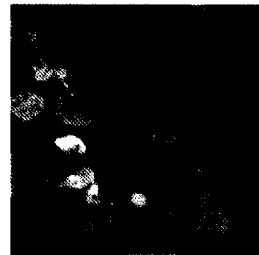
Esp1



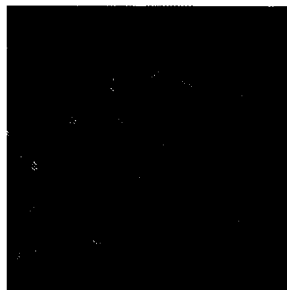
MPG



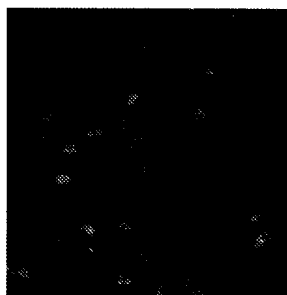
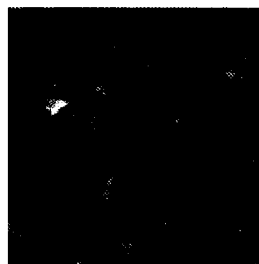
Poll



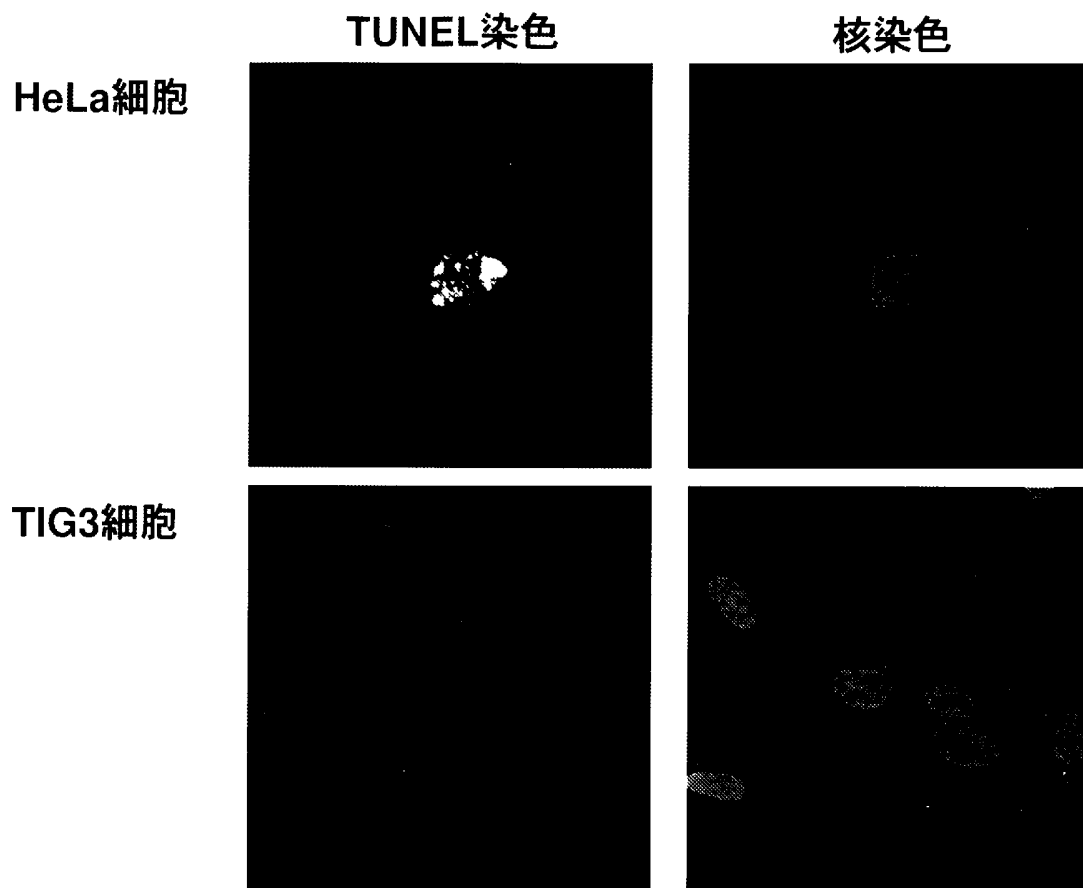
Polm



EndoV

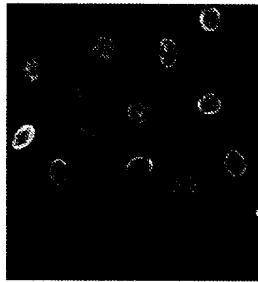


[図35]

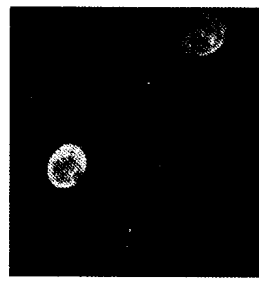


[図36]

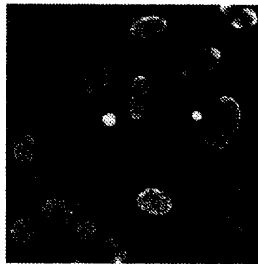
Pif1



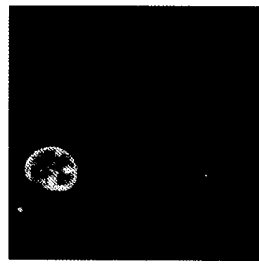
Esp1



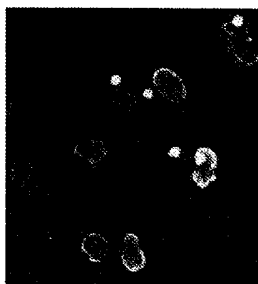
Mms4



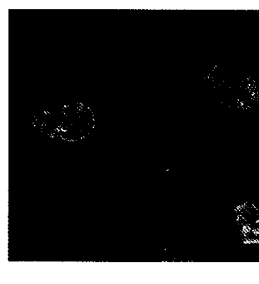
MPG



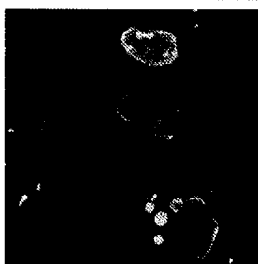
Topoisomerase IIIa



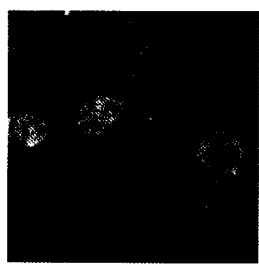
Pol I



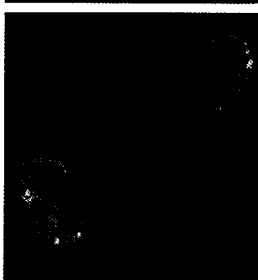
Mus81



Pol m



SIRT1 (Sirtuin)



EndoV



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/006914

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ A61K45/00, 31/7105, 31/7115, 38/00, 39/395, A61P35/00, C12Q1/68,
G01N33/15, 33/50

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ A61K45/00, 31/7105, 31/7115, 38/00, 39/395, A61P35/00, C12Q1/68,
G01N33/15, 33/50

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

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2005 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2005

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

BIOSIS (STN), CAPplus (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/46207 A2 (FRED HUTCHINSON CANCER RESEARCH CENTER), 05 June, 2003 (05.06.03), Claims 1 to 68 (Family: none)	1-17
X	WO 02/102981 A2 (THE TRUSTEES OF COLUMBIA UNIVERSITY IN THE CITY OF NEW YORK), 27 December, 2002 (27.12.02), Claims 1 to 33 & US 2003/124101 A1	1-17
X	SORDET Olivier, Apoptosis Induced by Topoisomerase Inhibitors, Curr.Med.Chem.: Anti-Cancer Agents, 2003, Vol.3, No.4, pages 271 to 290	1-17

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

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
09 June, 2005 (09.06.05)

Date of mailing of the international search report
28 June, 2005 (28.06.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/006914

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ZHANG Xinbo, Hoechst 33342-Induced Apoptosis is Associated with Intracellular Accumulation of E2F-1 Protein in BC3H-1 Myocytes and HL-60 Cells, Arch.Pathol.Lab.Med., 2001, Vol.125, No.1, pages 99 to 104	1-17
X	I.Ziv, Neuronal Apoptosis Induced by Dopamine is Associated with Cell Cycle-Related Events: Clues for Nigral Degeneration in Parkinson's Disease?, Neurology, 1996, Vol.46, No.2, suppl., pages A269-A270	1-17
X	BHARADWAJ Rajnish, Identification of two Novel components of the human NDC80 kinetochore complex, The Journal of Biological Chemistry, 26 March, 2004 (26.03.04), Vol.279, No.13, pages 13076 to 13085	1-17
X	C.Kollmannsberger, Topotecan - A Novel Topoisomerase I Inhibitor: Pharmacology and Clinical Experience, Oncology, 1999, Vol.56, pages 1 to 12	1-17
X	AKIMITSU Nobuyoshi, Induction of apoptosis by depletion of DNA topoisomerase II α in mammalian cells, Biochemical and Biophysical Research Communications, 2003, Vol.307, pages 301 to 307	1-17
A	QUINN Jennifer E., BRCA1 Functions as a Differential Modulator of Chemotherapy-induced Apoptosis, Cancer Research, 2003, Vol.63, No.19, pages 6221 to 6228	1-17
A	CHEN Zehan, Human Chk1 Expression is Dispensable for Somatic Cell Death and Critical for Sustaining G ₂ DNA Damage Checkpoint, Molecular Cancer Therapeutics, 2003, Vol.2, No.6, pages 543 to 548	1-17
A	FISHEL Melissa L., Imbalancing the DNA Base Excision Repair Pathway in the Mitochondria; Targeting and Overexpressing N-Methylpurine DNA Glycosylase in Mitochondria Leads to Enhanced Cell Killing, Cancer Research, 2003, Vol.63, pages 608 to 615	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/006914

<Subject of search>

Claims 1-3 and 12 relate to a carcinoma cell-specific apoptosis inducing agent comprising as an active ingredient a compound defined by the desired property of "inhibiting chromosome stabilization" and to an anticancer agent comprising the apoptosis inducing agent as an active ingredient. Although the claims 1-3 and 12 encompass all compounds with the above property, only some of the claimed compounds are disclosed within the meaning of PCT Article 5. Consequently, it appears that the support by the disclosure in description within the meaning of PCT Article 6 is lacking.

Further, with respect to the "compounds capable of inhibiting chromosome stabilization", the scope of compounds having such a property cannot be specified even if the technical common knowledge at the time of filing of this application is taken into account. Consequently, the claims 1-3 and 12 also fail to satisfy the requirement of clarity within the meaning of PCT Article 6.

Therefore, search on the claims 1-3 and 12 has been restricted to the relationship between apoptosis and, recited in claim 4, inhibition of gene expression and inhibition of activity of protein encoded by the gene and to anticancer agents utilizing the expression inhibition or activity inhibition. Complete search has been carried out on claims 4-11 and 13-17.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ A61K45/00, 31/7105, 31/7115, 38/00, 39/395, A61P35/00, C12Q1/68, G01N33/15, 33/50

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ A61K45/00, 31/7105, 31/7115, 38/00, 39/395, A61P35/00, C12Q1/68, G01N33/15, 33/50

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS (STN), Cplus (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO 03/46207 A2 (FRED HUTCHINSON CANCER RESEARCH CENTER) 2003.06.05, 請求項1-68 (ファミリーなし)	1-17
X	WO 02/102981 A2 (THE TRUSTEES OF COLUMBIA UNIVERSITY IN THE CITY OF NEW YORK) 2002.12.27, 請求項1-33 & US 2003/124101 A1	1-17
X	SORDET Olivier, Apoptosis Induced by Topoisomerase Inhibitors, Curr. Med. Chem.:Anti-Cancer Agents, 2003, Vol.3, No.4, Pages 271-290	1-17

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

09.06.2005

国際調査報告の発送日

28.6.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

榎本 佳予子

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

4C

3229

C (続き). 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	ZHANG Xinbo, Hoechst 33342-Induced Apoptosis Is Associated With Intracellular Accumulation of E2F-1 Protein in BC3H-1 Myocytes and HL-60 Cells, Arch. Pathol. Lab. Med., 2001, Vol.125, No.1, Pages 99-104	1-17
X	I. Ziv, Neuronal Apoptosis Induced by Dopamine Is Associated With Cell Cycle-Related Events:Clues for Nigral Degeneration in Parkinson's Disease?, Neurology, 1996, Vol.46, No.2 suppl., Pages A269-A270	1-17
X	BHARADWAJ Rajnish, Identification of Two Novel Components of the Human NDC80 Kinetochore Complex, The Journal of Biological Chemistry, 2004.03.26, Vol.279, No.13, Pages 13076-13085	1-17
X	C.Kollmannsberger, Topotecan - A Novel Topoisomerase I Inhibitor:Pharmacology and Clinical Experience, Oncology, 1999, Vol.56, Pages 1-12	1-17
X	AKIMITSU Nobuyoshi, Induction of apoptosis by depletion of DNA topoisomerase II α in mammalian cells, Biochemical and Biophysical Research Communications, 2003, Vol.307, Pages 301-307	1-17
A	QUINN Jennifer E., BRCA1 Functions as a Differential Modulator of Chemotherapy-induced Apoptosis, Cancer Research, 2003, Vol.63, No.19, Pages 6221-6228	1-17
A	CHEN Zehan, Human Chk1 Expression is Dispensable for Somatic Cell Death and Critical for Sustaining G ₂ DNA Damage Checkpoint, Molecular Cancer Therapeutics, 2003, Vol.2, No.6, Pages 543-548	1-17
A	FISHEL Melissa L., Imbalancing the DNA Base Excision Repair Pathway in the Mitochondria:Targetting and Overexpressing N-Methylpurine DNA Glycosylase in Mitochondria Leads to Enhanced Cell Killing, Cancer Research, 2003, Vol.63, Pages 608-615	1-17

＜調査の対象について＞

請求の範囲 1-3、12 は、「染色体の安定化を阻害する」という所望の性質により定義された化合物を有効成分とする癌細胞特異的アポトーシス誘導剤、及び、該誘導剤を有効成分とする抗癌剤に関するものである。そして、請求の範囲 1-3、12 は、そのような性質を有するあらゆる化合物を包含するものであるが、PCT 第 5 条の意味において開示されているのは、クレームされた化合物のごくわずかな部分にすぎず、PCT 第 6 条の意味での明細書の開示による裏付けを欠くものと認められる。

また、「染色体の安定化を阻害する化合物」は、出願時の技術常識を勘案してもそのような性質を有する化合物の範囲を特定できないから、請求の範囲 1-3、12 は、PCT 第 6 条における明確性の要件も欠いている。

したがって、請求の範囲 1-3、12 について、調査は、請求の範囲 4 に記載された遺伝子の発現抑制及び当該遺伝子によってコードされるタンパク質の機能抑制と、アポトーシスとの関係について、及び、当該発現抑制又は機能抑制を利用した抗癌剤について行った。また、請求の範囲 4-11、13-17 については、完全な調査を行った。