

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4906717号  
(P4906717)

(45) 発行日 平成24年3月28日(2012.3.28)

(24) 登録日 平成24年1月20日(2012.1.20)

(51) Int.Cl.	F 1
C 12 N 15/113	(2010.01) C 12 N 15/00 Z N A G
A 61 K 48/00	(2006.01) A 61 K 48/00
A 61 K 45/00	(2006.01) A 61 K 45/00
A 61 P 35/00	(2006.01) A 61 P 35/00
A 61 P 35/02	(2006.01) A 61 P 35/02

請求項の数 24 (全 95 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2007-515472 (P2007-515472)
(86) (22) 出願日	平成17年6月1日(2005.6.1)
(65) 公表番号	特表2008-500838 (P2008-500838A)
(43) 公表日	平成20年1月17日(2008.1.17)
(86) 國際出願番号	PCT/US2005/018993
(87) 國際公開番号	W02005/118824
(87) 國際公開日	平成17年12月15日(2005.12.15)
審査請求日	平成20年5月30日(2008.5.30)
(31) 優先権主張番号	10/858,013
(32) 優先日	平成16年6月1日(2004.6.1)
(33) 優先権主張国	米国(US)
(31) 優先権主張番号	10/858,094
(32) 優先日	平成16年6月1日(2004.6.1)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者	506400683 プロネイ・セラピューティクス・インコ ポレイテッド P R O N A I   T H E R A P E U T I C S ,   I N C . アメリカ合衆国4 9 0 0 8 - 5 6 0 5 ミシ ガン州カラマズー、スウィート1 1 0 0 、 キャンパス・ドライブ4 7 1 7番
(74) 代理人	100081422 弁理士 田中 光雄
(74) 代理人	100084146 弁理士 山崎 宏
(74) 代理人	100106518 弁理士 松谷 道子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】遺伝子発現の阻害に関する方法および組成物

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

生理的条件下で b c 1 - 2 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする第一のオリゴヌクレオチドを含む組成物であって、該第一のオリゴヌクレオチドが、配列番号 2 、 3 、 7 、 1 4 3 8 \_ からなる群から選択される、組成物。

## 【請求項 2】

追加のオリゴヌクレオチドをさらに含む請求項 1 に記載の組成物であって、該追加のオリゴヌクレオチドが、配列番号 2 、 3 、 7 、 1 4 3 8 \_ からなる群から選択されるものであり、かつ、第一のオリゴヌクレオチドとは異なる、組成物。

## 【請求項 3】

追加のオリゴヌクレオチドをさらに含む請求項 1 に記載の組成物であって、該追加のオリゴヌクレオチドが、 c - k i - R a s 、 c - H a - R a s 、 c - m y c 、 H e r - 2 および T G F - からなる群から選択される遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする、組成物。

## 【請求項 4】

b c 1 - 2 遺伝子を発現でき、増殖可能な細胞に、オリゴヌクレオチドを導入するための、 b c 1 - 2 遺伝子のプロモーター領域とハイブリダイズするオリゴヌクレオチドであって、配列番号 2 、 3 、 7 、 1 4 3 8 \_ からなる群から選択される、オリゴヌクレオチド。

## 【請求項 5】

10

20

導入により、細胞の増殖低下がもたらされる、請求項 4 に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 6】

細胞が、膵臓癌、大腸癌、乳癌、膀胱癌、肺癌、白血病、前立腺癌、リンパ腫、卵巣癌および黑色腫からなる群から選択される癌細胞である、請求項 4 に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 7】

細胞が動物中に存在する、請求項 4 に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 8】

動物がヒトである、請求項 7 に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 9】

請求項 4 に記載のオリゴヌクレオチドおよび試験化合物を含有する、組成物。

10

【請求項 10】

試験化合物が公知の化学療法剤である、請求項 9 に記載の組成物。

【請求項 11】

請求項 4 に記載のオリゴヌクレオチドおよび細胞に導入するための薬物送達系を含む、組成物。

【請求項 12】

薬物送達系がリポソームを含む、請求項 11 に記載の組成物。

【請求項 13】

b c 1 - 2 遺伝子のプロモーター領域に生理的条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含み、該オリゴヌクレオチドが配列番号 1 4 3 8 である、組成物。

20

【請求項 14】

細胞が癌細胞である、請求項 4 に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 15】

癌細胞が前立腺癌細胞またはリンパ腫細胞である、請求項 14 に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 16】

細胞が対象中に存在する、請求項 4 に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 17】

公知の化学療法剤をさらに含む、請求項 13 に記載の組成物。

30

【請求項 18】

化学療法剤が、ドセタキセル((2R,3S)-N-カルボキシ-3-フェニルイソセリン, N-tert-ブチルエステル, 5,20-エポキシ-1,2,4,7,10,13-ヘキサヒドロキシタックス-11-エン-9-オン4-アセテート2-ベンゾエート, トリヒドロエートとの13-エステル)である、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 19】

リポソームがカルジオリピンを基にしたカチオン性リポソームである、請求項 12 に記載の組成物。

【請求項 20】

リポソームが、N-[1-(2,3-ジオレオイルオキシ)プロピル]-N,N,N-トリメチルアンモニウムメチル-サルフェート(DOTAP)を含む、請求項 12 に記載の組成物。

40

【請求項 21】

公知の化学療法剤が、ドセタキセル((2R,3S)-N-カルボキシ-3-フェニルイソセリン, N-tert-ブチルエステル, 5,20-エポキシ-1,2,4,7,10,13-ヘキサヒドロキシタックス-11-エン-9-オン4-アセテート2-ベンゾエート, トリヒドロエートとの13-エステル)である、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 22】

配列番号 1 4 3 8 の核酸配列を有するオリゴヌクレオチドおよびリポソームを含む、医薬組成物。

50

## 【請求項 2 3】

リポソームがカルジオリピンを基にしたカチオン性リポソームである、請求項 2 2 に記載の組成物。

## 【請求項 2 4】

リポソームが、N - [ 1 - ( 2 , 3 - ジオレオイルオキシ ) プロピル ] - N , N , N - トリメチルアンモニウムメチル - サルフェート ( D O T A P ) を含む、請求項 2 2 に記載の組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0 0 0 1】

10

本出願は、同時係属特許出願である 2 0 0 4 年 6 月 1 日出願の米国特許出願第一 0 / 8 5 8 , 1 6 4 号明細書、2 0 0 4 年 6 月 1 日出願の米国特許出願第一 0 / 8 5 8 , 3 4 1 号明細書、2 0 0 4 年 6 月 1 日出願の米国特許出願第一 0 / 8 5 8 , 1 4 5 号明細書、2 0 0 4 年 6 月 1 日出願の米国特許出願第一 0 / 8 5 8 , 0 9 4 号明細書、2 0 0 4 年 6 月 1 日出願の米国特許出願第一 0 / 8 5 8 , 0 1 3 号明細書、2 0 0 4 年 6 月 1 日出願の米国特許出願第一 0 / 8 5 8 , 1 4 6 号明細書、2 0 0 4 年 9 月 2 2 日出願の米国特許出願第 6 0 / 6 1 1 , 9 7 4 号明細書、および 2 0 0 4 年 1 2 月 1 7 日出願の米国特許出願第 6 0 / 6 3 7 , 2 1 2 号明細書に対する優先権を主張する。

## 【0 0 0 2】

20

本発明は、遺伝子発現の阻害に関する方法および組成物に関する。特に、本発明は、癌に関する発癌遺伝子を阻害するためのオリゴヌクレオチドを基にした療法を提供する。

## 【背景技術】

## 【0 0 0 3】

発癌遺伝子は、癌生物学の理解における中心的コンセプトとなっており、治療薬に関する価値ある標的を提供できる。発癌遺伝子およびそれらの産物は全て細胞内で作用する。このことが、タンパク質ベースの薬物を無効にさせる。というのも、タンパク質ベースの薬物の特異性は、リガンド - 受容体認識に関係しているからである。

## 【0 0 0 4】

30

アンチセンスオリゴデオキシリボヌクレオチド (オリゴヌクレオチド) は、発癌遺伝子を特異的に標的化する治療用化合物の研究中のものである (非特許文献 1 、非特許文献 2 )。アンチセンス薬は、標的 m R N A のリポソーム翻訳を妨害することによって作用する修飾合成オリゴヌクレオチドである。これまでに開発されたアンチセンス薬は、標的 m R N A に結合し、m R N A のリボヌクレアーゼ H ( R N A - ーゼ H ) 分解を引き起こすことによって、標的 m R N A を破壊する。オリゴヌクレオチドは、約 2 0 分の半減期を有し、したがって、多くの細胞内で急速に分解される (非特許文献 3 )。オリゴヌクレオチドの安定性を増大させるために、それらは、しばしば化学的に修飾され、例えば、それらは、主鎖におけるホスフェート酸素の 1 つを硫黄置換することによって保護される ( ホスホロチオエート )。( 非特許文献 4 、非特許文献 5 )。しかし、この修飾は、アンチセンスの分解を遅くすることができるだけであり、したがって、有効となるためには大用量のアンチセンス薬が必要である。

40

## 【0 0 0 5】

アンチセンス療法の使用をめぐる楽観主義にも関わらず、十分な量のアンチセンスを細胞内に入れることの困難性、非配列特異的作用、大量の硫黄含有ホスホチオエートオリゴヌクレオチドによる毒性とそれらが標的細胞内に入る能力がないこと、および大用量の連続的送達によるコスト高など、アンチセンス薬の使用には、多くの重大な問題がある。アンチセンス薬によるさらなる問題は、それらの非特異的活性である。

## 【0 0 0 6】

必要なものは、発癌遺伝子を標的にするさらなる非タンパク質ベースの癌療法である。低用量において有効であり、かつ、対象にとって非毒性の療法が特に必要とされている。

【非特許文献 1】 ウィックストロム E . ( W i c k s t r o m , E . ) ( 編 ) 、「 P r

50

ospects for antisense nucleic acid therapy of cancer and Aids」、ニューヨーク：ウィリー・リス (Wiley-Liss Inc.) 1991年

【非特許文献2】ムレー J. A. H. (Murray J. A. H.) (編)、「Antisense RNA and DNA」、ニューヨーク：ウィリー・リス (Wiley-Liss Inc.) 1992年

【非特許文献3】フィッシャー T. L. (Fisher T. L.) ら、「Nucleic acids」、Res. 21: 3857-3865頁 (1993)

【非特許文献4】ミリガン J. F. (Milligan J. F.) ら、J. Med. Chem. 36: 1923-1937頁 (1993)

【非特許文献5】ワグナー R. W. (Wagner R. W.) ら、Science 260: 1510-1513頁 (1993)

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明は、遺伝子発現の阻害に関する方法および組成物に関する。特に、本発明は、癌に関する発癌遺伝子を阻害するためのオリゴヌクレオチドを基にした療法を提供する。

【0008】

いくつかの実施態様において、本発明は、生理的条件下で、bcl-3遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする第一のオリゴヌクレオチド（例えば、配列番号1438、3、7、8または9）を含む組成物を提供する。いくつかの実施態様において、第一のオリゴヌクレオチドにおけるシトシン塩基の少なくとも1つが、5-メチルシトシンである。いくつかの実施態様において、第一のオリゴヌクレオチドにおけるシトシン塩基の全てが、5-メチルシトシンである。いくつかの好ましい実施態様において、bcl-2遺伝子のプロモーター領域への第一のオリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションにより、bcl-2遺伝子の発現が阻害される。いくつかの実施態様において、bcl-2遺伝子は細胞の染色体上に存在し、bcl-2遺伝子のプロモーター領域と第一のオリゴヌクレオチドとのハイブリダイゼーションは、該細胞の増殖を低下させる。いくつかの実施態様において、該組成物は、第二のオリゴヌクレオチドをさらに含む。いくつかの実施態様において、第二のオリゴヌクレオチドにおけるシトシン塩基の少なくとも1つ（例えば全て）が、5-メチルシトシンである。いくつかの実施態様において、第二のオリゴヌクレオチドは、配列番号3、7、8または9を含み、第一のオリゴヌクレオチドとは異なる（例えば、第二のオリゴヌクレオチドが、配列番号3を有していれば、第一のオリゴヌクレオチドは、配列番号3以外の配列を有するなど）。いくつかの実施態様において、第二のオリゴヌクレオチドは、第二の遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、該第二の遺伝子は**c** bcl-2ではない。いくつかの実施態様において、第二の遺伝子は、発癌遺伝子（例えば、c-ki-Ras、c-Ha-Ras、c-myc、Her-2、またはTGF-）である。

【0009】

別の実施態様において、本発明は、配列番号1のヌクレオチド1から40の間、配列番号1のヌクレオチド161から350の間、配列番号1のヌクレオチド401から590の間、配列番号1のヌクレオチド1002から1260の間を含む位置で、bcl-2遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を提供する。

【0010】

さらに他の実施態様において、本発明は、オリゴヌクレオチド（例えば、配列番号1438、3、7、8または9）；および、増殖可能で発現可能なbcl-2遺伝子を含む細胞を提供すること；および該細胞にオリゴヌクレオチドを導入することを含む方法を提供する。いくつかの実施態様において、該導入により細胞の増殖低下がもたらされる。特定の実施態様において、該導入により、bcl-2遺伝子発現の阻害がもたらされる。いく

つかの実施態様において、該細胞は癌細胞である。いくつかの実施態様において、該細胞は、宿主動物（例えば、非ヒト哺乳動物またはヒト）中に存在する。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、体重1kg当たり、0.01μgから100gの間、好ましくは、1mgから100mgの間の投与量で、宿主動物に導入される。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、1日1回以上、宿主動物に導入される。他の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、連続的に宿主動物に導入される。さらなる実施態様において、該細胞は、細胞培養物中に存在する。いくつかの実施態様において、該方法は、該細胞に試験化合物を導入するステップをさらに含む。いくつかの実施態様において、該試験化合物は、公知の化学療法剤である。いくつかの実施態様において、前記癌は、肺癌、大腸癌、乳癌、膀胱癌、肺癌、白血病、前立腺、リンパ腫、卵巣または黒色腫である。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドにおけるシトシン塩基の少なくとも1つ（例えば、全て）が、5-メチルシトシンである。

#### 【0011】

いくつかの実施態様において、本方法は、薬物送達系をさらに提供する。いくつかの実施態様において、該薬物送達系は、リポソーム（例えば、中性脂肪または脂質様化合物を含むリポソーム）を含む。いくつかの実施態様において、該薬物送達系は、細胞標的成分（例えば、細胞表面受容体または核受容体に対するリガンドまたはリガンド様分子）を含む。特定の実施態様において、該薬物送達系は、インビボで使用するためのものであり、オリゴヌクレオチドおよびリポソームは、体重1kg当たり、2:1から1:3/1μgから100mgの比率で存在する。

#### 【0012】

本発明は、bcl-2遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチド；およびbcl-2遺伝子を含む細胞を提供すること；そして該オリゴヌクレオチドを該細胞に導入することを含む方法を、さらに提供する。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つのCGジヌクレオチド対を含み、CGジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つは、5-メチルシトシンである。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、bcl-2遺伝子のプロモーター領域に、完全に相補的である。他の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、bcl-2遺伝子のプロモーター領域に、部分的に相補的である。例えば、特定の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、bcl-2遺伝子のプロモーター領域に対して、1つの誤対合を含有する。いくつかの好ましい実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、bcl-2遺伝子のプロモーター領域に対してのみ相補的であり、ヒトゲノムの他の領域に対しては、完全に相補的であることはない。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、10ヌクレオチド長から60ヌクレオチド長の間であり、好ましくは、15ヌクレオチド長から35ヌクレオチド長の間である。

#### 【0013】

いくつかの実施態様において、該方法は、薬物送達系をさらに提供する。いくつかの実施態様において、該薬物送達系は、リポソーム（例えば、中性脂肪または脂質様化合物を含むリポソーム）を含む。いくつかの実施態様において、該薬物送達系は、細胞標的成分（例えば、細胞表面受容体または核受容体に対するリガンドまたはリガンド様分子）を含む。特定の実施態様において、該薬物送達系は、インビボで使用するためのものであり、該オリゴヌクレオチドおよび該リポソームは、体重1kg当たり、2:1から1:3/1μgから100mgの比率で存在する。

#### 【0014】

さらなる実施態様において、本発明は、生理的条件下で、bcl-2遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を提供する。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つのCGジヌクレオチド対を含み、CGジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つは、5-メチルシトシンである。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、bcl-2遺伝子のプロモーター領域に、完全に相補的である。他の実施態様において、該オリゴヌクレオ

10

20

30

40

50

チドは、b c 1 - 2 遺伝子のプロモーター領域に、部分的に相補的である。例えば、特定の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、b c 1 - 2 遺伝子のプロモーター領域に対して、1つの誤対合を含有する。いくつかの好ましい実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、b c 1 - 2 遺伝子のプロモーター領域に対してのみ相補的であり、ヒトゲノムの他の領域に対しては、完全に相補的であることはない。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、10ヌクレオチド長から60ヌクレオチド長の間であり、好ましくは、15ヌクレオチド長から35ヌクレオチド長の間である。

#### 【 0 0 1 5 】

本発明は、生理的条件下、b c 1 - 2 遺伝子の発現が阻害されるような条件下で、b c 1 - 2 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を、さらに提供する。 10

#### 【 0 0 1 6 】

本発明は、生理的条件下、細胞の増殖が低下するような条件下で、該細胞の染色体上にあるb c 1 - 2 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を、さらに提供する。

#### 【 0 0 1 7 】

また、本発明は、生理的条件下で、b c 1 - 2 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、少なくとも1つのC Gジヌクレオチド対を含んでおり、該C Gジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5 - メチルシトシンである第一オリゴヌクレオチド；および、少なくとも1つのC Gジヌクレオチド対を含み、C Gジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5 - メチルシトシンである第二オリゴヌクレオチド、を含む組成物を提供する。 20

#### 【 0 0 1 8 】

特定の実施態様において、本発明は、生理的条件下に、b c 1 - 2 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、少なくとも1つのC Gジヌクレオチド対を含んでおり、該C Gジヌクレオチド対中のシトシン塩基の少なくとも1つが5 - メチルシトシンであるオリゴヌクレオチドを含むキット；ならびに、細胞の染色体上にb c 1 - 2 遺伝子を含む該細胞の増殖を低下させるか、または遺伝子発現を阻害するためのキットの使用説明書を提供する。いくつかの実施態様において、該キット内の組成物は、対象における癌を治療するために使用され、該説明書は、対象における癌を治療するためにキットを使用するための説明書を含む。いくつかの実施態様において、該説明書は、医薬品の表示に関する米国食品医薬品局により要求された説明書である。 30

#### 【 0 0 1 9 】

また、本発明は、癌と診断された対象からの生物学的サンプルおよびサンプル中の発癌遺伝子の発現の有無を検出する試薬を提供すること；サンプル中の発癌遺伝子の発現の有無を検出すること；生理的条件下、生物学的サンプル中に発現した発癌遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、少なくとも1つのC Gジヌクレオチドを含んでおり、該C Gジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5 - メチルシトシンであるオリゴヌクレオチドを対象に導入すること、を含む方法を提供する。

#### 【 0 0 2 0 】

本発明は、生理的条件下、生物学的サンプル中に発現した癌または過剰増殖疾患に関与する遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、少なくとも1つのC Gジヌクレオチドを含んでおり、該C Gジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5 - メチルシトシンであるオリゴヌクレオチドを提供すること；および該遺伝子の発現が阻害されるような条件下で、該オリゴヌクレオチドを対象に投与すること、を含む、対象における遺伝子の発現を阻害する（例えば、癌または他の過剰増殖疾患を治療するための）方法をさらに提供する。いくつかの実施態様において、該対象はヒトである。 40

#### 【 0 0 2 1 】

さらなる実施態様において、本発明は、疑わしい発癌遺伝子を含む細胞および該遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを提供すること；該オリゴ 50

スクレオチドを該細胞に導入すること；そして該オリゴスクレオチドの不在の場合と比較して、該オリゴスクレオチドが存在した場合に該細胞の増殖が阻害されるかどうかを判定すること、を含む化合物のスクリーニング法を提供する。いくつかの実施態様において、該細胞は、細胞培養物（例えば、癌細胞系）中に存在する。他の実施態様において、該細胞は、宿主動物（例えば、非ヒト哺乳動物）中に存在する。いくつかの実施態様において、該方法は、ハイスループットスクリーニング法である。

【0022】

したがって、いくつかの実施態様において、本発明は、生理的条件下に、c - k i - R a s 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする第一のオリゴスクレオチド（例えば、配列番号 47、48、50 または 53）を含む組成物を提供する。特定の実施態様において、第一のオリゴスクレオチドのシトシン塩基の少なくとも 1 つ（例えば全て）は、5 - メチルシトシンである。いくつかの実施態様において、c - k i - R a s 遺伝子のプロモーター領域に対する第一のオリゴスクレオチドのハイブリダイゼーションにより、c - k i - R a s 遺伝子の発現が阻害される。特定の実施態様において、c - k i - R a s 遺伝子は、細胞の染色体上にあり、c - k i - R a s 遺伝子のプロモーター領域に対する第一のオリゴスクレオチドのハイブリダイゼーションにより、該細胞の増殖が低下する。いくつかの実施態様において、該組成物は、第二のオリゴスクレオチドをさらに含む。いくつかの実施態様において、第二のオリゴスクレオチドにおけるシトシン塩基の少なくとも 1 つは 5 - メチルシトシンである。他の実施態様において、第二のオリゴスクレオチドにおけるシトシン塩基の全てが 5 - メチルシトシンである。いくつかの実施態様において、第二のオリゴスクレオチドは、配列番号 47、48、50 または 53 を含み、第二のオリゴスクレオチドは、第一のオリゴスクレオチドとは異なる（例えば、第二のオリゴスクレオチドが、配列番号 47 の配列を有していれば、第一のオリゴスクレオチドは、配列番号 47 以外の配列を有するなど）。特定の実施態様において、第二のオリゴスクレオチドは、第二の遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、該第二の遺伝子は、c - k i - R a s ではない。いくつかの実施態様において、第二の遺伝子は、発癌遺伝子（例えば、これらに限定はしないが、c - H a - R a s、c - m y c、H e r - 2、または T G F - 、および b c l - 2 など）である。

【0023】

さらに他の実施態様において、本発明は、配列番号 46 のスクレオチド 1 から 289 の間、または配列番号 46 のスクレオチド 432 から 658 の間を含む位置で、c - k i - R a s 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴスクレオチドを含む組成物を提供する。

【0024】

他の実施態様において、本発明は、c - k i - R a s 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴスクレオチド（例えば、配列番号 47、48、50 または 53 を含むオリゴスクレオチド）；および発現可能な c - k i - R a s 遺伝子を含み、増殖できる細胞を提供すること；そして該オリゴスクレオチドを該細胞に導入すること、を含む方法を提供する。いくつかの実施態様において、該オリゴスクレオチドは、少なくとも 1 つの C G ジヌクレオチド対を含み、C G ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つは、5 - メチルシトシンである。他の実施態様において、該オリゴスクレオチドの C G ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の全てが、5 - メチルシトシンである。いくつかの実施態様において、該オリゴスクレオチドは、配列番号 46 のスクレオチド 1 から 289 の間、または配列番号 46 のスクレオチド 432 から 658 の間を含む位置で、c - k i - R a s 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする。いくつかの実施態様において、該オリゴスクレオチドは、15 塩基長から 30 塩基長の間である。

【0025】

いくつかの好ましい実施態様において、導入により細胞の増殖低下がもたらされる。いくつかの実施態様において、該導入により、c - k i - R a s 遺伝子の発現阻害がもたらされる。いくつかの実施態様において、該細胞は癌細胞（例えば、これらに限定はしない

10

20

30

40

50

が、肺癌、大腸癌、乳癌、膀胱癌、肺癌、白血病、前立腺、リンパ腫、卵巣、または黒色腫など)である。いくつかの実施態様において、該細胞は、宿主動物中に存在する。いくつかの実施態様において、該宿主動物は、非ヒト哺乳動物である。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、体重1kg当たり、0.01μgから100gの間、好ましくは、1mgから100mgの間の投与量で、宿主動物に導入される。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、1日1回以上、宿主動物に導入される。他の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、連続的に(例えば、2時間から2週間の間の期間)宿主動物に導入される。他の実施態様において、該細胞は、細胞培養物中に存在する。いくつかの実施態様において、該方法は、該細胞に試験化合物を導入するステップをさらに含む。いくつかの実施態様において、該試験化合物は公知の化学療法剤である。

10

#### 【0026】

いくつかの実施態様において、該方法は薬物送達系をさらに提供する。いくつかの実施態様において、該薬物送達系は、リポソーム(例えば、中性脂肪または脂質様化合物を含むリポソーム)を含む。いくつかの実施態様において、該薬物送達系は、細胞標的成分(例えば、細胞表面受容体または核受容体に対するリガンドまたはリガンド様分子)を含む。特定の実施態様において、該薬物送達系は、インビボで使用するためのものであり、該オリゴヌクレオチドおよび該リポソームは、体重1kg当たり、2:1から1:3/1μgから100mgの比率で存在する。

#### 【0027】

さらなる実施態様において、本発明は、生理的条件下で、c-ki-Ras遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を提供し、該オリゴヌクレオチドにおけるシトシン塩基の少なくとも1つ(例えば、全て)は、5-メチルシトシンである。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、c-ki-Ras遺伝子のプロモーター領域に、完全に相補的である。他の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、c-ki-Ras遺伝子のプロモーター領域に、部分的に相補的である。例えば、特定の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、c-ki-Ras遺伝子のプロモーター領域に対して、1つの誤対合を含有する。いくつかの好ましい実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、c-ki-Ras遺伝子のプロモーター領域に対してのみ相補的であり、ヒトゲノムの他の領域に対しては、完全に相補的であることはない。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、10ヌクレオチド長から60ヌクレオチド長の間であり、好ましくは、15ヌクレオチド長から35ヌクレオチド長の間である。

20

#### 【0028】

本発明は、生理的条件下にc-ki-Ras遺伝子の発現が阻害されるような条件下で、c-ki-Ras遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を、さらに提供する。

30

#### 【0029】

本発明は、生理的条件下、細胞の増殖が低下するような条件下で、該細胞の染色体にあるc-ki-Ras遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を、さらに提供する。

40

#### 【0030】

また、本発明は、生理的条件下で、c-ki-Ras遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、少なくとも1つのCGジヌクレオチド対を含んでおり、該CGジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5-メチルシトシンである第一のオリゴヌクレオチド；少なくとも1つのCGジヌクレオチド対を含み、該CGジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5-メチルシトシンである第二のオリゴヌクレオチド、を含む組成物を提供する。

#### 【0031】

特定の実施態様において、本発明は、生理的条件下に、c-ki-Ras遺伝子のプロ

50

モーター領域にハイブリダイズし、少なくとも 1 つの C G ジヌクレオチド対を含み、該 C G ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つが 5 - メチルシトシンであるオリゴヌクレオチドを含むキット；ならびに、細胞の染色体上に c - k i - R a s 遺伝子を含む、該細胞の増殖を低下させるかまたは遺伝子発現を阻害するためのキットの使用説明書を提供する。いくつかの実施態様において、該キット内の組成物は、対象における癌を治療するために使用され、該説明書は、対象における癌を処置するためのキットの説明書を含む。いくつかの実施態様において、該説明書は、医薬品表示に関する米国食品医薬品局により要求された説明書である。

## 【 0 0 3 2 】

また、本発明は、次の工程を含む方法を提供する：癌と診断された対象からの生物学的サンプル、およびサンプル中の発癌遺伝子の発現の有無を検出する試薬を提供すること；サンプル中の発癌遺伝子の発現の有無を検出すること；生理的条件下で、生物学的サンプル中で発現した発癌遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、少なくとも 1 つの C G ジヌクレオチド対を含んでおり、該 C G ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つが 5 - メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチドを対象に投与すること。

10

## 【 0 0 3 3 】

本発明は、対象における遺伝子の発現を阻害する（例えば、癌または他の過剰増殖疾患を治療するために）方法をさらに提供するものであって、生理的条件下、生物学的サンプル中で発現した癌または過剰増殖疾患に関する遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、少なくとも 1 つの C G ジヌクレオチドを含んでおり、該 C G ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つが 5 - メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチドを提供すること；そして、該遺伝子の発現が阻害されるような条件下で、該オリゴヌクレオチドを対象に投与すること、を含む方法を提供する。いくつかの実施態様において、該対象はヒトである。

20

## 【 0 0 3 4 】

さらなる実施態様において、本発明は、次の工程を含む化合物のスクリーニング法を提供するものである；疑わしい発癌遺伝子を含む細胞、および該遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを提供すること；および該オリゴヌクレオチドを該細胞に投与すること；および該オリゴヌクレオチドの不在の場合と比較して、該オリゴヌクレオチドが存在した場合に該細胞の増殖が阻害されるかどうかを判定すること。いくつかの実施態様において、該細胞は、細胞培養物（例えば、癌細胞系）中に存在する。他の実施態様において、該細胞は、宿主動物（例えば、非ヒト哺乳動物）中に存在する。いくつかの実施態様において、該方法はハイスループットスクリーニング法である。

30

## 【 0 0 3 5 】

いくつかの実施態様において、本発明は、生理的条件下、c - m y c 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする第一のオリゴヌクレオチド（例えば、配列番号 110、111、112、113、114 または 115）を含む組成物を提供する。いくつかの実施態様において、第一のオリゴヌクレオチドのシトシン塩基の少なくとも 1 つ（例えば全て）は 5 - メチルシトシンである。いくつかの好ましい実施態様において、c - m y c 遺伝子のプロモーター領域に対する第一のオリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションにより、c - m y c 遺伝子の発現が阻害される。いくつかの実施態様において、c - m y c 遺伝子は、細胞の染色体上にあり、c - m y c 遺伝子のプロモーター領域に対する第一のオリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションにより、該細胞の増殖が低下する。いくつかの実施態様において、該組成物は、第二のオリゴヌクレオチドをさらに含む。いくつかの実施態様において、第二のオリゴヌクレオチドにおけるシトシン塩基の少なくとも 1 つ（例えば全て）は、5 - メチルシトシンである。いくつかの実施態様において、第二のオリゴヌクレオチドは、配列番号 110、111、112、113、114 または 115 を含み、第二のオリゴヌクレオチドは、第一のオリゴヌクレオチドとは異なる（例えば、第二のオリゴヌクレオチドが、配列番号 110 の配列を有していれば、第一のオリゴヌクレオチドは、配列番号 110 以外の配列を有するなど）。いくつかの実施態様において、第二

40

50

のオリゴヌクレオチドは第二の遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、該第二の遺伝子は c - m y c ではない。いくつかの実施態様において、第二の遺伝子は発癌遺伝子（例えば、c - k i - R a s、c - H a - R a s、b c l - 2、H e r - 2、または T G F - ）である。

【 0 0 3 6 】

本発明は、配列番号 1 0 8 のヌクレオチド 3 から 1 2 4 の間、または配列番号 1 0 8 のヌクレオチド 1 6 5 から 6 2 9 の間を含む位置で、c - m y c 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を、さらに提供する。

【 0 0 3 7 】

本発明は、生理的条件下、c - m y c 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチド（例えば、配列番号 1 1 0、1 1 1、1 1 2、1 1 3、1 1 4 または 1 1 5）および c - m y c 遺伝子を発現できる c - m y c 遺伝子を含んでおり、増殖できる細胞、を提供すること；そして、該オリゴヌクレオチドを該細胞に導入すること、を含む方法をさらに提供する。いくつかの実施態様において、該導入により、該細胞の増殖低下がもたらされる。特定の実施態様において、該導入により、c - m y c 遺伝子発現の阻害がもたらされる。いくつかの実施態様において、該細胞は癌細胞である。他の実施態様において、該細胞は、宿主動物（例えば、非ヒト哺乳動物またはヒト）中に存在する。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、体重 1 k g 当たり、0 . 0 1  $\mu$  g から 1 0 0 g の間、好ましくは、1 m g から 1 0 0 m g の間の投与量で、宿主動物に導入される。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、1 日 1 回以上、宿主動物に導入される。他の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、連続的に宿主動物に導入される。さらなる実施態様において、該細胞は、細胞培養物中に存在する。いくつかの実施態様において、該方法は、該細胞に試験化合物を導入するステップをさらに含む。いくつかの実施態様において、該試験化合物は、公知の化学療法剤である。いくつかの実施態様において、前記癌は、肺癌、大腸癌、乳癌、膀胱癌、肺癌、白血病、前立腺、リンパ腫、卵巣、または黒色腫である。

【 0 0 3 8 】

いくつかの実施態様において、該方法は、薬物送達系をさらに提供する。いくつかの実施態様において、該薬物送達系は、リポソーム（例えば、中性脂肪または脂質様化合物を含むリポソーム）を含む。いくつかの実施態様において、該薬物送達系は、細胞標的成分（例えば、細胞表面受容体または核受容体に対するリガンドまたはリガンド様分子）を含む。特定の実施態様において、該薬物送達系は、インビボで使用するためのものであり、該オリゴヌクレオチドおよび該リポソームは、体重 1 k g 当たり、2 : 1 から 1 : 3 / 1  $\mu$  g から 1 0 0 m g の比率で存在する。

【 0 0 3 9 】

いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドにおけるシトシン塩基の少なくとも 1 つ、好ましくは全てが 5 - メチルシトシンである。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、1 0 ヌクレオチド長から 6 0 ヌクレオチド長の間であり、好ましくは、1 5 ヌクレオチド長から 3 5 ヌクレオチド長の間である。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、配列番号 1 0 8 のヌクレオチド 3 から 1 2 4 の間、または配列番号 1 0 8 のヌクレオチド 1 6 5 から 6 2 9 の間を含む位置で、c - m y c 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする。

【 0 0 4 0 】

さらなる実施態様において、本発明は、生理的条件下で、c - m y c 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を提供し、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも 1 つの C G ジヌクレオチド対を含み、該 C G ジヌクレオチド対中のシトシン塩基の少なくとも 1 つは 5 - メチルシトシンを含む組成物を提供する。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、c - m y c 遺伝子のプロモーター領域に、完全に相補的である。他の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、c - m y c 遺伝子のプロモーター領域に、部分的に相補的である。例えば、特定の実施態様において

10

20

30

40

50

、該オリゴヌクレオチドは、c - m y c 遺伝子のプロモーター領域に対して、1つの誤対合を含有する。いくつかの好ましい実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、c - m y c 遺伝子のプロモーター領域に対してのみ相補的であり、ヒトゲノムの他の領域に対しては、完全に相補的であることはない。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、10ヌクレオチド長から60ヌクレオチド長の間であり、好ましくは、15ヌクレオチド長から35ヌクレオチド長の間である。

【0041】

本発明は、生理的条件下、c - m y c 遺伝子の発現が阻害されるような条件下で、c - m y c 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を、さらに提供する。

10

【0042】

本発明は、生理的条件下、細胞の増殖が低下するような条件下で、該細胞の染色体にあるc - m y c 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を、さらに提供する。

【0043】

また、本発明は、生理的条件下で、c - m y c 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、少なくとも1つのC Gジヌクレオチド対を含み、該C Gジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5 - メチルシトシンである第一のオリゴヌクレオチド；少なくとも1つのC Gジヌクレオチドを含み、C Gジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つは、5 - メチルシトシンを含む第二のオリゴヌクレオチド、を含む組成物を提供する。

20

【0044】

特定の実施態様において、本発明は、生理的条件下に、c - m y c 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドであって、少なくとも1つのC Gジヌクレオチドを含み、該C Gジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5 - メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチドを含むキット；ならびに、細胞の染色体上にc - m y c 遺伝子を含む該細胞の増殖を低下させるか、または遺伝子発現を阻害するためのキットの使用説明書を提供する。いくつかの実施態様において、該キット内の組成物は、対象における癌を治療するために使用され、該説明書は、対象における癌を処置するためのキットの説明書を含む。いくつかの実施態様において、該説明書は、医薬品表示に関する米国食品医薬品局により要求された説明書である。

30

【0045】

また、本発明は、癌と診断された対象からの生物学的サンプル、およびサンプル中の発癌遺伝子の発現の有無を検出する試薬を提供すること；サンプル中の発癌遺伝子の発現の有無を検出すること；そして、生理的条件下に、生物学的サンプル中に発現した発癌遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、少なくとも1つのC Gジヌクレオチドを含んでおり、該C Gジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5 - メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチドを対象に投与すること、を含む方法を提供する。

【0046】

本発明は、生理的条件下に、生物学的サンプル中に発現した癌または過剰増殖疾患に関する遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドであって、少なくとも1つのC Gジヌクレオチドを含み、C Gジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5 - メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチドを提供すること；および該遺伝子の発現が阻害されるような条件下で、該オリゴヌクレオチドを対象に投与することを含む、対象における遺伝子の発現を阻害する（例えば、癌または他の過剰増殖疾患を治療するために）方法をさらに提供する。いくつかの実施態様において、該対象はヒトである。

40

【0047】

さらなる実施態様において、本発明は、疑わしい発癌遺伝子を含む細胞および該遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを提供すること；および該

50

オリゴヌクレオチドを該細胞に投与すること；および該オリゴヌクレオチドの不在の場合と比較して、該オリゴヌクレオチドが存在した場合に該細胞の増殖が阻害されるかどうかを判定することを含む、化合物のスクリーニング法を提供する。いくつかの実施態様において、該細胞は、細胞培養物（例えば、癌細胞系）中に存在する。他の実施態様において、該細胞は、宿主動物（例えば、非ヒト哺乳動物）中に存在する。いくつかの実施態様において、該方法は、ハイスループットスクリーニング法である。

【0048】

いくつかの実施態様において、本発明は、生理的条件下に、c-Ha-ras 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする第一のオリゴヌクレオチド（例えば、配列番号 67、68、69、71、73、74、76、78、84、160、161、または 162）を含む組成物を提供する。いくつかの実施態様において、第一のオリゴヌクレオチドのシトシン塩基の少なくとも 1 つは、5-メチルシトシンである。いくつかの実施態様において、第一のオリゴヌクレオチドのシトシン塩基の全てが、5-メチルシトシンである。特定の実施態様において、第一のオリゴヌクレオチドは、生理的条件下で、c-Ha-ras 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする。いくつかの好ましい実施態様において、c-Ha-ras 遺伝子のプロモーター領域と第一のオリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションにより、c-Ha-ras 遺伝子の発現が阻害される。いくつかの実施態様において、c-Ha-ras 遺伝子は、細胞の染色体上にあり、c-Ha-ras 遺伝子のプロモーター領域への第一のオリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションにより、該細胞の増殖が低下する。いくつかの実施態様において、該組成物は、第二のオリゴヌクレオチドをさらに含む。いくつかの実施態様において、第二のオリゴヌクレオチドにおけるシトシン塩基の少なくとも 1 つ（例えば、全て）は、5-メチルシトシンである。いくつかの実施態様において、第二のオリゴヌクレオチドは、配列番号 67、68、69、71、73、74、76、78、84、160、161 または 162 を含み、第一のオリゴヌクレオチドは、第二のオリゴヌクレオチドとは異なる（例えば、第二のオリゴヌクレオチドが、配列番号 67 の配列を有していれば、第一のオリゴヌクレオチドは、配列番号 67 とは異なる配列を有するなど）。いくつかの実施態様において、第二のオリゴヌクレオチドは、第二の遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、第二の遺伝子は、c-Ha-ras ではない。いくつかの実施態様において、第二の遺伝子は、発癌遺伝子（例えば、c-ki-Ras、c-myc、bcl-2、Her-2、または TGF-）である。

【0049】

本発明は、配列番号 66 のヌクレオチド 21 から 220 の間、配列番号 66 のヌクレオチド 233 から 860 の間、配列番号 66 のヌクレオチド 1411 から 1530 の間、または配列番号 66 のヌクレオチド 1631 から 1722 の間を含む位置で、c-Ha-ras 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を、さらに提供する。

【0050】

さらに他の実施態様において、本発明は、生理的条件下、c-Ha-ras 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチド（例えば、配列番号 67、68、69、71、73、74、76、78、84、160、161、または 162）；および発現可能な、c-Ha-ras 遺伝子を含む細胞であって、増殖できる細胞、を提供すること；および該オリゴヌクレオチドを、該細胞に導入すること、を含む方法を提供する。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、15 塩基長から 30 塩基長の間である。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、配列番号 66 のヌクレオチド 21 から 220 の間、配列番号 66 のヌクレオチド 233 から 860 の間、配列番号 66 のヌクレオチド 1411 から 1530 の間、または配列番号 66 のヌクレオチド 1631 から 1722 の間を含む位置で、c-Ha-ras 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする。

【0051】

10

20

30

40

50

いくつかの実施態様において、該導入により、該細胞の増殖低下がもたらされる。特定の実施態様において、該導入により、c - Ha - ras 遺伝子発現の阻害がもたらされる。いくつかの実施態様において、該細胞は癌細胞である。いくつかの実施態様において、前記癌は、膵癌、大腸癌、乳癌、膀胱癌、肺癌、白血病、前立腺、リンパ腫、卵巣、または黒色腫である。他の実施態様において、該細胞は、宿主動物（例えば、非ヒト哺乳動物またはヒト）中に存在する。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、体重 1 kg 当たり、0.01 μg から 100 g の間、好ましくは、1 mg から 100 mg の間の投与量で、宿主動物に導入される。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、1 日 1 回以上、宿主動物に導入される。他の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、連続的に（例えば、2 時間から 2 週間の間の期間）宿主動物に導入される。他の実施態様において、該細胞は、細胞培養物中に存在する。特定の実施態様において、該方法は、該細胞に試験化合物を導入するステップをさらに含む。いくつかの実施態様において、該試験化合物は、公知の化学療法剤である。

#### 【0052】

いくつかの実施態様において、該方法は、薬物送達系をさらに提供する。いくつかの実施態様において、該薬物送達系は、リポソーム（例えば、中性脂肪または脂質様化合物を含むリポソーム）を含む。いくつかの実施態様において、該薬物送達系は、細胞標的成分（例えば、細胞表面受容体または核受容体に対するリガンドまたはリガンド様分子）を含む。特定の実施態様において、該薬物送達系は、インビボで使用するためのものであり、該オリゴヌクレオチドおよび該リポソームは、体重 1 kg 当たり、2 : 1 から 1 : 3 / 1 μg から 100 mg の比率で存在する。

#### 【0053】

さらなる実施態様において、本発明は、生理的条件下で、c - Ha - ras 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を提供する。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドにおけるシトシン塩基の少なくとも 1 つ（例えば全て）は、5 - メチルシトシンである。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、c - Ha - ras 遺伝子のプロモーター領域に、完全に相補的である。他の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、c - Ha - ras 遺伝子のプロモーター領域に、部分的に相補的である。例えば、特定の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、c - Ha - ras 遺伝子のプロモーター領域に対して、1 つの誤対合を含有する。いくつかの好ましい実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、c - Ha - ras 遺伝子のプロモーター領域に対してのみ相補的であり、ヒトゲノムの他の領域に対しては、完全に相補的であることはない。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、10 ヌクレオチド長から 60 ヌクレオチド長の間であり、好ましくは、15 ヌクレオチド長から 35 ヌクレオチド長の間である。

#### 【0054】

本発明は、生理的条件下、c - Ha - ras 遺伝子の発現が阻害されるような条件下で、c - Ha - ras 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を、さらに提供する。

#### 【0055】

本発明は、生理的条件下、細胞の増殖が低下するような条件下で、該細胞の染色体にある c - Ha - ras 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を、さらに提供する。

#### 【0056】

また、本発明は、生理的条件下で、c - Ha - ras 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする第一のオリゴヌクレオチド、即ち少なくとも 1 つの CG ジヌクレオチド対を含んでおり、該 CG ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つが 5 - メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチド；および第二のオリゴヌクレオチド、即ち少なくとも 1 つの CG ジヌクレオチド対を含み、該 CG ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つが 5 - メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチド、を含む組成物を提供

10

20

30

40

50

する。

#### 【0057】

特定の実施態様において、本発明は、生理的条件下で、c - Ha - ras 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、少なくとも 1 つの CG ジヌクレオチド対を含んでおり、該 CG ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つが 5 - メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチドを含むキット；ならびに、細胞の染色体上に c - Ha - ras 遺伝子を含む該細胞の増殖を低下させるか、または遺伝子発現を阻害するためのキットの使用説明書を提供する。いくつかの実施態様において、該キット内の組成物は、対象における癌を治療するために使用され、該説明書は、対象における癌を処置するためのキットの使用説明書を含む。いくつかの実施態様において、該説明書は、医薬品表示に関する米国食品医薬品局により要求された説明書である。 10

#### 【0058】

また、本発明は、癌と診断された対象からの生物学的サンプル、およびサンプル中の発癌遺伝子の発現の有無を検出する試薬を提供すること；生物学的サンプル中の発癌遺伝子の発現の有無を検出すること；生理的条件下に、生物学的サンプル中に発現した発癌遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、少なくとも 1 つの CG ジヌクレオチド対を含んでおり、該 CG ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つが 5 - メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチドを対象に投与すること、を含む方法を提供する。

#### 【0059】

本発明は、生理的条件下、生物学的サンプル中に発現した癌または過剰増殖疾患に関する遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドであって、少なくとも 1 つの CG ジヌクレオチド対を含んでおり、該 CG ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つが 5 - メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチドを提供すること；そして該遺伝子の発現が阻害されるような条件下で、該オリゴヌクレオチドを対象に投与すること、を含む、対象における遺伝子の発現を阻害する（例えば、癌または他の過剰増殖疾患を治療するために）方法をさらに提供する。いくつかの実施態様において、該対象はヒトである。 20

#### 【0060】

さらなる実施態様において、本発明は、疑わしい発癌遺伝子を含む細胞、および該遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを提供すること；および該オリゴヌクレオチドを該細胞に投与すること；および該オリゴヌクレオチドの不在の場合と比較して、該オリゴヌクレオチドが存在した場合に該細胞の増殖が阻害されるかどうかを判定すること、を含む、化合物のスクリーニング法を提供する。いくつかの実施態様において、該細胞は、細胞培養物（例えば、癌細胞系）中に存在する。他の実施態様において、該細胞は、宿主動物（例えば、非ヒト哺乳動物）中に存在する。いくつかの実施態様において、該方法は、ハイスループットスクリーニング法である。 30

#### 【0061】

いくつかの実施態様において、本発明は、配列番号 31、32、35、36、37 または 38 を含むオリゴヌクレオチドを含む組成物を提供する。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも 1 つの CG ヌクレオチド対を含み、CG ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つが 5 - メチルシトシンを含む。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドの全ての CG ヌクレオチド対のシトシン塩基の全てが、5 - メチルシトシンである。特定の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、生理的条件下で、Her - 2 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする。いくつかの好ましい実施態様において、Her - 2 遺伝子のプロモーター領域に対する該オリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションにより、Her - 2 遺伝子の発現が阻害される。いくつかの実施態様において、Her - 2 遺伝子は、細胞の染色体上にあり、Her - 2 遺伝子のプロモーター領域に対する該オリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションにより、該細胞の増殖が低下する。いくつかの実施態様において、該組成物は、第二のオリゴヌクレオチドをさらに含む。いくつかの実施態様において、第二のオリゴヌクレオチド 40

50

は、少なくとも 1 つの C G ジヌクレオチド対を含んでおり、該 C G ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つは 5 - メチルシトシンである。いくつかの実施態様において、第二のオリゴヌクレオチドは、配列番号 3 1、3 2、3 5、3 6、3 7 または 3 8 を含む。いくつかの実施態様において、第二のオリゴヌクレオチドは、第二の遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、第二の遺伝子は H e r - 2 ではない。いくつかの実施態様において、第二の遺伝子は、発癌遺伝子（例えば、c - k i - R a s、c - m y c、b c l - 2、c - H a - r a s、または T G F - ）である。

#### 【 0 0 6 2 】

他の実施態様において、本発明は、配列番号 2 9 のヌクレオチド 2 0 5 から 3 4 4 の間、または配列番号 2 9 のヌクレオチド 3 8 2 から 4 3 5 の間を含む位置で、c - m y c 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を提供する。

10

#### 【 0 0 6 3 】

さらなる実施態様において、本発明は、生理的条件下で、H e r - 2 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を提供する。

#### 【 0 0 6 4 】

さらに他の実施態様において、本発明は、オリゴヌクレオチド（例えば、配列番号 3 1、3 2、3 5、3 6、3 7、または 3 8）；および H e r - 2 遺伝子を含む細胞を提供すること；および該オリゴヌクレオチドを該細胞に投与すること、を含む方法を提供する。いくつかの実施態様において、該投与により、該細胞の増殖低下がもたらされる。特定の実施態様において、該投与により、H e r - 2 遺伝子発現の阻害がもたらされる。いくつかの実施態様において、該細胞は癌細胞である。他の実施態様において、該細胞は、宿主動物（例えば、非ヒト哺乳動物またはヒト）中に存在する。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、体重 1 k g 当たり、0 . 0 1  $\mu$  g から 1 0 0 g の間、好ましくは、1 m g から 1 0 0 m g の間の投与量で、宿主動物に投与される。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、1 日 1 回以上、宿主動物に投与される。さらなる実施態様において、該細胞は、細胞培養物中に存在する。いくつかの実施態様において、該方法は、該細胞に試験化合物を投与するステップをさらに含む。いくつかの実施態様において、該試験化合物は、公知の化学療法剤である。いくつかの実施態様において、前記癌は、肺癌、大腸癌、乳癌、膀胱癌、肺癌、白血病、前立腺、リンパ腫、卵巣、または黑色腫である。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも 1 つの C G ジヌクレオチド対を含み、C G ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つ、好ましくは全てが、5 - メチルシトシンを含む。

20

#### 【 0 0 6 5 】

本発明は、H e r - 2 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチド；および H e r - 2 遺伝子を含む細胞を提供すること；そして該オリゴヌクレオチドを該細胞に投与すること、を含む方法をさらに提供する。

30

#### 【 0 0 6 6 】

さらなる実施態様において、本発明は、生理的条件下で、H e r - 2 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を提供するものであり、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも 1 つの C G ジヌクレオチド対を含んでおり、該 C G ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つは 5 - メチルシトシンを含む。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、H e r - 2 遺伝子のプロモーター領域に、完全に相補的である。他の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、H e r - 2 遺伝子のプロモーター領域に、部分的に相補的である。例えば、特定の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、H e r - 2 遺伝子のプロモーター領域に対して、1 つの誤対合を含有する。いくつかの好ましい実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、H e r - 2 遺伝子のプロモーター領域に対してのみ相補的であり、ヒトゲノムの他の領域に対しては、完全に相補的であることはない。いくつかの実施態様において、該オリゴヌ

40

50

クレオチドは、10ヌクレオチド長から60ヌクレオチド長の間であり、好ましくは、15ヌクレオチド長から35ヌクレオチド長の間である。

【0067】

本発明は、生理的条件下、Her-2遺伝子の発現が阻害されるような条件下で、Her-2遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を、さらに提供する。

【0068】

本発明は、生理的条件下、細胞の増殖が低下するような条件下で、該細胞の染色体上にあるHer-2遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を、さらに提供する。

10

【0069】

また、本発明は、生理的条件下で、Her-2遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする第一のオリゴヌクレオチド、即ち少なくとも1つのCGジヌクレオチドを含み、CGジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つは、5-メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチド；および第二のオリゴヌクレオチド、即ち少なくとも1つのCGジヌクレオチド対を含んでおり、該CGジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5-メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチド、を含む組成物を提供する。

【0070】

特定の実施態様において、本発明は、生理的条件下で、Her-2遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、少なくとも1つのCGジヌクレオチド対を含み、該CGジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5-メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチドを含むキット；ならびに、細胞の染色体上にHer-2遺伝子を含む該細胞の増殖を低下させるか、または遺伝子発現を阻害するためのキットの使用説明書を提供する。いくつかの実施態様において、該キット内の組成物は、対象における癌を処置するために使用され、該説明書は、対象における癌を処置するためのキットの説明書を含む。いくつかの実施態様において、該説明書は、医薬品表示に関する米国食品医薬品局により要求された説明書である。

20

【0071】

また、本発明は、癌と診断された対象からの生物学的サンプルおよびサンプル中の発癌遺伝子の発現の有無を検出する試薬を提供すること；サンプル中の発癌遺伝子の発現の有無を検出すること；生理的条件下で、生物学的サンプル中に発現した発癌遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、少なくとも1つのCGジヌクレオチドを含んでおり、該CGジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5-メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチドを対象に投与すること、を含む方法を提供する。

30

【0072】

本発明は、生理的条件下で、生物学的サンプル中に発現した癌または過剰増殖疾患に関する遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドであって、少なくとも1つのCGジヌクレオチド対を含んでおり、該CGジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5-メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチドを提供すること；および該遺伝子の発現が阻害されるような条件下で、該オリゴヌクレオチドを対象に投与することを含む、対象における遺伝子の発現を阻害する（例えば、癌または他の過剰増殖疾患を治療するために）方法をさらに提供する。いくつかの実施態様において、該対象はヒトである。

40

【0073】

さらなる実施態様において、本発明は、疑わしい発癌遺伝子を含む細胞および該遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを提供すること；および該オリゴヌクレオチドを該細胞に投与すること；そして該オリゴヌクレオチドの不在の場合と比較して、該オリゴヌクレオチドが存在した場合に該細胞の増殖が阻害されるかどうかを判定することを含む、化合物のスクリーニング法を提供する。いくつかの実施態様において、該細胞は、細胞培養物（例えば、癌細胞系）中に存在する。他の実施態様において

50

、該細胞は、宿主動物（例えば、非ヒト哺乳動物）中に存在する。いくつかの実施態様において、該方法は、ハイスループットスクリーニング法である。

【0074】

いくつかの実施態様において、本発明は、配列番号134、136、139、140、141、142、143、または144を含むオリゴヌクレオチドを含む組成物を提供する。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つのCGジヌクレオチド対を含んでおり、該CGジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5-メチルシトシンを含む。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドの全てのCGヌクレオチド対におけるシトシン塩基の全てが5-メチルシトシンである。特定の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、生理的条件下で、TGF-遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする。いくつかの実施態様において、TGF-遺伝子のプロモーター領域への該オリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションにより、TGF-遺伝子の発現が阻害される。いくつかの実施態様において、TGF-遺伝子は、細胞の染色体上にあり、TGF-遺伝子のプロモーター領域に対する該オリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションにより、該細胞の増殖が低下する。いくつかの実施態様において、該組成物は、第二のオリゴヌクレオチドをさらに含む。いくつかの実施態様において、第二のオリゴヌクレオチドは、少なくとも1つのCGジヌクレオチド対を含んでおり、該CGジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つは、5-メチルシトシンを含む。いくつかの実施態様において、第二のオリゴヌクレオチドは、配列番号134、136、139、140、141、142、143または144からなる群から選択される。他の実施態様において、第二のオリゴヌクレオチドは、第二の遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズし、第二の遺伝子は、TGF-ではない。さらなる実施態様において、第二の遺伝子は、発癌遺伝子（例えば、c-ki-Ras、c-Ha-ras、bcl-2、Her-2、またはc-myc）である。

【0075】

他の実施態様において、本発明は、配列番号131のヌクレオチド1から90の間、配列番号131のヌクレオチド175から219の間、配列番号131のヌクレオチド261から367の間、配列番号131のヌクレオチド431から930の間、または配列番号131のヌクレオチド964から1237の間を含む位置で、c-myc遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を提供する。

【0076】

さらに他の実施態様において、本発明は、生理的条件下、TGF-遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を提供する。

【0077】

さらなる実施態様において、本発明は、オリゴヌクレオチド（例えば、配列番号134、136、139、140、141、142、143、または144）；およびTGF-遺伝子を含む細胞を提供すること；および該オリゴヌクレオチドを、該細胞に投与すること、を含む方法を提供する。いくつかの実施態様において、該投与により、該細胞の増殖低下がもたらされる。特定の実施態様において、該投与により、TGF-遺伝子発現の阻害がもたらされる。いくつかの実施態様において、該細胞は癌細胞である。他の実施態様において、該細胞は、宿主動物（例えば、非ヒト哺乳動物またはヒト）中に存在する。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、体重1kg当たり、0.01μgから100gの間、好ましくは、1mgから100mgの間の投与量で、宿主動物に投与される。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、1日1回以上、宿主動物に投与される。他の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、連続的に宿主動物に投与される。さらなる実施態様において、該細胞は、細胞培養物中に存在する。いくつかの実施態様において、該方法は、該細胞に試験化合物を投与するステップをさらに含む。いくつかの実施態様において、該試験化合物は、公知の化学療法剤である。いくつかの実施態様において、前記癌は、肺癌、大腸癌、乳癌、膀胱癌、肺癌、白血病、前立腺、リンパ腫、卵巣、または黒色腫である。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、生理的条件下で、TGF-遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする。

チドは、少なくとも 1 つの C G ジヌクレオチド対を含み、C G ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つ、好ましくは全てが、5 - メチルシトシンを含む。

【 0 0 7 8 】

本発明は、T G F - 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドおよび T G F - 遺伝子を含む細胞を提供すること；そして該オリゴヌクレオチドを、該細胞に投与すること、を含む方法をさらに提供する。

【 0 0 7 9 】

さらなる実施態様において、本発明は、生理的条件下で、T G F - 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を提供し、該オリゴヌクレオチドは、少なくとも 1 つの C G ジヌクレオチド地を含んでおり、該 C G ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つは 5 - メチルシトシンを含む。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、T G F - 遺伝子のプロモーター領域に、完全に相補的である。他の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、T G F - 遺伝子のプロモーター領域に、部分的に相補的である。例えば、特定の実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、T G F - 遺伝子のプロモーター領域に対して、1 つの誤対合を含有する。いくつかの好ましい実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、T G F - 遺伝子のプロモーター領域に対してのみ相補的であり、ヒトゲノムの他の領域に対しては、完全に相補的であることはない。いくつかの実施態様において、該オリゴヌクレオチドは、10 ヌクレオチド長から 60 ヌクレオチド長の間であり、好ましくは、15 ヌクレオチド長から 35 ヌクレオチド長の間である。

10

20

【 0 0 8 0 】

本発明は、生理的条件下に、T G F - 遺伝子の発現が阻害されるような条件下で、T G F - 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物をさらに提供する。

【 0 0 8 1 】

本発明は、生理的条件下に、細胞の増殖が低下するような条件下で、該細胞の染色体上にある T G F - 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む組成物を、さらに提供する。

【 0 0 8 2 】

また、本発明は、生理的条件下で、T G F - 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする第一のオリゴヌクレオチド、即ち少なくとも 1 つの C G ジヌクレオチドを含んでおり、該 C G ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つが 5 - メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチド；および第二のオリゴヌクレオチド、即ち少なくとも 1 つの C G ジヌクレオチド対を含んでおり、該 C G ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つが 5 - メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチド、を含む組成物を提供する。

30

【 0 0 8 3 】

特定の実施態様において、本発明は、生理的条件下で、T G F - 遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドであって、少なくとも 1 つの C G ジヌクレオチドを含んでおり、該 C G ジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも 1 つが 5 - メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチドを含むキット；ならびに、細胞の染色体上に T G F - 遺伝子を含む該細胞の増殖を低下させるか、または遺伝子発現を阻害するためのキットの使用説明書を提供する。いくつかの実施態様において、該キット内の組成物は、対象における癌を処置するために使用され、該説明書は、対象における癌を処置するためのキットの説明書を含む。いくつかの実施態様において、該説明書は、医薬品表示に関する米国食品医薬品局により要求された説明書である。

40

【 0 0 8 4 】

また、本発明は、癌と診断された対象からの生物学的サンプルおよびサンプル中の発癌遺伝子の発現の有無を検出する試薬を提供すること；サンプル中の発癌遺伝子の発現の有無を検出すること；生理的条件下、生物学的サンプル中に発現した発癌遺伝子のプロモー

50

ター領域にハイブリダイズし、少なくとも1つのCGジヌクレオチド対を含んでおり、該CGジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5'-メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチドを対象に投与すること、を含む方法を提供する。

#### 【0085】

本発明は、生理的条件下、生物学的サンプル中に発現した癌または過剰増殖疾患に関与する遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドであって、少なくとも1つのCGジヌクレオチド対を含んでおり、該CGジヌクレオチド対におけるシトシン塩基の少なくとも1つが5'-メチルシトシンを含むオリゴヌクレオチドを提供すること；および該遺伝子の発現が阻害されるような条件下で、該オリゴヌクレオチドを対象に投与することを含む、対象における遺伝子の発現を阻害する（例えば、癌または他の過剰増殖疾患を治療するために）方法をさらに提供する。いくつかの実施態様において、該対象はヒトである。10

#### 【0086】

さらなる実施態様において、本発明は、疑わしい発癌遺伝子を含む細胞および該遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを提供すること；および該オリゴヌクレオチドを該細胞に投与すること；および該オリゴヌクレオチドの不在の場合と比較して、該オリゴヌクレオチドが存在した場合に該細胞の増殖が阻害されるかどうかを判定することを含む、化合物のスクリーニング法を提供する。いくつかの実施態様において、該細胞は、細胞培養物（例えば、癌細胞系）中に存在する。他の実施態様において、該細胞は、宿主動物（例えば、非ヒト哺乳動物）中に存在する。いくつかの実施態様において、該方法は、ハイスループットスクリーニング法である。20

#### 【0087】

他の実施態様において、本発明は、癌療法のための方法および組成物に関する。特に、本発明は、リポソームベースの癌療法を提供する。

#### 【0088】

したがって、いくつかの実施態様において、本発明は、カチオン性、中性、またはアニオン性リポソームおよびオリゴヌクレオチドを含む（例えば、それらから構成される）医薬組成物を提供する。いくつかの好ましい実施態様において、該リポソームは、カルジオリビンを基にしたカチオン性リポソーム（例えば、NEOPHECTIN）である。いくつかの好ましい実施態様において、NEOPHECTIN対オリゴヌクレオチドの電荷比は、6:1である。他の実施態様において、該リポソームは、N-[1-(2,3-ジオレオイルオキシ)プロピル]-N,N,N-トリメチルアンモニウムメチルサルフェート(DOTAP)を含む。30

#### 【0089】

いくつかの実施態様において、本発明は、オリゴヌクレオチド（例えば、発癌遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチド）およびカチオン性、中性、またはアニオン性リポソームを含む（例えば、それらから構成される）第一の医薬組成物を含み、所望により第2の医薬組成物を含むキットを提供するものであって、ここで該第2の医薬組成物は公知の化学療法剤（例えば、TAXOTERE、TAXOL、またはVINCRISTINE）を含んでおり、該公知の化学療法剤は第一の医薬組成物とは別に製剤化される、キットを提供する。いくつかの実施態様において、該化学療法剤は、標準投与量の半分未満、より好ましくは1/3未満、さらに好ましくは1/4未満、さらに好ましくは1/10未満、さらに好ましくは1/100未満で存在する。40

#### 【0090】

さらに他の実施態様において、本発明は、カチオン性、中性、またはアニオン性リポソームおよびオリゴヌクレオチド（例えば、発癌遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチド）から構成される医薬組成物を提供すること；そして該医薬組成物を癌細胞に曝露することを含む方法を提供する。いくつかの好ましい実施態様において、該リポソームは、カルジオリビンを基にしたカチオン性リポソーム（例えば、NEOPHECTIN）である。いくつかの好ましい実施態様において、NEOPHECTIN50

対オリゴヌクレオチドの電荷比は、6：1である。他の実施態様において、該リポソームは、N-[1-(2,3-ジオレオイルオキシ)プロピル]-N,N,N-トリメチルアノニウムメチルサルフェート(DOTAP)を含む。いくつかの実施態様において、該癌細胞は、前立腺癌細胞、卵巣癌細胞、乳癌細胞、白血病細胞、またはリンパ腫細胞である。いくつかの実施態様において、該細胞は、宿主動物(例えばヒト)中にある。いくつかの実施態様において、該医薬組成物は、宿主動物に、1日1回または複数回(例えば連続的に)導入される。いくつかの実施態様において、該方法は、対象に公知の化学療法剤(TAXOTERE、TAXOL、またはVINCRISTINE)を投与するステップをさらに含んでなり、公知の化学療法剤は、カチオン性、中性、またはアニオン性リポソームとは別個に製剤化される。好ましい実施態様において、公知の化学療法剤は、該医薬組成物とは別個に製剤化される。いくつかの実施態様において、該化学療法剤は、標準投与量の半分未満、より好ましくは1/3未満、さらに好ましくは1/4未満、さらに好ましくは1/10未満、さらに好ましくは1/100未満で存在する。

#### 【0091】

##### 定義

本発明の理解を助けるために、多数の用語および語句を以下に定義する：

#### 【0092】

本明細書に用いられるとおり、用語「前記化学療法剤は、標準投与量の半分未満で存在する」とは、ヒトへの投与に使用される標準的投与量範囲の最少値の半分未満(例えば、50%未満、好ましくは40%未満、さらに好ましくは10%未満、さらに好ましくは1%未満)の投与量を言う。いくつかの実施態様において、標準的投与量範囲は、製造元によって推奨される投与量範囲である。他の実施態様において、標準的投与量範囲は、当該分野における医師によって使用される範囲である。さらに他の実施態様において、標準的投与量範囲は、当該分野における医療の通常の標準と考えられる範囲である。該投与量範囲内における具体的な投与量は、例えば、対象の年齢、体重、および健康状態、ならびに治療されている癌のタイプによって決定される。

#### 【0093】

本明細書に用いられるとおり、用語「前記遺伝子の発現が阻害されるような条件下」とは、本発明のオリゴヌクレオチドが遺伝子(例えば、該遺伝子のプロモーター領域)にハイブリダイズし、該オリゴヌクレオチドが不在の場合の転写レベルに比較して、少なくとも10%、好ましくは、少なくとも25%、さらに好ましくは少なくとも50%、さらに好ましくは少なくとも90%、該遺伝子の転写を阻害する条件を言う。本発明は、ある特定の遺伝子の発現阻害に限定されない。代表的遺伝子としては、これらに限定はしないが、c-ki-Ras、c-Ha-ras、c-myc、her-2、TGF-、およびbcl-2が挙げられる。

#### 【0094】

本明細書に用いられるとおり、用語「細胞の増殖が低下するような条件下」とは、本発明のオリゴヌクレオチドが細胞(例えば癌)に投与された場合、該オリゴヌクレオチドが不在の場合の該細胞の増殖率に比較して、少なくとも10%、好ましくは、少なくとも25%、さらに好ましくは少なくとも50%、さらに好ましくは少なくとも90%、該細胞の増殖率を低下させる条件を言う。

#### 【0095】

本明細書に用いられるとおり、用語「エピトープ」とは、特定の抗体に接触させる抗原の部分を言う。

#### 【0096】

タンパク質またはタンパク質の断片が、宿主動物を免疫化するために用いられる場合、該タンパク質の多くの領域が該タンパク質の特定の領域または三次元構造に特異的に結合する抗体の産生を誘導でき；これらの領域または構造は、「抗原決定基」と称される。抗原決定基は、抗体への結合に関して、完全な抗原(すなわち、免疫応答を誘発するために用いられる「免疫原」と競合できる)。

10

20

30

40

50

## 【0097】

本明細書に用いられるとおり、用語「対象」は、これらに限定はしないが、具体的な治療のレシピエントとなる、ヒト、非ヒト靈長類、齧歯類などの任意の動物（例えば哺乳動物）を言う。通常、用語の「対象」および「患者」は、本明細書において、ヒト対象に関して互換的に用いられる。

## 【0098】

本明細書に用いられるとおり、用語「コンピューターメモリ」および「コンピューターメモリ装置」とは、コンピュータプロセッサによって読み取り可能な保存媒体を言う。コンピューターメモリの例としては、これらに限定はしないが、RAM、ROM、コンピュータチップ、デジタルビデオディスク（DVD）、コンパクトディスク（CD）、ハードディスクドライブ（HDD）および磁気テープが挙げられる。10

## 【0099】

本明細書に用いられるとおり、用語「コンピュータ読み取り可能媒体」とは、コンピュータプロセッサに情報（例えばデータおよび命令）を保存および提供するための任意の装置またはシステムを言う。コンピュータ読み取り可能媒体の例としては、これらに限定はしないが、DVD、CD、ハードディスクドライブ、磁気テープおよびネットワーク上に媒体を流すためのサーバーが挙げられる。

## 【0100】

本明細書に用いられるとおり、用語「プロセッサ」および「中央処理装置」あるいは「CPU」とは、互換的に用いられ、コンピューターメモリ（例えば、ROMまたは他のコンピューターメモリ）からプログラムを読み取ることができ、そのプログラムにしたがって1組のステップを実施できる装置を言う。20

## 【0101】

本明細書に用いられるとおり、用語「非ヒト動物」とは、これらに限定はしないが、齧歯類、非ヒト靈長類、ヒツジ、ウシ、反芻類、ウサギ、ブタ、ヤギ、ウマ、イヌ、ネコ、鳥類などの脊椎動物、ならびにショウジョウバエおよび線虫などの非脊椎動物などの全ての非ヒト動物を言う。いくつかの実施態様において、「非ヒト動物」とはさらに、細菌病原体、ウィルス病原体などの原核生物およびウィルス類を言う。

## 【0102】

本明細書に用いられるとおり、用語「核酸分子」とは、これらに限定はしないが、DNAまたはRNAなどの分子を含有する任意の核酸を言う。該用語は、これらに限定はしないが、4-アセチルシトシン、8-ヒドロキシ-N6-メチルアデノシン、アジリジニルシトシン、プソイドイソシトシン（pseudo isocytosine）、5-（カルボキシヒドロキシルメチル）ウラシル、5-フルオロウラシル、5-ブロモウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、イノシン、N6-イソペンテニルアデニン、1-メチルアデニン、1-メチルプソイドウラシル、1-メチルグアニン、1-メチルイノシン、2,2-ジメチルグアニン、2-メチルアデニン、2-メチルグアニン、3-メチルシトシン、5-メチルシトシン、N6-メチルアデニン、7-メチルグアニン、5-メチルアミノメチルウラシル、5-メトキシアミノメチル-2-チオウラシル、ベータ-D-マンノシルケオシン、5'-メトキシカルボニルメチルウラシル、5-メトキシウラシル、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル-5-オキシ酢酸、オキシブトキソシン、プソイドウラシル、ケオシン、2-チオシトシン、5-メチル-2-チオウラシル、2-チオウラシル、4-チオウラシル、5-メチルウラシル、N-ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル-5-オキシ酢酸、プソイドウラシル、ケオシン、2-チオシトシン、および2,6-ジアミノプリンなどのDNAおよびRNAの公知のあらゆる塩基アナログを含む配列を包含する。3040

## 【0103】

用語の「遺伝子」とは、ポリペプチド、前駆体、またはRNA（例えばrRNA、tRNA）の產生に必要なコード配列を含む核酸（例えばDNA）配列を言う。該ポリペプチ50

ドは、完全長コード配列によって、または、完全長または断片の所望の活性または機能的性質（例えば、酵素活性、リガンド結合性、シグナル伝達性、免疫原性など）が保持される限り、該コード配列のいずれかの部分によってコードされ得る。また、該用語は、該遺伝子が完全長mRNAの長さに対応するように、5'末端または3'末端のいずれかの末端において、約1kb以上離れた双方の末端のコード領域に隣接して位置する構造遺伝子のコード領域および該配列を包含する。コード領域の5'に位置し、mRNA上に存在する配列は、5'非翻訳配列と称される。コード領域の3'または下流に位置し、mRNA上に存在する配列は、3'非翻訳配列と称される。用語の「遺伝子」は、cDNAおよび遺伝子のゲノム体の双方を包含する。遺伝子のゲノム体またはクローンは、「イントロン」または「介在領域」または「介在配列」と称される非コード配列によって割り込まれたコード部分を含有する。イントロンは、核RNA(hnRNA)に翻訳される遺伝子の区域であり；イントロンは、エンハンサーなどの調節要素を含有できる。イントロンは、核または第一次転写体から除去または「スプライスアウト」され；したがって、イントロンは、メッセンジャーRNA(mRNA)転写体には不在である。mRNAは翻訳時、新生ポリペプチドにおけるアミノ酸の配列または順序を規定する働きをする。

#### 【0104】

本明細書に用いられるとおり、用語「異種遺伝子」とは、その自然の環境にはない遺伝子を言う。例えば、他の種に導入された1つの種由来の遺伝子が含まれる。また、異種遺伝子としては、何らかの方法で変化した（例えば、変異した、複数コピーで加えられた、非天然調節配列に結合した、など）ある生物に固有の遺伝子が挙げられる。異種遺伝子は内因性遺伝子とは区別される、即ち異種遺伝子配列は染色体中の遺伝子配列に結合した天然に見られないDNA配列に典型的に結合しているか、または天然に見られない染色体の部分（例えば、通常は発現しない座に発現した遺伝子）と結合している。

#### 【0105】

本明細書に用いられるとおり、用語「遺伝子発現」とは、遺伝子の「転写」を介して（すなわち、RNAポリメラーゼの酵素作用を介して）、遺伝子にコードされた遺伝情報を、RNA（例えば、mRNA、rRNA、tRNAまたはsnRNA）に、また、タンパク質では、mRNAの「翻訳」を介して、タンパク質のコード遺伝子をタンパク質に変換する過程を言う。遺伝子発現は、該過程における多くの段階で調節できる。「本明細書に用いられるとおり、用語「アップレギュレーション」または「活性化」とは、遺伝子発現産物（すなわち、RNAまたはタンパク質）の産生を増加させる調節を言い、一方、「ダウンレギュレーション」または「抑制」とは、産生を低下させる調節を言う。アップレギュレーションまたはダウンレギュレーションに関与している分子（例えば、転写因子）は、しばしば、それぞれ、「活性化因子」および「抑制因子」と呼ばれる。

#### 【0106】

遺伝子のゲノム体は、イントロンを含有する他に、RNA転写体に存在する配列の5'末端および3'末端双方に位置する配列も含み得る。これらの配列は、「フランкиング」配列または「フランкиング」領域と称される（これらのフランкиング配列は、mRNA転写体に存在する非翻訳配列に対して5'または3'に位置している）。5'フランкиング領域は、遺伝子の転写を制御する、または影響を与えるプロモーターまたはエンハンサーなどの調節配列を含有し得る。3'フランкиング領域は、転写の終結、翻訳後開裂およびポリアデニル化を指令する配列を含有し得る。

#### 【0107】

用語の「野生型」とは、天然源から単離した遺伝子または遺伝子産物を言う。野生型遺伝子は、集団内に最も多く見られるものであり、したがって、該遺伝子の「正常」形態または「野生型」形態を任意に表している。対照的に、用語の「変異」または「変異」は、野生型遺伝子または野生型遺伝子産物と比較して、配列および/または機能的性質における変異（すなわち、特性の変更）を示す遺伝子または遺伝子産物を言う。天然の変異体は単離できる；これらは、野生型遺伝子または野生型遺伝子産物に比較した場合、特性が変化している（核酸配列の変化を含み）という事実によって同定されることが認められる。

10

20

30

40

50

## 【0108】

本明細書に用いられるとおり、用語「核酸分子コード」、「DNA配列コード」、および「DNAコード」とは、デオキシリボ核酸の鎖に沿ったデオキシリボヌクレオチドの順序または配列を言う。これらのデオキシリボヌクレオチドの順序によって、ポリペプチド（タンパク質）鎖に沿ったアミノ酸の順序が決定される。このように、DNA配列は、アミノ酸配列をコードしている。

## 【0109】

本明細書に用いられるとおり、用語「遺伝子をコードするヌクレオチド配列を有するオリゴヌクレオチド」および「遺伝子をコードするヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチド」とは、遺伝子のコード領域を含む核酸配列、言い換えると、遺伝子産物をコードする核酸配列を意味する。コード領域は、cDNA、ゲノムDNAまたはRNA形態に存在し得る。DNA形態に存在する場合、オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドは、一本鎖（すなわち、センス鎖）でも、二本鎖でもあり得る。転写の適切な開始および/または一次RNA転写体の正しいプロセシングをさせるために必要ならば、エンハンサー/プロモーター、スプライス接合体、ポリアデニル化シグナルなどの好適な制御要素は、該遺伝子のコード領域に近接して配置できる。あるいは、本発明の発現ベクターに利用されるコード領域は、内因性エンハンサー/プロモーター、スプライス接合体、介在配列、ポリアデニル化シグナルなど、または内因性制御要素と外来性制御要素の組合せの両方を含有し得る。

## 【0110】

本明細書に用いられるとおり、用語「オリゴヌクレオチド」とは、短い一本鎖ポリヌクレオチド鎖を言う。オリゴヌクレオチドは、典型的には、200残基長未満（例えば、8から100の間）であるが、本明細書に用いられる用語は、より長いポリヌクレオチド鎖（例えば、5000残基のような大きさ）を包含することも意図されている。オリゴヌクレオチドは、しばしば、それらの長さによって称される。例えば、24残基のオリゴヌクレオチドは、「24量体」と称される。オリゴヌクレオチドは、自己ハイブリダイズすることによって、または他のポリヌクレオチドとハイブリダイズすることによって、二次および三次構造を形成できる。このような構造としては、これらに限定はしないが、二重、ヘアピン、十字、湾曲、および三重構造が挙げられる。

## 【0111】

いくつかの実施態様において、オリゴヌクレオチドは「アンチジーン」である。本明細書に用いられるとおり、用語「アンチジーン」とは、遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを言う。いくつかの実施態様において、プロモーターに対するアンチジーンのハイブリダイゼーションによって、遺伝子の発現が阻害される。

## 【0112】

本明細書に用いられるとおり、用語「相補的な」または「相補性」は、塩基対合則に関連したポリヌクレオチド（すなわち、ヌクレオチドの配列）に関して用いられる。例えば、配列「A - G - T」は、配列「T - C - A」に相補的である。相補性は、「部分的」であり得、そこでは、核酸塩基のいくつかのみが塩基対合則に対合している。あるいは、核酸間に、「完全な」または「全体的」相補性があり得る。核酸鎖間の相補性の程度は、核酸鎖間のハイブリダイゼーションの効率および強度に重要な影響を及ぼす。これは、增幅反応ならびに核酸間の結合に依存する検出法において、特に重要である。

## 【0113】

本明細書に用いられるとおり、用語「完全に相補的」とは、例えば、本発明のオリゴヌクレオチドに関して用いられる場合、全てのヌクレオチドが標的配列（例えば遺伝子）に相補的であるオリゴヌクレオチドを言う。

## 【0114】

本明細書に用いられるとおり、用語「部分的に相補的」とは、例えば、本発明のオリゴヌクレオチドに関して用いられる場合、少なくとも1つのヌクレオチドが標的配列に相補的でないオリゴヌクレオチドを言う。好ましい部分的に相補的なオリゴヌクレオチドは、

10

20

30

40

50

生理的条件下で、標的配列に依然としてハイブリダイズできるものである。用語の「部分的に相補的」とは、該オリゴヌクレオチドの内部またはいずれかの末端に、1つまたは複数の非相補的ヌクレオチドの領域を有するオリゴヌクレオチドを言う。末端に誤対合を有するオリゴヌクレオチドでも依然として標的配列にハイブリダイズできる。

【0115】

用語の「相同性」とは、相補性の程度を言う。部分的相同性または完全相同性（すなわち、同一性）があり得る。部分的に相補的な配列とは、完全に相補的な核酸分子が、「実質的に相同性」である標的核酸にハイブリダイズすることを、少なくとも部分的に阻害する核酸分子である。標的配列に対する完全に相補的な配列のハイブリダイゼーション阻害は、低ストリンジエンシー条件下、ハイブリダイゼーションアッセイ（サザンプロットまたはノーザンプロット、溶液ハイブリダイゼーションなど）を用いて調べることができる。実質的に相同性の配列またはプローブは、低ストリンジエンシー条件下、標的に対して完全に相同性の核酸分子の結合（すなわち、ハイブリダイゼーション）に競合または阻害する。とはいっても、非特異的結合が可能であるような低ストリンジエンシー条件ということではない；低ストリンジエンシー条件は、2つの配列相互の結合が特異的（選択的）相互作用であることを必要とする。非特異的結合の不在は、実質的に非相補的な（例えば、同一性が約30%未満）第2の標的の使用によって試験でき；非特異的結合の不在下では、プローブは、第2の非相補的標的にハイブリダイズしない。

10

【0116】

cDNAまたはゲノムクローンなどの二本鎖核酸配列に関して用いられる場合、用語の「実質的に相同性」とは、上記の低ストリンジエンシー条件下、二本鎖核酸配列のいずれかの鎖または双方の鎖にハイブリダイズできる任意のプローブを言う。

20

【0117】

遺伝子は、一次RNA転写体の差異的スプライシングによって生成する複数のRNA種を產生し得る。同じ遺伝子のスプライス変種であるcDNAは、配列同一性または完全相同性の領域（双方のcDNA上に、同じエキソンまたは同じエキソンの部分の存在を示す）および完全非同一性の領域（例えば、cDNA1上には、エキソン「A」の存在を示し、cDNA2は、代わりに、エキソン「B」を含有する）を含む。2つのcDNAは、配列同一性の領域を含有するため、それらは双方とも、双方のcDNA上に見られる配列を含有する遺伝子全体または該遺伝子の部分から誘導されたプローブにハイブリダイズし；したがって、2つのスプライス変種は、このようなプローブに、および互いに、実質的に相同性である。

30

【0118】

一本鎖核酸配列に関して用いられる場合、用語の「実質的に相同性」とは、上記の低ストリンジエンシー条件下、一本鎖核酸配列にハイブリダイズできる（すなわち、相補的な）任意のプローブを言う。

【0119】

本明細書に用いられるとおり、用語「ハイブリダイゼーション」は、相補的核酸の対合に関して用いられる。ハイブリダイゼーションおよびハイブリダイゼーションの強度（すなわち、核酸間の結合の強度）は、核酸間の相補性の程度、関与する条件のストリンジエンシー、形成されたハイブリッドの $T_m$ 、および核酸内のG:C比などの因子によって影響される。その構造内に、相補的核酸の対合を含有する單一分子は、「自己ハイブリダイズされている」と言われる。

40

【0120】

本明細書に用いられるとおり、用語「 $T_m$ 」は、「融解温度」に関して用いられる。融解温度は、二本鎖核酸分子の集団が、一本鎖へと半分に解離する温度である。核酸の $T_m$ を算出する等式は、当技術分野でよく知られている。標準的文献に示されるとおり、 $T_m$ 値の単純な推定値は、核酸が1MのNaClにおける水溶液中にある場合、等式： $T_m = 81.5 + 0.41 (\%G + C)$ によって算出できる（例えば、アンダーソン（Anderson）およびヤング（Young）、Quantitative Filter Hybridization）。

50

ridization, in Nucleic Acid Hybridization (1985)を参照)。他の文献は、 $T_m$ の算出に、構造特性ならびに配列特性を考慮に入れるより複雑な演算を含む。

【0121】

本明細書に用いられるとおり、用語「ストリンジエンシー」は、核酸ハイブリダイゼーションが行われる温度、イオン強度、および有機溶媒などの他の化合物の存在という条件に関して用いられる。「低ストリンジエンシー条件」下では、目的とする核酸配列は、正確な相補体、1つの塩基誤対合を有する配列、密接に関連した配列(例えば、90%以上の相同性を有する配列)、および部分的相同性のみを有する配列(例えば、50~90%の相同性を有する配列)にハイブリダイズする。「中ストリンジエンシー条件」下では、目的とする核酸配列は、正確な相補体、1つの塩基誤対合を有する配列、および密接に関連した配列(例えば、90%以上の相同性を有する配列)とのみハイブリダイズする。「高ストリンジエンシー条件」下では、目的とする核酸配列は、正確な相補体、および(温度などの条件に依るが)1つの塩基誤対合を有する配列とのみハイブリダイズする。言い換えると、高ストリンジエンシー条件下では、1つの塩基誤対合を有する配列に対するハイブリダイゼーションを除外するために、温度を上げることができる。

【0122】

核酸ハイブリダイゼーションに関して用いられる場合、「高ストリンジエンシー条件」は、約500ヌクレオチド長のプローブを用いる場合、5X SSPE(43.8g/1のNaCl、6.9g/1のNaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>Oおよび1.85g/1のEDTA、NaOHによりpHを7.4に調整)、0.5%のSDS、5Xデンハート試薬および100μg/mlの変性サケ精子DNAからなる溶液中、42°での結合またはハイブリダイゼーションに引き続き、42°で、0.1X SSPE、1.0%のSDSを含む溶液中の洗浄に相当する条件を含む。

【0123】

核酸ハイブリダイゼーションに関して用いられる場合、「中ストリンジエンシー条件」は、約500ヌクレオチド長のプローブを用いる場合、5X SSPE(43.8g/1のNaCl、6.9g/1のNaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>Oおよび1.85g/1のEDTA、NaOHによりpHを7.4に調整)、0.5%のSDS、5Xデンハート試薬および100μg/mlの変性サケ精子DNAからなる溶液中、42°での結合またはハイブリダイゼーションに引き続き、42°で、1.0X SSPE、1.0%のSDSを含む溶液中の洗浄に相当する条件を含む。

【0124】

「低ストリンジエンシー条件」は、約500ヌクレオチド長のプローブを用いる場合、5X SSPE(43.8g/1のNaCl、6.9g/1のNaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>Oおよび1.85g/1のEDTA、NaOHによりpHを7.4に調整)、0.1%のSDS、5Xデンハート試薬[500ml当たり、50Xデンハートは:5gのフィコール(タイプ400、Pharmacia)、5gのBSA(フラクションV;シグマ(Sigma))を含有]および100μg/mlの変性サケ精子DNAからなる溶液中、42°での結合またはハイブリダイゼーションに引き続き、42°で、5X SSPE、0.1%のSDSを含む溶液中の洗浄に相当する条件を含む。

【0125】

本発明は、約500ヌクレオチド長のプローブのハイブリダイゼーションに限定されない。本発明は、およそ8ヌクレオチド長から数千(例えば少なくとも5000)ヌクレオチド長までの間のプローブの使用を考慮している。当業者は、他のサイズのプローブでは、ストリンジエンシー条件を変更し得ることを認識している(例えば、アンダーソン(Anderson)およびヤング(Young)、Quantitative Filter Hybridization, in Nucleic Acid Hybridization(1985)およびサンブルック(Sambrook)ら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、コールドスプリング・

10

20

30

40

50

ハーバープレス (Cold Spring Harbor Press)、ニューヨーク (1989) を参照)。

【0126】

低ストリンジエンシー条件を含む多数の等価条件を使用できることが、当業界ではよく知られており；プローブの長さおよび性質 (DNA、RNA、塩基組成) および標的の性質 (DNA、RNA、塩基組成、溶液中の存在、または固定化など) ならびに塩および他の成分の濃度 (例えば、ホルムアミド、硫酸デキストラン、ポリエチレングリコールの存在または不在) が考慮され、また、ハイブリダイゼーション溶液は、上記に挙げた条件とは異なるが、等価である低ストリンジエンシーハイブリダイゼーションの条件を生み出すために、ハイブリダイゼーション溶液を変化させることができる。さらに、高ストリンジエンシーの条件下でハイブリダイゼーションを促進させる条件 (例えば、ハイブリダイゼーションおよび / または洗浄ステップの温度増加、ハイブリダイゼーション溶液におけるホルムアミドの使用など) は当技術分野で知られている (「ストリンジエンシー」に関する上記の定義を参照)。

10

【0127】

本明細書に用いられるとおり、用語「生理的条件」とは、動物 (例えばヒト) 内部の、またはそれに近似した特定のストリンジエンシー条件を言う。インビトロで使用される代表的な生理的条件としては、これらに限定はしないが、37、95%の空気、5%のCO<sub>2</sub>、哺乳動物細胞を培養するための市販の培地 (例えば、ジブコ (Gibco)、メリーランド州から入手できるD MEM 培地)、5~10%の血清 (例えば、ウシ血清またはウマ血清)、追加緩衝液、および任意にホルモン (例えば、インスリンおよび上皮成長因子) が挙げられる。

20

【0128】

用語の「単離」とは、「単離オリゴヌクレオチド」または「単離ポリヌクレオチド」におけるように、核酸に関して用いられる場合、同定され、核酸配列の天然源において、通常、核酸配列に結合している少なくとも1つの成分または混入物から分離された核酸配列を言う。単離核酸は、天然状態で見られるのとは異なる形態または設定において存在する。対照的に、非単離核酸は、天然に存在する状態で見られるDNAおよびRNAなどの核酸である。例えば、特定のDNA配列 (例えば遺伝子) は、宿主細胞の染色体上に、隣接遺伝子の近くに見られ；特定のタンパク質をコードする特定のmRNA配列などのRNA配列は、多数のタンパク質をコードする他の多数のmRNAとの混合物として細胞中に見られる。しかし、特定のタンパク質をコードする単離核酸としては、例えば、通常、特定のタンパク質を発現する細胞中核酸であって、天然の細胞の染色体位置とは異なる染色体位置にあるか、または、天然に見られる核酸配列とは異なる核酸配列によっては含まれている核酸などが挙げられる。単離核酸、オリゴヌクレオチド、またはポリヌクレオチドは、一本鎖形態においても二本鎖形態においても存在し得る。単離核酸、オリゴヌクレオチド、またはポリヌクレオチドを、タンパク質を発現させるために利用する場合、該オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドは、最小限、センス鎖またはコード鎖を含有することになる (すなわち、該オリゴヌクレオチド、またはポリヌクレオチドは、一本鎖であり得る) が、センス鎖およびアンチセンス鎖の双方を含有し得る (すなわち、オリゴヌクレオチド、またはポリヌクレオチドは、二本鎖であり得る)。

30

【0129】

本明細書に用いられるとおり、用語「精製された」または「精製する」とは、サンプルからの成分 (例えば、混入物) の除去を言う。例えば、抗体は、混入している非免疫グロブリンタンパク質の除去によって精製され；また、標的分子に結合しない免疫グロブリンの除去によっても精製される。非免疫グロブリンタンパク質の除去および / または標的分子に結合しない免疫グロブリンの除去により、サンプル中の標的反応性免疫グロブリンのパーセント増加がもたらされる。他の例では、組換えポリペプチドを細菌宿主細胞中に発現させ、該ポリペプチドを、宿主細胞タンパク質の除去によって精製し；それによって、サンプル中の組換えポリペプチドのパーセントを増加させる。

40

50

## 【0130】

「アミノ酸配列」および「ポリペプチド」または「タンパク質」などの用語は、該アミノ酸配列を、挙げられたタンパク質分子に関連した完全な天然アミノ酸配列に限定することを意味しない。

## 【0131】

本明細書に用いられるとおり、用語「天然タンパク質」は、タンパク質がベクター配列によってコードされたアミノ酸残基を含有しないことを示しており；すなわち、天然タンパク質は、天然タンパク質に見られるアミノ酸のみを含有している。天然タンパク質は、組換え法によって作製できるか、または天然源から単離できる。

## 【0132】

本明細書に用いられるとおり、用語「部分」とは、タンパク質に関する場合（「特定のタンパク質の部分」などの場合）、そのタンパク質の断片を言う。該断片は、4つのアミノ酸残基からアミノ酸配列全体マイナス1アミノ酸までのサイズの範囲であり得る。

## 【0133】

用語の「サザンプロット」とは、サイズによってDNAを分画するために、寒天ゲルまたはアクリルアミドゲル上でDNAを分析し、引き続き、該DNAを、該ゲルから、ニトロセルロースまたはナイロン膜などの固体支持体へ移すことを言う。次いで、固定化DNAを、標識化したプローブによって探索して、使用したプローブに相補的なDNA種を検出する。該DNAは、電気泳動の前に、制限酵素によって開裂できる。電気泳動後、該DNAは、固体支持体に移す前に、または移す時に、部分的に脱プリン化し、変性させることができる。サザンプロットは、分子生物学者の標準的な手段である（J. Sambrook (J. Sambrook)ら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press、ニューヨーク州、9.31-9.58頁(1989)）。

## 【0134】

用語の「ノーザンプロット」とは、サイズによってRNAを分画するために、寒天ゲル上のRNAの電気泳動によってRNAを分析し、続いて該RNAを該ゲルから、ニトロセルロースまたはナイロン膜などの固体支持体へ移すことを言う。次いで、固定化RNAを、標識化したプローブによって探索して、使用したプローブに相補的なRNA種を検出する。ノーザンプロットは、分子生物学者の標準的な手段である（J. Sambrookら、上記、7.39-7.52頁(1989)）。

## 【0135】

用語の「ウェスタンプロット」とは、ニトロセルロースまたは膜などの支持体上に固定化したタンパク質（またはポリペプチド）の分析を言う。タンパク質をアクリルアミドゲル上で操作して、タンパク質を分離し、続いて該タンパク質を該ゲルからニトロセルロースまたはナイロン膜などの固体支持体へ移す。次いで、固定化タンパク質を、対象となる抗原に対して反応性を有する抗体に曝露する。抗体の結合は、放射標識抗体の使用など、種々の方法によって検出できる。

## 【0136】

本明細書に用いられるとおり、用語「細胞培養物」とは、任意のインビトロ細胞培養物を言う。この用語には、連続細胞系（例えば、不死表現型により）、一次細胞培養物、形質転換細胞系、有限細胞系（例えば、非形質転換細胞）、およびインビトロで維持された任意の他の細胞集団が含まれる。

## 【0137】

使用される用語の「真核生物」とは、「原核生物」と区別可能な生物を言う。この用語は、核膜によって境界づけられた真核の存在、核膜内に、染色体があること、膜で境界づけられた細胞小器官の存在など、真核生物の通常の特徴、および真核生物に一般的に見られる他の特徴を示す細胞を有する全ての生物を包含することが意図されている。したがって、この用語には、これらに限定はしないが、真菌、原生動物、および動物（例えばヒト）が含まれる。

## 【0138】

本明細書に用いられるとおり、用語「インビトロ」とは、人工的環境および人工的環境内で生じる過程または反応を言う。インビトロ環境は、これらに限定はしないが、試験管および細胞培養物から構成できる。用語の「インビボ」とは、自然環境（例えば、動物または細胞）および自然環境内で生じる過程または反応を言う。

## 【0139】

用語の「試験化合物」および「候補化合物」とは、疾患、疾病、病気、または身体機能の障害（例えば癌）を、治療または予防するために使用する候補である任意の化学物質、医薬品、薬物などを言う。試験化合物は、公知の、および可能性を有する治療用化合物の双方を含む。試験化合物は、本発明の方法を用い、スクリーニングによって、治療用であることを決定できる。本発明のいくつかの実施態様において、試験化合物には、アンチセンス化合物が含まれる。

10

## 【0140】

本明細書に用いられるとおり、用語「公知の化学療法剤」とは、疾患（例えば癌）の治療に有用であることが知られている化合物を言う。癌に対して有効である代表的な化学療法剤としては、これらに限定はしないが、ダウノルビシン、ダクチノマイシン、ドキソルビシン、ブレオマイシン、マイトマイシン、ナイトロジエンマスター、クロラムブシリ、メルファラン、シクロホスファミド、6-メルカブトブリン、6-チオグアニン、シタラビン（C A）、5-フルオロウラシル（5-FU）、フロクスウリジン（5-FUdR）、メトトレキセート（MTX）、コルヒチン、ビンクリスチシン、ビンプラスチシン、エトポシド、テニポシド、シスプラチントリペストロール（DES）が挙げられる。

20

## 【0141】

本明細書に用いられるとおり、用語「サンプル」は、その最も広い意味において用いられる。ある意味では、それは、生物学的サンプルならびに環境サンプルの任意の出所から得られた検体または培養物を意味する。生物学的サンプルは、動物（ヒトを含めて）から得ることができ、液体、固体、組織、および気体を包含する。生物学的サンプルとしては、血漿、血清などの血液産物が挙げられる。環境サンプルとしては、表面物質、土壤、水、結晶および工業サンプルが挙げられる。しかし、このような例は、本発明に適用できるサンプルタイプを限定するものとして考えるべきではない。

30

## 【発明を実施するための最良の形態】

## 【0142】

本発明は、癌治療のための方法および組成物に関する。特に本発明は、種々の癌に関与する発癌遺伝子の阻害のためのオリゴヌクレオチドを基にした療法を提供する。本発明は、特定の癌の治療に限定されない。限定はしないが、乳癌などの任意の癌を標的化できる。本発明はまた、癌または発癌遺伝子を標的化することに限定されない。本発明の方法および組成物は、発現を阻害することが望ましい任意の遺伝子との使用（例えば、治療使用または研究使用）に好適である。

## 【0143】

## I. 発癌遺伝子の標的

40

幾つかの実施態様において、本発明は、発癌遺伝子の抗遺伝子阻害剤を提供する。本発明は、特定の発癌遺伝子の阻害に限定されない。実際、本発明は、これに限定はしないが、本明細書に開示されたものなど、任意の数の発癌遺伝子に対する抗遺伝子阻害剤を包含する。

## 【0144】

## A. Ras

多くの科学者に注目されている1つの遺伝子は、ヒト癌原遺伝子、c-Ha-rasである。c-Ha-rasのプロモーター領域の核酸配列は、図7に示している。この遺伝子は、化学シグナルを細胞に中継し、細胞分化を制御する中枢ディスパッチャーとして作用する。ras遺伝子を変化させることにより、該遺伝子を「オン」位置に留まらせるこ

50

とができる。ras発癌遺伝子は、大腸癌、肺癌、膀胱癌および哺乳動物の癌など、癌の30%までの基礎をなすと考えられている[ボス(Bos), Cancer Res. 49: 4682-4689頁(1989)]。したがってras発癌遺伝子は、治療薬の標的となつた。

【0145】

ras mRNAの種々の部位に相補的なオリゴヌクレオチド類は、細胞培養物中の細胞増殖速度を減少させるrasタンパク質(p21)の合成を阻害できることを示す幾つかの報告がある(米国特許第5,576,208号明細書;米国特許第5,582,986号明細書;ダスカ(Daska)ら、Oncogene Res. 5: 267-275頁[1990];ブラウン(Brown)ら、Oncogene Res. 4: 243-252頁[1989];セゾン-ベーモアラス(Saison-Behmoaras)ら、EMBO J. 10: 1111-1116頁[1993])。c-Ha-ras mRNA転写物の5' フランкиング領域に相補的なオリゴヌクレオチド類は、ヌードマウスにおける腫瘍増殖を14日間まで阻害することが示されている(グレイ(Gray)ら、Cancer Res. 53: 577-580頁[1993])。c-Ha-ras mRNAのコドン12における点変異(G>C)に特異的なアンチセンスオリゴヌクレオチドは、細胞増殖ならびに皮下注入された場合のヌードマウスにおける腫瘍増殖を阻害したことが、最近報告されており(米国特許第5,576,208号明細書;米国特許第5,582,986号明細書;シュワブ(Schwab)ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 10460-10464[1994]);これらの各々は、参考文献として本明細書に組み込まれる。アンチセンス薬物が、小規模臨床試験において卵巣腫瘍を縮小したことも複数の研究者により報告されている(ラウシュ(Roush)ら、Science 276: 1192-1194頁[1997])。

【0146】

B. Her-2

HER-2(neu)発癌遺伝子またはerbB-2としても知られている)発癌遺伝子は、幾つかのヒト癌(ハインズ(Hynes)およびスター(Stern)、Bioc hem. et Biophys. Acta 1198: 165-184頁[1994];ダウガル(Dougal)ら、Oncogene 9: 2109-2123頁[1994])において、また哺乳動物の発生(リー(Lee)ら、Nature 378: 394-398頁[1995])におけるその役割のため、広範に調査されている受容体様チロシンキナーゼ(RTK)をコードする。Her-2のプロモーター領域の核酸配列を図3に示している。HER-2タンパク質の配列は、胎盤(カウッセンス(Coussens)ら、Science 230: 1132-1139頁[1985])から、また胃癌細胞系(ヤマモト(Yamamoto)ら、Nature 319: 230-234頁[1986])から上皮成長因子受容体(EGFR)mRNAに対する相同性によりクローニングされたcDNAから決定された。HER-2 mRNAは、約4.5kb(カウッセンス(Coussens)ら、Science 230: 1132-1139頁[1985];ヤマモト(Yamamoto)ら、Nature 319: 230-234頁[1986])であることが示されており、正常ヒト組織および悪性ヒト組織(p185HER-2)において185kDaの膜内外糖タンパク質をコードする(ハインズ(Hynes)およびスティーン(Steen)、Bioc hem. et Biophys. Acta 1198: 165-184頁[1994];ダウガル(Dougal)ら、Oncogene 9: 2109-2123頁[1994])。HER-2の過剰発現は、培養細胞の形質転換を引き起こし(ディフィオレ(DiFiore)ら、Science 237: 178-182頁[1987];ハジアク(Hudziak)ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 7159-7163[1987])、乳癌および卵巣癌の積極的臨床進行に関連している(スラモン(Slamon)ら、Science 235: 177-182[1987];スラモン(Slamon)ら、Science 244: 707-712[1989])。

10

20

30

40

50

## 【0147】

HER-2は、癌において最も頻繁に変化する遺伝子の1つである。それは、チロシンキナーゼ活性により膜内外受容体（p185としても知られている）をコードし、上皮成長因子（EGF）ファミリーのメンバーであり、したがって、上皮成長因子受容体（EGFRまたはHER-1）に関連する。HER-2遺伝子発現の異常は、多種多様の癌に存在し、乳癌、卵巣癌および胃癌に最もよく見られる。HER-2は、ヒト乳癌および卵巣癌全体の25～30%に過剰発現する。HER-2過剰発現のレベルは、乳癌の臨床段階、予後および転移の可能性とよく相関する。HER-2の過剰発現は、低生存率、再発率の増加および転移可能性の増加に関連する。タン（Tan）ら、（Cancer Res.、57：1199頁[1997]）は、HER-2遺伝子の過剰発現が、乳癌細胞の形質転換能力を増加させることなくそれらの転移可能性を増加させることを示している。10

## 【0148】

HER-2の過剰発現は、正常なHER-2の発現および変異HER-2の発現双方の増加を含む。HER-2癌原遺伝子の活性化は、3つのメカニズム-点変異、遺伝子増幅および過剰発現のいずれかによって発生し得る。遺伝子増幅は、最もよく見られるメカニズムである。リガンド活性化が形質転換を促進させるために必要である他のEGFファミリーメンバーと違って、HER-2の過剰発現だけで形質変換にとって十分である（コーエン（Cohen）ら、J. Biol. Chem.、271：30897頁[1996]）。

## 【0149】

HER-2遺伝子産物のレベルを低下させるために、幾つかの治療的アプローチが使用されている。アデノウィルスタイプ5遺伝子産物E1Aは、ヌードマウスにおける乳癌モデルを用いて可能性のある療法として研究されている。この遺伝子産物は、HER-2/neuプロモーター活性を抑制することによりHER-2/neu過剰発現を抑制することができ、HER-2/neu過剰発現卵巣癌細胞の腫瘍発生の可能性を抑止できる。HER-2/neu過剰発現乳癌異種移植片を有するマウスにおいて、アデノウィルスまたはリポソームのいずれかにより送達されたE1Aは、腫瘍増殖を阻害し、対照と比較してマウス生存を延長させた（チャング（Chang）ら、Oncogene 14：561頁[1997]）。

## 【0150】

HER-2/neuタンパク質産物およびFcガンマRⅡI（CD16）双方の細胞外ドメイン、ヒトナチュラルキラー細胞、好中球、および分化単核食細胞により発現されたFcガンマ受容体を標的とする二重特異性抗体を評価するために臨床試験が実施された（ウェイナー（Weiner）ら、J. Hematology、4：471頁[1995]）。

## 【0151】

HER-2の過剰発現はまた、化学療法に対する耐性増加に関連することが見出されている。したがって、HER-2のレベル上昇患者は、多くの薬剤に対して応答不良である。HER-2発現を阻害するために用いられる方法は、通常用いられる化学療法剤と併用されている（ウエノ（Ueno）ら、Oncogene 15：953頁[1997]）。アデノウィルスタイプ5遺伝子産物、E1Aとタキソールとの併用は、ヒト乳癌細胞において相乗効果を示した。チロシン特異的阻害剤であるエモジンが、シスプラチニン、ドキソルビシンおよびエトポシドなど、種々の化学療法薬に対する非小細胞肺癌（NSCLC）の感度を高めることがツアング（Zhang）ら、（Oncogene 12：571頁[1996]）により立証された。HER-2抗体は、ヒト乳癌細胞におけるタモキシフェンの有効性を増加させることを見出した（ウィッタース（Witters）ら、Breast Cancer Res. and Treatment、42：1頁[1997]）。

## 【0152】

オリゴヌクレオチド類もまた、HER-2の機能を研究するために用いられている。m

10

20

30

40

50

R N A 転写開始部位の 4 2 から 6 9 ヌクレオチド上流の H E R - 2 プロモーターに標的化された三重形成オリゴヌクレオチドが、H E R - 2 のインビトロ発現を阻害することが見出された(エッビングハウス( E b b i n g h a u s )ら、J . C l i n . I n v e s t . 、9 2 : 2 4 3 3 頁[ 1 9 9 3 ] )。ポーラム( P o r u m b )ら( C a n c e r R e s . 、5 6 : 5 1 5 頁[ 1 9 9 6 ] )はまた、同じH E R - 2 プロモーター領域に標的化された三重形成オリゴヌクレオチドを用いた。H E R - 2 m R N A およびタンパク質レベルにおける減少が、培養細胞に見られた。J u h l ら( J . B i o l . C h e m . 、2 7 2 : 2 9 4 8 2 頁[ 1 9 9 7 ] )は、タンパク質の膜内外領域のすぐ下流の H E R - 2 R N A の中央領域に標的化された抗H E R - 2 リボザイムを用いて、ヒト卵巣癌細胞におけるH E R - 2 m R N A およびタンパク質レベルの低下を立証した。ヌードマウスにおける腫瘍成長低下もまた見られた。 10

#### 【 0 1 5 3 】

アンチセンスアプローチは、H E R - 2 の過剰発現癌に対する可能性のある療法として用いられている。ペグース( P e g u e s )ら( C a n c e r L e t t . 、1 1 7 : 7 3 頁[ 1 9 9 7 ] )は、アンチセンス方向におけるH E R - 2 の 1 . 5 k b フラグメントを発現ベクターにクローニングし；この構築体の卵巣癌細胞への形質移入により付着依存性増殖が低下した。カサリニ( C a s a l i n i )ら( I n t . J . C a n c e r 7 2 : 6 3 1 頁[ 1 9 9 7 ] )は、1 5 1 b p 長から 4 1 5 b p 長のH E R - 2 フラグメントを含有する幾つかのヒトH E R - 2 アンチセンスペクター構築体を用いて、肺腺癌におけるH E R - 2 タンパク質レベルの減少および付着依存性増殖低下を立証した。コロマー( C o l o m e r )ら( B r . J . C a n c e r 、7 0 : 8 1 9 頁[ 1 9 9 4 ] )は、翻訳開始コドンに、またはそのすぐ下流に標的化されたホスホジエステルアンチセンスオリゴヌクレオチド類が、ヒト乳癌細胞の増殖を 6 0 % まで阻害したことを示した。ウィーチエン( W i e c h e n )ら( I n t . J . C a n c e r 6 3 : 6 0 4 頁[ 1 9 9 5 ] )は、H E R - 2 の翻訳開始コドンの 3 3 ヌクレオチド下流のコード領域に標的化された 1 8 - ヌクレオチドホスホチオエートオリゴヌクレオチドが、卵巣癌細胞の付着依存性増殖を低下させることを示した。バートラム( B e r t r a m )ら( B i o c h e m . B i o p h y s . R e s . C o m m u n . 、2 0 0 : 6 6 1 頁[ 1 9 9 4 ] )は、翻訳開始領域およびチロシンキナーゼコンセンサス配列に対して高い相同意を有するm R N A の翻訳領域の 3 ' 部における配列に標的化されたアンチセンスホスホチオエートオリゴヌクレオチドを用いて、ヒト乳癌細胞においてH E R - 2 タンパク質レベルが 7 5 % の低下したことを立証した。リュウ( L i u )ら( A n t i s e n s e a n d N u c l e i c A c i d D r u g D e v e l o p . 、6 : 9 頁[ 1 9 9 6 ] )は、5 ' キャップ部位およびコード領域に標的化されたアンチセンスホスホチオエートオリゴヌクレオチド類を用いた。5 ' キャップ部位に標的化された最も有効なオリゴヌクレオチドは、H E R - 2 タンパク質発現を 9 0 % 減少した。細胞増殖もまた、同等の量で減少した。ボーグン( V a u g h n )ら( N u c . A c i d s . R e s . 、2 4 : 4 5 5 8 頁[ 1 9 9 6 ] )は、H E R - 2 の翻訳開始領域に、またはその隣接部に(両側)標的化されたホスホチオエート、ホスホジチオエートおよびキメラアンチセンスオリゴヌクレオチド類を用いた。翻訳開始領域に標的化された互換的なジチオエート/ジエステルオリゴヌクレオチドは、全てのホスホチオエートオリゴヌクレオチドよりも僅かに良好に作用した。ブリシュ( B r y s c h )ら( C a n c e r G e n e T h e r . 、1 : 9 9 頁[ 1 9 9 4 ] )は、H E R - 2 の翻訳開始コドンに標的化された化学的に修飾されたアンチセンスオリゴヌクレオチド類を用い、タンパク質レベルを減少し、ヒト乳癌細胞系の増殖を阻害した。 20 30 40

#### 【 0 1 5 4 】

C . C - M y c

c - m y c 遺伝子産物は、即時早期応答遺伝子によりコードされ、その発現は、種々のマイトジエンにより誘導され得る。c - m y c 遺伝子のプロモーター領域の核酸配列は、図 9 に示される。c - m y c 発現は、細胞分裂に導くシグナル伝達経路に関与する。増殖している細胞は、静止状態細胞よりも c - m y c m R N A および c - m y c タンパク質

の高レベルを有することが研究により立証された。ヒト c - m y c タンパク質に対する抗体は、ヒト細胞から単離された核におけるDNA合成を阻害することが知られている。逆に、遺伝子導入により生じた c - m y c の構成的発現は、幾つかの細胞系の分化誘導を阻害する。c - m y c の構成的発現により、遺伝子導入マウスは腫瘍を発現し易くなる。

【0155】

幾つかの研究により、c - m y c 遺伝子産物は、SMC類において増殖的な役割を演じ得ることが示唆されている。ラット大動脈のバルーン脱内皮形成化および傷害により、その後の増殖および移動前に血管SMCのc - m y c mRNA発現を増加させることが知られている。また、PDGF、FGF、EGF、IGF-1などの幾つかのマイトジエンおよび血清に曝された場合、培養物中のSMC類が増殖する。これらマイトジエンの各々は、c - m y c タンパク質、c - m y c mRNAのいずれか、または双方の他の細胞系において発現を増加できることが見出されている。さらに血清は、SMC類におけるc - m y c mRNAレベルを増加させることが見出されている。

10

【0156】

ハレル - ベランら (J. Immun. 140: 2431 - 2435頁 (1988)) は、c - m y c mRNAに対して相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチド類が、ヒトT細胞におけるその翻訳を効果的に阻害することが立証された。これらT細胞が、細胞分裂のS期に入ることを阻害された。c - m y c 癌原遺伝子配列は、マルク (Marcu) ら、Ann. Rev. Biochem. 61: 809 - 860頁 [1992] ; ワット (Watt) ら、Nature 303: 725 - 728頁 [1983] ; バッティ (Battye) ら、Cell 34: 779 - 787頁 (1983) ; およびエプスタイン (Epstein) ら、NTIS公表PB93 - 100576頁に記載されている。

20

【0157】

D. Bc12

リンパ腫および白血病など、多くのタイプのヒト腫瘍において、ヒトbc1 - 2が過剰発現されており、腫瘍形成能に関連し得ると考えられる (ツジモト (Tsujiimoto) ら、Science 228: 1440 - 1443頁 [1985])。bc1 - 2のプロモーター領域の核酸配列を、図1に示している。高レベルのヒトbc1 - 2遺伝子発現が、たいていの濾胞性B細胞リンパ腫および多くの大型細胞非ホジキンリンパ腫など、t (14; 18) 染色体転座を有する全てのリンパ腫に見られている。bc1 - 2遺伝子高レベル発現はまた、長期の急性リンパ球性白血病のたいていの症例、プレB細胞タイプの多くの急性リンパ白血病、前立腺、乳房、および大腸の多くの腺癌など、t (14; 18) 染色体翻訳を有さないある種の白血病に見出されている。(リード (Reed) ら、Cancer Res. 51: 6529頁 [1991] ; ユニス (Yunis) ら、New England J. Med. 320: 1047頁 ; キャンポス (Campos) ら、Blood 81: 3091 - 3096頁 [1993] ; マクドーネル (McDonnell) ら、Cancer Res. 52: 6940 - 6944頁 [1992] ; ルー (Luu) ら、Int. J. Cancer 53: 29 - 35 [1993] ; ボンナー (Bonner) ら、Lab Invest. 68: 43A頁 [1993] )。

30

【0158】

E. TGF -

形質転換成長因子アルファ (TGF - ) は、アミノ酸50のポリペプチドである。TGF - プロモーターのアミノ酸配列を図11に示している。それは、レトロウィルス形質転換されたマウス細胞系から最初に単離され、その後ヒト腫瘍細胞、早期ラット胎児細胞およびヒト脳下垂体の細胞培養物中に確認されている。TGF - は、構造的にも機能的にも上皮成長因子 (EGF) に密接に関連し、双方が同じ受容体、すなわち、上皮成長因子受容体 (EGFR) に結合する。

40

【0159】

EGFおよびTGF - 双方の配列および三次元構造が決定されている (キャンベル (Campbell) ら、Prog. Growth Factor Res. 1: 13頁

50

[ 1 9 8 9 ] )。T G F - は、E G F と約40%相同性の残基を有するアミノ酸50のポリペプチドである。両ペプチドは、3つの十分に定義されたループ(A、BおよびCと表示される)を特徴とし、3つの分子内ジスルフィド結合を有する。

【 0 1 6 0 】

T G F - およびE G F など幾つかの成長因子は、上皮成長因子受容体(E G F受容体)との相互作用を経て生物学的效果を発揮すると考えられている。E G F受容体は、タイプ1受容体チロシンキナーゼである。E G F受容体およびそのリガンドは、正常な生理的過程ならびに過剰増殖疾患および腫瘍性疾患における役割に関して興味深い。

【 0 1 6 1 】

T G F - のインビボ前駆体は、開裂して溶解性化合物を産生するアミノ酸160の残基の膜結合タンパク質(プロT G F - アルファ)である(マッサージ(Massague)、J. Biol. Chem.、265:21393-21396頁[1990])。この開裂は、6Kdの分子量を有する50のアミノ酸から構成される細胞外部分を除去し、タンパク質キナーゼCを経て作用するホルボールエステル類により刺激され得る重要な制御事象(パンディエラ(Pandiella)ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、88:1726-1730頁[1990])と考えられている(パンディエラ(Pandiella)ら、J. Biol. Chem.、266:5769-5773頁[1991])。

【 0 1 6 2 】

培養ヒト前立腺腫瘍系は、上昇したT G F - mRNAレベルを含有し、T G F - に応答して増殖する(ワイルディング(Wilding)ら、The Prostate、15:1-12頁[1989])。T G F - は、自己分泌機能およびパラ分泌機能の双方を有し、細胞分裂および血管新生などの生理的活性を刺激すると思われる。遺伝子導入マウスに誘導された場合、T G F - は、上皮過形成およびもとの癌に似た病巣の異形成変化を生じさせる(サンドグレン(Sandgren)ら、Cell、61:1121-1135頁[1990])。

【 0 1 6 3 】

F . c - k i - R A S

c - k i - R A S (K R A S) 発癌遺伝子は、遍在的に発現する。30kb超の長さを有するK R A Sは、H R A SまたはN R A Sよりもはるかに大きい。c - k i - r a sのプロモーター領域の配列を図5に示している。3つのr a s遺伝子、H R A S、K R A S、およびN R A Sは、異なる遺伝子構造を有するが、189のアミノ酸残基のタンパク質に関する全てのコードを総称して、p 21と呼ばれる。これらの遺伝子は、それぞれのp 21の12番目または61番目のアミノ酸残基の組込みに影響を及ぼす単一の点変異により悪性を獲得する。K R A Sは、H R A Sよりもはるかに多く悪性疾患に関与する。N I H 3 T 3形質変換系における96のヒト腫瘍または腫瘍細胞系の研究において(パルシアニ(Pulciani)ら、Nature 300:539頁(1982))、変異H R A S座はT 2 4膀胱癌細胞においてのみに見られるが、一方、形質転換K R A S遺伝子は、8つの異なる癌および肉腫において確認されている。

【 0 1 6 4 】

卵巣の重篤な囊胞腺癌において、フェイグ(F e i g)ら(Science 223:698頁(1984))は、活性化K R A S 発癌遺伝子の存在を示したが、この遺伝子は、同じ患者の正常細胞で活性化されていない。形質転換遺伝子産物は、S D Sポリアクリルアミドゲルにおいて他の腫瘍におけるK R A S形質転換タンパク質の移動度とは異なった電気泳動移動度を示した。したがって、先に記載されていない変異が、この卵巣癌におけるK R A S活性化の原因であった。肺癌における発癌遺伝子の役割を研究するために、ローデンヒュース(R o d e n h u i s)ら(New Eng. J. Med. 317:929頁(1987))は、インビトロ増幅ステップ後のオリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションに基づくアッセイを用いた。ゲノムD N Aは、開胸術で得られた39の腫瘍標本から調べた。K R A S遺伝子は、10の腺癌のうちの5つにおいて、コドン12における

10

20

30

40

50

る点変異によって活性化されることが見出された。これら腫瘍のうちの2つは、サイズが2cm未満であり、転移はなかった。15の扁平細胞癌、10の大型細胞癌、1つの癌様体、肺外側の原発性腫瘍から2つの転移腺癌、および1つの小型細胞癌にHRAS、KRAS、またはNRAS変異は見られなかった。未変異KRAS遺伝子のおよそ20倍の増幅が、直腸癌の孤立性肺転移であると証明された腫瘍に見られた。ヤネズ(Yanez)ら(Oncogene 1:315頁(1987))は、16の大腸癌のうちの4つ、27の肺癌のうちの2つ、8つの乳癌のうちの1つにKRAS遺伝子のコドン12における変異を見出し；変異は、61位に見られなかった。コドン12における6つの可能なアミノ酸置換の中で、1つ以外の全ては同定された7つの変異に示されている。

【0165】

10

## G. 他の発癌遺伝子の標的

本発明は、上記の発癌遺伝子に限定されない。本発明の方法は、公知のプロモーター領域を有する任意の発癌遺伝子との使用に好適である。代表的な発癌遺伝子としては、これらに限定はしないが、BCR/ABL、ABL1/BCR、ABL、BCL1、CD24、CDK4、EGFR/ERBB-1、HSTF1、INT1/WNT1、INT2、MDM2、MET、MYB、MYC、MYCN、MYCL1、RAF1、NRAS、REL、AKT2、APC、BCL2-ALPHA、BCL2-BETA、BCL3、BCR、BRCA1、BRCA2、CBL、CCND1、CDKN1A、CDKN1C、CDKN2A、CDKN2B、CRK、CRK-II、CSF1R/FMS、DBL、DDOST、DCC、DPC4/SMAD4、E-CAD、E2F1/RBAP、ELK1、ELK3、EPH、EPHA1、E2F1、EPHA3、ERG、ETS1、ETS2、FER、FGR、FLI1/ERGB2、FOS、FPS/FES、FRA1、FRA2、FYN、HCK、HEK、HER3/ERBB-2、ERBB-3、HER4/ERBB-4、HST2、INK4A、INK4B、JUN、JUNB、JUND、KIP2、KIT、KRAS2A、KRAS2B、LCK、LYN、MAS、MAX、MCC、MLH1、MOS、MSH2、MYBA、MYBB、NF1、NF2、P53、PDGFB、PIM1、PTC、RBI、RET、ROS1、SKI、SRC1、TAL1、TGFB2、THRA1、THRB、TIAM1、TRK、VAV、VHL、WAF1、WNT2、WT1、YES1、ALK/NPM1、AMI1、AXL、FMS、GIP、GLI、GSP、HOX11、HST、IL3、INT2、KS3、K-SAM、LBC、LMO-1、LMO-2、L-MYC、LYL1、LYT-10、MDM-2、MLH1、MLL、MLM、N-MYC、OST、PAX-5、PMS-1、PMS-2、PRAD-1、RAF、RHOM-1、RUOM-2、SIS、TAL2、TAN1、TIAM1、TSC2、TRK、TSC1、STK11、PTCH、MEN1、MEN2、P57/KIP2、PTEN、HPC1、ATM、XPA/XPG、BCL6、DEK、AKAP13、CDH1、BLM、EWSR1/FLI1、FES、FGF3、FGF4、FGF6、FANCA、FLI1/ERGB2、FOSL1、FOSL2、GLI、HRAS1、HRX/MLLT1、HRX/MLLT2、KRAS2、MADH4、MAS1、MCF2、MLLT1/MLL、MLLT2/HRX、MTG8/RUNX1、MYCLK1、MYH11/CBFB、NFKB2、NOTCH1、NPM1/ALK、NRG/REL、NTRK1、PBX1/TCF3、PML/RARA、PRCA1、RUNX1、RUNX1/CBFA2T1、SET、TCF3/PBX1、TGFB1、TLX1、P53、WNT1、WNT2、WT1、v-3、PKC、TNF、クルステリン(Clusterin)、サーバイビング(Surviving)、TGF、c-fos、c-SRC、およびINT-1が挙げられる。

【0166】

40

## II. 非発癌遺伝子の標的

本発明は、発癌遺伝子の標的に限定されない。本発明の方法と組成物は、発現をダウンレギュレートすることが望ましい任意の遺伝子の標的化に使用される。例えば、幾つかの実施態様において、標的にされる遺伝子としては、これらに限定はしないが、免疫グロブ

50

リンまたは抗体遺伝子、凝固因子遺伝子、プロテアーゼ、脳下垂体ホルモン、プロテアーゼ阻害剤、成長因子、ソマトメジアン、ゴナドトロphin、ケモタクチン、ケモカイン、血漿タンパク質、血漿プロテアーゼ阻害剤、インターロイキン、インターフェロン、サイトカイン、転写因子、または病原体標的（例えば、ウィルス遺伝子、細菌遺伝子、微生物遺伝子、真菌遺伝子）が挙げられる。

【0167】

特定の遺伝子の例としては、これらに限定はしないが、ADAMTS4、ADAMTS5、APOA1、APOE、APP、B2M、COX2、CRP、DDX25、DMC1、FKBP8、GH1、GHR、IAPP、IFNA1、IFNG、IL1、IL10、IL12、IL13、IL2、IL4、IL7、IL8、IPW、MAPK14、Mei1、MMP13、MYD88、NDN、PACE4、PRNP、PSEN1、PSEN2、RAD51、RAD51C、SAP、SNRPN、TLR4、TLR9、TTR、UBE3A、VLA-4、およびPTP-1B、c-RAF、m-TOR、LDL、VLDL、Apob-100、HDL、VEGF、rhPDGF-BB、NADs、ICAM-1、MUC1、2-dG、CTL、PSGL-1、E2F、NF-kB、HIF、およびGCPRsが挙げられる。

【0168】

他の実施態様において、病原体の遺伝子が標的にされる。代表的な病原体としては、これらに限定はしないが、ヒト免疫不全ウィルス、B型肝炎ウィルス、C型肝炎ウィルス、A型肝炎ウィルス、呼吸器合胞体ウィルス、重篤な急性呼吸器症候群に関する病原体、20西ナイルウィルス、および食品伝染病原体（例えば、大腸菌）が挙げられる。

【0169】

III. DNAメチル化

幾つかの実施態様において、本発明は、特定の部位においてメチル化されているオリゴヌクレオチド療法を提供する。本発明は、特定のメカニズムに限定されない。実際には、メカニズムの理解は、本発明を実施するために必要ではないが、遺伝子活性の制御のための1つのメカニズムは、DNAにおけるシトシン残基のメチル化であると考えられている。5-メチルシトシン（5-MeC）は、DNAにおいて検出された唯一の天然修飾塩基である（エーリック（Ehrlick）ら、*Science* 212:1350-1357（1981））。全ての遺伝子が、メチル化により調節されるとは限らないが、多くの遺伝子における特定の部位または特定の領域における低メチル化は、転写活性と相関する（デールフラー（Doerfler）、*Ann. Rev. Biochem.* 52:93-124頁[1984]；クリストマン（Christman）、*Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 108:49-78頁[1988]；セダード（Cedar）、*Cell* 34:5503-5513頁[1988]）。インビトロでのDNAメチル化により、無細胞系における遺伝子の効率的な転写または形質移入遺伝子の一過性発現を防ぐことができる。また、幾つかの特定のシス制御領域におけるC残基のメチル化により、転写因子または抑制因子の結合をブロックまたは増強できる（デールフラー（Doerfler）、上記文献；クリストマン（Christman）、上記文献；セダード（Cedar）、*Cell* 34:5503-5513頁[1988]；テート（Tate）ら、*Curr. Opin. Genet. Dev.* 3:225-231頁[1993]；クリストマン（Christman）ら、*Virus Strategies* 編集、デールフラー（Doerfler, W.）&ボーム（Bohm, P.）（VCH、ヴァインハイム（Weinheim）、ニューヨーク州）319-333頁）。

【0170】

DNAメチル化の正常パターンの破壊は、癌発生に関連づけられてきた（クリストマン（Christman）ら、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:7347-7351頁[1995]）。腫瘍および腫瘍誘導細胞系のDNAの5-MeC含量は、一般に正常組織よりも低い（ジョーンズ（Jones）ら、*Adv. Cancer Res.* 40:1-30頁[1983]）。c-myc、c-Ki-rasおよびc-

H a - r a sなどの特定の発癌遺伝子の低メチル化は、種々のヒト腫瘍および動物腫瘍において検出されている（ナンブ（Nambu）ら、Jpn. J. Cancer (Gann) 78: 696 - 704頁 [1987] ; フェインバーグ（Feinberg）ら、Biochem. Biophys. Res. Commun. 111: 47 - 54頁 [1983] ; チー（Cheah）ら、JNCI 73: 1057 - 1063頁 [1984] ; ベーブ（Bhave）ら、Carcinogenesis (Lond) 9: 343 - 348頁 [1988] ）。ヒト腫瘍進行の最も良く研究された例の1つにおいて、DNAの低メチル化は、大腸癌発現における初期事象であることが示されている（ゲーツ（Goetz）ら、Science 228: 187 - 290頁 [1985] ）。インビボでのメチル化妨害により、腫瘍形成に至り得る。L - メチオニンまたは5 - アザシトシンなどのメチル化阻害剤の給餌またはリポトロープの除去した食餌の給餌を介した5 - アデノシンメチオニンの重度の欠乏により、ラットにおいて肝腫瘍形成が誘導されることが報告されている（ウェインファン（Wainfan）ら、Cancer Res. 52: 2071s - 2077s頁 [1992] ）。極度のリポトロープ欠乏食餌は、c - myc、rasおよびc - fosなどの遺伝子における特定の部位におけるメチル基の喪失を生じ得ることが研究により示されている（ディジク（Dizik）ら、Carcinogenesis 12: 1307 - 1312頁 [1991] ）。DNA MTアーゼ活性のレベル上昇が存在しているにもかかわらず低メチル化が生じる（ウェインファン（Wainfan）ら、Cancer Res. 49: 4094 - 4097頁 [1989] ）。活性な増殖保持にとって必要な遺伝子は、分化時にメチル化されて不活性化され、組織特異的遺伝子は低メチル化され、活性となる。したがって、低メチル化により、2つの状態間の平衡が移動し得る。したがって幾つかの実施態様において、本発明は、この自然現象を利用して、特異的遺伝子プロモーターの部位特異的メチル化のための組成物および方法を提供し、それによってある遺伝子の転写および翻訳を防ぐ。他の実施態様において、本発明は、遺伝子のメチル化パターンを変えることによって目的遺伝子（例えば、腫瘍抑制遺伝子）の発現をアップレギュレートする方法および組成物を提供する。  
10  
20

#### 【0171】

本発明は、メチル化オリゴヌクレオチド類の使用に限定されない。実際、遺伝子発現阻害のための非メチル化オリゴヌクレオチド類の使用が、本発明により特に考慮されている。本発明の開発過程時に実施された実験により、Bc1 - 2に対して標的化された非メチル化オリゴヌクレオチドは、メチル化オリゴヌクレオチドのレベルと同等のレベルまでリンパ腫細胞の増殖を阻害することが立証された（例えば、実施例8を参照）。

#### 【0172】

##### I V . オリゴヌクレオチド類

幾つかの実施態様において、本発明は、発癌遺伝子の発現を阻害するための抗遺伝子オリゴヌクレオチド類を提供する。抗遺伝子のための代表的な設計および產生法が以下に記載されている。以下の記載は、本発明の使用に好適な抗遺伝子化合物の範囲を限定する意図はない。当業者は、さらなる抗遺伝子が、本発明の範囲内にあることを認識している。

#### 【0173】

##### A . オリゴヌクレオチドの設計

幾つかの実施態様において、オリゴヌクレオチド類は、好ましい計画評価基準に基づき設計される。次いでこのようなオリゴヌクレオチド類は、本明細書に開示された方法を用いて有効性に関して試験できる。例えば、幾つかの実施態様において、オリゴヌクレオチド類は、少なくとも1つ、好ましくは少なくとも2つ、さらにより好ましくはCpGアイランドの全てがメチル化される。他の実施態様において、オリゴヌクレオチド類はメチル化を含まない。本発明は、特定のメカニズムに限定されない。実際、メカニズムの理解は、本発明を実施するために必要としないが、好ましいオリゴヌクレオチド類は、少なくとも50%GC含量および少なくとも2GCジヌクレオチド類を有するものであることが考慮されている。オリゴヌクレオチド類は、自己ハイブリダイズしないことが好ましい。幾つかの実施態様において、自己ハイブリダイゼーションを最少にするために少なくとも1

AまたはTにより設計される。幾つかの実施態様において、自己ハイブリダイズする能力に関するオリゴヌクレオチド類を調査するために市販のコンピュータプログラムが用いられる。好ましいオリゴヌクレオチド類は、少なくとも10のヌクレオチド長、好ましくは少なくとも15のヌクレオチド長であって、100以下のヌクレオチド長である。特に好ましいオリゴヌクレオチド類は、18～24ヌクレオチド長である。幾つかの実施態様において、オリゴヌクレオチド類は、普遍的タンパク質結合配列C G C C C およびC G C G またはそれらの相補体を含む。

【0174】

また、オリゴヌクレオチドは、プロモーターのT A T Aボックスから上流の遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズすることが好ましい。また、オリゴヌクレオチド化合物は、ヒトゲノムの他の領域に完全には相同意味ないことが好ましい。本発明のオリゴヌクレオチド化合物とゲノムの他の領域との相同意味は、入手可能な探索手段（例えば、N C B Iのインターネットサイトで入手できるB L A S T）を用いて決定できる。10

【0175】

幾つかの実施態様において、オリゴヌクレオチド類は、タンパク質（例えば、転写因子）により結合されることが知られている発癌遺伝子のプロモーター領域の領域とハイブリダイズするように設計される。本発明の代表的なオリゴヌクレオチド化合物は、図2、図4、図6、図8、図10、および図12に示される。本発明は、本明細書に記載されたオリゴヌクレオチド類に限定されない。他の好適なオリゴヌクレオチド類を同定できる（例えば、上記の評価基準を用いて）。開示されたオリゴヌクレオチド類の代表的なオリゴヌクレオチド変異体を、図25～図30に示している。候補オリゴヌクレオチド類は、これらに限定はしないが、下記の例示的実施例に記載されたものなど、任意の好適な方法を用いて有効性に関して試験できる。下記の実施例1および2に記載されたインビトロアッセイを用いて、候補オリゴヌクレオチド類は、種々の濃度で細胞増殖を防ぐ能力に関して評価できる。特に好ましいオリゴヌクレオチド類は、低濃度（本明細書に開示されたインビトロアッセイにおいて、例えば、20 μM未満、好ましくは10 μM未満）で細胞増殖の遺伝子発現を阻害するものである。20

【0176】

B. 好ましいオリゴヌクレオチドゾーン

幾つかの実施態様において、発癌遺伝子のプロモーター領域内の領域が、オリゴヌクレオチド類のハイブリダイゼーションに関して好ましい領域としてさらに規定される。幾つかの実施態様において、これらの好ましい領域は、「ホットゾーン」と称される。30

【0177】

幾つかの好ましい実施態様において、ホットゾーンは、有効であると示されているオリゴヌクレオチド化合物（オリゴヌクレオチド類に関して上記節を参照）および上記のオリゴヌクレオチド類に関して好ましい評価基準に基づいて有効であると考えられるものに基づいて規定される。好ましいホットゾーンは、各ホットゾーンに含まれた各化合物の10 bp 上流および下流を包含し、各化合物のさらに40 bp 上流または下流の増分内で少なくとも1以上のC G を有する。好ましい実施態様において、ホットゾーンは、ホットゾーンに含まれた各オリゴヌクレオチド化合物の最大100 bp 上流および下流を包含する。さらなる実施態様において、ホットゾーンは、各プロモーターの開始領域に規定される。これらのホットゾーンは、有効な配列または考慮された配列に基づいて規定され、200 bp の好ましい最大長を有する。上記の評価基準に基づいて、代表的なホットゾーンが設計された。これらのホットゾーンを表1に示している。ナンバリングは、本発明の図に記載されている配列に基づいている。40

【0178】

【表1】

表1 代表的なホットゾーン	
遺伝子	ホットゾーン
B c 1 - 2	1 - 4 0 1 6 1 - 3 5 0 4 0 1 - 5 9 0 1 0 0 2 - 1 2 6 0
c - e r B - 2	2 0 5 - 3 4 4 3 8 2 - 4 3 5
c - K - r a s	1 - 2 8 9 4 3 2 - 6 5 8
c - Ha - r a s	2 1 - 2 2 0 2 3 3 - 8 6 0 1 4 1 1 - 1 5 3 0 1 6 3 1 - 1 7 2 2
c - m y c	3 - 1 2 4 1 6 5 - 6 2 9
T G F - $\alpha$	1 - 9 0 1 7 5 - 2 1 9 2 6 1 - 3 6 7 4 3 1 - 9 3 0 9 6 4 - 1 2 3 7

10

20

## 【0179】

## C. オリゴヌクレオチド類の調製および製剤化

オリゴヌクレオチド合成の公知の任意の方法を使用して、本発明の修飾オリゴヌクレオチド類を調製することができる。メチル化オリゴヌクレオチド類を利用する幾つかの実施態様において、ヌクレオチド、d C は、本発明により教示される適切な場合 5 - メチル - d C により置換される。本発明の修飾または非修飾オリゴヌクレオチド類は、任意の市販の自動化核酸合成機を用いることにより最も好適に調製される。それらはまた、顧客仕様書に従って注文オリゴヌクレオチド類を合成する市販の原料から得ることができる。

30

## 【0180】

オリゴヌクレオチド類が、化合物の好ましい形態であるが、本発明は、これらに限定はしないが、下記のようなオリゴヌクレオチド模倣物など、他のオリゴマーのオリゴヌクレオチド化合物を含む。本発明によるオリゴヌクレオチド化合物は、約 18 から約 30 の核酸塩基（すなわち、約 18 から約 30 の結合塩基）を含むことが好ましいが、より長い、またより短い配列を、本発明により使用できる。

40

## 【0181】

本発明に有用な好ましい化合物の具体的な例としては、修飾された主鎖または非天然のヌクレオシド間の結合を含有するオリゴヌクレオチド類が挙げられる。本明細書に定義されるように、修飾された主鎖を有するオリゴヌクレオチド類としては、主鎖にリン原子を保持するもの、および主鎖にリン原子を有さないものが挙げられる。本明細書の目的のために、ヌクレオシド間主鎖にリン原子を有さない修飾オリゴヌクレオチド類はまた、オリゴヌクレオシド類であることが考慮され得る。

## 【0182】

好ましい修飾オリゴヌクレオチド主鎖としては、例えば、ホスホロチオエート類、キラルホスホロチオエート類、ホスホロジチオエート類、ホスホトリエステル類、アミノアルキルホスホトリエステル類、3' - アルキレンホスホネート類ならびにキラルホスホネー

50

ト類を含むメチルおよび他のアルキルホスホネート類、ホスフィネート類、3' - アミノホスホルアミデートならびにアミノアルキルホスホルアミデート類を含むホスホルアミデート類、チオノホスホルアミデート類、チオノアルキルホスホネート類、チオノアルキルホスホトリエステル類、および直鎖状3' - 5' 結合を有するボラノホスフェート類、これらの2' - 5' 結合アナログ、スクレオシド単位の隣接対が、3' - 5' から5' - 3' または2' - 5' から5' - 2' に結合している反転極性を有するものが挙げられる。種々の塩類、混合塩類および遊離酸形態もまた含まれる。

#### 【0183】

リン原子を含まない好ましい修飾のオリゴスクレオチド主鎖としては、短鎖アルキルまたはシクロアルキルスクレオシド間結合、混合ヘテロ原子およびアルキルまたはシクロアルキルスクレオシド間結合、または1つ以上の短鎖ヘテロ原子あるいはヘテロ環式スクレオシド間結合により形成される主鎖を有する。これらには、モルホリノ結合（スクレオシドの糖部分から一部形成される）；シロキサン主鎖；スルフィド、スルホキシドおよびスルホン主鎖；ホルムアセチルおよびチオホルムアセチル主鎖；メチレンホルムアセチルおよびチオホルムアセチル主鎖；アルケン含有主鎖；スルファメート主鎖；メチレンイミノおよびメチレンヒドラジノ主鎖；スルホネートおよびスルホンアミド主鎖；アミド主鎖；および混合N、O、SならびにCH<sub>2</sub>成分部分を有する他の主鎖を有するものが挙げられる。

#### 【0184】

他の好ましいオリゴスクレオチド模倣物において、スクレオシド単位の糖およびスクレオシド間結合（すなわち、主鎖）は双方とも、新規な基により置換される。塩基単位は、適切な核酸標的化合物とのハイブリダイゼーションのために維持される。このようなオリゴマー化合物の1つである、優れたハイブリダイゼーション特性を有することが示されているオリゴスクレオチド模倣物は、ペプチド核酸（PNA）と称される。PNA化合物において、オリゴスクレオチドの糖主鎖は、アミド含有主鎖、特にアミノエチルグリシン主鎖により置換される。核酸塩基は、保持され、主鎖のアミド部分のアザ窒素原子に直接的または間接的に結合する。PNA化合物の調製を教示する代表的な米国特許としては、これらに限定はしないが、米国特許第5,539,082号明細書；米国特許第5,714,331号明細書；および米国特許第5,719,262号明細書が挙げられ、それらの各々は、参考文献として本明細書に組み込まれる。PNA化合物のさらなる教示は、ニールセン（Nielsen）ら、Science 254: 1497頁（1991）に見ることができる。

#### 【0185】

幾つかの実施態様において、本発明のオリゴスクレオチド類は、ホスホチオエート主鎖を有するオリゴスクレオチド類およびヘテロ原子主鎖を有するオリゴスクレオシド類であり、特に-CH<sub>2</sub>、-NH-O-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-O-CH<sub>2</sub>-[メチレン（メチルイミノ）またはMMI主鎖として知られている]、-CH<sub>2</sub>-O-N(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-N(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-、および米国特許第5,489,677号明細書に引用される-O-N(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-[固有のホスホジエステル主鎖は-O-P-O-CH<sub>2</sub>-として表される]、米国特許第5,602,240号明細書に引用されるアミド主鎖である。また、米国特許第5,034,506号明細書に引用されるモルホリノ主鎖構造を有するオリゴスクレオチド類が好ましい。

#### 【0186】

修飾オリゴスクレオチド類はまた、1つ以上の置換糖部分を含有できる。好ましいオリゴスクレオチド類は、2'位に以下のものの1つを含む：OH；F；O-、S-、またはN-アルキル；O-、S-、またはN-アルケニル；O-、S-、またはN-アルキニル；またはO-アルキル-O-アルキルの1つを含み、ここで該アルキル、該アルケニルおよび該アルキニルは、置換または非置換のC<sub>1</sub>からC<sub>10</sub>アルキルまたはC<sub>2</sub>からC<sub>10</sub>のアルケニルおよびアルキニルであり得る。O[(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>O]<sub>m</sub>CH<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>

10

20

30

40

50

$\text{OCH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{ONH}_2$ 、および $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{ON}[(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3]_2$ が特に好ましく、式中nおよびmは、1から約10である。他の好ましいオリゴヌクレオチド類は、2'位に以下のものの1つを含む：C<sub>1</sub>からC<sub>10</sub>低級アルキル、置換低級アルキル、アルカリール、アラルキル、O-アルカリールまたはO-アラルキル、SH、SCH<sub>3</sub>、OCN、Cl、Br、CN、CF<sub>3</sub>、OCF<sub>3</sub>、SOCH<sub>3</sub>、SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、ONO<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、NH<sub>2</sub>、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルカリール、アミノアルキルアミノ、ポリアルキルアミノ、置換シリル、RNA開裂基、レポーター基、インターラーティー、オリゴヌクレオチドの薬物動態学的性質を改善するための基、またはオリゴヌクレオチドの薬力学的性質を改善するための基、および同様の性質を有する他の置換基。好ましい修飾としては、2' - メトキシエトキシ(2' - O - CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>、また2' - O - (2 - メトキシエチル)または2' - MOEとして知られている)(マーチン(Martin)ら、Helv. Chim. Acta 78: 486頁[1995])すなわち、アルコキシアルコキシ基が挙げられる。さらなる好ましい修飾としては、2' - ジメチルアミノオキシエトキシ(すなわち、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>ON(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>基)、2' - DMAOEとしても知られており、2' - ジメチルアミノエトキシエトキシ(また2' - O - ジメチルアミノエトキシエチルまたは2' - DMAEOEとしても知られている)、すなわち2' - O - CH<sub>2</sub> - O - CH<sub>2</sub> - N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>が挙げられる。

## 【0187】

他の好ましい修飾としては、2' - メトキシ(2' - O - CH<sub>3</sub>)、2' - アミノプロポキシ(2' - OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)および2' - フルオロ(2' - F)が挙げられる。同様の修飾は、オリゴヌクレオチド上の他の位置、特に3'末端ヌクレオチド上の糖の3'位または2' - 5'結合オリゴヌクレオチドにおいて、および5'末端ヌクレオチドの5'位においても為すことができる。オリゴヌクレオチド類はまた、ペントフルノシリル糖の代りにシクロブチル部分などの糖模倣物を有することができる。

## 【0188】

オリゴヌクレオチド類はまた、核酸塩基(当業界ではしばしば単に「塩基」と称される)の修飾または置換を含むことができる。本明細書に用いられる「非修飾」または「天然」の核酸塩基としては、プリン塩基のアデニン(A)およびグアニン(G)、ピリミジン塩基のチミン(T)、シトシン(C)およびウラシル(U)が挙げられる。修飾核酸塩基としては、5 - メチルシトシン(5 - me - C)、5 - ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、2 - アミノアデニン、アデニンおよびグアニンの6 - メチルならびに他のアルキル誘導体、アデニンおよびグアニンの2 - プロピルならびに他のアルキル誘導体、2 - チオウラシル、2 - チオチミンおよび2 - チオシトシン、5 - ハロウラシルおよびシトシン、5 - プロピニルウラシルおよびシトシン、6 - アゾウラシル、シトシンおよびチミン、5 - ウラシル(シュードウラシル)、4 - チオウラシル、8 - ハロ、8 - アミノ、8 - チオール、8 - チオアルキル、8 - ヒドロキシルおよび他の8 - 置換アデニン類およびグアニン類、5 - ハロ、特に5 - ブロモ、5 - トリフルオロメチルおよび他の5 - 置換ウラシル類およびシトシン類、7 - メチルグアニンおよび7 - メチルアデニン、8 - アザグアニンおよび8 - アザアデニン、7 - デアザグアニンおよび7 - デアザアデニン、ならびに3 - デアザグアニンおよび3 - デアザアデニンなどの他の合成および天然核酸塩基が挙げられる。さらなる核酸塩基としては、米国特許第3,687,808号明細書に記載されているものが挙げられる。これら核酸塩基の中の幾つかは、本発明のオリゴマー化合物の結合親和性を増加させるために特に有用である。これらには、2 - アミノプロピルアデニン、5 - プロピニルウラシルおよび5 - プロピニルシトシンなど、5 - 置換ピリミジン類、6 - アザピリミジン類およびN - 2、N - 6およびO - 6置換プリン類が含まれる。5 - メチルシトシンの置換は、0.6 ~ 1.2まで核酸二重鎖安定性を増加させることができており、現時点で、好ましい塩基置換であり、特に2' - O - メトキシエチル糖修飾と組合せた場合はさらに好ましい。

## 【0189】

10

20

30

40

50

本発明のオリゴヌクレオチド類の別の修飾は、オリゴヌクレオチドの1つ以上の部分に対する化学的結合を含むか、またはオリゴヌクレオチドの活性、細胞分散または細胞取込みを増強する共役体を含む。このような部分としては、これらに限定はしないが、コレステロール部分、コール酸、チオエーテル（例えば、ヘキシル-S-トリチルチオール）、チオコレステロール、脂肪鎖（例えば、ドデカンジオール残基またはウンデシル残基）、リン脂質（例えば、ジ-ヘキサデシル-rac-グリセロールまたはトリエチルアンモニウム1,2-ジ-O-ヘキサデシル-rac-グリセロ-3-H-ホスホネート）、ポリアミン鎖もしくはポリエチレングリコール鎖またはアダマンタン酢酸、パルミチル部分、またはオクタデシルアミン部分あるいはヘキシルアミノ-カルボニル-オキシコレステロール部分などの脂質部分が挙げられる。

10

#### 【0190】

当業者は、上記の修飾を含有するオリゴヌクレオチド類の生成法を熟知している。本発明は、上記のアンチセンスオリゴヌクレオチド類に限定されない。任意の好適な修飾または置換を利用できる。

#### 【0191】

特定の化合物における全位置が必ずしも均一に修飾される必要はなく、実際、前述の修飾の1以上を、単一化合物にまたはさらには、オリゴヌクレオチド内の单一ヌクレオシドに取り込むこともできる。本発明は、また下記の通り本発明のアンチセンス化合物を含んでいる医薬組成物および製剤を含む。

#### 【0192】

20

#### D. カクテル

幾つかの実施態様において、本発明は、遺伝子（例えば、発癌遺伝子）のプロモーター領域に対して2つ以上のオリゴヌクレオチドを含むカクテルを提供する。幾つかの実施態様において、2つのオリゴヌクレオチドは、同じ遺伝子のプロモーターの異なる領域にハイブリダイズする。他の実施態様において、2つ以上のオリゴヌクレオチドは、2つの異なる遺伝子のプロモーターにハイブリダイズする。本発明は、特定のメカニズムに限定されない。実際、このメカニズムの理解は、本発明を実施するために必要ではないが、本発明の2つ以上の化合物の組合せが、別々に投与された各々の化合物の付加的阻害よりも大きな癌細胞増殖阻害を提供することが考慮されている。

#### 【0193】

30

#### V. 研究使用

本発明は、治療適用に限定されない。例えば、幾つかの実施態様において、本発明は、研究用手段としてオリゴヌクレオチド類使用のための組成物および方法を提供する。

#### 【0194】

#### A. キット

例えば、幾つかの実施態様において、本発明は、目的の遺伝子阻害に特異的なオリゴヌクレオチド類、および所望により遺伝子を発現するための公知の細胞系（例えば、癌細胞系）を含むキットを提供する。例えば、このようなキットは、代謝経路の確認または疾患（例えば、癌）における遺伝子の関与、ならびに診断適用に使用される。幾つかの実施態様において、さらにキットは、緩衝剤および他の必要な試薬、ならびにキットを使用するための取扱い説明書を含む。

40

#### 【0195】

#### B. 標的の検証

幾つかの実施態様において、本発明は、遺伝子標的（例えば、疾患に関与していると疑われる遺伝子）の検証に使用するための方法および組成物を提供する。例えば、幾つかの実施態様において、広範なスクリーニング用途（例えば、遺伝子発現アレイ）において疾患に関与していることが同定されている遺伝子発現は、本発明の方法および組成物を用いてダウンレギュレートされる。本発明の方法および組成物は、標的の検証目的のためのインビトロおよびインビボ使用（例えば、非ヒト動物において）に好適である。他の実施態様において、本発明の化合物は、移植術研究（例えば、HLA阻害）に使用される。

50

## 【0196】

## C. 薬物スクリーニング

他の実施態様において、本発明の方法および組成物は、薬物スクリーニング用途に使用される。例えば、幾つかの実施態様において、本発明のオリゴヌクレオチド類は、対象の遺伝子発現を阻害するために細胞（例えば、培養物中または非ヒト動物内の）に投与される。幾つかの実施態様において、対象遺伝子の阻害は、生理的または疾患症状を模倣する。他の実施態様において、発癌遺伝子は阻害される。次に試験化合物（例えば、低分子の薬物またはオリゴヌクレオチド模倣物）を、試験細胞に投与し、試験化合物の効果をアッセイする。

## 【0197】

本発明の試験化合物は、生物学的ライブラリー；ペプトイドライブラリー（ペプチドの機能性を有するが、新規な非ペプチド主鎖を有し、酵素分解に耐性があるが、生物活性を維持する分子のライブラリー；例えば、ズッケンナン（Zuckennann）ら、J. Med. Chem. 37: 2678-85頁[1994]を参照）；空間的に操作可能な平行固相または溶液相ライブラリー；分解分離を必要とする合成ライブラリー法；「ワンビズ・ワンコンパウンド」ライブラリー法；およびアフィニティクロマトグラフィ選択を用いる合成ライブラリー法を含む、当技術分野で公知の組合せライブラリー法における多くの任意のアプローチを用いて得ることができる。生物学的ライブラリーおよびペプトイドライブラリーのアプローチは、ペプチドライブラリーとの使用に好ましいが、他の4つのアプローチは、ペプチド、非ペプチドオリゴマーまたは化合物の低分子ライブラリーに適用可能である（Lam (1997) Anticancer Drug Des. 12: 145頁）。

10

## 【0198】

分子ライブラリーの合成法の例は、例えば：デウィット（DeWitt）ら、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 90: 6909頁[1993]；エルブ（Erb）ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 11422頁[1994]；ズッカーマン（Zuckermann）ら、J. Med. Chem. 37: 2678頁[1994]；チョウ（Cho）ら、Science 261頁: 1303頁[1993]；カレル（Carrel）ら、Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 33. 2059頁[1994]；カレル（Carrel）ら、Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 33. 2061頁[1994]；およびギャロップ（Galloop）ら、J. Med. Chem. 37: 1233頁[1994]の当技術分野で見ることができる。

20

## 【0199】

化合物のライブラリーは、溶液中（例えば、ホーテン（Houghten）、Biotechniques 13: 412-421頁[1992]）、またはビーズ上（ラム（Lam）、Nature 354: 82-84頁[1991]）、チップ上（フォーダー（Fodor）、Nature 364: 555-556[1993]）、細菌またはスボア上（参考文献として本明細書に組み込まれる、米国特許第5,223,409号明細書）、プラスミド上（カル（Cull）ら、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 89: 18651869頁[1992]）またはファージ上（スコットおよびスミス（Scott and Smith）、Science 249: 386-390頁[1990]；デブリン（Devlin）Science 249: 404-406頁[1990]；クワーラ（Cwirla）ら、Proc. Natl. Acad. Sci. 87: 6378-6382頁[1990]；フェリシ（Felici）、J. Mol. Biol. 222: 301頁[1991]）において提供できる。

30

## 【0200】

## V I. 組成物および送達

幾つかの実施態様において、本発明のオリゴヌクレオチド化合物は、医薬品として対象への送達用に医薬組成物として製剤化できる。本発明の新規な抗原化合物は、遺伝子発現

40

50

または細胞増殖を阻害することが望ましい種々の疾患状態および症状の治療における使用が見出された。幾つかの好ましい実施態様において、該化合物は、例えば、これに限定はしないが、癌など無制御細胞増殖から生じる疾患状態を治療するために用いられる。本発明は、特定の癌の治療に限定されない。本発明のオリゴヌクレオチド化合物は、これらに限定はしないが、乳癌、大腸癌、肺癌、胃癌、膀胱癌、膀胱癌、白血病、およびリンパ腫などの種々の癌の治療に好適である。下記の考察により、製剤化および投与量の代表的な非限定例が提供される。

【0201】

A. 医薬組成物

本発明は、医薬組成物（例えば、上記のオリゴヌクレオチド化合物を含む）をさらに提供する。本発明の医薬組成物は、局所治療または全身治療が望ましいかどうかに依って、また治療を受ける部位に依って多くの方法で投与できる。投与は、局所（眼ならびに膣および直腸などの粘膜送達など）、肺（例えば、ネプライザーによるなどの散剤またはエーロゾル剤の吸入またはガス注入；気管内、鼻腔内、表皮および経皮）、経口または非経口であり得る。非経口投与としては、静脈内、動脈内、皮下、腹腔内または筋肉内注射または輸注；または頭蓋内投与、例えば髄腔内投与または心室内投与が挙げられる。

10

【0202】

局所投与用の医薬組成物および製剤としては、経皮用パッチ、軟膏、ローション剤、クリーム剤、ゲル剤、点滴剤、座剤、スプレー剤、液剤および散剤を挙げることができる。従来の製薬担体、水性基剤、粉末基剤または油性基剤、増粘剤などが必要で、または望ましいと思われる。

20

【0203】

経口投与用の医薬組成物および製剤としては、散剤または顆粒剤、水媒体または非水媒体中の懸濁剤または液剤、カプセル剤、サッシェまたは錠剤が挙げられる。増粘剤、風味剤、希釈剤、乳化剤、分散補助剤または結合剤が望ましいと思われる。

【0204】

非経口投与、髄腔内投与または心室内投与用の医薬組成物および製剤としては、緩衝剤、希釈剤、これらに限定はしないが、透過エンハンサー、担体化合物および他の医薬的に許容できる担体または賦形剤などの好適な添加物も含有できる滅菌水溶液を挙げができる。

30

【0205】

本発明の医薬組成物としては、これらに限定はしないが、液剤、乳濁剤、およびリポソーム含有製剤が挙げられる。これらの組成物は、これらに限定はしないが、予め形成された液体、自己乳化固体および自己乳化半固体を含む種々の成分から生成できる。

【0206】

単位剤形において都合よく存在し得る本発明の製薬製剤は、製薬業界に周知の従来からの技法に従って調製できる。このような技法は、有効成分と製薬用担体または賦形剤とを組合わせるステップを含む。一般に製剤は、有効成分と液体担体または微粉固体担体あるいは双方を均一かつ密接に組合わせ、次いで必要ならば製造物を成形することにより調製される。

40

【0207】

本発明の組成物は、これらに限定はしないが、錠剤、カプセル剤、液体シロップ剤、軟質ゲル剤、座剤、および浣腸などの多くの任意の可能な剤形に製剤化できる。本発明の組成物はまた、水性媒体、非水媒体または混合媒体中の懸濁剤として製剤化できる。水性懸濁剤は、例えば、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ソルビトールおよび/またはデキストランなど、懸濁剤の粘度を増加させる物質をさらに含有できる。懸濁剤はまた、安定化剤を含有できる。

【0208】

本発明の一実施態様において、医薬組成物を製剤化し、発泡剤として使用できる。製薬発泡剤としては、これらに限定はしないが、乳濁剤、ミクロ乳濁剤、ジェリーおよびリボ

50

ソームなどの製剤が挙げられる。基本的性質は同様であるが、これらの製剤は、最終製造物の成分および粘稠度において変化がある。

【0209】

細胞レベルにおいてオリゴヌクレオチド類の取込みを増強させる化合物もまた、本発明の医薬品および他の成分に添加できる。例えば、リポフェクチン（米国特許第5,705,188号明細書）などのカチオン性脂質、カチオン性グリセロール誘導体、およびポリリジン（国際公開第97/30731号パンフレット）などのポリカチオン性分子もまた、オリゴヌクレオチド類の細胞取込みを増強させる。

【0210】

本発明の組成物は、従来から医薬組成物に見られた他の補助剤成分をさらに含有できる。したがって、例えば、該組成物は、例えば、止痒剤、収斂剤、局所麻酔剤または抗炎症剤など、さらなる適合性の製薬活性物質を含有できるか、または本発明の組成物の種々の剤形を物理的に形成する上で有用なさらなる物質、例えば色素、風味剤、保存剤、抗酸化剤、乳白剤、増粘剤および安定化剤など、を含有できる。しかしながら、このような物質が添加された場合に、本発明の組成物成分の生物活性を過度に妨害してはならない。該製剤は滅菌でき、所望ならば、製剤の核酸と有害な相互作用をしない補助剤、例えば、潤滑剤、保存剤、安定化剤、湿潤剤、乳化剤、浸透圧に影響を及ぼす塩類、緩衝剤、着色剤、風味剤および/または芳香物質などと混合できる。

【0211】

経口投与用組成物および製剤としては、散剤または顆粒剤、ミクロ粒子剤、ナノ粒子剤、水媒体または非水媒体中の懸濁剤または液剤、カプセル剤、ゲルカプセル剤、サッシェ、錠剤またはミニ錠剤が挙げられる。増粘剤、風味剤、希釈剤、乳化剤、分散補助剤または結合剤が望ましいと思われる。好ましい経口用製剤は、本発明のオリゴヌクレオチド類が、1種以上の透過エンハンサー、界面活性剤およびキレート化剤と組合せて投与されるものである。好ましい界面活性剤としては、脂肪酸および/またはそのエステル類または塩類、胆汁酸および/またはその塩類が挙げられる。好ましい胆汁酸/塩類としては、ケノデオキシコール酸（CDC A）およびウルソデオキシケノデオキシコール酸（UDCA）、コール酸、デヒドロコール酸、ヒドロキシコール酸、グルコール酸、グリコール酸、グリコデオキシコール酸、タウロコール酸、タウロデオキシコール酸、タウロ-24,25-ジヒドロ-フシジン酸ナトリウム、グリコジヒドロフシジン酸ナトリウムが挙げられる。好ましい脂肪酸としては、アラキドン酸、ウンデカン酸、オレイン酸、ラウリン酸、カブリル酸、カブリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、リノール酸、リノレン酸、ジカブレート、トリカブレート、モノオレイン、ジラウリン、グリセリル1-モノカブレート、1-ドデシルアザシクロヘプタン-2-オン、アシルカルニチン、アシルコリン、またはモノグリセリド、ジグリセリドまたは医薬的に許容できるその塩（例えば、ナトリウム）が挙げられる。透過エンハンサーの組合せ、例えば、胆汁酸/塩類と組合せた脂肪酸/塩類もまた好ましい。特に好ましい組合せは、ラウリン酸、カブリル酸およびUDCAのナトリウム塩である。さらなる透過エンハンサーとしては、ポリオキシエチレン-9-ラウリルエーテル、ポリオキシエチレン-20-セチルエーテルが挙げられる。本発明のオリゴヌクレオチド類は、スプレー乾燥粒子などの顆粒形態で経口送達でき、あるいはミクロ粒子またはナノ粒子を形成するために複合化できる。オリゴヌクレオチド錯化剤としては、ポリアミノ酸類；ポリイミン類；ポリアクリレート類；ポリアルキルアクリレート類、ポリオキシエタン類、ポリアルキルシアノアクリレート類；カチオン化ゼラチン類、アルブミン類、澱粉類、アクリレート類、ポリエチレングリコール類（PEG）および澱粉類；ポリアルキルシアノアクリレート類；DEAE誘導化ポリイミン類、ポルラン類、セルロース類および澱粉類が挙げられる。特に好ましい錯化剤としては、キトサン、N-トリメチルキトサン、ポリ-L-リジン、ポリヒスチジン、ポリオルニチン、ポリスペルミン類、プロタミン、ポリビニルピリジン、ポリチオジエチルアミノ-メチルエチレンP（TDAE）、ポリアミノスチレン（例えば、p-アミノ）、ポリ（メチルシアノアクリレート）、ポリ（エチルシアノアクリレート）、ポリ（ブチルシアノ

10

20

30

40

50

アクリレート)、ポリ(イソブチルシアノアクリレート)、ポリ(イソヘキシルシアノアクリレート)、DEAE-メタクリレート、DEAE-ヘキシルアクリレート、DEAE-アクリルアミド、DEAE-アルブミンおよびDEAE-デキストラン、ポリメチルアクリレート、ポリヘキシルアクリレート、ポリ(D,L-乳酸)、ポリ(DL-乳酸-コ-グリコール酸(P L G A)、アルギネート、ポリエチレングリコール(P E G)が挙げられる。

【0212】

本発明の特定の実施態様では、(a)1種以上のオリゴヌクレオチド化合物および(b)非オリゴヌクレオチドメカニズムによって機能する1種以上の他の化学療法剤を含有する医薬組成物が提供される。このような化学療法剤の例としては、これらに限定はしないが、ダウノルビシン、ダクチノマイシン、ドキソルビシン、ブレオマイシン、マイトイマイシン、ナイトロジエンマスター、クロラムブシリ、メルファラン、シクロホスファミド、6-メルカブトブリン、6-チオグアニン、シタラビン(C A)、5-フルオロウラシル(5-F U)、フロクスウリジン(5-F U d R)、メトトレキサート(M T X)、コルヒチン、ビンクリスチン、ビンプラスチン、エトポシド、テニポシド、シスプラチンおよびジエチルスチルベストロール(D E S)などの抗癌剤が挙げられる。これらに限定はしないが、非ステロイド系抗炎症薬およびコルチコステロイド類などの抗炎症薬、これらに限定はしないが、リビビリン、ビダラビン、アシクロビルおよびガンシクロビルなどの抗ウイルス薬もまた、本発明の組成物に組合わせることができる。他の非オリゴヌクレオチド化学療法剤もまた、本発明の範囲内にある。2種以上の組合せ化合物は、一緒にまたは連続的に使用できる。

【0213】

B. 送達

本発明のオリゴヌクレオチド化合物は、任意の好適な方法を用いて送達できる。幾つかの実施態様において、裸のDNAを投与する。他の実施態様において、リポフェクションは、対象への核酸の送達に利用される。別のさらなる実施態様において、オリゴヌクレオチド類を送達のためにホスホチオレート類により修飾される(例えば米国特許第6,169,177号明細書を参照されたい。出典明示により参考文献として本明細書に組み込まれる)。

【0214】

幾つかの実施態様において、送達用の核酸類は、それらの取込みを補助するために圧縮される(例えば、参考文献として本明細書に組み込まれる、米国特許第6,008,366号明細書、米国特許第6,383,811号明細書を参照されたい)。幾つかの実施態様において、圧縮された核酸類は、標的の細胞結合部分を介して特定の細胞タイプ(例えば、癌細胞)に標的化される(例えば、各々が参考文献として本明細書に組み込まれる、米国特許第5,844,107号明細書、米国特許第6,077,835号明細書を参照されたい)。

【0215】

幾つかの実施態様において、オリゴヌクレオチド類は、それらの送達を補助するために他の化合物に結合させる。例えば、幾つかの実施態様において、核酸類は、送達を補助するためにポリエチレングリコールに結合させる(例えば、各々が参考文献として本明細書に組み込まれ、米国特許第6,177,274号明細書、米国特許第6,287,591号明細書、米国特許第6,447,752号明細書、米国特許第6,447,753号明細書および米国特許第6,440,743号明細書を参照されたい)。さらに他の実施態様において、オリゴヌクレオチド類は、帯電可能な薬物ナノ担体(ファルマイン(Pharmain))である保護されたグラフトコポリマー類に結合させる。なおさらなる実施態様において、オリゴヌクレオチド類の細胞内への輸送は、ビタミン類との結合により促進される(エンドサイト(Endocyte)社、West Lafayette、インディアナ州;例えば、米国特許第5,108,921号明細書、米国特許第5,416,016号明細書、米国特許第5,635,382号明細書、米国特許第6,291,670号明細書)。

3号明細書および国際公開第02/085908号パンフレットを参照されたい。各々が参考文献として本明細書に組み込まれる)。他の実施態様において、オリゴヌクレオチド類は、ナノ粒子に結合される(例えば、ナノメッド製薬会社(NanoMed Pharmaceuticals); Kalamazoo、ミシガン州)。

【0216】

好みの実施態様において、オリゴヌクレオチド類は、送達を補助するために脂質(例えば、リポソーム類またはミセル類)に封入される(例えば、各々が参考文献として本明細書に組み込まれ、米国特許第6,458,382号明細書、米国特許第6,429,200号明細書を参照されたい)。好みのリポソーム類としては、これらに限定はしないが、カルジオリピンを基にしたカチオン性リポソーム類(例えば、ネオファーム(Neo Pharm)、Forest Lake、イリノイ州から入手できるNEOPHETIN)が挙げられる。幾つかの好みの実施態様において、NEOPHETIN対オリゴヌクレオチドの充填比は6:1である。なおさらなる実施態様において、オリゴヌクレオチド類は、送達を補助するためにさらにポリマー類と錯化される(例えば、米国特許第6,379,966号明細書、米国特許第6,339,067号明細書、米国特許第5,744,335号明細書を参照されたい;それらの各々は参考文献として本明細書に組み込まれる;イントラジグム(Intradigm)社、Rockville、メリーランド州を参照)。

【0217】

なおさらなる実施態様において、マイルス(Mirrus)(Madison、ウィスコンシン州)により開発された制御された高圧送達系が、オリゴヌクレオチド類の送達に利用されている。

【0218】

C. 投与量

投薬は、治療を受ける疾患状態の重症度および応答性に依り治療の過程は、数日から数カ月までか、あるいは治癒が達成されるまでか、または疾患状態の減退が達成されるまで続く。最適な投薬計画は、患者の体内における薬物蓄積の測定から算出できる。投与担当医師は、最適用量、投薬方法論および反復率を容易に判定できる。最適用量は、個々のオリゴヌクレオチドの相対的効力、および送達手段に依って変えることができ、インピトロおよびインピボの動物モデルで有効であると判っているEC<sub>50</sub>sに基づき、または本明細書に記載された実施例に基づいて一般的に推定できる。一般に、用量は、体重1kg当たり0.01μgから100gであり、毎日、毎週、毎月または毎年1回以上投与できる。幾つかの実施態様において、投与は、数時間から数日または数週の期間継続される(例えば、静脈内に)。幾つかの実施態様において、処置は、規定された期間連続して投与された後、処置なしの期間が続く。幾つかの実施態様において、連続投薬に次いで処置なしの期間というパターンが、数回(例えば、疾患状態が減退するまで)反復される。

【0219】

担当医師は、体液または組織における測定した薬物の滞留時間および濃度に基づいて投薬に関する反復率を推定できる。治療の成功後、疾患状態の再発を防ぐために、対象に維持療法を受けさせることが望ましいと考えられ、該オリゴヌクレオチドを、体重1kg当たり0.01μgから100g、好ましくは1mgから50mg、さらにより好ましくは6mgから30mgの範囲の維持用量で、1日1回以上から20年毎に1回投与される。

【0220】

VII. 併用療法

幾つかの実施態様において、本発明の組成物は、既存の療法と併用して提供される。他の実施態様において、本発明の2つ以上の化合物は、組合わせて提供される。幾つかの実施態様において、本発明の成分は、公知の化学療法剤と併用して提供される。本発明は、特定の化学療法剤に限定されない。

【0221】

種々のクラスの抗悪性腫瘍(例えば、抗癌)剤が、本発明の特定の実施態様における使

10

20

30

40

50

用のために考慮される。本発明による使用に好適な抗癌剤は、これらに限定はしないが、アポトーシスを誘導する、アデノシンデアミナーゼ機能を阻害する、ピリミジン生合成を阻害する、プリン環生合成を阻害する、ヌクレオチド相互変換を阻害する、リボヌクレオチドレダクターゼを阻害する、チミジンモノホスフェート（T M P）合成を阻害する、ジヒドロフォレート還元を阻害する、D N A合成を阻害する、D N Aとの付加体を形成する、D N Aを損傷する、D N A修復を阻害する物、D N Aとインターフェクターする物、アスパラギン類をデアミネートする物、R N A合成を阻害する物、タンパク質合成または安定性を阻害する物、微小管合成または機能を阻害する物質などが挙げられる。

## 【0222】

幾つかの実施態様において、本発明の組成物および方法の使用に好適な代表的な抗癌剤としては、これらに限定はしないが：1）微小管阻害剤（例えば、ビンクリスチン、ビンプラスチン、およびビンデシンなど）、微小管安定化剤（例えば、パクリタキセル（T A X O L）、およびドセタキセルなど）を含むアルカロイド類、エピポドフィロトキシン類（例えば、エトボシド（V P - 1 6）、およびテニボシド（V M - 2 6）など）などのトポイソメラーゼ阻害剤を含むクロマチン機能阻害剤、トポイソメラーゼIを標的とする薬剤（例えば、カンプトテシンおよびイシリノテカン（C P T - 1 1）など）；2）ナイトロジエンマスターード類（例えば、メクロレタミン、クロラムブシル、シクロホスファミド、イフオスファミド、およびブルファン（M Y L E R A N）など）、ニトロソ尿素類（例えば、カルムスチン、ロムスチン、およびセムスチンなど）、および他のアルキル化剤（例えば、ダカルバジン、ヒドロキシメチルメラミン、チオテバ、およびマイトマイシンなど）などの共有D N A結合剤（アルキル化剤）；3）核酸阻害剤（例えば、ダクチノマイシン（アクチノマイシンD）など）、アントラサクリン類（例えば、ダウノルビシン（ダウノマイシンおよびセルビジン）、ドキソルビシン（アドリアマイシン）、およびイダルビシン（イダマイシン）など）、アントラセンジョン類（例えば、ミトキサントロンなどのアントラサクリンアナログ）、ブレオマイシン類（B L E N O X A N E）など、およびブリカマイシン（ミトラマイシン）などの非共有D N A結合剤（抗腫瘍抗生物質）；4）葉酸代謝拮抗薬（例えば、メトトレキサート、F O L E X、およびM E X A T Eなど）、プリン代謝拮抗薬（例えば、6 - メルカブトプリン（6 - M P、P U R I N E T H O L）、6 - チオグアニン（6 - T G）、アザチオプリン、アシクロビル、ガンシクロビル、クロロデオキシアデノシン、2 - クロロデオキシアデノシン（C d A）、および2' - デオキシコフォルマイシン（ペントスタチン）など）、ピリミジンアンタゴニスト（例えば、フルオロピリミジン類（例えば、5 - フルオロウラシル（A D R U C I L）、5 - フルオロデオキシウリジン（F d U r d）（フロクスウリジン）など）、およびシトシンアラビノシド類（例えば、C Y T O S A R（a r a - C）およびフルダラビンなど）などの代謝拮抗薬；5）L - アスパラギナーゼ、およびヒドロキシ尿素などの酵素；6）グルココルチコイド類、抗エストロゲン類（例えば、タモキシフェンなど）、非ステロイド系抗アンドロゲン類（例えば、フルタミドなど）、およびアロマターゼ阻害剤（例えば、アノストロゾール（A R I M I D E X）など）などのホルモン類；7）白金化合物（例えば、シスプラチンおよびカルボプラチンなど）；8）抗癌剤、毒素、および/または放射性核種と結合したモノクローナル抗体など；9）生体応答調整物質（例えば、インターフェロン類（例えば、I F N - など）およびインターロイキン類（例えば、I L - 2など）など）；10）養子免疫治療；11）造血成長因子；12）腫瘍細胞分化を誘導する薬剤（例えば、オール - トランス - レチノイン酸など）；13）遺伝子療法技法；14）アンチセンス療法技法；15）腫瘍ワクチン；16）腫瘍転移に対する療法（例えば、バチマスタット（b a t i m a s t a t）など）；17）血管新生阻害剤；18）プロテオソーム阻害剤（例えば、V E L C A D E）；19）アセチル化阻害剤および/またはメチル化阻害剤（例えば、H D A C阻害剤）；20）N F - Bのモジュレーター；21）細胞分裂周期調節阻害剤（例えば、C D K阻害剤）；22）p 5 3タンパク質機能のモジュレーター；および23）放射線、が挙げられる。

## 【0223】

10

20

30

40

50

癌療法作業場所でルーチンに使用される任意の腫瘍融解剤が、本発明の組成物および方法における使用を見出される。例えば、米国食品医薬品局は、米国での使用に承認された腫瘍崩壊性剤の処方を支持している。U.S.F.D.A.に対応する国際政府機関は、同様の処方を支持している。表3は、米国における使用に関して承認された代表的な抗悪性腫瘍薬のリストを提供している。米国で承認された全ての化学療法薬に対して求められる「製品分類」が、代表的な薬剤に関して承認された効能・効果、投薬情報、毒性データなどが記載されていることを当業者は認識されるであろう。

## 【0224】

表3

【表2-1】

10	アルデスロイキン(デスーアラニル-1,セリン-125ヒトイントロイキン-2)	Proleukin	キロン(Chiron)社、Emeryville、カリフォルニア州
	アレムツズマブ (IgG1κ抗CD52抗体)	Campath	ミレンニウム・アンド・ILEXパートナーズ, LP (Millennium and ILEX Partners, LP)、Cambridge、マサチューセッツ州
20	アリトレチノイン (9-シス-レチノイン酸)	Panretin	リガンド・ファーマシューティカルズ(Ligand Pharmaceuticalals)社、サンディエゴ、カリフォルニア州
	アロプリノール (1,5-ジヒドロ-4H-ピラゾロ[3,4-d]ピリミジン-4-オン、一ナトリウム塩)	Zyloprim	グラクソスミスクライン(GlaxoSmithKline)、Research Triangle Park、ノースカロライナ州
30	アルトレタミン (N,N,N',N',N",N"-ヘキサメチル-1,3,5-トリアジン-2,4,6-トリアミン)	Hexalen	USバイオサイエンス(US Bioscience)、West Conshohocken、ペンシルバニア州
	アミフォスチン (エタンチオール, 2-[3-アミノプロピル]アミノ]-, リン酸二水素(エステル))	Ethyol	USバイオサイエンス(US Bioscience)
	アナストロゾール (1,3-ベンゼンジアセトニトリル, a, a, a', a'-テトラメチル-5-(1H-1,2,4-トリアゾール-1-イルメチル))	Arimidex	アストラゼネカ・ファーマシューティカルズ, LP (AstraZeneca Pharmaceuticals, LP)、Wilmington、デラウェア州
40	三酸化ヒ素	Trisenox	セル・セラピューティック(Celle Therapy)社、シアトル、ワシントン州

【表2-2】

アスパラギナーゼ (L-アスパラギンアミドヒドロラーゼ、タイプEC-2)	Elspar	メルク (Merck) 社、Whitehouse Station、ニュージャージー州	
BCGライブ (ウシ型結核菌の弱毒株の凍結乾燥調製物 (Bacillus Calmette-Guérin [BCG]、亜株モントリオール))	TICE BCG	オルガノン・テクニカ (Organon Teknica) 社、Durham、ノースカロライナ州	10
ベキサロテンカプセル (4-[1-(5,6,7,8-テトラヒドロ-3,5,5,8,8-ペンタメチル-2-ナフタレンイル)エテニル]安息香酸)	Targretin	リガンド・ファーマシューティカルズ (Ligand Pharmaceuticals)	
ベキサロテンゲル	Targretin	リガンド・ファーマシューティカルズ (Ligand Pharmaceuticals)	
ブレオマイシン (ストレプトミセス・ベルチシラス (Streptomyces verticillatus) により生産された細胞毒性グリコペプチド抗生物質; ブレオマイシンA <sub>2</sub> およびブレオマイシンB <sub>2</sub> )	Blenoxane	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (Bristol-Myers Squibb) 社、ニューヨーク、ニューヨーク州	20
カペシタビン (5'-デオキシ-5-フルオロー-N-[ (ペンチルオキシ)カルボニル] -シチジン)	Xeloda	ロッシュ (Roche)	
カルボプラチナ (白金、ジアミン [1,1-シクロブタジカルボキシラート (2-) -0,0']-, (SP-4-2))	Paraplatin	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (Bristol-Myers Squibb)	30
カルムスチン (1,3-ビス(2-クロロエチル)-1-ニトロソ尿素)	BCNU、 BiCNU	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (Bristol-Myers Squibb)	
ポリフェプロサン20インプラントを有するカルムスチン	Gliadel Wafer	ギルフォード・ファーマシューティカルズ (Guilford Pharmaceuticals) 社、ボルチモア、メリーランド州	
セレコキシブ (4-[5-(4-メチルフェニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル]ベンゼンスルホンアミドとして)	Celebrex	サール・ファーマシューティカルズ (Searle Pharmaceuticals)、英国	40

【表2-3】

クロラムブシリ (4-[ビス(2クロルエチル)アミノ]ベンゼンブタン酸)	Leukeran	グラクソスミスクライン (G l a x o S m i t h K l i n e)
シスプラチン (P t C l <sub>2</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> )	Platinol	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (B r i s t o l - M y e r s S q u i b b)
クラドリビン (2-クロロ-2'-デオキシ-b-D-アデノシン)	Leustatin, 2-CdA	R. W. ジョンソン・ファーマシューティカル・リサーチ・インスティチュート (R. W. J o h n s o n P h a r m a c e u t i c a l R e s e a r c h I n s t i t u t e)、ニュージャージー州
シクロホスファミド (2-[ビス(2-クロロエチル)アミノ]テトラヒドロ-2H-1,2-オキサザホスホリン2-オキシド-1水和物)	Cytoxan, Neosar	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (B r i s t o l - M y e r s S q u i b b)
シタラビン (1-b-D-アラビノフラノシリシトシン、C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> )	Cytosar-U	ファルマシア・アンド・アップジョン (P h a r m a c i a & U p j o h n) 社
シタラビンリポソーム	DepoCyt	スカイ・ファーマシューティカルズ (S k y e P h a r m a c e u t i c a l s) 社、サンディエゴ、カリフォルニア州
ダカルバジン (5-(3,3-ジメチル-1-トリアゼノ)-1-ミダゾール-4-カルボキサミド (DTIC))	DTIC-Dome	バイエルAG (B a y e r A G)、L e v e r k u s e n、ドイツ国
ダクチノマイシン、アクチノマイシンD (ストレプトマイセス・パルブラス (S treptomyces parvullus)により生産されたアクチノマイシン、C <sub>62</sub> H <sub>86</sub> N <sub>12</sub> O <sub>16</sub> )	Cosmegen	メルク (M e r c k)
ダルベポエチンアルファ (組換えペプチド)	Aranesp	アムゲン (A m g e n) 社、T h o u s a n d O a k s、カリフォルニア州
ダウノルビシンリポソーム [(8S-シス)-8-アセチル-10-[(3-アミノ-2,3,6-トリデオキシ-a'-L-リキゾ-ヘキソピラノシリ)オキシ]-7,8,9,10-テトラヒドロ-6,8,11-トリヒドロキシ-1-メトキシ-5,12-ナフタセンジオン塩酸]	Danuoxome	ネックスター・ファーマシューティカルズ (N e x s t a r P h a r m a c e u t i c a l s) 社、B o u l d e r、コロラド州

10

20

30

40

50

【表2-4】

ダウノルビシンHC1、ダウノマイシン [(1S, 3S)-3-アセチル-1, 2, 3, 4, 6, 11-ヘキサヒドロ-3, 5, 12-トリヒドロキシ-10-メトキシ-6, 11-ジオキソ-1-ナフタセニル3-アミノ-2, 3, 6-トリデオキシ- (アルファ)-L-リキソ-ヘキソピラノシド塩酸塩]	Cerubidine	ウェイス・アイアースト (Wyeth Ayerst)、マジソン、ニュージャージー州
デニロイキンジフチトックス (組換えペプチド)	Ontak	セラゲン (Seragen) 社、Hopkinton、マサチューセッツ州
デクスラゾキサン ( (S)-4, 4'-(1-メチル-1, 2-エタンジイル)ビス-2, 6-ペラジンジオン)	Zinecard	ファルマシア・アンド・アップジョン (Pharmacia & Upjohn) 社
ドセタキセル ( (2R, 3S)-N-カルボキシ-3-フェニルイソセリン, N-tert-ブチルエステル, 5b-20-エポキシ-1-2a, 4, 7b, 10b, 13a-ヘキサヒドロキシタクス-11-エン-9-オン4-アセテート2-ベンゾエートとの13-エステル、三水和物)	Taxotere	アベンティス・ファーマシューティカルズ (Aventis Pharmaceuticals) 社、Bridgewater、ニュージャージー州
ドキソルビシンHC1 [(8S, 10S)-10-[(3-アミノ-2, 3, 6-トリデオキシ-a-L-リキソ-ヘキソピラノシル)オキシ]-8-グリコリル-7, 8, 9, 10-テトラヒドロ-6, 8, 11-トリヒドロキシ-1-メトキシ-5, 12-ナフタセンジオン塩酸塩]	Adriamycin, Rubex	ファルマシア・アンド・アップジョン (Pharmacia & Upjohn) 社
ドキソルビシン	Adriamycin PFS静脈注射	ファルマシア・アンド・アップジョン (Pharmacia & Upjohn) 社
ドキソルビシンリポソーム	Doxil	セクウス・ファーマシューティカルズ (Sequus Pharmaceuticals) 社、Menlo park、カリフォルニア州
ドロモスタノロンプロピオネート (17b-ヒドロキシ-2a-メチル-5a-アンドロスタン-3-オンプロピオネート)	Dromostanolone	イーライリリー (Eli Lilly) 社、インディアナポリス、インディアナ州

10

20

30

40

50

【表2-5】

ドロモスタノロン プロピオネート	Masterone注射	シンテックス (Syntex) 社、Palo Alto 、カリフォルニア州
エリオットB溶液	Elliott's B溶液	オルファンメディカル (Orphan Medical) 社
エピルビシン [(8S-シス)-10-[(3-アミノ-2,3,6-トリデオキシ-a-L-アラビノ-ヘキソピラノシル)オキシ]-7,8,9,10-テトラヒドロ-6,8,11-トリヒドロキシ-8-(ヒドロキシアセチル)-1-メトキシ-5,12-ナフタセンジオン塩酸塩]	Ellence	ファルマシア・アンド・アップジョン (Pharmacia & Upjohn) 社
エポエチンアルファ (組換えペプチド)	EpoGen	アムゲン (Amgen) 社
エストラムスチン (エストラ-1,3,5(10)-トリエン-3,17-ジオール(17(ベータ))-3-[ビス(2-クロロエチル)カルバメート]17-(リン酸二水素), 二ナトリウム塩一水和物、またはエストラジオール3-[ビス(2-クロロエチル)カルバメート]17-(リン酸二水素)二ナトリウム塩一水和物)	Emcyt	ファルマシア・アンド・アップジョン (Pharmacia & Upjohn) 社
エトポシドホスフェート (4'-デメチルエピポドフィロトキシン9-[4,6-O-(R)-エチリデン-(ベータ)-D-グルコピラノシド], 4'-(リン酸二水素))	Etopophos	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (Bristol-Myers Squibb)
エトポシド、VP-16 (4'-デメチルエピポドフィロトキシン9-[4,6-O-(R)-エチリデン-(ベータ)-D-グルコピラノシド])	Vepesid	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (Bristol-Myers Squibb)
エキセメスタン (6-メチレンアンドロスター-1,4-ジエン-3,17-ジオン)	Aromasin	ファルマシア・アンド・アップジョン (Pharmacia & Upjohn) 社
フィルグラスチム (r-metHuG-CSF)	Neupogen	アムゲン (Amgen) 社

10

20

30

40

【表2-6】

フルクスウリジン（動脈内） (2'-デオキシ-5-フルオロウリジン)	FUDR	ロッシュ (R o c h e)
---------------------------------------	------	------------------

フルダラビン (抗ウイルス剤ビダラビン、9-b-D-アラビノフルノシリアルアデニン(arabinosyladenine)のフッ素化ヌクレオチドアナログ)	Fludara	ベルレックス・ラボラトリーズ (B e r l e x L a b o r a t o r i e s) 社、Cedar Knolls、ニュージャージー社	10
フルオロウラシル、5-FU (5-フルオロ-2,4-(1H, 3H)-ピリミジンイオン)	Adrucil	ICNファーマシューティカルズ (ICN Pharmaceuticals) 社、Humacao、プエルトリコ	
フルベストラント (7-アルファー-[9-(4,4,5,5-ペンタフルオロペンチルスルフニル)ノニル]エストラ-1,3,5-(10)-トリエン-3,17-ベータジオール)	Fastlodex	IPRファーマシューティカルズ (ICN Pharmaceuticals) 社、Guayama、プエルトリコ	
ゲムシタビン (2'-デオキシ-2'、2'-ジフルオロシチジン、一塩酸塩 (b-異性体))	Gemzar	イーライリリー (E li l l y)	20
ゲムツズマブオゾガミシン (抗CD33 hP67.6)	Mylotarg	ウェイス・アイアースト (Wyeth Ayerst)	
酢酸ゴセレリン ([D-Ser (But) <sup>6</sup> , Azg <sup>1</sup> y <sup>10</sup> ]LHRHの酢酸塩；ピロ-G1u-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser(But)-Leu-Aрг-Pro-Arg <sup>1</sup> y-NH <sub>2</sub> 酢酸塩 [C <sub>59</sub> H <sub>84</sub> N <sub>18</sub> O <sub>14</sub> ·(C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>x</sub> ]	Zoladex インプラント	アストラゼネカ・ファーマシューティカルズ (AstraZeneca Pharmaceuticals)	30
ヒドロキシ尿素	Hydrea	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (Bristol-Myers Squibb)	

【表2-7】

イブリツモマブ・チュウキセタン (モノクローナル抗体イブリツモマブ とリンカーキレーター・チュウキセタン [N-[2-ビス(カルボキシメチル) アミノ]-3-(p-イソチオシアナートフェニル)-プロピル]-[N-[ 2-ビス(カルボキシメチル)アミノ]- 2-(メチル)-エチル]グリシンとの間の チオ尿素共有結合から生じる免疫複合体)	Zevalin	バイオゲン IDEC (Biogen IDEC) 社、ケンブリッジ、マサチューセッツ州
イダルビシン [5, 12-ナフタセンジオン, 9-アセチル-7-[3-アミノ-2, 3, 6-トリデオキシ(アルファ)-L-リキゾ-ヘキソピラノシル)オキシ]-7, 8, 9, 10-テトラヒドロ-6, 9, 11-トリヒドロキシ、(7S-シス)塩酸塩]	Idamycin	ファルマシア・アンド・アップジョン (Pharmacia & Upjohn) 社
イフォスファミド (3-(2-クロロエチル)-2-[(2-クロロエチル)アミノ]テトラヒドロ-2H-1, 3, 2-オキサザホスホリン2-オキシド)	IFEX	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (Bristol-Myers Squibb)
イマチニブメシレート (4-[(4-メチル-1-ピペラジニル)メチル]-N-[4-メチル-3-[(4-(3-ピリジニル)-2-ピリミジニル)アミノ]フェニル]ベンズアミドメタンスルホネート)	Gleevec	ノバルティスAG (Novartis AG)、バーゼル、スイス国
インターフェロンアルファ-2a (組換えペプチド)	Roferon-A	ホフマン・ラ・ロッシュ (Hoffmann-La Roche) 社、Nutley、ニュージャージー州
インターフェロンアルファ-2b (組換えペプチド)	Intron-A (凍結乾燥Betaseron)	シェリングAG (Schering AG)、ベルリン、ドイツ国

10

20

30

40

【表 2 - 8】

イリノテカンHC 1 ( (4 S) - 4, 11 - ジエチル - 4 - ヒドロキシ - 9 - [ (4 - ピペリジノビペリジノ) カルボニルオキシ] - 1 H - ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2 - b] キノリン - 3, 14 (4 H, 12 H) ジオン塩酸塩 三水和物)	Camptosar	ファルマシア・アンド・アップジョン (Pharmacia & Upjohn) 社
レトロゾール (4, 4' - (1 H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 1 - イルメチレン) ジベンゾニトリル)	Femara	ノバルティス (Novartis)
ロイコボリン (L - グルタミン酸, N [4 [ [(2アミノ - 5 - ホルミル - 1, 4, 5, 6, 7, 8 - ヘキサヒドロ 4 オキソ 6 - プテリジニル) メチル] アミノ] ベンゾイル] 、カルシウム塩 (1 : 1) )	Wellcovorin、Leucovorin	イムネックス (Immunex) 社、シートル、ワシントン州
レバミゾールHC 1 ( ( - ) - (S) - 2, 3, 5, 6 - テトラヒドロ - 6 - フェニルイミダゾ [2, 1 - b] チアゾール - 塩酸塩 C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> S · HC 1)	Ergamisol	ジャンセン・リサーチファウンデーション (Janssen Research Foundation) 、Titusville、ニュージャージー州
ロムスチン (1 - (2 - クロロ - エチル) - 3 - シクロヘキシル - 1 - ニトロソ尿素)	CeeNU	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (Bristol-Myers Squibb)
メクロレタミン、ナイトロジエンマスターード (2 - クロロ - N - (2 - クロロエチル) - N - メチルエタナミン塩酸塩)	Mustargen	メルク (Merck)
酢酸メグストロール 17 $\alpha$ (アセチルオキシ) - 6 - メチルブレグナ - 4, 6 - ジエン - 3, 20 - ジオン	Megace	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (Bristol-Myers Squibb)
メルファラン、L - PAM (4 - [ビス (2 - クロロエチル) アミノ] - L - フェニルアラニン)	Alkeran	グラクソスミスクライン (GlaxoSmithKline)

10

20

30

40

【表2-9】

メルカプトプリン、6-MP (1,7-ジヒドロ-6H-プリン-6-チオニ-水和物)	Purinethol	グラクソスミスクライン (G l a x o S m i t h K l i n e)
メスナ (2-メルカプトエタンスルホン酸ナトリウム)	Mesnex	アスタ・メディカ (A s t a M e d i c a)
メトトレキサート (N-[4-[(2,4-ジアミノ-6-ブテリジニル)メチル]メチルアミノ]ベンゾイル]-L-グルタミン酸)	Methotrexate	レダリー・ラボラトリーズ (L e d e r l e L a b o r a t o r i e s)
メトキサレン(9-メトキシ-7H-フロ[3,2-g][1]-ベンゾピラン-7-オン)	Uvadex	セラコス (T h e r a k o s) 社、W a y E x t o n、ペンシルバニア州
マイトマイシンC	Mutamycin	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (B r i s t o l - M y e r s S q u i b b)
マイトマイシンC	Mitozytrex	スーパーゲン (S u p e r G e n) 社、ダブリン、カリフォルニア州
ミトタン (1,1-ジクロロ-2-(o-クロロフェニル)-2-(p-クロロフェニル)エタン)	Lysodren	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (B r i s t o l - M y e r s S q u i b b)
ミトキサントロン (二塩酸1,4-ジヒドロキシ-5,8-ビス[[2-[(2-ヒドロキシエチル)アミノ]エチル]アミノ]-9,10-アントラセンジオニ-二塩酸)	Novantrone	イムネックス (I m m u n e x) 社
ナンドロロンフェンプロピオネート	Durabolin-50	オルガノン (O r g a n o n) 社、W e s t O r a n g e、ニュージャージー州
ノフェツモマブ	Verluna	ベーリンガー・イングルハイムファーマKG (B o e h r i n g e r I n g e l h e i m P h a r m a K G)、ドイツ国

10

20

30

【表2-10】

オブレルベキン (IL-11)	Neumega	ジェネティックス・インスティチュート (Genetics Institute) 社、アレキサンドリア、ヴァージニア州
オキサリプラチン (シス- [(1R, 2R)-1, 2-シクロヘキサンジアミン-N, N'] [オキサラト (2-) -O, O'] 白金)	Eloxatin	サンフィ・シンセラボ (Sanofi-Synthelab) 社、ニューヨーク、ニューヨーク州
パクリタキセル ( (2R, 3S)-N-ベンゾイル-3-フェニルイソセリンとの5β, 20-エポキシ-1, 2a, 4, 7β, 10β, 13a-ヘキサヒドロキシタクス-1-エン-9-オン4, 10-ジアセテート2-ベンゾエート13-エステル)	TAXOL	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (Bristol-Myers Squibb)
パミドロネート (ホスホン酸(3-アミノ-1-ヒドロキシプロピリデン)ビス-二ナトリウム塩 五水和物、(APD))	Aredia	ノバルティス (Novartis)
ペガデマーゼ (モノメトキシポリエチレングリコールスクシンイミジル)11-17-アデノシンデアミナーゼ)	Adagen (Pegademase Bovine)	エンゾン・ファーマシューティカルズ (Enzon Pharmaceuticals) 社、Bridgewater、ニュージャージー州
ペガスパルガーゼ (モノメトキシポリエチレングリコールスクシンイミジルL-アスパラギナーゼ)	Oncaspar	エンゾン (Enzon)
ペグフィルグラスチム (組換えメチオニルヒトG-CSF (フィルグラスチム) とモノメトキシポリエチレングリコールとの共有結合体)	Neulasta	アムゲン (Amgen) 社
ペントスタチン	Nipent	パーク・デービス・ファーマシューティカル (PARKER-Davis Pharmaceutical) 社、Rockville, メリーランド州

10

20

30

40

【表2-11】

ビポブロマン	Vercyte	アボット・ラボラトリーズ (Abbott Laboratories)、Abbott Park、イリノイ州	
プリカマイシン、ミトラマイシン (ストレプトマイセス・プリカタスにより生産された抗生物質)	Mithracin	ファイザー (Pfizer) 社、ニューヨーク、ニューヨーク州	
ポルフィマーナトリウム	Photofrin	QLT フォトセラピーチックス (QLT Phototherapeutics) 社、バンクーバー、カナダ国	10
プロカルバジン (N-イソプロピル- $\mu$ -(2-メチルヒドラジノ)-p-トルアミド-塩酸塩)	Matulane	シグマタウ・ファーマシューティカルズ (Sigma Tau Pharmaceuticals) 社、Gaithersburg、メリーランド州	
キナクリン (6-クロロ-9-(1-メチル-4-ジエチルアミノ)ブチルアミノ-2-メトキシアクリジン)	Atabrine	アボット・ラブス (Abbott Labs)	
ラスブリカーゼ (組換えペプチド)	Elitek	サンフィ・シンセラボ (Sanofi-Synthelab) 社	20
リツキシマブ (組換え抗CD20抗体)	Rituxan	ジェネンテック (Genentech) 社、South San Francisco、カリフォルニア州	
サルグラモスチン (組換えペプチド)	Prokine	イムネックス (Immunex) 社	
ストレプトゾシン (ストレプトゾシン2-デオキシ-2-[[[ (メチルニトロソアミノ) カルボニル] アミノ] -a (およびb) -D-グルコピラノースおよび220mgの無水クエン酸)	Zanosar	ファルマシア・アンド・アップジョン (Pharmacia & Upjohn) 社	30
タルク (Mg <sub>3</sub> Si <sub>4</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>2</sub> )	Sclerosol	ブライアン (Bryan) 社、Woburn、マサチューセッツ州	
タモキシフェン ( (Z) 2-[4-(1,2-ジフェニル-1-ブテニル) フェノキシ] -N, N-ジメチルエタンアミン2-ヒドロキシ-1,2,3-プロパントリカルボキシレート (1:1) )	Nolvadex	アストラゼネカ・ファーマシューティカルズ (AstraZeneca Pharmaceuticals)	40

【表2-12】

テモジロミド (3,4-ジヒドロ-3-メチル-4-オキソイミダゾ[5,1-d]-アセトトラジン-8-カルボキサミド)	Temodar	シェリング (S ch e r i n g)	
テニポシド、VM-26 (4'-デメチルエピポドフィロトキシン9-[4,6-O-(R)-2-テニリデン-(ベータ)-D-グルコピラノシド])	Vumon	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (B r i s t o l - M y e r s S qu i b b)	10
テストラクトン (13-ヒドロキシ-3-オキソ-1,3,17-セコアンドロスター-1,4-ジ-17-エノイン酸[d g r]-ラクトン)	Teslac	ブリストル・マイヤーズ・スクイブ (B r i s t o l - M y e r s S qu i b b)	
チオグアニン、6-TG (2-アミノ-1,7-ジヒドロ-6H-ブリニ-6-チオン)	Thioguanine	グラクソスミスクライン (G l a x o S m i t h K l i n e)	
チオテパ (アジリジン, 1, 1', 1"-ホスフィノチオイリジネトリス、またはトリス(1-アジリジニル)ホスフィンスルフィド)	Thioplex	イムネックス (I mm u n e x) 社	20
トボテカンHCl ( (S)-10-[ジメチルアミノ]メチル]-4-エチル-4,9-ジヒドロキシ-1H-ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-3,14-(4H,12H)-ジオン-1塩酸塩)	Hycamtin	グラクソスミスクライン (G l a x o S m i t h K l i n e)	30
トレミフェン (2-(p-[(Z)-4-クロロ-1,2-ジフェニル-1-ブテニル]-フェノキシ)-N,N-ジメチルエチルアミンクエン酸(1:1))	Fareston	ロバーツ・ファーマシューティカル (R o b e r t s P h a r m a c e u t i c a l) 社、E a t o n t o w n、ニュージャージー州	
トシツモマブ、IgG <sub>2a</sub> ラムダ抗CD20抗体(IgG <sub>2a</sub> は放射免疫療用抗体である)	Bexxar	コリクサ (C o r i x a) 社、シアトル、ワシントン州	40

【表2-13】

トラスツズマブ (組換えモノクローナル IgG <sub>1</sub> カップ 抗HER2抗体)	Herceptin	ジェネンテック (Genentech) 社
トレチノイン、ATRA (オールトランスレチノイン酸)	Vesanoid	ロッシュ (Roche)
ウラシルマスター	Uracil Mustard カプセル	ロバーツ・ラブス (Roberts La b's)
バルルビシン、N-トリフルオロアセチ ルアドリアマイシン-14-バレレ ト (2S-シス)-2-[1, 2, 3, 4, 6, 11-ヘキサヒドロ-2, 5, 12-トリヒドロキシ-7メトキシ- 6, 11-ジオキゾー[[42, 3, 6 -トリデオキシ-3-[トリフルオロ アセチル]-アミノ- $\alpha$ -L-リキゾー- ヘキソピラノシル]オキシル]-2-ナ フタセニル]-2-オキソエチルペンタ ノエート)	Valstar	アントラ-メデバ (Anthra->M edeva)
ビンプラスチン、リューロクリスチン (C <sub>46</sub> H <sub>56</sub> N <sub>4</sub> O <sub>10</sub> · H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Velban	イーライ・リリー (Eli Lilly)
ビンクリスチン (C <sub>46</sub> H <sub>56</sub> N <sub>4</sub> O <sub>10</sub> · H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Oncovin	イーライ・リリー (Eli Lilly)
ビノレルビン (3', 4'-ジデヒドロ-4'-デオ キシ-C'ノルビンカロイコプラスチ ン[R-(R*, R*)-2, 3-ジヒ ドロキシブタンジオエート(1:2) (塩)] )	Navelbine	グラクソスミスクライン (Gla xosmithKline)
ゾレドロネート、ゾレドロン酸 (1-ヒドロキシ-2-イミダゾール -1-イル-ホスホノエチル)ホスホン 酸一水和物)	Zometa	ノバルティス (Novartis)

10

20

30

## 【0225】

## VIII. カスタマイズされた患者医療

40

幾つかの実施態様において、本発明は、カスタマイズされた患者治療を提供する。本発明の組成物は、患者疾患（例えば、癌）に独特な特定の遺伝子を標的にする。例えば、幾つかの実施態様において、患者の癌または他の患部組織（例えば、生検）のサンプルを最初に得る。特定の遺伝子（例えば、発癌遺伝子）の発現の存在について生検を分析する。幾つかの好ましい実施態様において、患者の遺伝子の発現レベルを分析する。発現は、特定の発癌遺伝子に対応するRNAまたはDNAの存在についてモニタリングすることによって検出できる。これらに限定はしないが、下記に開示されたものなどの任意の好適な検出法を利用できる。

## 【0226】

対象患者遺伝子の遺伝子発現パターンの特徴分析後、カスタマイズ療法を、各患者のた

50

めに作製する。好ましい実施態様において、患者に異常発現する（例えば、腫瘍において）遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチド化合物を、治療カクテル中で混合する。幾つかの実施態様において、治療カクテルは、追加の化学療法剤（例えば、上記のもの）をさらに含む。次に該カクテルを、上記のとおり患者に投与する。

【0227】

幾つかの実施態様において、癌サンプルの分析および治療化合物に関するオリゴヌクレオチドの選択は自動化される。例えば、幾つかの実施態様において、オリゴヌクレオチド類の最適な選択および濃度に達するために、一連の発癌遺伝子の発現レベルを解析するソフトウェアプログラムを利用する。幾つかの実施態様において、該解析は、患者サンプルを解析する臨床検査室により実施され、治療カクテルの製剤化に関する第2のプロバイダーに伝達される。幾つかの実施態様において、この情報は、インターネットで伝達され、したがって、診断と治療開始との間での最短時間を可能にする。

10

【0228】

A. R N Aの検出

幾つかの実施態様において、発癌遺伝子の検出（例えば、これらに限定はしないが、本明細書に記載されたものなどを含む）は、組織サンプル（例えば、癌組織）中の対応するm R N Aの発現を測定することによって検出される。他の実施態様において、m R N Aの発現は、これらに限定はしないが、血液、血清、粘液、尿などの体液中で測定される。幾つかの好ましい実施態様において、m R N Aの発現レベルは、定量的に測定される。R N A発現は、下記に開示したものなど、任意の好適な方法により測定できるが、これに限定するものではない。

20

【0229】

幾つかの実施態様において、R N Aは、ノーザンプロット解析により検出される。ノーザンプロット解析は、R N Aの分離および相補的な標識プローブのハイブリダイゼーションを含む。他の実施態様において、R N A発現は、特定の構造の酵素的開裂によって検出される（IN VADERアッセイ、Third Wave Technologies；例えば、米国特許第5,846,717号明細書；米国特許第6,090,543号明細書；米国特許第6,001,567号明細書；米国特許第5,985,557号明細書；および米国特許第5,994,069号明細書を参照されたい；それらの各々は、参考文献として本明細書に組み込まれる）。IN VADERアッセイは、オーバラップするオリゴヌクレオチドプローブのハイブリダイゼーションにより形成された複合体を開裂する構造特異的酵素を用いることによって特定の核酸配列（例えば、R N A）を検出する。

30

【0230】

さらなる実施態様において、R N A（または対応するc D N A）は、オリゴヌクレオチドプローブに対するハイブリダイゼーションによって検出される。ハイブリダイゼーションおよび検出のための種々の技法を用いる種々のハイブリダイゼーションアッセイが利用できる。例えば、幾つかの実施態様において、TaqManアッセイ（PEバイオシステムズ（PE Biosystems）、Foster City、カリフォルニア州；例えば、米国特許第5,962,233号明細書および米国特許第5,538,848号明細書を参照されたく；それらの各々は、参考文献として本明細書に組み込まれる）が利用される。該アッセイは、P C R反応時に実施される。TaqManアッセイは、A M P L I T A Q G O L D D N Aポリメラーゼの5'-3'エキソヌクレアーゼ活性を活用する。5'-レポーター染色（例えば、蛍光染色）および3'-クエンチャーチャー染色を有するオリゴヌクレオチドからなるプローブが、P C R反応に含まれる。P C R中、プローブが標的に結合されている場合、A M P L I T A Q G O L Dポリメラーゼの5'-3'の核酸開裂活性により、レポーター染色とクエンチャーチャー染色との間でプローブが開裂される。クエンチャーチャー染色からレポーター染色が分離されることにより、蛍光が増加する。このシグナルはP C Rの各サイクルにより蓄積され、蛍光光度計によりモニターできる。

40

【0231】

さらに他の実施態様において、R N A発現を検出するために逆転写酵素P C R（R T -

50

PCR) が用いられる。RT-PCRにおいて、RNAは、逆転写酵素を用いて相補的なDNAすなわち「cDNA」に酵素的に変換される。次にcDNAは、PCR反応のためのテンプレートとして使用される。PCR産物は、これらに限定はしないが、ゲル電気泳動およびDNA特異的染色による染色または標識プローブに対するハイブリダイゼーションなど、任意の好適な方法により検出できる。幾つかの実施態様において、米国特許第5,639,606号明細書、米国特許第5,643,765号明細書、および米国特許第5,876,978号明細書(それらの各々は、参考文献として本明細書に組み込まれる)に記載されている競合的テンプレート法の標準的混合物による定量的逆転写酵素PCRが利用される。

## 【0232】

10

## B. タンパク質の検出

他の実施態様において、発癌遺伝子の遺伝子発現は、対応するタンパク質またはポリペプチドの発現を測定することにより検出される。幾つかの実施態様において、タンパク質発現は、組織サンプルにおいて検出される。他の実施態様において、タンパク質発現は、体液中に検出される。幾つかの実施態様において、タンパク質発現レベルは定量化される。タンパク質発現は、任意の好適な方法により検出できる。幾つかの実施態様において、タンパク質は、タンパク質に対して生じる抗体との結合によって検出される。抗体の生成は、当業者に周知である。

## 【0233】

20

抗体結合は、当技術分野で公知の技法(例えば、放射免疫アッセイ、ELISA(酵素結合免疫吸着アッセイ)、「サンドイッチ」免疫アッセイ、免疫放射線アッセイ、ゲル内沈降反応、免疫拡散アッセイ、インサイチュ免疫アッセイ(例えば、金コロイド、酵素または放射性同位元素標識を用いて)、ウェスタンプロット、沈殿反応、凝集反応アッセイ(ゲル凝集アッセイ、赤血球凝集反応アッセイなど)、補体結合反応アッセイ、免疫蛍光アッセイ、タンパク質Aアッセイ、および免疫電気泳動アッセイなど)により検出される。

## 【0234】

30

一実施態様において、抗体結合は、一次抗体上の標識を検出することにより検出される。別の実施態様において、該一次抗体は、二次抗体または一次抗体への試薬の結合を検出することにより検出される。さらなる実施態様において、該二次抗体が標識される。免疫アッセイにおける結合を検出するための多くの方法が当技術分野で公知であり、本発明の範囲内にある。

## 【0235】

幾つかの実施態様において、自動化検出アッセイが利用される。免疫アッセイの自動化法としては、米国特許第5,885,530号明細書、米国特許第4,981,785号明細書、米国特許第6,159,750号明細書、および米国特許第5,358,691号明細書に記載されているものが挙げられ、それらの各々は、参考文献として本明細書に組み込まれる。幾つかの実施態様において、結果の解析および提示もまた自動化されている。例えば、幾つかの実施態様において、発癌遺伝子に対応する一連のタンパク質の存在または不在に基づく発現プロファイルを作製するソフトウェアが利用される。

40

## 【0236】

他の実施態様において、該免疫アッセイは、米国特許第5,599,677号明細書および米国特許第5,672,480号明細書に記載されており;それらの各々は、参考文献として本明細書に組み込まれる。

## 【実施例】

## 【0237】

以下の実施例は、本発明の特定の好ましい実施態様および態様を示し、さらに説明するために提供されるものであり、本発明の範囲を限定するものとして解釈してはならない。

## 【0238】

以下の実施例の開示において、以下の略語が適用される: N(正常); M(モル); m

50

M(ミリモル) ;  $\mu$ M(マイクロモル) ; mol(モル) ; mmol(ミリモル) ;  $\mu$ mol(マイクロモル) ; nmol(ナノモル) ; pmol(ピコモル) ; g(グラム) ; mg(ミリグラム) ;  $\mu$ g(マイクログラム) ; ng(ナノグラム) ; lまたはL(リットル) ; ml(ミリリットル) ;  $\mu$ l(マイクロリットル) ; cm(センチメートル) ; mm(ミリメートル) ;  $\mu$ m(マイクロメートル) ; nm(ナノメートル) ; および(摂氏度)。

## 【0239】

## 実施例1

## 材料と方法

本実施例では、下記の実施例に利用される実験方法を記載する。

10

## A. 細胞系

本発明の実験に使用される細胞系を以下に記載する。

## 【0240】

## MDA-MB-231

組織：悪性腺腫；乳腺；乳房；胸水

腫瘍化：悪性腺腫グレードIIIを形成

発現受容体：上皮成長因子(EGF)および形質転換成長因子(TGF-アルファ)

発癌遺伝子：wnt3+およびwnt7h+

引用文献：

シシリアノMJ(Siciliano MJ)、バーカーPE(Barker PE)、ケーローR(Cailleau)。共通の染色体マーカーを有するヒト乳房腫瘍細胞系の相互に排他的な遺伝子記号。Cancer Res. 1979年3月；39(3)：919-22頁

20

カローR(Cailleau R)、オリーブM(Olive M)、クルシガーQV(Cruciger QV)。転移起源の長期ヒト乳癌細胞系：予備的特性化。In vitro 1978年11月；14(11)：911-5頁。

クルシガーQV(Cruciger QV)、パサクS(Pathak S)、カローR(Cailleau R)。ヒト乳癌：7つの症例中1qを含む標識染色体。Cytogenet Cell Genet. 1976年；17(4)：231-5頁。

サチヤ・プラカシュKL(Satyaprasakash KL)、パサクS(Pathak S)、スーTC(Hsu TC)、オリーブM(Olive M)、カローR(Cailleau R)。8種のヒト乳癌細胞系に対する細胞遺伝学的分析：高頻度の1q、11qおよびHeLa様標識染色体。Cancer Genet Cytogenet 1981年1月；3(1)：61-73頁。

30

## 【0241】

## MCF7

組織：悪性腺癌、乳腺、乳房

転移部位：胸水

受容体：エストロゲン受容体+

発癌遺伝子：wnt7h+

40

この細胞系はまた、c-erbB-2を中程度に発現し、c-myc発癌遺伝子を過剰発現することが知られている。

細胞産物：インスリン様成長因子結合タンパク質(IGFBP)。

引用文献：

ソールHD(Soule HD)ら、乳癌に由来する胸水からのヒト細胞系。J. Natl. Cancer Inst. 51: 1409-1416頁、1973年。

ランダースJE(Landers JE)ら、安定化された野生型p53タンパク質を含有するヒト腫瘍細胞におけるmdm2発癌遺伝子発現の翻訳増強。Cancer Res. 57: 3562-3568頁、1997年。

ベーカスSS(Bacus SS)ら、細胞表面のHER-2/neuオリゴヌクレオ

50

チドの減少と関連する培養ヒト癌細胞 (AU-565 および MCF7) の分化。Mol. Carcinog. 3: 350-362 頁、1990 年。

## 【0242】

## MCF10CA1

MCF10 細胞は、線維囊胞疾患の女性からの良性乳房組織に由来する。MCF10 系は、7 種の系からなり、1 つは、不死化正常ヒト乳房細胞系の MCF10A である。MCF10A は、T24 Ha-ras により形質転換されて、MCF10AneoT 細胞を作製する。腫瘍性進行可能性を有する MCF10AT は、異種移植片継代の MCF10-AneoT 細胞に由来する。MCF10AT は、約 25% の異種移植片に癌を発生する。完全悪性 MCF10CA1 細胞系は、数回の MCF10AT の異種移植片継代物に由来した。MCF10CA1a は、その時点で 100% 腫瘍を形成し、それは転移する MCF10CA1a の核型分析は、染色体 1 の余分な複製物を示す。それは、細胞の IV 注入 36 日後に肺に転移する。10

## 引用文献：

サントナー SJ (Santner SJ) ら、悪性前ヒト乳房上皮 MCF10AT 細胞に由来する悪性 MCF10CA1 細胞系。Breast Cancer Research and Treatment 65: 101-110 頁、2001 年。

## 【0243】

## MYC-MT-1

メス MMTV-C-MYC 遺伝子導入マウスは、乳癌を発症した。該腫瘍を単離し、小さな新鮮組織を、Karmanos Cancer Institute のジュウショア・リヤオ (Jushao Liao) 博士により馴化された培地と共に培養物中に入れ。この腫瘍細胞系は、10 回の継代後確立された。20

## 【0244】

## NMuMG

組織：マウス正常乳腺、上皮。

株：NAMRU、メス

腫瘍化：マウスにおいて良性腫瘍を產生。

## 引用文献：

オーエンス RB (Owens RB)。マウス由来の腺上皮細胞：選択的培養法。J. Natl. Cancer Inst. 52: 1375-1378 頁、1974 年。30

オーエンス RB (Owens RB)。マウスの正常腺組織由来の上皮細胞培養物。J. Natl. Cancer Inst. 53: 261-269 頁、1974 年。

イングリング JM (Yingling JM) ら。哺乳動物の矮性体は、TGF- の変換に応答してリン酸化され、細胞増殖の制御に関連される。Proc. Natl. Acad. Sci. USA: 8940-8944 頁、1996 年。

## 【0245】

## BxPC-3

組織：悪性腺腫、胰臓。

細胞産物：ムチン、胰癌特異的抗原；CEA、癌胎児性抗原。40

出所源：61 歳の女性。

腫瘍化：あり。

発癌遺伝子：c-Ki-ras。

## 引用文献：

タン MH (Tan MH) ら。新規な一次ヒト胰臓腫瘍系の特性化。Cancer Invest. 4: 15-23 頁、1986 年。

ルーア R (Loor R) ら。胰癌の免疫診断における胰臓特異的抗原の使用。Clin. Lab. Med. 2: 567-578 頁、1982 年。

ラン MS (Lan MS) ら。ヒト腫瘍ムチン抗原のポリペプチドコア。Cancer Res. 50: 2997-3001 頁、1990 年。50

チャンバーズJA (Chambers JA) およびハリスA (Harris A)。ヒト管上皮細胞における囊胞性線維症遺伝子および主要臍臍ムチン遺伝子MUC1の発現。J. Cell Sci. 105: 417-422頁、1993年

## 【0246】

T-47D

組織：腺管癌、乳腺、乳房、管

転移部位：胸水

出所源：乳房の管癌浸潤を有する54歳女性の胸水。

受容体発現：エストロゲン、アンドロゲン、カルシトニン、プロゲステロン、グルココルチコイドおよびプロラクチン陽性。

発癌遺伝子：wnt3+およびwnt7h+

この細胞系は、c-erbB-2を過剰発現することも知られている。

引用文献：

キーダーI (Keydar I) ら。ヒト乳癌起源の細胞系の確立および特性化。Eur. J. Cancer 15: 659-670頁、1979年。

ジャッジSM (Judge SM) およびチャッタートンRT Jr. (Chatterton RT Jr.)。乳癌細胞系 (T-47D) におけるトリグリセリド生合成のプロゲステロン特異的刺激。Cancer Res. 43: 4407-4412頁、1983年。

ランプSJ (Lamp SJ) ら。ヒト乳癌細胞 (T-47D) におけるアデニレートシクラーゼの持続的活性化状態のカルシトニン誘導。J. Biol. Chem. 256: 12269-12274頁、1981年。

シェールE (Sheer E) ら。培養物中の乳癌細胞 (T-47D) により1,25-ジヒドロキシ-コレカルシフェロールの全細胞取込みおよび核局在化。Biochem. J. 200: 315-320頁、1981年。

フリーケHC (Freake HC) ら。1,25-ジヒドロキシビタミンD3は、ヒト乳癌細胞系 (T-47D) に特異的に結合し、増殖を刺激する。Biochem. Biophys. Res. Commun. 101: 1131-1138頁、1981年。

ファウストJB (Faust JB) およびミーカーTC (Meeker TC)。ヒト固形腫瘍細胞系におけるbcl-1遺伝子の増幅および発現。Cancer Res. 52: 2460-2463頁、1992年RF33514:

ハグエットEL (Huguet EL) ら。ヒト乳房細胞系ならびにヒト乳房組織の正常および疾患状態におけるヒトWnt遺伝子2、3、4、および7Bの分化発現。Cancer Res. 54: 2615-2621頁、1994年。

## 【0247】

BT-474

組織：腺管癌、乳腺、乳房

出所源：60歳女性

発癌遺伝子：c-erbB-2

引用文献：

ラスファーグスEY (Lasfaragues EY) ら。固形乳癌から2種のヒト腫瘍上皮細胞系の単離。J. Natl. Cancer Inst. 61: 967-978頁、1978年。

ラスファーグスEY (Lasfaragues EY) ら。マウス乳房腫瘍ウィルス複製を支持するヒト乳房腫瘍細胞系 (BT-474)。In vitro 15: 723-729頁、1979年。

リトルウッド・エバンスAJ (Littlewood-Evans AJ) ら。破骨細胞関連プロテアーゼカテーテシンKは、ヒト乳癌に発現する。Cancer Res. 57: 5386-5390頁、1997年。

## 【0248】

10

20

30

40

50

## W S U - F S C C L

1993年に確立されたヒトB細胞系

出所源：白血病相における低度の濾胞性リンパ腫中細胞型の男性患者の末梢血由来。

発癌遺伝子：c-mycおよびbcl-2の双方に関して染色体転座を示す。

引用文献：

マハマドRM (Mohammad RM)、マハマドAN (Mohammad AN)、スミスMR (Smith MR)、ジャワジNS (Jawadi NS)、AL-カチブA (AL-Khatib A)。t (14; 18) およびt (8; 11) の双方を示すユニークなEBV-陰性低グレードリンパ腫系 (WSU-FSCCL)。Cancer Genet Cytogenet 70: 62-67頁、1993年。

10

## 【0249】

## B. 細胞培養

ヒト乳癌細胞、MCF7、MCF10Cal1a、MDA-MB231、MDA-MB435.eB、およびヒト正常乳房細胞、MCF10Aは全て、Karmanos Cancer Instituteから入手した。全ての細胞に、10mM HEPES、29 mM重炭酸ナトリウム、ペニシリン (100単位/ml) およびストレプトマイシン (100 µg/ml) を添加したD MEM/F12培地 (ギブコ (Gibco)、メリーランド州) 中で培養した。さらに、10%子ウシ血清、10 µg/mlインスリン (シグマ・ケミカル (Sigma Chemical)、セントルイス、ミズーリ州)、および0.5 nMエストラジオールをMCF7培地に用いた。5%ウマ血清およびインスリン (10 µg/ml) をMCF10Cal1aに対し用い、10%胎仔ウシ血清をMDA-MB231および435系に対して用いた。MCF1.0A培養物に、5%ウマ血清、インスリン (10 µg/ml)、100ng/mlコレラエンテロトキシン (カルビオケム (Calbiochem)、カリフォルニア州)、0.5 µg/mlヒドロコルチゾン (シグマ・ケミカル (Sigma Chemical)) および20ng/ml上皮成長因子 (シグマ・ケミカル (Sigma Chemical)) を添加した。全てのフラスコおよびプレートを、37 度95%空気および5%CO<sub>2</sub>の加湿雰囲気下でインキュベートした。

20

## 【0250】

MYC-MT-1細胞はまた、10ng/mlEGF (上皮成長因子)、1nMエストラジオール、10 µg/mlインスリンおよび10%FBS (ウシ胎児血清) を含有するD MEM/F12培地で培養した。BxPC-3膵癌細胞系およびBT-474、乳房腫瘍細胞系を、10%FBSを有するRPMI 1640中で培養した。乳房腫瘍細胞系、T-47Dを、2.5 µg/mlインスリンの添加によるBT-474と同じ培地中で培養した。NMuMG (正常マウス乳腺細胞) 細胞系を、4.5g/1グルコース、10 µg/mlインスリンおよび10%FBSを有するD MEM培地中で増殖させた。

30

## 【0251】

全ての上記細胞を、2500個から5,000個/ウェルで96ウェルプレートに播種した。細胞を、播種24時間後、新鮮培地 (全容量100 µl) 中のオリゴヌクレオチド化合物で処理した。この培地を、処理24時間後、6日間から7日間48時間毎に、または対照細胞が80%から100%コンフルエントになるまでオリゴヌクレオチド不含新鮮培地に置き換えた。オリゴヌクレオチドの抑制効果を、MTT染色法を用いて評価した。

40

## 【0252】

ヒト濾胞性リンパ腫細胞系、WSU-FSCCLを用いて、抗mycオリゴヌクレオチドならびに抗bcl-2オリゴヌクレオチドの効果を評価した。FSCCL細胞は、組織培養中の単一細胞懸濁液として増殖させる。この培養物を、10%ウシ胎児血清、1%L-グルタミン、100unit/mlペニシリンおよび1.00 µg/mlストレプトマイシンを添加したRPMI 1640中で保持した。FSCCL細胞を、オリゴヌクレオチド化合物を有する24ウェルプレート (2 × 10<sup>5</sup>細胞/ウェル/ml) 中で処理し、37 度95%空気および5%CO<sub>2</sub>の加湿雰囲気下でインキュベートした。細胞を血球計測器を用いて24時間毎に計測した。

50

## 【0253】

## C. オリゴヌクレオチドの調製

バイオシンセシス (BIO SYNTHESIS) (Lewisville、テキサス州) またはキアゲン (Qiagen) (Valencia、カリフォルニア州) により、オリゴヌクレオチドの全てを合成し、ゲル精製し、凍結乾燥した。メチル化オリゴヌクレオチドは、全 CpG 部位でメチル化された。メチル化オリゴヌクレオチドを、滅菌純水 (ギブコ (Gibco)、インビトロゲン (Invitrogen) 社) に溶解し、培養物中の細胞を処理するために用いた。

## 【0254】

## D. リポフェクチンのカプセル化

10

20  $\mu$ g リポフェクチン (インビトロゲン (Invitrogen)) および 16  $\mu$ g オリゴヌクレオチドをそれぞれ、別個の滅菌チューブ中で 200  $\mu$ l Opti-MEM (インビトロゲン (Invitrogen)) 培地と共に室温で 45 分間インキュベートした。次にそれらを合わせてさらに 15 分間インキュベートした。次いで 1.6 ml の Opti-MEM 培地を、最終容量 2 ml および最終濃度 1  $\mu$ M のオリゴヌクレオチドに加えた。リポフェクチンおよびオリゴヌクレオチドの濃度は、それらの分子量および所望の化合物濃度に基づいて調製できる。このレベルで細胞毒性効果は無かった。

## 【0255】

## E. 細胞増殖阻害アッセイ

20

細胞増殖阻害を、シグマ・ケミカル (Sigma Chemical) (セントルイス、ミズーリ州) から購入された臭化 3-[4,5-ジメチル-チアゾール-2-イル]-2,5ジフェニルテトラゾリウム (MTT) を用いて評価した。細胞を、50,000 個細胞 / ml で培養培地に再懸濁し、100  $\mu$ l を、96 ウェル平底プレート (コスター・コーニング (Costar Corning)、ニューヨーク州、米国) の各ウェルに分配し、24 時間インキュベートした。培地を、所望の濃度のオリゴヌクレオチドを含有する 100  $\mu$ l の新鮮培地に変えて、24 時間インキュベートした。対照は、オリゴヌクレオチド溶液の容量に等しい滅菌純水を有する培地とした。この培地に、対照培養がコンフルエントになるまで (6 日から 7 日) 24 時間毎にさらなるオリゴヌクレオチドを添加しないで変えた。その後、培地を除き、プレートをリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で 2 回洗浄し、0.5 mg / ml の MTT 染料を含有する 100  $\mu$ l の無血清培地を、各ウェルに加え、37 度 1 時間インキュベートした。染料を有する培地を除き、PBS で洗浄し、100  $\mu$ l のジメチルスルホキシド (DMSO) を加えて反応性の染料を溶解した。この吸光度を、自動マルチウェル分光光度計 (バイオテク・マイクロプレートオートリーダー (Bio-Tek Microplate Autoreader、Winona, Minnesota、バーモント州、米国)) を用いて読み取った。各処理は、各回 8 つの独立したウェルで少なくとも 3 回反復した。

30

## 【0256】

## F. タンパク質抽出およびウェスタンプロット解析

細胞を播種し、200,000 個の細胞 / フラスコで T25 組織培養フラスコ (コスター・コーニング (Costar Corning)、ニューヨーク州、米国) 中で培養した。細胞を 24 時間付着させた。該培地を、10  $\mu$ M から 20  $\mu$ M のオリゴヌクレオチドを含有する新鮮な培地に置き換えて、24 時間インキュベートした。この培地は、別途阻害剤を添加することなく 48 時間毎に変えて、対照フラスコがコンフルエントになるまで (6 ~ 7 日) 細胞培養を継続した。細胞は、1 x トリプシン : EDTA (インビトロゲン (Invitrogen)、Gibco、メリーランド州) を用いて回収し、2000 rpm で 5 分間の遠心分離により回収した。細胞を、125 mM のトリス HCl 緩衝液 (pH 6.8) に再懸濁し、10 ~ 20 % 出力で音波処理し、4 % SDS の最終濃度に対して 8 % SDS の等しい容量に溶解した。細胞抽出物を 10 分間沸騰させ、氷上で冷却し、2,000 rpm で 5 分間遠心分離してから上澄液を採取した。タンパク質を BCA タンパク質アッセイキット (ピアス (Pierce)、Rockford、イリノイ州) を用い

40

50

て定量した。50 μg から 100 μg のタンパク質を、10% から 15% ゲル（各タンパク質の分子量に依って）電気泳動に供し、ニトロセルロース膜（シュレイシャー・アンド・シュエル（Schleicher & Schuell）、Kence、ニューハンプシャー州）に移した。各膜を、10% 乾燥ミルクの TBSTe（トリス緩衝生理食塩水、ツイーン 20）中で 2 時間ブロックしてから、TBST 中の一次抗体により一晩インキュベートした。ヒト c-myc、c-ha-ras および erbB-2 に対する抗体は、マウス IgG（ファーミングン（Pharmingen）サンディエゴ、カリフォルニア州）であった。膜を、各 TBST 中 15 分間で 3 回洗浄してから、ペルオキシダーゼで 1 時間結合させた二次抗体と共にインキュベートした。この膜を、各 TBST 中 10 分間で 5 回洗浄し、各 2 ml の Lumio / エンハンサーおよび安定なペルオキシド溶液（ピアス（ Pierce））と共に 1 分間インキュベートした。該膜を、X 線フィルムに 2 分間曝露した（曝露時間は、必要ならば 10 秒から 24 時間まで調整する）。

【0257】

実施例 2

c-ki-RAS

本実施例では、癌細胞系の増殖を抑制するために c-ki-Ras 遺伝子のプロモーターに対して標的化されたオリゴヌクレオチド化合物の能力を記載する。実験は、実施例 1 に記載されたとおり実施した。この結果を図 13 および図 19 に示す。c-ki-Ras に対して標的化されたオリゴヌクレオチド配列ならびに c-ki-Ras 遺伝子配列を図 5 および図 6 に示す。

【0258】

実施例 3

Bcl-2

本実施例では、癌細胞系の増殖を抑制するために bcl-2 遺伝子のプロモーターに対して標的化されたオリゴヌクレオチド化合物の能力を記載する。実験を、実施例 1 に記載されたとおり実施した。この結果を図 14 および図 20 に示す。bcl-2 に対して標的化されたオリゴヌクレオチド配列ならびに bcl-2 遺伝子配列を図 1 および図 2 に示した。

【0259】

実施例 4

c-ha-RAS

本実施例では、癌細胞系の増殖を抑制するために c-ha-Ras 遺伝子のプロモーターに対して標的化されたオリゴヌクレオチド化合物の能力を記載する。実験は、実施例 1 に記載されたとおり実施した。この結果を図 16 および図 22 に示した。c-ha-Ras に対して標的化されたオリゴヌクレオチド配列、ならびに c-ha-Ras 遺伝子配列を図 7 および図 8 に示す。

【0260】

実施例 5

c-erbB-2

本実施例では、癌細胞系の増殖を抑制するために c-erbB-2 遺伝子のプロモーターに対して標的化されたオリゴヌクレオチド化合物の能力を記載する。実験は、実施例 1 に記載されたとおり実施した。この結果を図 15 および図 21 に示す。c-erbB-2 に対して標的化されたオリゴヌクレオチド配列、ならびに c-erbB-2 遺伝子配列を図 3 および図 4 に示す。

【0261】

実施例 6

c-myc

本実施例では、癌細胞系の増殖を抑制するために c-myc 遺伝子のプロモーターに対して標的化されたオリゴヌクレオチド化合物の能力を記載する。実験は、実施例 1 に記載されたとおり実施した。この結果を図 17 および図 23 に示す。c-myc に対して標的

10

20

30

40

50

化されたオリゴヌクレオチド配列ならびに c - m y c 遺伝子配列を図 9 および図 10 に示す。

【 0 2 6 2 】

実施例 7

T G F -

本実施例では、癌細胞系の増殖を阻害するために T G F - 遺伝子のプロモーターに対して標的化されたオリゴヌクレオチド化合物の能力を記載する。実験は、実施例 1 に記載されたとおり実施した。この結果を図 18 および図 24 に示す。T G F - に対して標的化されたオリゴヌクレオチド配列ならびに T G F - 遺伝子配列を図 11 および図 12 に示す。

10

【 0 2 6 3 】

実施例 8

非メチル化オリゴヌクレオチドによる細胞増殖の抑制

本実施例では、B c 1 - 2 に対して標的化された非メチル化オリゴヌクレオチドによるリンパ腫細胞系の増殖阻害を記載する。W S U - F S C C L 細胞は、 $2 \times 10^5$  細胞 / ウェルの 24 ウェルプレートで  $t = 24$  時間で平板培養した。収集される各時点で、三対のウェルを、指定された濃度でオリゴ ( o l i g o s ) を用いて  $t = 0$  で処理した。対照は、三対で平板培養した。プレートを 37 度でインキュベートした。全ての培養物を、トリパンブルー染色および血球計数器を用いて 4 日間 24 時間毎に細胞数および生存度による実験を通してモニターした。

20

【 0 2 6 4 】

M A B L 2 オリゴヌクレオチドは、B c 1 - 2 [ 5' - C A X G C A X G X G C A T C C C X G C C X G T G - 3' ] (配列番号 : 3 ) のプロモーター領域に標的化する。Pho - M a b 1 - 2 は、M A B L - 2 [ 5' - C A C G C A C G C G C A T C C C C G C C G T G - 3' ] (配列番号 : 1438 ) の非メチル化バージョンである。W S U - F S C C L - ヒト B 細胞リンパ腫 ( 低度の濾胞性開裂中細胞型リンパ腫 ) から由来。実験プロトコルを表 2 に示す。

【 0 2 6 5 】

【表 3】

表 2							
群	標的遺伝子	化合物	細胞	濃度	製剤	生存アッセイ	メチルに関する回収
1	B c 1 - 2	MABL 2	FSCCL	10 uM	なし	24、48 および 72 時間で n = 3	72 時間で n = 3
2	B c 1 - 2	MABL 2	FSCCL	3 uM	なし	24、48 および 72 時間で n = 3	72 時間で n = 3
3	B c 1 - 2	PhoMABL 2	FSCCL	10 uM	なし	24、48 および 72 時間で n = 3	72 時間で n = 3
4	なし	なし	FSCCL	n / a	なし	24、48 および 72 時間で n = 3	72 時間で n = 3

30

【 0 2 6 6 】

この結果を図 31 に示す。この結果は、B c 1 - 2 に対する非メチル化オリゴヌクレオチドは、細胞増殖を阻害する上でメチル化オリゴヌクレオチドと同じ程度有効であることを示している。

40

50

## 【0267】

## 実施例9

## 腫瘍増殖のインビボ抑制

本実施例では、ヒト前立腺癌モデルにおいて本発明のオリゴヌクレオチド類により腫瘍増殖阻害を記載する。

## 【0268】

動物：ヒトPC-3GFP前立腺癌皮下モデルを利用した（例えば、ヤング（Yang）ら、Cancer Research 59、781-786頁、[1999]；グリンスキ（Gliinski）ら、Cancer Research 63、4239-4243頁、[2003]；およびカリキン（Kalikin）ら、Cancer Biology and Therapy 2:6、17-21頁[2003]を参照）。5週齢から6週齢の間のオス胸腺欠損MCrヌードマウスを用いた。動物を飼育し、オートクレーブにより滅菌されたケージ、食餌および敷わらを有するHEPAろ過環境中で維持した。飼育ペインルス（pains）は、Taconic Quality Laboratory and Services from Research（Germantown、NY）から入手した。動物飼料（5010オートクレーブ可能なげっ歯類飼料）は、PMIニュートリションインターナショナル（PMI nutrition International）社（Brentwood、ミズーリ州）から入手した。全部で60匹のオス動物を試験用に用いた。

## 【0269】

20

試験薬物：核酸を基にしたオリゴ化合物PNT100およびカチオン性リポソーム送達（LDV）製剤とのスクランブル化オリゴ対照PNT-C。

## 【0270】

GFP発現ベクター：pLEINは、クロンテック（Clontech）（Palo Alto、カリフォルニア州）から入手した。このベクターは、増強されたGFPおよび内部リポソーム侵入部位を含有する同じバイリストロニックなメッセージでネオマイシン耐性遺伝子を発現する。

## 【0271】

細胞培養、ベクター産物、トランスフェクション、およびサブクローニング：10AIウィルスエンベロープを発現する、NIH3T3誘導パッケージング細胞系であるPT67は、クロンテック（Clontech）から購入した。PT67細胞を、10%胎仔ウシ血清を添加したDMEM中で培養した。ベクター産生に関して、70%コンフルエンスでのパッケージング細胞（PT67）を、硫酸N-[1-(2,3-ジオレオイルオキシル)プロピル]-N,N,トリメチルアンモニウムメチル試薬および飽和量のpLEINプラスミドの沈殿混合物と共に18時間インキュベーションした。新鮮な培地をこの時点で補充した。細胞は、トランスフェクション48時間後に蛍光顕微鏡により調べた。選択のため、細胞を200~1000μg/ml G418の存在下で7日間培養した。

30

## 【0272】

PC-3-GFP細胞のGFP遺伝子の形質導入：GFP遺伝子の形質導入に関して、20%コンフルエンスPC-3細胞（ATCC、CRL1435）を、PT67細胞のレトロウィルス上澄液および7%胎仔ウシ血清を含有するハム（Ham）のF-12Kの1:1の予め沈殿させた混合物と共に72時間インキュベートした。新鮮な培地をこの時点で補充した。PC-3細胞を、形質導入72時間後にトリプシンEDTAにより収集し、200μg/ml G418を含んだ選択培地に1:15の比率で継代培養した。G418のレベルを、ステップ毎に1000Ng/mlに増加した。GFPを発現する最も輝いたPC-3細胞クローンを選択し、合わせてから、增幅させ、従来の培養法に移行させた。

40

## 【0273】

皮下腫瘍増殖：腫瘍ストックを、 $5 \times 10^6$ 細胞/200μlの濃度でPC-3-GFP細胞をヌードマウスの側腹部に皮下注入することにより作製した。マウスの皮下に成長

50

した腫瘍の強いGFP発現が、収集前に証明された。ヌードマウスの皮下成長から収集された腫瘍組織を検査し、壊死のひどい組織または壊死の疑いのある組織または非GFP腫瘍組織を除いた。引き続き腫瘍組織を、凡そ $2\text{ mm}^3$ の小断片に切断した。

#### 【0274】

皮下組織断片の移植：前立腺癌PC-3GFPの腫瘍ストックは、PC-3GFP細胞をヌードマウスの側腹部に皮下注入することにより確立した。この腫瘍は、使用前の腫瘍ストックとしてヌードマウスの皮下に維持された。移植前に、PC-3GFP腫瘍組織の強いGFP発現は、蛍光灯により確認された。移植日に、腫瘍を皮下部位から収集し、RPMI-1640培地に入れた。壊死組織を除き、生存組織を $2\text{ mm}^3$ 片に切断した。次に組織断片を、ヌードマウスの右側腹部に皮下移植した。

10

#### 【0275】

腫瘍および転移を発現する緑蛍光タンパク質の全身光学的画像：水銀ランプ電源装置を具備したライカ(Leica)ステレオ蛍光顕微鏡モデルLZ12を用いた。GFPの選択的励起は、D425/60バンドパスフィルタおよび470 DCXRダイクロイックミラーを通して生じた。放射蛍光は、 $1317 \times 1035$ ピクセルチップにより、ST-1333 Micromax High Speed TEA/CCD-1317K1熱電冷却カメラ(プリンストン・インスルメンツ(Princeton Instrument)、Trenton、ニュージャージー州)上のロングパスフィルタGG475(クローマ・テクノロジー(Chroma Technology)、Brattleboro、バーモント州)を通して回収した。実験を制御し、画像をコントラストと明るさについて処理し、Image Pro Plus 3.1ソフトウェア(メディア・オバーネチクス(Media Cybernetics)、Silver Spring、メリーランド州)の補助により分析した。高分解能画像を、コンピュータまたは連続的ビデオ出力を通して直接取り込んだ。

20

#### 【0276】

試験動物：試験に用いられた全部で60匹のマウスは、術後12日目に6群に分けられた。各コホート条件の各群を無作為に選択した。

#### 【0277】

処置開始：一次腫瘍が $50 \sim 100\text{ mm}^3$ の推定堆積に達した場合。

30

#### 【0278】

試験計画を表4に示す。

#### 【0279】

【表4】

群ID	亜群ID	説明	用量 (mg / kg)	投与計画	経路	N
1	A	PBS対照	200 $\mu$ l	q d X 5	s. c.	10
1	B	PNT-C (5' -NNNNNNNNNNNNNNNN-3'; 配列番号1439) + LDV	5	q d X 5	s. c.	10
1	C	PNT-100 (PhoMab 12; 配列番号1438) + LDV	2.5	q d X 5	s. c.	10
1	D	PNT-100 + LDV	5	q d X 5	s. c.	10
1	E	TAXOTERE	10 および 5	2日目と 5日目	i. v.	10
1	F	TAXOTERE + PNT-100 / LDV	10 および 5+5	2日目と 5日目 + q d X 5	i. v. + s. c.	10

10

20

## 【0280】

データ収集：

腫瘍サイズ：各動物を、試験終了までカリパス測定による腫瘍成長に関して週1回チェックした。経時的腫瘍体積応答を算出するために、40日間に亘る測定を実施した。凡そ腫瘍体積は、式  $1/2 (a \times b)$  [式中 b は、2つの垂直直径のうちのより小さな和である]を用いて算出した。概算腫瘍体積を、式  $(W \times L) \times 1/2$  により算出した。

30

## 【0281】

GFP画像：移植12日後に、GFP発現腫瘍の全身光学的画像を週1回撮った。

## 【0282】

体重：全動物に関する体重は、試験期間の間、週1回重量を量った。電子計量器を用いて体重を測定した。

## 【0283】

終了：最終腫瘍重量は、試験の46日目に動物を屠殺した後に得た。各腫瘍は、電子計量器を用いて重量を量った。

## 【0284】

有効性評価に用いた統計的方法：6群全ての腫瘍体積および最終腫瘍重量を、 $a n = 0.05$  (両側性) によるスチュードント  $t^2$  検定を用いて分析した。

40

## 【0285】

結果：これらの結果を図32～35に示す。図32は、PNT-100および/またはTAXOTEREによる処置後のPC-3GFP前立腺癌皮下モデルにおける腫瘍の平均体積を示す。図33は、PNT-100および/またはTAXOTEREによる処置後のPC-3GFP前立腺癌皮下モデルにおける腫瘍の平均体重を示す。図34は、PNT-100および/またはTAXOTEREによる処置後のPC-3GFP前立腺癌皮下モデルにおける腫瘍の平均腫瘍体積を示す。図35は、PNT-100および/またはTAXOTEREによる処置後のPC-3GFP前立腺癌皮下モデルにおける腫瘍の最終平均腫瘍体積を示す。これらの結果は、PNT-100が腫瘍サイズを低下したことを示してい

50

る。この効果は、TAXOTEREの存在下で増加した。

【0286】

実施例10 腫瘍成長のインビボ抑制

本実施例では、ヒト前立腺癌モデルにおいて本発明のオリゴヌクレオチド類のインビボ送達による腫瘍成長の阻害を説明する。

1)種々の血管新生状態で無作為化された異種移植を用いてi.v.投与されたPNT100に対するPC-3前立腺異種移植腫瘍応答を調査した。この実験は、5日間の一日用量が1mg/kgのPNT100による2ステップのネオフェクチン製剤により実施された。この投薬措置でマウスの全てが、注目すべき毒性応答なしに生存した。

II)WSU-DLCL2異種移植のi.v.PNT100試験：非ホジキンリンパ腫モデル(NHL)におけるPNT100-ネオフェクチンのi.v.送達および有効性を確立するために、二次的試験を実施した。該試験は、5日間の一日の用量が5mg/kgのPNT100を投与するために計画し、特定のコホートにおいて、ビンクリスチンとの併用療法を計画した。PNTの1回の用量後、PNT100およびPNT-Cを注射した動物(スクランブル化対照)において顕著な体重損失が見られた。このデータにより、PNT100とPNT-Cとの併用療法の実質的な効果が示されている。WSU-DLCL2移植20日後の腫瘍負荷量を示す結果から、PNT-100単独、およびビンクリスチンとの併用により、マウスにおける腫瘍が退縮することが示された。

【0287】

上記明細書に記述された全ての刊行物および特許は、参考文献として本明細書に組み込まれる。記載された方法および本発明の系に関する種々の修飾および変型は、本発明の範囲および精神から逸脱することなく当業者にとって明らかとなろう。本発明は、特定の好みしい実施態様と関連して記載されているが、主張されている本発明は、このような特定の実施態様に対して過度に限定してはならないことを理解されるべきである。実際、関連分野の当業者にとって明白である本発明を実施するために記載された様式の種々の修飾は、添付の特許の請求の範囲内にあると意図されている。

【図面の簡単な説明】

【0288】

【図1】bcl-2遺伝子の核酸配列(配列番号1)を示している。

【図2】本発明のいくつかの実施態様に用いられたbcl-2に対するアンチジーンの配列を示している。Xは、メチル化Cヌクレオチドを表す。

【図3】c-erbB-2(Her-2)遺伝子の核酸配列(配列番号29)を示している。

【図4】本発明のいくつかの実施態様に用いられたc-erbB-2に対するアンチジーンの配列を示している。Xは、メチル化Cヌクレオチドを表す。

【図5】c-ki-Ras遺伝子の核酸配列(配列番号46)を示している。

【図6】本発明のいくつかの実施態様に用いられたc-ki-Rasに対するアンチジーンの配列を示している。Xは、メチル化Cヌクレオチドを表す。

【図7】c-Ha-Ras遺伝子の核酸配列(配列番号66)を示している。

【図8】本発明のいくつかの実施態様に用いられたc-Ha-Rasに対するアンチジーンの配列を示している。Xは、メチル化Cヌクレオチドを表す。

【図9】c-myc遺伝子の核酸配列(配列番号108)を示している。

【図10】本発明のいくつかの実施態様に用いられたc-mycに対するアンチジーンの配列を示している。Xは、メチル化Cヌクレオチドを表す。

【図11】TGF-遺伝子の核酸配列(配列番号131)を示している。

【図12】本発明のいくつかの実施態様に用いられたTGF-に対するアンチジーンの配列を示している。Xは、メチル化Cヌクレオチドを表す。

【図13】本発明のいくつかの実施態様に用いられたc-ki-Rasに対するアンチジーンによる細胞増殖の発現阻害を示している。

【図14】本発明のいくつかの実施態様に用いられたbcl-2に対するアンチジーンに

10

20

30

40

50

よる細胞増殖の発現阻害を示している。

【図15】本発明のいくつかの実施態様に用いられたc-erb-2に対するアンチジーンによる細胞増殖の発現阻害を示している。

【図16】本発明のいくつかの実施態様に用いられたc-Ha-Rasに対するアンチジーンによる細胞増殖の発現阻害を示している。

【図17】本発明のいくつかの実施態様に用いられたc-mycに対する抗原による細胞増殖の発現阻害を示している。

【図18】本発明のいくつかの実施態様に用いられたTGF- $\beta$ に対するアンチジーンによる細胞増殖の発現阻害を示している。

【図19】c-ki-Rasに対するアンチジーンによる細胞増殖の発現阻害の用量応答曲線を示している。 10

【図20】bcl-2に対する抗原によるFSCCL細胞(A)およびMCF-7細胞(B)の細胞増殖の発現阻害の用量応答曲線を示している。

【図21】c-erb-2に対する抗原による細胞増殖の発現阻害の用量応答曲線を示している。

【図22】c-Ha-Rasに対するアンチジーンによる細胞増殖の発現阻害の用量応答曲線を示している。

【図23】c-mycに対する抗原による細胞増殖の発現阻害の用量応答曲線を示している。

【図24】TGF- $\beta$ に対するアンチジーンによるT47D細胞(A)およびMDA-MB-231細胞(B)の細胞増殖の発現阻害の用量応答曲線を示している。 20

【図25】c-ki-Rasに対するアンチジーンの代表的変異体を示している。

【図26】bcl-2に対する抗原の代表的変異体を示している。

【図27】c-erb-2に対するアンチジーンの代表的変異体を示している。

【図28】c-ha-rasに対するアンチジーンの代表的変異体を示している。

【図29】c-mycに対するアンチジーンの代表的変異体を示している。

【図30】TGF- $\beta$ に対するアンチジーンの代表的変異体を示している。

【図31】Bcl-2を標的化した非メチル化オリゴヌクレオチドによるリンパ腫細胞の阻害を示している。 30

【図32】本発明の組成物による治療後、PC-3 GFP前立腺癌皮下モデルにおける腫瘍の平均腫瘍体積を示している。

【図33】本発明の組成物による治療後、PC-3 GFP前立腺癌皮下モデルにおける腫瘍の平均体重を示している。

【図34】本発明の組成物による治療後、PC-3 GFP前立腺癌皮下モデルにおける腫瘍の平均腫瘍体積を示している。

【図35】本発明の組成物による治療後、PC-3 GFP前立腺癌皮下モデルにおける腫瘍の平均最終腫瘍体積を示している。

【図1】

Figure 1

### 配列番号 1

### 【 図 2 - 1 】

Figure 2

### 例示的 bcl-2 アンチジーン

- 5'- ACTXG CAGAX GTGTG TAXGX GCA -3' (配列番号 2)  
 • B1/1 168-190

5'- CAXGC AXGXG CATCC CXGCC XGTG -3' (配列番号 3)  
 • B1/2 483-506\*\*

5'- CAXGC AXGXG CATCC CXGCC XGTG -3' (配列番号 3)  
 • B1/3 666-685

5'- ACXGG XGCTX GGXGX GXGGA -3' (配列番号 4)  
 • B1/4 883-902

5'- GAXGX GCXGG GCXGG GXGGA -3' (配列番号 5)  
 • B1/5 1035-1056

5'- CCXGX GXGTG GGTGT GXGXG GG -3' (配列番号 6)  
 • B1/6 1102-1127

5'- CCXGC CXGCT CXGCT GXGCC XGXGG G -3' (配列番号 7)  
 • B1/7 1150-1170

5'- GGXGX GXGGG GCXGG GCXGG G -3' (配列番号 8)  
 • B1/8 1148-1174

5'- ACATG GXGXG XGGGG CXGGG CXGGG GA-3' (配列番号 9)

## 【図2-2】

Figure 2 ( 続き )

- NBL1 1-24
  - 5'- GCGG CTTACTTAAT AGGGCTCGAG -3' ( 配列番号 10)
  - NBL2 232-259
  - 5'- CCTCGTAGCCAATCCTAGTTGGCCGCAC -3' ( 配列番号 11)
  - NBL3 291-314
  - 5'- CAGGGCCCACCGTCCTAACGCTGGG -3' ( 配列番号 12)
  - NBL4 546-570
  - 5'- GTCTAGGGAC GCCCCGAGCGTGGT -3' ( 配列番号 13)
  - NBL5 614-649
  - 5'- CGCCCCCA CGCCCCCAG CAGTGAGACCTCAGCGC -3' ( 配列番号 14)
  - NBL6 707-732
  - 5'- CCGTGTATGAGAGTGTACACGCGC -3' ( 配列番号 15)
  - NBL7 839-870
  - 5'- GCGCCGCCAA CGGCCTGGAC CCTTTCTGGCCG -3' ( 配列番号 16)

### 【図2-3】

Figure 2 ( 続き )

- NBL8 921-954
  - 5'- CGCA CGACGGAGTG CGGAGGGGGG CGGCTGGCGG -3'  
(配列番号17)
  - NBL9 961-983
  - 5'- CCG CGACGGGTG GGGGCTCCCG -3' (配列番号18)
  - NBL10 991-1017
  - 5'- CCG CGACGGGTG GGGGCTCCCG -3' (配列番号19)
  - NBL11 1057-1098
  - 5'- CGGCCAGTGGGTGGCGCGGGCGGCACAG GCCTCCCCGCGGGC  
-3' (配列番号20)
  - NBL12 1180-1214
  - 5'- GCGCCGCGGCAGGCCCCGGGAGTGG CGCTCCCGCG -3'  
(配列番号21)
  - NBL13 1223-1258
  - 5'- ACCCCGAC CGCCCCCTCC GCCCCGCTCC CTGGCCCCG -3'  
(配列番号22)
  - NBL14 1301-1334
  - 5'- GCGCGACCGGTTCCCTGTGCGTAA CGTCACACGG -3'  
(配列番号23)

## 【図2-4】

Figure 2 ( 続く )

- NBL15\_91-120  
5'- GGACAAGAGG ACAAACAAAGT TGCACGTGTG -3' ( 配列番号 24)
- NBL16\_328-357  
5'- CTGGTTT AGTGCTACAC GATGAGGACT TCC -3' ( 配列番号 25)
- NBL17\_401-432  
5'- CA GGGAAAGGGG TTTATCAAGG GCTTACGAC -3'  
( 配列番号 26)
- NBL18\_452-480  
5'- CACCTGAACA CCTAGTCCGT GCCCAGGCC -3' ( 配列番号 27)
- NBL19\_1131-1149  
5'- GAGGGCGCC TCCGGGCCGG -3' ( 配列番号 28)

## 【図3】

Figure 3

配列番号 29

```

1 cccgggggtc ctggaagcca caaggtaaac acaaacacata cccctcttg actataatt
61 ttactagagg atgtgggtggg aaaaccattt tttagatatta aaacaaatag gcttgggatg
121 gagtaggatg caagctccca gaaagttt agataaaacc tgagactta aagggtgtta
181 agatggcag ccttagggat ttatcccggta ctccggggga gggggcagag tcaccagcct
241 ctgcattttg gatatttccca aguuuagtg tgagaacggc tgcaaggcaac ccagcttccc
301 ggccgttaga gggacgcacc caggcctgca cgaaggaggaa gagaaggta agctgggatg
361 tgccactccc agacttggt gaatggcgtt ggaggggggc agctgggagc gcgcgtgtc
421 ccaatacag gagaaggagg aggtggagga tttaggaagt ataagaatgaa
481 atgttgaaatg ctgatggatcc cttccatgg gaccggagaa accaggagac ccccccggg

```

## 【図4-1】

Figure 4

- HR1\_393-416  
5'-AAGXG XGCTC CCAGC TXGCC CCCT-3' ( 配列番号 30)
- HR2\_298-322  
5'-TGGGT GXGTC CCTCC TAGXG CXGGG-3' ( 配列番号 31)
- HR3\_310-334  
5'-TTXGC XGCAG GCCTG GGTGX GTCCC T-3' ( 配列番号 32)
- HR4\_300-332  
5'-XGXG AGGCC TGGGT GXGTC CCTCC TAGXG CXG-3'  
( 配列番号 33)
- HR5\_257-281  
5'-AGCXG TTCTC ACAC TTTCC TXGGA-3' ( 配列番号 34)
- HR6\_204-227  
5'-TGCCC CCTCC CCXGG AGTCX GGG-3' ( 配列番号 35)
- HR11\_393-425  
5'-ATTGG GAGCA AGXGX GCTCC CAGCT XGCC CCT-3'  
( 配列番号 36)
- HR23\_299-333  
5'-TXGXG CAGGC CTGGG TGXGT CCCTC CTAGX GCXGG-3'  
( 配列番号 37)
- HR23\*\_299-333  
5'-TXGXG CAGGC CTGGG TXGT CCCTC CTAGX GCXGG-3'  
( 配列番号 38)

## 【図4-2】

Figure 4 ( 続く )

- HR-New1\_1-21  
5'-G TGGCT TCCAG GACCC CCGGG-3' ( 配列番号 39)
- HR6\_204-227  
5'-TGCCC CCTCC CCXGG AGTCX GGG-3' ( 配列番号 40)
- HR11\_394-425  
5'-ATTGG GAGCA AGXGX GCTCC CAGCT XGCC CCT-3'  
( 配列番号 41)
- HR23\_299-333  
5'-TXGXG CAGGC CTGGG TGXGT CCCTC CTAGX GCXGG-3'  
( 配列番号 42)
- HR23\*\_299-333  
5'-TXGXG CAGGC CTGGG TXGT CCCTC CTAGX GCXGG-3'  
( 配列番号 43)
- HR23-New\_18-mer\_299-317  
5'-GXGT CCCTC CTAGX GCXGG -3' ( 配列番号 44)
- HR-New2\_511-539  
5'-CCCG GGGGG GCTCC CTGGT TTCTC CGGTC-3' ( 配列番号 45)

## 【図5】

Figure 5

配列番号 46

```

1 cctgagggtg ggggggtgt ctgcgcgtc tctctgtggaa gaccgggtcgg cggggggggc
61 tggccgcctcg cggccgttcc ctgtggcata cggccacgcgg gcccgggtcc gttcccgcc
121 cgggtccggaa ttggcggtcg cggggacacg ctggcggtca gccaggggcc gggccggcc
181 gtgggtccgg cagtcccttc tcccgccaa ggcggccca gaccgtat ccagccggcc
241 cggctcgca cccatggccgg ccccgccac cccttccccc gccggccggg ccccgccgtcc
301 tcccccggcc gcccgccgg gccccctct tctcccccggcc ggcgtcggtt gcctcccccet
361 cttccctctt cccacacccg cctcggccggc tcccttcgtt agcccggtt gaagaagat
421 cgacgcggaa acgcgtatgtt agctctgtcc tctggggccgg cccggccccc aactcatgtt
481 tggatgtggaa gtcgtttt cttggggccgg gggccggccgg gggggggccgg cggccggcc
541 ggcgtggccgg gggccggaaatggccggccgg tggccggccgg tggccggccgg cccggccat
601 ggacttggggatggccggccgg gcggccggccgg aaggccggccgg cggccggccgg ggcgtcggtt
661 cttcccggtt cggggggatggatggccggccgg gaccaccctt cttggggccgg tggccggccgg

```

【 図 6 - 1 】

Figure 6

- Kr1 102-124
  - 5'- CCXGG AGXGG GACXG GACXG XGG ( 配列番号 47)
  - Kr2 168-191
  - 5'- GCXGG ACCCA XGXGG XGGCC XGCC -3' ( 配列番号 48)
  - Kr3 505-527
  - 5'- CCTCX GCXGC XGXGG CXGCX GCC -3' ( 配列番号 49)
  - Kr4 532-558
  - 5'- TTXGC XGCXG CCACT GCXGC XGCXG CT -3' ( 配列番号 50)
  - Kr5 547-574
  - 5'- CXGAG CXGCX GCCAC CTTXG CXGCX GC -3' ( 配列番号 51)
  - Kr6 598-623
  - 5'- TGXGX GXGCT XGCTC CCAGT CXGAA -3' ( 配列番号 52)
  - Kr7 40-67
  - 5'- GCGGC CAGCG CGCCC CGCTG ACCGG TCT -3' ( 配列番号 53)

### 【図 6 - 2】

Figure 6 ( 続く )

- NKr1 11-39
  - 5' - CCACAGAGA AGCTGCGAAG AGCACCCGC -3' (配列番号 54)
  
  - NKr2 69-102
  - 5' - GC GGGCTGTGCG GATGCCACAG GGAGACGCCGCG -3' (配列番号 55)
  
  - NKr3 133-158
  - 5' - GCGCCAAGGCTGTCCCCGCAGCCGCC -3' (配列番号 56)
  
  - NKr4 203-227
  - 5' - GCGGGCTCTGGGGGGCCCTGGCGG -3' (配列番号 57)
  
  - NKr5 234-260
  - 5' - CGGTCTAGGG TGGCGAGCCGGGCCGC -3' (配列番号 58)
  
  - NKr6 280-312
  - 5' - GC CGGGGGGGGA GGAGCGGGGG CGGGGCCGGC -3' (配列番号 59)
  
  - NKr7 313-349
  - 5' - GCGAGGCC GGCGGGGAGA AGGAGGGGGC CGGGCCGG -3' (配列番号 60)

【図 6-3】

Figure 6 ( 続き )

- NKr8 421-443
  - 5'- GCT ATCGATGCGT TCCGCGCTCG -3' ( 配列番号 61)
  - NKr9 454-495
  - 5'- CGAGC TCCGAGCAC ACGATGAGTT CGGGGCGGG CGGGCGC -3' ( 配列番号 62)
  - NKr10 377-409
  - 5'- GACGGGCGT ACGAGAGGG A GCGGCTGAGG GCGG -3'(SEQ  
( 配列番号 63)
  - NKr11 630-660
  - 5'- CGGCTGAGCC TCTGGCCCCG CCGCCGCCCT C -3'  
( 配列番号 64)
  - NKr12 670-690
  - 5'- CGCTCCGTAC CTCTCTCCCG C -3' ( 配列番号 65)

〔四七〕

Figure 7

配列番号 66

## 【図8-1】

Figure 8

- RZ1X\*\* 485-510  
5'-GGXGX GXGGT TXGCC CXGXG CATGG G-3' ( 配列番号 67)
- rZ1 485-510  
5'-GGCGC GCGGT TCGCC CCGCG CATGG G-3' ( 配列番号 68)
- rZ4X 1641-1672  
5'-TTCXG TCATX GCTCC TCAGG GGCCT GXGGC CC-3'  
( 配列番号 69)
- rZx\*\* 388-415  
5'-GXGCA XGCC XGCC XGXGC CXGTC XGT -3'  
( 配列番号 70)
- rZ2X\*\* 501-533  
5'-GGXGG GXGG GGGXG GGGGX GXGXG GT -3'  
( 配列番号 71)
- rZ3X 1271-1290  
5'-GGGAG GXGCC XGAGG GCTGA GGTTA CXGTC-3'  
( 配列番号 72)
- erZ1X\*\* 481-510  
5'-CGGGG GCGGG GGXGX GXGGT TXGCC CXGXG CATGG  
GCTCC-3' ( 配列番号 73)
- sRZ1X 491-510  
5'-GGXGX GXGGT TXGCC CXGXG-3' ( 配列番号 74)
- rZ5X 333-361  
5'-GXGXG CCATX GGGCC CXGCC CCACC CXGG-3'  
( 配列番号 75)

## 【図8-2】

Figure 8 ( 続き )

- rZ6X\*\* 665-696  
5'-CXGCX GCXGC XGCXG CXGCT TAXGC CXGCX GG- 3'  
( 配列番号 76)
- rZ7X 1224-1251  
5'-AXGGX GGAGX GXGCC AXGGX GTGCC XGG -3'  
( 配列番号 77)
- rZ8X 1421-1451  
5'-AGXGT GXGGG AGGGC TGTGX CCTCG CCCCC A-3'  
( 配列番号 78)
- RZ4X(New) 1639-1672  
5'-CXGTC ATXGC TCCTC AGGGG CCTGX GGCCX GG -3'  
( 配列番号 79)
- RZ9X\*\* 733-760  
5'-CXGXC XGCXG CAGCC CCXGA XGCCX GCT -3'  
( 配列番号 80)
- RZ10X\*\* 333-361  
5'-GXGXG CCATX GGGCC CXGCC CCACC CXGG -3'  
( 配列番号 81)
- LRZ1X 485-539  
5'-GCCXG AGGCX GGGGX GGGGX GGGGG XGGGG  
GXGXG XGGTT XGCCX XGXGC  
ATGGG -3' ( 配列番号 82)
- RZ1uX 468-500  
5'-TXGCC CXGXG CATGG GCTCX GTCXG XGGXG GGT -3'  
( 配列番号 83)
- RZ11X 442-467  
5'-GXGGC TXGGG TTGXG GGXGC AGGGC A -3'  
( 配列番号 84)

## 【図8-3】

Figure 8 ( 続き )

- Nras-1 31-68  
5'-GCCCGCGC AGCGCGGCC CGCCCACCGC GGAGGTCCCG -3'  
( 配列番号 85)
- Nras-2 85-117  
5'-CGCGCAG AGAACCCGAC TCAGCGGTGC CGGTGC -3'  
( 配列番号 86)
- Nras-3 127-160  
5'-GCGGCATCT CGAGCAGGGC CCCGGGCTCT CCCG -3'  
( 配列番号 87)
- Nras-4 196-220  
5'-CCGGAGCGA GCTCGGGGTT GCTCG -3' ( 配列番号 88)
- Nras-5 241-268  
5'-GCGGAGCC AGTAGGGCCG CGGCCCTCTCG -3' ( 配列番号 89)
- Nras-6 273-294  
5'-CGGG GCTCCGGGA GCAACCGC -3' ( 配列番号 90)
- Nras-7 297-323  
5'-CGG CCCGCTCTGTC AGGAGCCGCG GTCG -3' ( 配列番号 91)
- Nras-8 418-441  
5'-C GGGCGCGGA GACTCGGGCG GGC -3' ( 配列番号 92)
- Nras-9 540-577  
5'-CCGTTCA CAGGCGCGAC TGCCCCCGGG GCCAGGGCCG G -  
3' ( 配列番号 93)

## 【図8-4】

Figure 8 ( 続き )

- Nras-10 595-618  
5'-CGAGGAGG GCGCGCGGCC CGGCCG -3' ( 配列番号 94)
- Nras-11 781-815  
5'-CGCGA GGCAACGGGT GGGGCCCGGA TTCCCGCAGG -  
3' ( 配列番号 95)
- Nras-12 820-845  
5'-CGGGT ACGCCGGCGT GGGGACCGTG C -3' ( 配列番号 96)
- Nras-13 851-881  
5'-C GCCCCCGGGGT GTGAGGGCGC CGGGCCCGAG -3'  
( 配列番号 97)
- Nras-14 892-916  
5'-CGGGCG TGCCGTGGCC CGGGCCGCC -3' ( 配列番号 98)
- Nras-15 981-1010  
5'-CGAGAACCGG CGCGGGAGAC CGGGAGAGGG -3'  
( 配列番号 99)
- Nras-16 1088-1115  
5'-CGGCC CGCGACCCCC GGCGGGGAAC CGG -3'  
( 配列番号 100)
- Nras-17 1120-1154  
5'-GCGT ACTAGGCGCC GCCGAGGGGA GGGCAGACCC G -3'  
( 配列番号 101)
- Nras-18 1160-1197  
5'-CGCGGCG CTGGTGCCTC CGACAAGTAT TTGCTGAGCG C -  
3' ( 配列番号 102)

【図 8 - 5】

Figure 8 ( 続き )

- Nras-19 161-185
  - 5'-GGGAG CCGGTGTCCTG GGGGCCCCGGG -3' ( 配列番号 103)
  - Nras-20 363-387
  - 5'-CTGCCAG GCGCGGCCCTA CCATTGGC -3' ( 配列番号 104)
  - Nras-21 706-729
  - 5'-CTGTGCCCCG CGGGCCCCGC CCGGC -3' ( 配列番号 105)
  - Nras-22 918-956
  - 5'-CGGCCT GGTCCCGCAGCT GTGATGCT GAATCGGGGG TGC -3' ( 配列番号 106)
  - Nras-23 1691-1720
  - 5'-CAGCGCACTT TGCCCCACAC CGCCGGCGCC -3' ( 配列番号 107)

【圖 9】

Figure 9

配列番号 108

1 ctgcagcgtc glacgcgcgt ggctggcggt gggcgccgag tggttctcggt tggggggggc  
61 agctgttccc cctgcgtatc ttatactca caggacaagg atgcgatgtt ctaaaacacta  
121 cgaggaggtag cagaaaaagg gaggggtttt gaaaggggc aaaaagaaaat ggtaggcgcg  
181 cgttagttatc tcatggggct ctcttactct gtatcaccc tagaggtaga gtgcgtggct  
241 gccccggctgtatc gtctcttccc caccctccccc accttccccc ccctccccc aacgcgcctc  
301 ccgggttccc aaaggcaggag gggtgggggaa aaaaaaaaaaa gtccctttctt cgcataatc  
361 cggccacccgg ccctttataa tgcgagggtc tggacgcgtc aggaccccg agctgtgtc  
421 ctgcggccgg ccacccggggg ccccgccgtt ctgggttcc cctctgtgtc cgagaaggc  
481 agggcttctc agaggcttgg cggaaaaaagg aacccggggg gggatcgctc tgatataaa  
541 agccgatttt cggggctta tctaaacttcg tggatattttttaaccggagag ggaggaggag  
601 cgaggccggc ggcgccttagg gtggaaaggc cggggcgtatc gagggtcact tggaaaggc  
661 gatccggagc gaatccgggg ctggctgtt ccgcgcgtat ccccgctgtat ccccgcc  
721 gtggccoga atcccttgcgt cattcaagaa attttggca taacccgggg cggccacttt  
781 acatctggac gtccaaacacc cggcaaggc cggcgatctc cogancgcga gggactatt  
841 gagatgtgtc gatggtcata atagggtgtc ttatctccca ctctcgccgc acatgacatgt  
901 ttctcaatgtt acctttggta agtgggggtgg ggggtgggtt tattttccaaat ctgtatccgg  
961 caaatgtat tcttcacccg caccctccgc ggcttctttaa gggccggcagg ggcgccttgc  
1021 attctctgc cgctgcgggg cggacgttcg ggatgtgcata ctgcgcgtc cggcagggtt  
1081 ccgcaccaacg accccctttaa ctcaagactg cctccgcgtt tggtgtgcccc gtcgcaggcag

【図 10-1】

Figure 10

- cm1 423-449  
5'-XGGCX GGGC CXGX GGTGG XGGCX GXG-3' (配列番号109)
  - cm2 175-199  
5'-GCXGC ATGA ATTAA CTAXG XGXGC C-3' (配列番号110)
  - cm3\*\* 349-371  
5'-GCXGG TGGGX GGAGA TTAG XGAG-3' (配列番号111)
  - cm4\*\* 501-529  
5'-AGXGA TCCCT CCCTC XGTTT TTTTT CCXG-3' (配列番号112)
  - cm5 47-77  
5'- TXGCA GGGGG AACAG CTGCC CTCCA CACXG A -3'  
(配列番号113)
  - cm6 13-39  
5'- TGXGX GCCCA CXGCC AGCC AXGXG XGT -3'  
(配列番号114)
  - cm7  
5'- GGGXG CCTXG CTAAG GCTGG GGAAA GGGCX GXGC -3' (配列番号115)

### 【図 10 - 2】

Figure 10 ( 続く )

- *Ncm1* 101-130  
5'- CTACTCCCTCG TAGTGTGTTGA CAAATCGCAT -3'  
(配列番号 116)
  - *Ncm2* 225-251  
5'-C TCAGGCCGGGC AGCCGAGCAC TCTACC -3'  
(配列番号 117)
  - *Ncm3* 293-326  
5'-CCACGC CCTCTGCTTT GGGAACCCGG GAGGGCGC -3'  
(配列番号 118)
  - *Ncm4* 542-569  
5'-CGAGTTAGA TAAAGCCCCG AAAATCGGC -3' (配列番号 119)
  - *Ncm5* 600-632  
5'- CG GCTCTTCCAC CCTAGGCGGC CGCCCGCTCG C -3'  
(配列番号 120)
  - *Ncm6* 664-687  
5'- GGCGAAG CCCCCGATTC GCTCCGG -3' (配列番号 121)
  - *Ncm7* 800-836  
5'- GTCTCC TCGCGNTCGG GAGACTCGCG TCCTTGCTCG G  
-3' (配列番号 122)

【図 10 - 3】

Figure 10 ( 続く )

- Ncm8 957-993  
5'-GCC GCGGGAGGTG GCGGTGAGGA ATACAATTG CCCG -  
3' ( 配列番号 123)
  - Ncm9 1011-1046  
5'-CGTCGG CCCCCGAGCG GCAGAGGAAT CGAAAGCGGC -3'  
(SEQ ID: 配列番号 124)
  - Ncm10 1061-1090  
5'-CTTGGTGCAGG AAACCTGGCG CAGCGCGCAG -3'  
(配列番号 125)
  - Ncm11 396-420  
5'-CAGCACAGCT CGGGGGTCCCT CAGCC-3' ( 配列番号 126)
  - Ncm12 721-748  
5'-CGTGAATG CGGCAAGGAT TGCGGACCAC-3' ( 配列番号 127)
  - Ncm13 758-777  
5'-GTGACCG CCCCGTGTAA TGG-3' ( 配列番号 128)
  - Ncm14 875-896  
5'-GTCGAT GGCGCAGGAG TGGGAG-3' ( 配列番号 129)
  - Ncm15 1110-1140  
5'-CTGCTGGAGC GGGGCACACA AAGCGGGAGG C-3' (SEQ ID  
(配列番号 130))

【 図 1 1 】

Figure 11

配列番号 131

### 【図 1.2 - 1】

Figure 12

- [tg1 997-1025](#)
  - 5'- CXGGX GXGGG AGGGX GGAGG GAGGA CXGT -3'  
( 配列番号 132)
  - [tg2 951-978](#)
  - 5'- TXGCC CXGCA GXGCT GCCXG CXGGG XGG -3' ( 配列番号 133)
  - [tg3 805-830](#)
  - 5'- AGGGG XGGGG AXGCT GAGXG CACXG A -3' ( 配列番号 134)
  - [tg4 777-802](#)
  - 5'- AGGGX GXGGG CTGCT GGGXG GGXGA -3' ( 配列番号 135)
  - [tg5 728-762](#)
  - 5'- GCCTG GXGGX GXGAG CXGGG CACCX GGGCX GAXGA -3'  
( 配列番号 136)
  - [tg6 641-661](#)
  - 5'- AGXGT GXGGG GTXGG XGCXG GCXGX GTA-3' ( 配列番号 137)
  - [tg7 563-591](#)
  - 5'- GXGGX GGAXG GAGCX GCCXG GGCAC CXGT -3' ( 配列番号 138)
  - [tg8\\*\\* 754-787](#)
  - 5'- GGGXG GGGXG ACCTG GGATC CCAGG CCTGG XGG -3'  
( 配列番号 139)
  - [tg9 521-546](#)
  - 5'- GXGCT CCTGG GGCAT CTCTG GGGXG G -3' ( 配列番号 140)

### 【図 1.2 - 2】

Figure 12 (cont.)

- *tg10\*\* 1111-1137*  
5'- AXGGG XGGGX GGGCA GCAGG CTCTC CA -3' (配列番号141)
  - *tg11\*\* 328-357*  
5'- CXGCC TTACC TCCCCA GGCAG GCCAC ATXGT -3'  
(配列番号142)
  - *tg12\*\* 185-209*  
5'- CXGAA AGAGG GGTGT GTGGG CCXGA -3' (配列番号 143)
  - *tg13\*\* 1046-1094*  
5'- GXGGT GCCXG AGTGG XGGAG XGGXG CXGXG G -3' (SEQ  
(配列番号 144))

## 【図12-3】

Figure 12 ( 続き )

- Ntg1 1-25  
5'-CATGT TCTCCAGGTA CCCGGAGCTC -3' (配列番号145)
- Ntg2 31-60  
5'-C GGTGACCCCT ATGGGGACAG TACACCCGGG -3' (配列番号146)
- Ntg3 81-110  
5'-GATAGAGGGA AGACATTCTG GGCGAAGAGT -3' (配列番号147)
- Ntg4 453-480  
5'-GTGAGTTCG CCGGCCGCTT GCCAAGAC -3' (配列番号148)
- Ntg5 614-640  
5'-CCGCGTAGCC GGATTGTCCT GGGCCGC -3' (配列番号149)
- Ntg6 662-682  
5'-CG CCGTGCAGCA GCGGACTCC -3' (配列番号150)
- Ntg7 691-716  
5'-GCGCCT GACTTCAGAC ACCACCCCCG -3' (配列番号151)
- Ntg8 876-912  
5'-GC GACCGGGGCA CAGCTGACCC CCCCCCTCCCG CCCCCG -3' (配列番号152)
- Ntg9 913-940  
5'-GCGGCTACCG TCACCTCCTC GCCACTCG -3' (配列番号153)

## 【図12-4】

Figure 12 ( 続き )

- Ntg10 1151-1175  
5'-GCGAA CAGGGCGAGC TGTCCAGCCG -3' (配列番号154)
- Ntg11 1226-1250  
5'-GCCACGGGCG GGCTCTGACT CAGCG -3' (配列番号155)
- Ntg12 257-284  
5'-GGGT CTCTGTGACG AATCTGGTGT GTGG -3' (配列番号156)
- Ntg13 361-384  
5'-CAGT TCCCATCAAT TCTGCAACGC -3' (配列番号157)
- Ntg14 1038-1062  
5'-GC GGGGGAAAAA GACGCAGACT AGG -3' (配列番号158)
- Ntg15 1193-1223  
5'-GAC GTGCTGTTCT CCAAGGCCTG GCACGCAG -3' (配列番号159)

## 【図13】

Figure 13

BxPC3		濃度	平均粗害%	第1偏差
リード		5 uM	93%	1.6%
kr1		15 uM	99%	0.4%
kr1		30 uM	99%	0.1%
kr2		5 uM	12%	5.9%
Kr2		10 uM	14%	10.2%
Kr2		10 uM	20%	6.9%
Kr2		15 uM	87%	6.0%
Kr2		20 uM	87%	1.7%
Kr2		20 uM	91%	1.7%
Kr2		30 uM	99%	0.1%
Kr3		10 uM	14%	5.0%
Kr3		20 uM	49%	14.3%
Kr3		50 uM	99%	0.1%
Kr4		5 uM	53%	2.6%
Kr4		10 uM	18%	4.5%
Kr4		15 uM	99%	0.1%
Kr4		20 uM	93%	1.4%
Kr4		30 uM	99%	0.1%
Kr5		10 uM	16%	4.5%
Kr5		20 uM	17%	3.9%
Kr5		50 uM	99%	0.4%
Kr6		10 uM	15%	3.9%
Kr6		10 uM	16%	6.5%
Kr6		20 uM	25%	6.9%
Kr6		20 uM	18%	6.8%
Kr6		50 uM	68%	3.9%
Myc-MT-1		濃度	平均粗害%	第1偏差
kr1		10 uM	77%	2.5%

## 【図14-1】

Figure 14

M14		濃度	平均粗害%	反復	第1偏差
リード		BL1	10 uM	12%	8
リード		BL2	10 uM	76%	8
リード		BL3	10 uM	94%	4
リード		BL4	10 uM	20%	8
リード		BL5	10 uM	9%	8
リード		BL6	10 uM	26%	8
リード		BL7	10 uM	47%	8
リード		BL8	20 uM	15%	8
リード		BL1	10 uM	81%	4
BT474		濃度	平均粗害%	反復	第1偏差
リード		BL1	10 uM	27%	4
リード		BL2	10 uM	65%	4
リード		BL3	10 uM	35%	4
リード		BL4	10 uM	98%	4
リード		BL5	10 uM	20%	4
リード		BL6	10 uM	21%	4
リード		BL7	10 uM	18%	4
リード		BL8	10 uM	60%	4
リード		BL1	10 uM	97%	4
リード		BL2	10 uM	98%	4
リード		BL3	10 uM	98%	4
リード		BL4	10 uM	98%	4
T47D		濃度	平均粗害%	反復	第1偏差
リード		BL2	10 uM	42%	4
リード		BL2	20 uM	88%	4
リード		BL7	10 uM	95%	4
リード		BL7	20 uM	96%	4
リード		BL8	2 uM	25%	4
リード		BL8	6 uM	33%	4
リード		BL8	20 uM	59%	4
FSCCL					
リード		BL2	10 uM 8時間の後	60%	4
リード		BL2	10 uM 16時間の後	86.50%	4
リード		BL2	10 uM 24時間の後	95%	4
リード		BL2	10 uM 32時間の後	98.90%	4
リード		BL2	10 uM 40時間の後	100%	4

【図14-2】

BL2	48時間の後 10 uM	100%	4	0%
BL6	10 uM	40%	4	13%
BL6	10 uM	71.60%	4	8%
BL6	10 uM	96.30%	4	5%
BL6	10 uM	100%	4	0%
BL6	10 uM	100%	4	0%
BL6	10 uM	100%	4	0%
BL7	1 uM 8時間の後	-14%	4	9%
BL7	3 uM 8時間の後	14%	4	16%
BL7	10 uM 8時間の後	5%	4	26%
BL7	1 uM 16時間の後	6%	4	11%
BL7	3 uM 16時間の後	54%	4	7%
BL7	10 uM 16時間の後	86%	4	6%
BL7	1 uM 24時間の後	28%	4	21%
BL7	3 uM 24時間の後	76%	4	5%
BL7	10 uM 24時間の後	100%	4	0%
BL7	1 uM 32時間の後	37%	4	12%
BL7	3 uM 32時間の後	93%	4	4%
BL7	10 uM 32時間の後	100%	4	0%
BL7	1 uM 48時間の後	40%	4	16%
BL7	3 uM 48時間の後	100%	4	0%
BL7	10 uM 48時間の後	100%	4	0%
BL8	1 uM 8時間の後	3.80%	4	10%
BL8	3 uM 8時間の後	19%	4	16%
BL8	10 uM 8時間の後	38%	4	14%
BL8	1 uM 16時間の後	13.40%	4	10%
BL8	3 uM 16時間の後	18%	4	3%
BL8	10 uM 16時間の後	57%	4	6%
BL8	1 uM 24時間の後	31.30%	4	8%
BL8	3 uM 24時間の後	42%	4	7%
BL8	10 uM 24時間の後	82%	4	7%
BL8	1 uM 32時間の後	33%	4	9%
BL8	3 uM 32時間の後	42.50%	4	4%
BL8	10 uM 32時間の後	95.70%	4	3%
BL8	1 uM 40時間の後	36%	4	3%
BL8	3 uM 40時間の後	45.40%	4	8%
BL8	10 uM 40時間の後	100%	4	0%
BL8	1 uM 48時間の後	35%	4	3%
BL8	3 uM 48時間の後	49%	4	9%
BL8	10 uM 48時間の後	100%	4	0%

【図14-3】

BL2	1 uM	4%	4	8%
BL2	3 uM	6%	4	2%
BL2	10 uM	37%	4	8%

【図15-1】

Figure 15

MCF10a				
リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
HR3	10 uM	12%	8%	8
HR4	10 uM	-5%	8%	8

MDA-MB-231				
リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
HR23	1 uM	18%	4%	4
HR23	2.5 uM	19%	4%	4
HR23	5 uM	32%	2%	4
HR23	10 uM	98%	1%	4
HR23	10 uM	74%	4%	4
HR23	20 uM	78%	1%	4

T47D				
リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
HR2	10 uM	92%	1%	5
HR2	10 uM	86%	3%	4
HR2	10 uM	58%	2%	4
HR2	20 uM	88%	4%	4
HR3	10 uM	89%	5%	4
HR3	10 uM	45%	5%	4
HR3	20 uM	97%	2%	4
HR5	10 uM	-15%	18%	5
HR6	10 uM	66%	28%	5
HR11	10 uM	46%	7%	5
HR23	1 uM	0%	3%	4
HR23	1 uM	26%	15%	4
HR23	2.5 uM	37%	6%	4
HR23	3 uM	22%	9%	4
HR23	5 uM	75%	2%	4
HR23	10 uM	96%	2%	2
HR23	10 uM	92%	1%	4
HR23	10 uM	99%	1%	4
HR23	10 uM	68%	2%	4
HR23	20 uM	94%	3%	4
HR23	20 uM	69%	2%	4
HR23*	10 uM	89%	1%	4
HR23*	20 uM	91%	0%	4

BT-474				
リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
HR2	10 uM	84%	2%	5
HR5	10 uM	37%	13%	5
HR6	10 uM	71%	1%	4
HR11	10 uM	75%	7%	4
HR23	10 uM	98%	1%	4

【図15-2】

MCF7				
リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
HR6	濃度なし	94%	2%	4
HR11	濃度なし	96%	2%	4

NMuMG				
リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
HR2	10 uM	19%	10%	4
HR2	20 uM	35%	12%	4
HR23	濃度なし	75%	4%	8

【図16-1】

Figure 16

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
RZ1X	5 uM:2159-5	80%	4%	4
RZ1X	5 uM:2159-6	76%	4%	4
RZ1X	5 uM:2159-5	49%	7%	4
RZ1X	5 uM:2159-6	61%	11%	4
RZ1X	10 uM	96%	2%	7
RZ1X	10 uM:2159-1	97%	1%	4
RZ1X	10 uM:2159-1	86%	2%	4
RZ1X	20 uM	88% N/A		
RZ1X	20 uM:2159-5	97%	3%	4
RZ1X	20 uM:2159-6	98%	1%	4
RZ1X	20 uM:2159-5	95%	1%	4
RZ1X	20 uM:2159-6	97%	1%	4
rz1	20 uM	67% N/A		
rz4x	20 uM	-3% N/A		
rh1x	20 uM	0% N/A		
rzmx / rmx	20 uM	-2% N/A		
rz6x	10 uM	91%	2%	4
RZ9X	10 uM	88%	4%	4
RZ10X	10 uM	58%	3%	4
RZ1**X	10 uM	20%	6%	4

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
RZ1X	10 uM	78%	1%	8
RZ1X	10 uM:1979-1	91%	5%	4
RZ1X	10 uM:1979-1	97%	2%	3
RZ1X	10 uM:2159-6	92%	3%	4
RZ1X	20 uM:2159-1	82%	5%	4
RZ1X	20 uM:2159-6	93%	1%	4
RZ1X	20 uM:2159-1	99%	0%	4
RZ1X	20 uM:2159-6	99%	0%	4
rz6x	10 uM	60%	3%	4
rz6x	20 uM	72%	22%	4
RZ9X	10 uM	86%	1%	4
RZ9X	10 uM	98%	1%	4
RZ9X	20 uM	93%	2%	4
RZ10X	10 uM	44%	32%	4
RZ10X	20 uM	83%	2%	4
RZ1**X	10 uM	23%	14%	4
RZ1**X	20 uM	60%	11%	4

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
RZ1X	10 uM	-1%	9%	8
RZ1X	10 uM	12%	6%	8

【図16-2】

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
RZ1X	1 uM	0.40%	2%	4
RZ1X	3 uM	2.70%	2%	4
RZ1X	10 uM	95%	3%	8
RZ1X	10 uM:1979-1	97%	1%	3
RZ1X	10 uM:1979-1	90%	3%	4
RZ1X	10 uM:1979-1	65%	3%	4
RZ1X	10 uM:2159-6	99%	0%	4
RZ1X	20 uM:1979-1	90%	7%	3
RZ1X	20 uM:1979-1	97%	1%	4
RZ1X	20 uM:2159-6	99%	0%	4
ARZ1X	10 uM	9%	4%	4
G5RZ1X	10 uM	52%	6%	4
G21RZ1X	10 uM	14%	5%	4
RZ1**X	10 uM	1%	1.2%	4
RZ1**X	20 uM	4%	2.9%	4
RZ1**X	10 uM	35%	10%	4
RZ1**X	10 uM	65%	33%	3
RZ1**X	20 uM	89%	5%	3
RZ1-X	10 uM	70%	6.2%	4
RZ1-X	20 uM	99%	0.2%	4
RZ1uX	10 uM	1%	6.8%	4
RZ1uX	20 uM	-1%	3.4%	4
rzx	10 uM	77%	2%	8
rzmx / rmx	10 uM	29%	9%	8
erz1x	10 uM	87%	1%	8
srz1x	10 uM	65%	5%	8
drz1x	10 uM	-5%	12%	8
rz2x	10 uM	77%	2%	8
rz2x	10 uM	79%	1%	8
rz3x	10 uM	3%	6%	8
rz3x	10 uM	11%	6%	8
rz4x	10 uM	43%	4%	4
rz4x	20 uM	21%	8.6%	4
rz4x	10 uM	99%	0.1%	4
rz5x	10 uM	55%	4%	8
rz5x	10 uM	32%	3%	8
rz5x	10 uM	65%	8%	4
rz5x	20 uM	47%	25%	8
rz6x	1 uM	2%	11%	8
rz6x	2.5 uM	12%	11%	8
rz6x	5 uM	35%	10%	8
rz6x	5 uM	42%	11%	8
rz6x	10 uM	81%	3%	8
rz6x	10 uM	97%	2%	3
rz6x	10 uM	94%	4%	4
rz6x	20 uM	97%	3%	3
rz6x	36 uM	114%	8%	8
RZ6RX	10 uM	2%	3.3%	4
RZ6RX	20 uM	82%	1.6%	4

【図16-3】

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
RZ6LX	10 uM	-5%	4.4%	4
RZ6LX	20 uM	99%	0.1%	4
RZ6UX	10 uM	-1%	5.9%	4
RZ6UX	20 uM	99%	0.2%	4
rz7x	10 uM	16%	23%	8
rz7x	10 uM	22%	2%	4
rz7x	10 uM	0%	5.2%	4
rz7x	20 uM	31%	1.5%	4
rz7x	20 uM	51%	12.7%	4
rz7x	40 uM	99%	0.1%	4
rz8x	10 uM	5%	8%	8
rz8x	10 uM	-3%	6.8%	4
rz8x	10 uM	15%	7.2%	4
rz8x	20 uM	98%	0.5%	4
rz8x	20 uM	97%	0.6%	4
RZ9X	10 uM	98%	0%	8
RZ9X	10 uM	99%	0%	4
RZ9X	10 uM	95%	0%	3
RZ9X	20 uM	93%	0%	3
RZ10X	10 uM	86%	14%	8
RZ10X	10 uM	96%	1%	3
RZ10X	10 uM	80%	7%	4
RZ10X	20 uM	94%	3%	3
RZ11X	10 uM	5%	5.0%	4
RZ11X	20 uM	99%	0.3%	4

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
RZ1X	10 uM	22%	11%	8

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
RZ1X	1 uM 8 時間の後	3.28%	16%	4
RZ1X	1 uM 16 時間の後	1.96%	5%	4
RZ1X	1 uM 24 時間の後	-0.81%	14%	4
RZ1X	1 uM 32 時間の後	5.20%	6%	4
RZ1X	1 uM 40 時間の後	5.51%	6%	4
RZ1X	1 uM 48 時間の後	6.49%	6%	4
RZ1X	3 uM 8 時間の後	9.84%	16%	4
RZ1X	3 uM 16 時間の後	6.65%	12%	4
RZ1X	3 uM 24 時間の後	5.65%	14%	4
RZ1X	3 uM 32 時間の後	5.20%	7%	4
RZ1X	3 uM 40 時間の後	6.99%	9%	4
RZ1X	3 uM 48 時間の後	11.36%	3%	4
RZ1X	5 uM 1 日の後	53%	N/A	1
RZ1X	10 uM 8 時間の後	29.51%	3%	4
RZ1X	10 uM 16 時間の後	35.29%	10%	4
RZ1X	10 uM 24 時間の後	28.23%	14%	4
RZ1X	10 uM 32 時間の後	38.15%	6%	4
RZ1X	10 uM 40 時間の後	56.99%	5%	4
RZ1X	10 uM 48 時間の後	62.01%	4%	4
RZ1**X	10 uM	-8% N/A		
RZ1**X	10 uM	79% N/A		

【図16-4】

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
RZ9X	10 uM	90%	N/A	
erz1x	10 uM	83%	1%	8
リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
RZ1X	10 uM: 1979-1	95%	4%	4
RZ1X	20 uM: 1979-1	98%	1%	4
RZ1**X	10 uM	15%	13%	4
RZ1**X	20 uM	37%	5%	4
RZ9X	10 uM	97%	1%	4
RZ9X	20 uM	98%	1%	4
リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
RZ1X	10 uM: 1979-1	77%	4%	4
RZ1**X	10 uM	2%	2%	4
rz6x	10 uM	56%	4%	4
rz7x	10 uM	91%	1%	4
RZ9X	10 uM	62%	4%	4
RZ10X	10 uM	21%	2%	4
リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
RZ1X at 10 uM	10 uM	3.70%	7%	8
RZ1X	10 uM:2159-5	14%	7%	4
RZ1X	20 uM:2159-5	36%	24%	4
RZ1X	10 uM:2159-5, 2-	13.00%	47%	4
RZ1X	10 uM:2159-5, 9t	36.00%	24%	4
リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
RZ1X	1 uM	7%	2%	4
RZ1X	3 uM	23%	4%	4
RZ1X	10 uM	66%	4%	4

【図17-1】

Figure 17

MCF7			
リード	濃度	平均阻害%	第1偏差
cm1	10 uM	21%	15%
cm1	10 uM	38%	12%
cm2	10 uM	75%	17%
cm2	10 uM	54%	4%
cm3	10 uM	86%	3%
cm3	10 uM	71%	2%
cm3	10 uM	70%	2%
cm4	1 uM	6%	5%
cm4	3 uM	-9%	4%
cm4	6 uM	7%	17%
cm4	10 uM	87%	6%
cm4	10 uM	71%	2%
cm4	10 uM	84%	2%
cm4	10 uM	24%	9%
cm4	20 uM	45%	5%
cm5	10 uM	27%	9%
cm5	20 uM	57%	6%
cm6	10 uM	88%	2%
cm6	20 uM	93%	1%
cm7	10 uM	88%	4%
cm7	20 uM	93%	0%

MCF10a

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差
cm1	10 uM	13%	16%
cm2	10 uM	69%	2%
cm3	10 uM	58%	5%
cm3	10 uM	73%	1%
cm4	10 uM	56%	4%
cm4	10 uM	74%	1%

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差
cm3	10 uM	55%	6%
cm3	20 uM	75%	9%
cm4	10 uM	83%	4%
cm4	10 uM	93%	4%
cm4	20 uM	89%	3%

MCF10ca1a

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差
cm1	10 uM	-8%	10%
cm3	10 uM	17%	7%
cm3	20 uM	95%	1%
mac3G	5 uM	5%	4.9%
mac3G	10 uM	26%	4.5%
mac3G	20 uM	99%	0.1%
cm4	1 uM#3	6%	2%

MDA-MB-231

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差
cm1	10 uM	-3%	5%
tga1	10 uM	1%	2%
tga3	10 uM	63%	8%
tga3	10 uM	94%	1%
tga4	10 uM	-9%	9%
tga4	10 uM	-3%	1%
tga5	10 uM	-2%	3%
tga5	10 uM	69%	8.7%
tga5	20 uM	100%	0.1%
tga6	10 uM	-5%	2%
tga7	10 uM	7%	2%
tga8	1 uM	-7%	17%
tga8	1 uM	13%	10%
tga8	2.5 uM	0%	14%
tga8	5 uM	12%	10%
tga8	10 uM	89%	5%
tga8	10 uM	88%	1%
tga8	10 uM	78%	6.1%
tga8	20 uM	94%	3%
tga8	20 uM	100%	0.1%
tga9	10 uM	67%	3%
tga10	1 uM	20%	3%
tga10	2.5 uM	27%	3%
tga10	5 uM	36%	2%
tga10	10 uM	84%	2%
tga10	10 uM	95%	2%
tga10	10 uM	61%	2%
tga10	20 uM	96%	2%
tga10	20 uM	79%	2%
tga11	1 uM	-1%	10%
tga11	1 uM	-3%	17%
tga11	1 uM	-19%	7%
tga11	2 uM	-12%	13%
tga11	2.5 uM	-3%	15%
tga11	5 uM	-4%	10%
tga11	5 uM	50%	23%
tga11	5 uM	-29%	20%
tga11	10 uM	86%	3%
tga11	10 uM	93%	6%
tga11	10 uM	98%	1%
tga11	20 uM	97%	2%
tga11	20 uM	99%	0.4%
tga12	10 uM	59%	2%
tga12	10 uM	99%	1%
tga13	10 uM	71%	17%
tga13	10 uM	99%	1%

【図17-2】

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
cm4	3 uM#3	9%	4%	4
cm4	10 uM	33%	6%	4
cm4	10 uM#3	62%	6%	4
cm4	10 uM	12%	6.2%	4
cm4	20 uM#3	78%	3%	4
cm4	20 uM	64%	3.9%	4
cm5	10 uM	9%	9.0%	4
cm5	20 uM	80%	2.3%	4
cm6	10 uM	19%	2.6%	4
cm6	20 uM	100%	0.0%	4
cm7	10 uM	84%	9.2%	4
cm7	20 uM	100%	0.1%	4

MDA-MB 435 erb

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差	反復
cm3	10 uM	11%	4%	8

FSCCL

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差
cm3	濃度なし	66%	N/A
cm4	濃度なし	71%	N/A
MAC-M4	1 uM 8 時間後	-8%	10%
MAC-M4	1 uM 16 時間後	22%	16%
MAC-M4	1 uM 24 時間後	17%	16%
MAC-M4	1 uM 32 時間後	19%	9%
MAC-M4	1 uM 48 時間後	24%	13%
MAC-M4	3 uM 8 時間後	15%	4
MAC-M4	3 uM 16 時間後	29%	8%
MAC-M4	3 uM 24 時間後	50%	8%
MAC-M4	3 uM 32 時間後	49%	2%
MAC-M4	3 uM 48 時間後	51%	8%
MAC-M4	10 uM 8 時間後	8%	32%
MAC-M4	10 uM 16 時間後	94%	5%
MAC-M4	10 uM 24 時間後	100%	0%
MAC-M4	10 uM 32 時間後	100%	0%
MAC-M4	10 uM 48 時間後	100%	0%

T47D

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差
cm3	濃度なし	42%	5%
cm4	濃度なし	61%	5%

Myc-mt-1

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差
mac3G	5 uM	18%	7.6%
mac3G	10 uM	42%	15.6%
mac3G	20 uM	80%	1.2%
cm4	1 uM#3	14.7%	6%
cm4	3 uM#3	22.3%	5%
cm4	10 uM#3	54.6%	2%
cm4	20 uM#3	88.4%	1%
cm7	20 uM	86%	1.2%

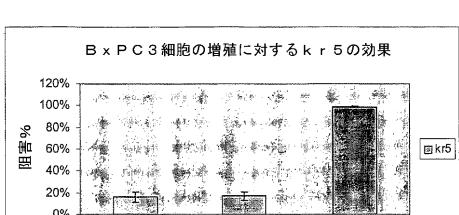
【図18-1】

Figure 18

リード	濃度	平均阻害%	第1偏差
tga1	10 uM	-3%	5%
tga2	10 uM	1%	2%
tga3	10 uM	63%	8%
tga3	10 uM	94%	1%
tga4	10 uM	-9%	9%
tga4	10 uM	-3%	1%
tga5	10 uM	-2%	3%
tga5	10 uM	69%	8.7%
tga5	20 uM	100%	0.1%
tga6	10 uM	-5%	2%
tga7	10 uM	7%	2%
tga8	1 uM	-7%	17%
tga8	1 uM	13%	10%
tga8	2.5 uM	0%	14%
tga8	5 uM	12%	10%
tga8	10 uM	89%	5%
tga8	10 uM	88%	1%
tga8	10 uM	78%	6.1%
tga8	20 uM	94%	3%
tga8	20 uM	100%	0.1%
tga9	10 uM	67%	3%
tga10	1 uM	20%	3%
tga10	2.5 uM	27%	3%
tga10	5 uM	36%	2%
tga10	10 uM	84%	2%
tga10	10 uM	95%	2%
tga10	10 uM	61%	2%
tga10	20 uM	96%	2%
tga10	20 uM	79%	2%
tga11	1 uM	-1%	10%
tga11	1 uM	-3%	17%
tga11	1 uM	-19%	7%
tga11	2 uM	-12%	13%
tga11	2.5 uM	-3%	15%
tga11	5 uM	-4%	10%
tga11	5 uM	50%	23%
tga11	5 uM	-29%	20%
tga11	10 uM	86%	3%
tga11	10 uM	93%	6%
tga11	10 uM	98%	1%
tga11	20 uM	97%	2%
tga11	20 uM	99%	0.4%
tga12	10 uM	59%	2%
tga12	10 uM	99%	1%
tga13	10 uM	71%	17%
tga13	10 uM	99%	1%

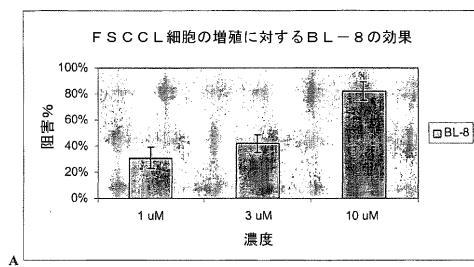
【図18-2】

Figure 19

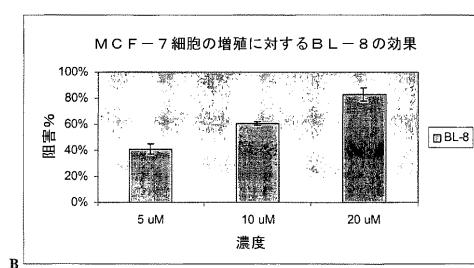


【図20】

Figure 20



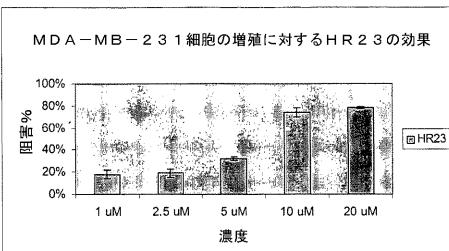
A



B

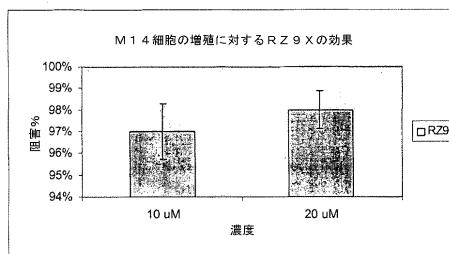
【図21】

Figure 21



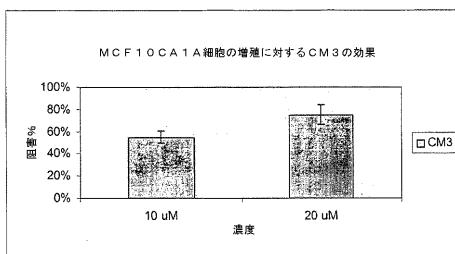
【図22】

Figure 22



【図23】

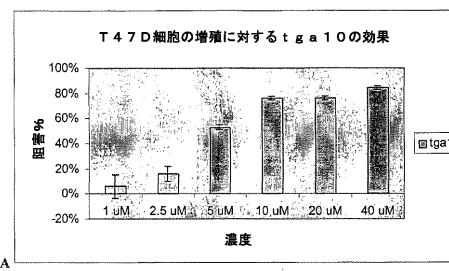
Figure 23



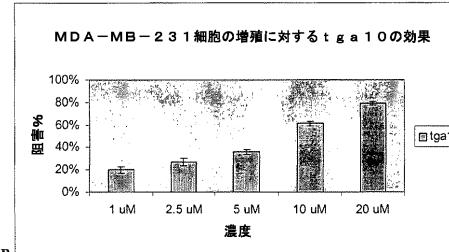
A

【図24】

Figure 24



A



B

【図25-1】

Figure 25

KR1 102-124  
 5'-CCXGGAGCGGAGCAGXGGACXGGACXGG-3' (配列番号 707)  
 ACCXGGAGCGGAGCAGXGGACXGG (配列番号 708)  
 GACCGGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 709)  
 TGAACCKGGAGCAGXGGACXGGACXGG (配列番号 710)  
 CTGACCKGGAGCAGXGGACXGG (配列番号 711)  
 TCTGGAGCAGXGGAGCAGXGGACXGG (配列番号 712)  
 CCGAGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 713)  
 CCGAGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 714)  
 CCGAGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 715)  
 CCGAGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 716)  
 CCGAGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 717)  
 ACCGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 718)  
 GACCGGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 719)  
 TGAACCKGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 720)  
 CTGACCKGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 721)  
 TCTGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 722)  
 TGAACCKGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 723)  
 TTCTGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 724)  
 CAAATTCTGAGCAGXGGAGCAGX (配列番号 725)  
 CGGAGGAGCAGTGTACCGXGG (配列番号 726)  
 AGCCCGCAATTCTGAGCAGXGG (配列番号 727)  
 GGAGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 728)  
 GGGAGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 729)  
 GGGAGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 730)  
 CGGGAGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 731)  
 GACGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 732)  
 XGGAGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 733)  
 GGGAGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 734)  
 GGGAGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 735)  
 GGGAGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 736)  
 CGGGAGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 737)  
 CGGGAGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 738)  
 CGGGAGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 739)  
 CGGGAGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 740)  
 CGGGAGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 741)  
 CGGGAGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 742)  
 CGGGAGGAGCAGXGGAGCAGXGG (配列番号 743)

KR2 168-191  
 5'-TCGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG-3' (配列番号 744)  
 TCGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 745)  
 CTGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 746)  
 ACTCGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 747)  
 GACTCGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 748)  
 GGACTCGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 749)  
 GCGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 750)  
 GCGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 751)  
 GCGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 752)  
 GCGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 753)  
 GCGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 754)  
 TCGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 755)  
 CTGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 756)  
 ACTCGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 757)  
 GACTCGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 758)  
 GGACTCGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 759)  
 ACTCGCGAGCCCCAXGGAGXGGAGCAGXGG (配列番号 760)

【図25-2】

GGGACTGCGXGGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 761)  
 GGAAGGGACTGCGXGGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 762)  
 GGAAGGGACTGCGXGGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 763)  
 GCGGGAGGAGGGACTGCGXGGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 764)  
 GGAACCCAXGGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 765)  
 CCCAGXGGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 766)  
 AXGGGGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 767)  
 XGGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 768)  
 XGGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 769)  
 XGGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 770)  
 GACCCAGXGGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 771)  
 CCCAGXGGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 772)  
 CAAGXGGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 773)  
 AXGGGGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 774)  
 GCGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 775)  
 GCGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 776)  
 GCGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 777)  
 GCGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 778)  
 GCGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 779)  
 GCGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 780)  
 GCGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 781)  
 GCGAGCCCCAXGGAGXGG (配列番号 782)

KR4 532-558

5'-TTXCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGT-3' (配列番号 783)  
 CTTXCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGT (配列番号 784)  
 CCTTXCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGT (配列番号 785)  
 ACCTTXCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGT (配列番号 786)  
 CACCTTXCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGT (配列番号 787)  
 TTGCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGXCGT (配列番号 789)  
 TTGCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGXCGT (配列番号 790)  
 TTGCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGXCGT (配列番号 791)  
 TTGCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGXCGT (配列番号 792)  
 TTGCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGXCGT (配列番号 793)  
 CTTXCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGXCGT (配列番号 794)  
 CCTTXCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGXCGT (配列番号 795)  
 ACCTTXCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGXCGT (配列番号 796)  
 CACCTTXCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGXCGT (配列番号 797)  
 CACCTTXCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGXCGT (配列番号 798)  
 ACCTTXCGCGXCGXGCACTCGXCGXCGXCGXCG (配列番号 799)  
 GCGCCACTTXCGCGXCGXGCACTCGXCGX (配列番号 800)  
 GCGCCACTTXCGCGXCGXGCACTCGXCGX (配列番号 801)  
 GCGCCACTTXCGCGXCGXGCACTCGXCGX (配列番号 802)  
 CGAGCGCGCCGACACTTTCGCGXCGXCGX (配列番号 803)  
 GCGCGXCGCGCCGACACTTTCGCGXCGXCGX (配列番号 804)  
 GCGCGXCGCGCCGACACTTTCGCGXCGXCGX (配列番号 805)  
 GCGCGXCGCGCCGACACTTTCGCGXCGXCGX (配列番号 806)  
 ACTCGCGXCGCGCCGACACTTTCGCGXCGXCGX (配列番号 807)  
 GCGCGXCGCGCCGACACTTTCGCGXCGXCGX (配列番号 808)  
 XCGCGXCGCGCCGACACTTTCGCGXCGXCGX (配列番号 809)  
 CGXCGCGXCGCGCCGACACTTTCGCGXCGXCGX (配列番号 810)  
 GCGCGXCGCGCCGACACTTTCGCGXCGXCGX (配列番号 811)  
 XCGCGXCGCGCCGACACTTTCGCGXCGXCGX (配列番号 812)  
 CGCGACTCGCGXCGXCGXCGX (配列番号 813)  
 ACTCGCGXCGCGXCGXCGX (配列番号 814)  
 TTGCGCGXCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 815)  
 TTGCGCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 816)  
 TTGCGCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 817)  
 TTGCGCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 818)  
 TTGCGCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 819)

【図25-3】

TTXCGCGXCGXCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 820)  
 TTXACXCGXCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 821)  
 TTXCGCGXCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 822)  
 TTXCGCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 823)

KR7 40-67  
 5'-GCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT-3' (配列番号 824)  
 AGCGGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 825)  
 GAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 826)  
 CGAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 827)  
 GCGAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 828)  
 CGCGAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 829)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 830)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 831)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 832)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 833)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 834)  
 AGCGGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 835)  
 GAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 836)  
 CGAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 837)  
 GCGAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 838)  
 CGAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 839)  
 CGAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 840)  
 CGCGAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCTGACCGGTCT (配列番号 841)  
 ACGCGCCAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 842)  
 GAGAGCGGCCAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 843)  
 AGCGGCCAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 844)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 845)  
 AGCGGCCAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 846)  
 CGCGCCCGCGTGAACCGGTCTCCACAGAGAGA (配列番号 847)  
 CCGCCCGCGTGAACCGGTCTCCACAGAGAGA (配列番号 848)  
 CGCGTACCGGGCTCTCCACAGAGAGA (配列番号 849)  
 GCGCAACCGGGCTGACCGGTCT (配列番号 850)  
 CGACAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 851)  
 AGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 852)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 853)  
 CGCCCGCGTGAACCGGTCT (配列番号 854)  
 CCGCCCGTGAACCGGTCT (配列番号 855)  
 CGCCCGTGAACCGGTCT (配列番号 856)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 857)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 858)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 859)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 860)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 861)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 862)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 863)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 864)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 865)  
 GCGGCCAGCGGCCAGCGGCCAGCGCGCCCCCGCT (配列番号 866)

【図26-1】

Figure 26

BL7 483-506\*\*  
 5'-CAAGC AXKG CATCG CGGCC XGTG -3' (配列番号 163)  
 ACAGXC AXKG CATCG CGGCC XGTG (配列番号 164)  
 CACAGXC AXKG CATCC CGGCC XGTG (配列番号 165)  
 ACACAGC AXKG CATCC CGGCC XGTG (配列番号 166)  
 TACACAGXC AXKG CATCC CGGCC XGTG (配列番号 167)  
 CTACACAGXC AXKG CATCC CGGCC XGTG (配列番号 168)  
 CAAGXC AXKG CATCC CGGCC XGTG (配列番号 169)  
 CAKG AXKG CATCC CGGCC XGTG (配列番号 170)  
 CAKG AXKG CATCC CGGCC XGTG (配列番号 171)  
 CAKG AXKG CATCC CGGCC XGTG (配列番号 172)  
 CAKG AXKG CATCC CGGCC XGTG (配列番号 173)  
 ACAGXC AXKG CATCC CGGCC XGTG (配列番号 174)  
 CACAGXC AXKG CATCC CGGCC XGTG (配列番号 175)  
 ACACAGXC AXKG CATCC CGGCC XGTG (配列番号 176)  
 TACACAXAGC AXKG CATCC CGGCC XGTG (配列番号 177)  
 CTACACAXAGC AXKG CATCC CGGCC XGTG (配列番号 178)  
 ACACAGXAGCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 179)  
 ACTACACAXAGC AXKG CATCC CGGCC XGTG (配列番号 180)  
 CGCAACTACAGXAGCGXCGXCGXCGX (配列番号 181)  
 CCGCGCAGACTACAGXAGCGXCGXCGX (配列番号 182)  
 TGTCGGCGCGTACACAGXAGCGXCGX (配列番号 183)  
 GCAAGXCGCATCCCGXCGXCGXCGX (配列番号 184)  
 XGAGCATCCCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 185)  
 OCATCCCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 186)  
 TCCCGXCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 187)  
 CXGCCGCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 188)  
 XGAGXCGCATCCCGXCGXCGXCGX (配列番号 189)  
 CAAGXCGCATCCCGXCGXCGXCGX (配列番号 190)  
 XGAGXCGCATCCCGXCGXCGXCGX (配列番号 191)  
 XGAGCATCCCGXCGXCGXCGX (配列番号 192)  
 GCATCCCGXCGXCGXCGX (配列番号 193)  
 CAAGXCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 194)  
 CAAGXCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 195)  
 CAAGXCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 196)  
 CAAGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 197)  
 CAAGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 198)  
 CAAGXCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 199)  
 CAAGXCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 200)  
 CAAGXCGXCGXCGXCGXCGXCGX (配列番号 201)

BL7 1102-1127

5'-CCXGC CGXCGT CGXCGT GXGCC XGXGG G-3' (配列番号 202)  
 ACCXGC CGXCGT CGXCGT GXGCC XGXGG G (配列番号 203)  
 CACCGXGC CGXCGT CGXCGT GXGCC XGXGG G (配列番号 204)  
 CCACCGXGC CGXCGT CGXCGT GXGCC XGXGG G (配列番号 205)  
 GCGCCACCGXGC CGXCGT CGXCGT GXGCC XGXGG G (配列番号 206)  
 GCGCCACCGXGC CGXCGT CGXCGT GXGCC XGXGG G (配列番号 207)  
 CGXGC CGXCGT CGXCGT GXGCC XGXGG G (配列番号 208)  
 CGXGC CGXCGT CGXCGT GXGCC XGXGG G (配列番号 209)  
 CGXGC CGXCGT CGXCGT GXGCC XGXGG G (配列番号 210)  
 CGXGC CGXCGT CGXCGT GXGCC XGXGG G (配列番号 211)  
 CGXGC CGXCGT CGXCGT GXGCC XGXGG G (配列番号 212)  
 CGXGC CGXCGT CGXCGT GXGCC XGXGG G (配列番号 213)  
 CACCGXGC CGXCGT CGXCGT GXGCC XGXGG G (配列番号 214)  
 CCACCGXGC CGXCGT CGXCGT GXGCC XGXGG G (配列番号 215)

【図26-2】

GGACCCACXGC	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	GGCCC (	配列番号 216)
GGCCACCCACXGC	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	GGCCC (	配列番号 217)
CCACCCACXGC	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 218)
CGGCCACCCACXGC	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 219)
GGGCCGCGACCCACXGC	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 220)
CCCTCGGCGCGACCCACXGC	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 221)
GGCCGCTGCGXGCCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 222)
GGCCGCTGCGXGCCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 223)
CTGCCGCTGCGXGCCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 224)
CTGCCGCTGCGXGCCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 225)
GGCTGCCGCTGCCGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 226)
GGCTGCCGCTGCCGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 227)
GGCCGCTGCGXGCCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 228)
CTGCCGCTGCGXGCCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 229)
CTGCCGCTGCGXGCCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 230)
CTGCCGCTGCGXGCCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 231)
CTGCCGCTGCGXGCCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 232)
CTGCCGCTGCGXGCCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 233)
CGGCCGCGCTCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 234)
CGGCCGCGCTCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 235)
CGGCCGCGCTCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 236)
CGGCCGCGCTCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 237)
CGGCCGCGCTCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 238)
CGGCCGCGCTCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 239)
CGGCCGCGCTCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 240)
CGGCCGCGCTCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 241)
CGGCCGCGCTCXGCCG	CXGCT	CXGCT	GXGCC	XGXGG	(	配列番号 242)

BL7	1150-1170	
51	-GXGGX CGXXG CGCXG GCXXG G -3' ( 配列番号 243)	
TGGXX GXGGX CGXXG CGCXG GCXXG G ( 配列番号 244)		
ATAGXXG GXGGG CGCXG GCXXG G ( 配列番号 245)		
CATGGXX GXGGG CGCXG GCXXG G ( 配列番号 246)		
ATACGGXX GXGGG CGCXG GCXXG G ( 配列番号 247)		
CATACGGXX GXGGG CGCXG GCXXG G ( 配列番号 248)		
GGCGX CGXXG CGCXG CGCXG G ( 配列番号 249)		
GGGX CGXXG CGCXG CGCXG GGA ( 配列番号 250)		
GGXGX CGXXG CGCXG CGCXG GGAG ( 配列番号 251)		
GGXGX CGXXG CGCXG CGCXG GGAGG ( 配列番号 252)		
GGXGX CGXXG CGCXG CGCXG GGAGGG ( 配列番号 253)		
TGGXX GXGGX CGCXG CGCXG G ( 配列番号 254)		
ATAGCXG GXGGG CGCXG CGCXG GGA ( 配列番号 255)		
ATACGGX GXGGG CGCXG CGCXG G ( 配列番号 256)		
ATACGGCGX CGGGG CGCGG CGCGG CGAGC ( 配列番号 257)		
CACATGGXX GXGGG CGCXG CGCXG GGAGGG ( 配列番号 258)		
CATGGXX GXGGG CGCXG CGCXG G ( 配列番号 259)		
GGGGCATGGXX GXGGG CGCXG CGCXG G ( 配列番号 260)		
GGGGCATGGXX GXGGG CGCXG CGCXG G ( 配列番号 261)		
CGCGGGGGGACATGGXX GXGGG CGCXG CGCXG G ( 配列番号 262)		
GGGGCGGGGGGACATGGXX GXGGG CGCXG CGCXG G ( 配列番号 263)		
GXGXGGGGCGX CGGGCGX CGGGCG ( 配列番号 264)		
XGGGG CGGGCGX CGGGCGX CGGGCG ( 配列番号 265)		
CGXCGGGCGX CGGGCGX CGGGCG ( 配列番号 266)		
XGGGG CGGGGAAGGGCGCCCTTCC ( 配列番号 267)		
CGXGGGGAGGGGGCGCCCTTCC ( 配列番号 268)		
XGGGG CGGGCGX CGGGCGX CGGG ( 配列番号 269)		
XGGXGGGGCGX CGGGCGX CGGG ( 配列番号 270)		
XGGGG CGGGCGX CGGGCG ( 配列番号 271)		
GGXGGX CGGGCGX CGGGCGX ( 配列番号 272)		
GGXGGX CGGGCGX CGGGCG ( 配列番号 273)		
GGXGGX CGGGCGX CGGGCG ( 配列番号 274)		

### 【図27-1】

Figure 27

298 - 322	
5' - TGGTGXTGKCTCTCTAGXCGXXXG - 3'	( 配列番号 441)
CTGGGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 442)	
CTGGTGXTGKCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 443)	
GCTGGTGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 444)	
AGGCTCTGGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 445)	
TGGGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 446)	
TGGGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 447)	
TGGGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 448)	
TGGGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 449)	
TGGGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 450)	
TGGGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 451)	
TGGGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 452)	
GCTGGTGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 453)	
GCTGGTGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 454)	
GCGCTGGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 455)	
AGCTCTGGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 456)	
GCTGGTGXTGCTCTCTAGXCG ( 配列番号 457)	
CACTGGTGXTGCTCTCTAGX ( 配列番号 458)	
CGCGAGCGCTGGTGXTGCTCTCT ( 配列番号 459)	
TTGGCGAGGCGCTGGTGXTGCTCT ( 配列番号 460)	
CTTCGGCGAGGCGCTGGTGXTGCT ( 配列番号 461)	
GTGGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 462)	
TKGTCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 463)	
CTCTCTAGXCGXXXGACTCTGGT ( 配列番号 464)	
CTCTAGXCGXXXGACTCTGGT ( 配列番号 465)	
TAGXCGXXXGAGCTGGTTGCTG ( 配列番号 466)	
GTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 467)	
TKGTCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 468)	
TCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 469)	
TCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 470)	
TCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 472)	
TGGGTGXTGCTCTCTAGXCGXG ( 配列番号 473)	
TGGGTGXTGCTCTCTAGXCG ( 配列番号 474)	
TGGGTGXTGCTCTCTAGX ( 配列番号 475)	
TGGGTGXTGCTCTCTAGX ( 配列番号 476)	
TGGGTGXTGCTCTCTAGX ( 配列番号 477)	
TGGGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 478)	
TGGGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 479)	
TGGGTGXTGCTCTCTAGXCGXXXG ( 配列番号 480)	

HR3	310-334	
CTTCTGCGXCGACGGCTCTGGGTGXGTCCTC-3'	( 配列番号 481)	
CTTCTGCGXCGACGGCTCTGGGTGXGTCCTC ( 配列番号 482)		
TCTCTGCGXCGACGGCTCTGGGTGXGTCCTC ( 配列番号 483)		
CTTCTGCGXCGACGGCTCTGGGTGXGTCCTC ( 配列番号 484)		
TCTCTGCGXCGACGGCTCTGGGTGXGTCCTC ( 配列番号 485)		
CTTCTGCGXCGACGGCTCTGGGTGXGTCCTC ( 配列番号 486)		
TTGGCGXCGACGGCTCTGGGTGXGTCCTC ( 配列番号 487)		
TTGCGXCGACGGCTCTGGGTGXGTCCTC ( 配列番号 488)		
TTGCGXCGACGGCTCTGGGTGXGTCCTC ( 配列番号 489)		
TTGCGXCGACGGCTCTGGGTGXGTCCTC ( 配列番号 490)		
TTGCGXCGACGGCTCTGGGTGXGTCCTC ( 配列番号 491)		
CTTCTGCGXCGACGGCTCTGGGTGXGTCCTC ( 配列番号 492)		
CTTCTGCGXCGACGGCTCTGGGTGXGTCCTC ( 配列番号 493)		
CTTCTGCGXCGACGGCTCTGGGTGXGTCCTC ( 配列番号 494)		
CTTCTGCGXCGACGGCTCTGGGTGXGTCCTC ( 配列番号 495)		

### 【図26-3】

GGKXGKXGCGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 275)  
 GGKXGKXGCGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 276)  
 GGKXGKXGCGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 277)  
  
**BL8 1148-1174**  
 5'-ACATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG-3' ( 配列番号 278)  
 CACATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 279)  
 GCACATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 280)  
 GGCAATCATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 281)  
 GGCAATCATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 282)  
 GGCGCATCATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 283)  
 ACATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 284)  
 ACATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 285)  
 ACATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 286)  
 ACATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 287)  
 ACATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 288)  
 ACATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 289)  
 GCACATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 290)  
 GCACATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 291)  
 GGGCATCATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGGAGGCG ( 配列番号 292)  
 GGCACATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGGAGGCG ( 配列番号 293)  
 GGCACATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 294)  
 GGGGCCATATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 295)  
 GCGCGGCCACATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 296)  
 CGCCCGGCCACATGGXGKGXGGCGXGGGG ( 配列番号 297)  
 CGTCGCGCGGCCACATGGXGKGXGGGG ( 配列番号 298)  
 TTXGKGXGGCGXGGCGXGGGGAGGG ( 配列番号 299)  
 XKGXGGCGXGGCGXGGCGXGGGGAGGGCC ( 配列番号 300)  
 XGGGGCGXGGCGXGGGGAGGGCCCTC ( 配列番号 301)  
 GGCXGGCGXGGCGXGGGGAGGGCCCTC ( 配列番号 302)  
 CGXGGCGXGGCGAGGCGCCCTCGGGCC ( 配列番号 303)  
 ATGGXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 304)  
 GGKXGKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 305)  
 XKGXGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 306)  
 XGGGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 307)  
 XGGGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 308)  
 XGGGGCGXGGCGXGGGG ( 配列番号 309)  
 ACATGGXGKGXGGCGXGGGGCGXGGGG ( 配列番号 310)  
 ACATGGXGKGXGGCGXGGGGCGXGGGG ( 配列番号 311)  
 ACATGGXGKGXGGCGXGGGGCGXGGGG ( 配列番号 312)  
 ACATGGXGKGXGGCGXGGGG ( 配列番号 313)  
 ACATGGXGKGXGGGGCGXGGGG ( 配列番号 314)  
 ACATGGXGKGXGGGG ( 配列番号 315)  
 ACATGGXGKGXGGGGCGXGGGGCGXGGGG ( 配列番号 316)  
 ACATGGXGKGXGGGGCGXGGGGCGXGGGG ( 配列番号 317)  
 ACATGGXGKGXGGGGCGXGGGGCGXGGGG ( 配列番号 318)

### 【図27-2】

CTCTCTTTCXCGXCGAAGGCGCTGGCTGXTGCCCTCTAGC ( 配列番号 496)  
CTCTCTTTCXCGXCGAAGGCGCTGGCTGXTGCCCTCTAGC ( 配列番号 497)  
CTCTCTTTCXCGXCGAAGGCGCTGGCTGXTGCCCTCTAGC ( 配列番号 498)  
CTCTCTTTCXCGXCGAAGGCGCTGGCTGXTGCCCTCTAGC ( 配列番号 499)  
CTCTCTTTCXCGXCGAAGGCGCTGGCTGXTGCCCTCTAGC ( 配列番号 500)  
CACTCTTCTCCCTCTTCTTXGXCXCGAAGGCGCT ( 配列番号 501)  
KXCGCAGGCTGGTGTGXTGCCCTCT ( 配列番号 502)  
GAAGGCGCTGGTGTGXTGCCCTCTAGC ( 配列番号 503)  
KXCGCAGGCTGGTGTGXTGCCCTCT ( 配列番号 504)  
CTGGTGTGXTGCCCTCTAGCCCGGGGAG ( 配列番号 505)  
KXCGCAGGCTGGTGTGXTGCCCTCT ( 配列番号 506)  
KXCGCAGGCTGGTGTGXTGCCCT ( 配列番号 507)  
CAGCAGGCTGGTGTGXTGCCCT ( 配列番号 508)  
GAAGGCGCTGGTGTGXTGCCCT ( 配列番号 509)  
AAGCTCTGCTGGTGTGXTGCCCT ( 配列番号 510)  
GCCTGGGTGXTGCCCT ( 配列番号 511)  
CTGGTGTGXTGCCCTCT ( 配列番号 512)  
TXGCGXCGAGGCTCTGGTGTGXTGCCCT ( 配列番号 513)  
TTXGCGXCGAGGCTCTGGTGTGXTGCCCT ( 配列番号 514)  
TXGCGXCGAGGCTCTGGTGTGXTGCCCT ( 配列番号 515)  
TTXGCGXCGAGGCTCTGGTGTGXTGCCCT ( 配列番号 516)  
TXGCGXCGAGGCTCTGGTGTGXTGCCCT ( 配列番号 517)  
TTXGCGXCGAGGCTCT ( 配列番号 518)  
TXACXCGXCGAGGCTCTGGTGTGXTGCCCT ( 配列番号 519)  
TTXGCGXCGAGGCTCTGGTGTGXTGCCCT ( 配列番号 520)  
TXGCGXCGAGGCTCTGGTGTGXTGCCCT ( 配列番号 521)

HR6	204 - 227	
T	-TCCGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGA-3'	( 配列番号 522)
CTG	CCCCCTCCCGXGAGTCXGGGA ( 配列番号 523)	
TCT	CGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGA ( 配列番号 524)	
CTT	CGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGA ( 配列番号 525)	
TCT	CGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGA ( 配列番号 526)	
GACT	CGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGA ( 配列番号 527)	
TGCCC	CGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGA ( 配列番号 528)	
TGCCC	CGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGATA ( 配列番号 529)	
TGCCC	CGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGATA ( 配列番号 530)	
TGCCC	CGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGATAAA ( 配列番号 531)	
TGCCC	CGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGATAAA ( 配列番号 532)	
TGCCC	CGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGAT ( 配列番号 533)	
TCT	CGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGATA ( 配列番号 534)	
TCT	CGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGATAAA ( 配列番号 535)	
ACT	CGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGATAAA ( 配列番号 536)	
GACT	CGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGATAAA ( 配列番号 537)	
CTCT	CGCCCCCTCCCGXGAGTCXGG ( 配列番号 538)	
TAG	CTCTCCCCCTCCCGXGAGTCXGG ( 配列番号 539)	
TGG	TGACTCTCGCCCCCTCCCGXGG ( 配列番号 540)	
GCG	TGCTGTGACTCTCGCCCCCTCCCG ( 配列番号 542)	
AGA	GCTGGCTGACTCTCGCCCCCTC ( 配列番号 543)	
GCC	GCTGGCTCCTCCCGXGAGTCXGGGATA ( 配列番号 544)	
CTT	CCCGXGAGTCXGGGATAAA ( 配列番号 545)	
CCC	CCCGXGAGTCXGGGATAAA ( 配列番号 546)	
XGG	ACTGGCTGAGTCXGGGATAAA ( 配列番号 547)	
ACT	GGCTGAGTCXGGGATAAA ( 配列番号 548)	
CCCC	CCCCCTCCCGXGAGTCXGGGA ( 配列番号 549)	
CCCC	CCCCCTCCCGXGAGTCXGGGA ( 配列番号 550)	
CTCC	CTCCCGXGAGTCXGGGA ( 配列番号 551)	
CCCC	CCCCGGAGTCXGGGA ( 配列番号 552)	
CCCC	CCCCGGAGTCXGGGA ( 配列番号 553)	
TGG	TGGCCCCCTCCCGXGAGTCXGG ( 配列番号 554)	
TGG	TGGCCCCCTCCCGXGAGTCX ( 配列番号 555)	

【図27-3】

TGCCCTCTCCCGXGAGT ( 配列番号 556)  
 TGCCCCCTCCCGXGA ( 配列番号 557)  
 TGCCCCCTCCCGXG ( 配列番号 558)  
 TGCCCCCTCTCGXGAGTCXGGGA ( 配列番号 559)  
 TGCCCCCTCCCGXGAGTAXGGGA ( 配列番号 560)  
 TGCCCCCTCCCGXGAGTCXGGGA ( 配列番号 561)

**HR11 393-425**  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT-3' ( 配列番号 562)  
 GATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 563)  
 GTGATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 564)  
 TTGATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 565)  
 TTGATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 566)  
 CTGTTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 567)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 568)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 569)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 570)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 571)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 572)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 573)  
 TGATTTGGAGCAAGGCGTCCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 574)  
 TGATTTGGAGCAAGGCGTCCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 575)  
 TGATTTGGAGCAAGGCGTCCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 576)  
 TGATTTGGAGCAAGGCGTCCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 577)  
 CGTGTGATTTGGAGCAAGGCGTCCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 578)  
 CGTGTGATTTGGAGCAAGGCGTCCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 579)  
 CGTGTGATTTGGAGCAAGGCGTCCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 580)  
 CCTCTCTGTGATTTGGAGCAAGGCGTCCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 581)  
 CCTCTCTGTGATTTGGAGCAAGGCGTCCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 582)  
 CCTCTCTGTGATTTGGAGCAAGGCGTCCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 583)  
 AGGAGACAGAGGCGTCCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 584)  
 AGGAGACAGAGGCGTCCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 585)  
 AGGAGACAGAGGCGTCCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 586)  
 AGGAGACAGAGGCGTCCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 587)  
 TGTTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 588)  
 GGAGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 589)  
 AGAGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 590)  
 AGAGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 591)  
 AGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 592)  
 XGAGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 593)  
 TGAGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 594)  
 OTCCAGAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 595)  
 CAGAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 596)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 597)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 598)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 599)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 600)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 601)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 602)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 603)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 604)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 605)  
 GTTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 606)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 607)  
 ATTGGAGCAAGXGCTTCAGCTGCCGGCTT ( 配列番号 608)

**HR23 299-333**  
 -5' -TGXGGAGCGGCTCGGGTGXTGCCCTCTAGXGXGG-3' ( 配列番号 609)  
 TTGXGGAGCGGCTCTGGTGXTGCCCTCTAGXGXGG ( 配列番号 610)  
 CTTXGGAGCGGCTCTGGTGXTGCCCTCTAGXGXGG ( 配列番号 611)  
 TTCTXGGAGCGGCTCTGGTGXTGCCCTCTAGXGXGG ( 配列番号 612)

### 【図27-4】

CTTCTTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 613)
TTXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 614)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 615)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 616)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 617)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 618)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 619)
TTXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 620)
CTTCTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 621)
CTTCTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 622)
CTTCTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 623)
CTTCTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 624)
CTTCTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 625)
CTTCTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 626)
CTCCCTTCTTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 627)
TTCTCTTCTTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 628)
ACTTTCTTCTTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 629)
QXGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 630)
AGGCTCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 631)
GGCTCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 632)
GGCTCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 633)
GGCTCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 634)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 635)
GMGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 636)
AGGCTCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 637)
CTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 638)
GGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 640)
GTGAGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 641)
GTCGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 642)
GTCGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 643)
CCCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 644)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 645)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 646)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 647)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 648)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 649)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 650)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 651)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 652)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 653)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 654)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 655)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 656)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 657)
<b>HR23* 299-333</b>
5' - TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG - ( 配列番号 658)
TTXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 659)
CTTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 660)
CTTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 661)
CTTCTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 662)
CTTCTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 663)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 664)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 665)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 666)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 667)
TXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 668)
TTXGXCAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 669)
CTTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 670)
CTTCTXXGCGAGCGCTGGTGTGKGTCTCTTCAAGXGXCGG ( 配列番号 671)

【図27-5】

TCTCTTGKXGACGGCTGGXTGTCCTAGXGCGXGGAGC	(配列番号 654)
TCTCTTGKXGACGGCTGGXTGTCCTAGXGCGXGGAGC	(配列番号 674)
TCTCTTGKXGACGGCTGGXTGTCCTAGXGCGXGGAGC	(配列番号 675)
TCTCTTGKXGACGGCTGGXTGTCCTAGXGCGXGGAGC	(配列番号 676)
TCTCTTGKXGACGGCTGGXTGTCCTAGXGCGXGGAGC	(配列番号 677)
TCTCTTGKXGACGGCTGGXTGTCCTAGXGCGXGGAGC	(配列番号 678)
XGAGACGGCTGGXTGTCCTAGXGCGXGGAGC	(配列番号 679)
AGGCTCTGGXTGTCCTAGXGCGXGGAGCCT	(配列番号 680)
CTCTGGXTGTCCTAGXGCGXGGAGCCT	(配列番号 681)
NGGGTGTGCTCTCTAGXGCGXGGAGCTGGTTG	(配列番号 682)
TXGCTCTCTCTAGXGCGXGGAGCTGGTTG	(配列番号 683)
CGXGAGCGCTGGXTGTCCTCTAGXGCGXGG	(配列番号 684)
CGAGCGCTGGXTGTCCTCTAGXGCGXGG	(配列番号 685)
AGGCTCTGGXTGTCCTCTAGXGCGXGG	(配列番号 686)
GCTCTGGXTGTCCTCTAGXGCGXGG	(配列番号 687)
TXGCTGXTGTCCTCTAGXGCGXGG	(配列番号 688)
GGTGTGXTGTCCTCTAGXGCGXGG	(配列番号 689)
TXGTCCTCTAGXGCGXGG	(配列番号 690)
XGTCCTCTAGXGCGXGG	(配列番号 691)
CCCTCTAGXGCGXGG	(配列番号 693)
TXKGXCGACGGCTGGXTGTCCTCTAGXGCGX	(配列番号 694)
TXKGXCGACGGCTGGXTGTCCTCTAGXG	(配列番号 695)
TXKGXCGACGGCTGGXTGFCCTCTAG	(配列番号 696)
TXKGXCGACGGCTGGXTGFCCTCT	(配列番号 697)
TXKGXCGACGGCTGGXTGFCCTC	(配列番号 698)
TXKGXCGACGGCTGGXTG	(配列番号 700)
TXKGXCGACGGCTGGXTG	(配列番号 701)
TXKGXCGACGGCTGG	(配列番号 702)
TXKGXCGACGGCTGG	(配列番号 703)
TXKGXACGACGGCTGGXTGTCCTCTAGXGCGX	(配列番号 704)
TXKGXACGACGGCTGGXTGTCCTCTAGXGCGX	(配列番号 705)
TXKGXACGACGGCTGGXTGTCCTCTAGXGCGX	(配列番号 706)

## 【図28-1】

GGXGXGXAGXTTGGCCXKGXGATGG	(配列番号 907)
RZ2XX-5 501-53	
5'-GGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGT-3'	(配列番号 908)
AAGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGT	(配列番号 909)
GAAGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGT	(配列番号 910)
CGAGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGT	(配列番号 911)
CCGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGT	(配列番号 912)
CCGAGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGT	(配列番号 913)
GGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGT	(配列番号 914)
CGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGT	(配列番号 915)
GGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGT	(配列番号 916)
GGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGT	(配列番号 917)
GGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGT	(配列番号 918)
AGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGGXXGT	(配列番号 919)

【図28-2】

登録番号	665 - 696
5 -	CGXCGCXCXCGCXGCGCXCGCTTAXCGCXCGXGG - 3' ( 配列番号 949)
	CGCGXCGCXCXCGCXGCGCXCGCTTAXCGCXCGXGG ( 配列番号 950)
	ACACCGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGG ( 配列番号 951)
	CACCGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGG ( 配列番号 952)
	CACCGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGG ( 配列番号 953)
	CCCCACCGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGG ( 配列番号 954)
	CGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGG ( 配列番号 955)
	CGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGG ( 配列番号 956)
	CGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGGCC ( 配列番号 957)
	CGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGGCC ( 配列番号 958)
	CGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGGCC ( 配列番号 959)
	CGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGG ( 配列番号 960)
	ACACCGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGG ( 配列番号 961)
	CCCCACCGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGGCC ( 配列番号 962)
	CGACCGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGGCC ( 配列番号 963)
	CCCCACCGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGGCCCC ( 配列番号 964)
	ACACCGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGG ( 配列番号 965)
	ACACCCACCGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCG ( 配列番号 966)
	CCCCACCCACCGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCG ( 配列番号 967)
	GGCCCCACCCACCGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCG ( 配列番号 968)
	CCCCGGGCCCCACCGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCG ( 配列番号 969)
	CGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGGCC ( 配列番号 970)
	CGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGGCC ( 配列番号 971)
	CGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGGCC ( 配列番号 972)
	CGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGGCC ( 配列番号 973)
	CGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGGCC ( 配列番号 974)
	CGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGG ( 配列番号 975)
	XCGCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGG ( 配列番号 976)
	CGACCGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGG ( 配列番号 977)
	CGCGXCGCXCXCGCXGCGCTTAXCGCXCGXGG ( 配列番号 978)

【図28-4】

CGXCGCGXCGCAACGCCGXGAXGCCGCT ( 配列番号 1038)  
  
R210XX \*\*\* 33-361  
5'-GXXGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG-3' ( 配列番号 1039)  
TGXXGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1040)  
TGXXGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1041)  
GCTXXGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1042)  
TGXXGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1043)  
TGCTGXXGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1044)  
GXKXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1045)  
GXKXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1046)  
GXKXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1047)  
GXKXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1048)  
GXKXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1049)  
TGXXGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1050)  
TGXXGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1051)  
TGXXGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1052)  
TGXXGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1053)  
TGCTGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGGTTGGC ( 配列番号 1054)  
TGCTGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGGTTGGC ( 配列番号 1055)  
TGCTGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGGTTGGC ( 配列番号 1056)  
TGCTGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGGTTGGC ( 配列番号 1057)  
TGCTGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGGTTGGC ( 配列番号 1058)  
TGCTGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGGTTGGC ( 配列番号 1059)  
TGCTGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGGTTGGC ( 配列番号 1060)  
TGCTGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGGTTGGC ( 配列番号 1061)  
TGCTGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGGTTGGC ( 配列番号 1062)  
TGCTGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGGTTGGC ( 配列番号 1063)  
TGCTGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGGTTGGC ( 配列番号 1064)  
TGCTGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1065)  
TGCTGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1066)  
TGCTGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1067)  
TGXXGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1068)  
GCGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1069)  
GCGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1070)  
GCGXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1071)  
GKXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1072)  
GKXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1073)  
GKXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1074)  
GKXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1075)  
GKXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1076)  
GKXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1077)  
GKXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1078)  
GKXXCATXGGXXCCGCCACCCXXGG ( 配列番号 1079)

### 【図28-3】

XCGCXCXGCTTAXGCCGXCGXG ( 配列番号 979)  
CXGCGCTTAXGCCGXCGXG ( 配列番号 980)  
GCXGCTTAXGCCGXCGXG ( 配列番号 981)  
XGCTTAXGCCGXCGX ( 配列番号 982)  
GCTTAXGCCGXCGXG ( 配列番号 983)  
( 配列番号 984)  
CXGCGXCGXGCCGXCGXGCTTAXGCCGX ( 配列番号 984)  
CXGCGXCGXGCCGXCGXGCTTAXGCCGX ( 配列番号 985)  
CXGCGXCGXGCCGXCGXGCTTAXGCCGX ( 配列番号 986)  
CXGCGXCGXGCCGXCGXGCTTAXGCCGX ( 配列番号 987)  
CXGCGXCGXGCCGXCGXGCTTAXGCCGX ( 配列番号 988)  
CXGCGXCGXGCCGXCGXGCTTAXGCCGX ( 配列番号 989)  
CXGCGXCGXGCCGXCGXG ( 配列番号 990)  
( 配列番号 991)  
CXGCGXCGXGCCGXCGXG ( 配列番号 992)  
CXGCGXCGXGCCGXCGXGCTTAXGCCGXCGXG ( 配列番号 993)  
CXGCGXCGXGCCGXCGXGCTTAXGCCGXCGXG ( 配列番号 994)  
CXGCGXCGXGCCGXCGXGCTTAXGCCGXCGXG ( 配列番号 995)

BRZXX#	733 - 760	
51	-CGXXCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCT-3'	( 配列番号 9996)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCTG	( 配列番号 9997)
	CCCCXXCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCT	( 配列番号 9998)
	CCCCXXCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCT	( 配列番号 9999)
	GGCCXXCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCT	( 配列番号 10000)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCT	( 配列番号 10001)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCT	( 配列番号 1002)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCT	( 配列番号 1003)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCTCAC	( 配列番号 1004)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCTCAC	( 配列番号 1005)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCTCAC	( 配列番号 1006)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCTCAC	( 配列番号 1007)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCTCAC	( 配列番号 1008)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCTCAC	( 配列番号 1009)
	GGCCCCXCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCCT	( 配列番号 1010)
	CCCCXXCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCTCAC	( 配列番号 1011)
	GGGGCCCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCTCAC	( 配列番号 1012)
	AAAGGGGCCCCCGXCGXCGGCCGCCXGAXGCCXGCTCAC	( 配列番号 1013)
	AGAGGGGGCCCCCGXCGXCGGCCGCCXGCTCAC	( 配列番号 1014)
	GGAGGGGGCCCCCGXCGXCGGCCGCCXGCTCAC	( 配列番号 1015)
	CGAGGGGGCCCCCGXCGXCGGCCGCCXGCTCAC	( 配列番号 1016)
	CGAGGGGGCCCCCGXCGXCGGCCGCCXGCTCAC	( 配列番号 1017)
	GCXGCCGCCCCCGXCGXCGGCCGCCXGCTCAC	( 配列番号 1018)
	GAAGCCCCCGXAXGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1019)
	GGCCCCCGXAXGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1020)
	CGXAXGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1021)
	CGXGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1022)
	CGXXCGXCGGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1023)
	CGXGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1024)
	TAAGCCCCCGXAXGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1025)
	CAGCCCCCGXAXGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1026)
	GGCCXXCGXCGGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1027)
	CCCCXXCGXCGGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1028)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1029)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1030)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1031)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1032)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1033)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1034)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1035)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1036)
	CGXXCGXCGXCGGCCGCCGCCGCCGCCGCC	( 配列番号 1037)

【図28-5】

5' - CGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXG - ' ( 配列番号 1137 )  
 CGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXG ( 配列番号 1138 )  
 CGGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXG ( 配列番号 1139 )  
 CGGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXG ( 配列番号 1140 )  
 CGGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXG ( 配列番号 1141 )  
 CGGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXG ( 配列番号 1142 )  
 CGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXG ( 配列番号 1143 )  
 CGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXGCA ( 配列番号 1144 )  
 CGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXGCA ( 配列番号 1145 )  
 CGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXGCACTG ( 配列番号 1146 )  
 CGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXGCACTG ( 配列番号 1147 )  
 CGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXGCA ( 配列番号 1148 )  
 CGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXGCA ( 配列番号 1149 )  
 CGGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXGCA ( 配列番号 1150 )  
 CGGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXGCACTG ( 配列番号 1151 )  
 CGGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXGCACTG ( 配列番号 1152 )  
 CGGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXGCACTG ( 配列番号 1153 )  
 CGGGXXGXXGCGTTXGCCXXGXCCY ( 配列番号 1153 )

【図28-6】

【図28-8】

GTGXXGCTGGGTTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1270)  
GTGXXGCTGGGTTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1271)  
GGTGGXXGCGGCTGGGTTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1272)  
GGTGGXXGCGGCTGGGTTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1273)  
GGTGGXXGCTGGGTTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1274)  
GGTGGXXGCTGGGTTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1275)  
GGCAGCGGCTGGGTTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1276)  
TCGCCGGCTGGGTTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1277)  
CGCTGGGTTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1278)  
TCAGTGGGTTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1279)  
GGGGTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1280)  
TGTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1281)  
GGGGTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1282)  
CGACGGGCGGCGGACCG ( 配列番号 1283)  
GGCTGXXGCGGACCG ( 配列番号 1284)  
TCGGCTGGGTTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1285)  
GGCTGXXGCGGACCG ( 配列番号 1286)  
GGTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1287)  
TGTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1288)  
GGGGTGGXXGCGGACCG ( 配列番号 1289)  
GGCTGXXGCGGACCG ( 配列番号 1290)  
GGCTGXXGCGGACCG ( 配列番号 1291)  
GGCTGXXGCGGACCG ( 配列番号 1292)  
GGCTGXXGCGGACCG ( 配列番号 1293)  
GGCTGXXGCGGACCG ( 配列番号 1294)  
GGCTGXXGCGGACCG ( 配列番号 1295)  
GAGCTGXXGCGGACCG ( 配列番号 1296)  
GGAGCTGXXGCGGACCG ( 配列番号 1297)  
GGAGCTGXXGCGGACCG ( 配列番号 1298)

【図28-7】

RZBX 1421-1451  
 1 - AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCA - 3' ( 配列番号 1213 )  
 CAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1214 )  
 CAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1215 )  
 CAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1216 )  
 CAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1217 )  
 CAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1218 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1219 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1220 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1221 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1222 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1223 )  
 CAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1224 )  
 CAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1225 )  
 CAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1226 )  
 CAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1227 )  
 CAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1228 )  
 CAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1229 )  
 CAAAGCAGXTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1230 )  
 CTGAGCAGXTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1231 )  
 CAGCTGCAACCAAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1232 )  
 GTGAGCAGTCACCAAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1233 )  
 GTGAGCAGTCACCAAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1234 )  
 GTGAGCAGTCACCAAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1235 )  
 GAGGCGCTGTGXXGCTCGCCCCCACTTGTCTCTT ( 配列番号 1236 )  
 CTGAGCAGTCACCAAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1237 )  
 TGTGAGCAGTCACCAAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1238 )  
 TGTGAGCAGTCACCAAGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1239 )  
 TGXGGAGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCACT ( 配列番号 1240 )  
 XGGAGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1241 )  
 AGGAGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1242 )  
 AGGAGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1243 )  
 GGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1244 )  
 CTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1245 )  
 TGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1246 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1247 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1248 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1249 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCG ( 配列番号 1250 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCG ( 配列番号 1251 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCG ( 配列番号 1252 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCG ( 配列番号 1253 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCG ( 配列番号 1254 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1255 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1256 )  
 AGXGTGXXGGGGAGGCTGTGXXGCTCGCCCCCA ( 配列番号 1257 )

【図29-1】

Figure 29

Figure 29

5'-GCXGCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC-3' ( 配列番号 319)  
 AGCGXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 320)  
 GAGCGXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 321)  
 AGAGCGXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 322)  
 GAGAGCGXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 323)  
 AGAGACGCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 324)  
 GCYCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 325)  
 GCXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 326)  
 GCXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 327)  
 GCXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 328)  
 GCXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 329)  
 AGCGXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 330)  
 GAGCGXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 331)  
 AGACCGXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 332)  
 GAGAGCGXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 333)  
 AGAGACGCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 334)  
 AGAGCGXCGATTGAACTTAACTAGXGCC ( 配列番号 335)  
 AGAGACGCGATTGAACTTAACTAGXGCC ( 配列番号 336)  
 AGTAAGAGACGCCCATGGATTAACTAGX ( 配列番号 337)  
 CAGACTAGAGACGCCATTGAACTAGX ( 配列番号 338)  
 AACACAGTGAAGAGCGXCGATTGAACTTAAC ( 配列番号 339)  
 SCATGATTAACTTAGXGXGCC ( 配列番号 340)  
 TTGAAATTAACTTAGXGXGCC ( 配列番号 341)  
 AATTAACTTAGXGXGCC ( 配列番号 342)  
 TAACTAATAGXGXGCC ( 配列番号 343)  
 CTAGXGXGCC ( 配列番号 344)  
 XCGCATTTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 345)  
 CATGGAATTAACTTAGXGXGCC ( 配列番号 346)  
 GAAATTAACTTAGXGXGCC ( 配列番号 347)  
 ATTAACTTAGXGXGCC ( 配列番号 348)  
 TTAACTAATAGXGXGCC ( 配列番号 349)  
 GCGCATTTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 350)  
 GCXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 351)  
 GCXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 352)  
 GCXCGATTGAACTTAACTAGXGCC ( 配列番号 353)  
 GCXCGATTGAACTTAACTAGXGCC ( 配列番号 354)  
 GCXCGATTGAACTAAC ( 配列番号 355)  
 GCXCGATTGAACTAA (SEQ ID NO:356)  
 GCXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 357)  
 GCXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 358)  
 GCXCGATTGAACTTAACTAGXGXGCC ( 配列番号 359)

CM3 \*\* 349-371

GCCTGGCTGGGGAGAGCTTAXGAG-3' ( 配列番号 360)  
GGCGCTGGTGGGGAGAGCTTAXGAG ( 配列番号 361)  
GGCGCTGGTGGGGAGAGCTTAXGAG ( 配列番号 362)  
AGGCGCTGGTGGGGAGAGCTTAXGAG ( 配列番号 363)  
AAAGCGCTGGTGGGGAGAGCTTAXGAG ( 配列番号 364)  
AAAGCGCTGGTGGGGAGAGCTTAXGAG ( 配列番号 365)  
CXCCTGGGGAGAGCTTAXGAGA ( 配列番号 366)  
CXCCTGGGGAGAGCTTAXGAGA ( 配列番号 367)  
CXCCTGGGGAGAGCTTAXGAGA ( 配列番号 368)  
CXCCTGGGGAGAGCTTAXGAGA ( 配列番号 369)

【 図 2 9 - 2 】

AGGCCGTTGGGGGAGGAGTTAGXGAGA ( 配列番号 371 )  
 GGGCGCTGGTGGGGAGGAGTTAGXGAGA ( 配列番号 372 )  
 AGGGCGCTGGTGGGGAGGAGTTAGXGAGA ( 配列番号 373 )  
 AAAGGGCGCTGGTGGGGAGGAGTTAGXGAGA ( 配列番号 374 )  
 AAAGGGCGCTGGTGGGGAGGAGTTAGXGAGA ( 配列番号 375 )  
 AGGGCGCTGGTGGGGAGGAGTTAGX ( 配列番号 376 )  
 TATAAGGGCGCTGGTGGGGAGGAGTTAGX ( 配列番号 377 )  
 GCGATTAAGAGCGCTGGTGGGGAGA ( 配列番号 378 )  
 CTGGCGATTAAGAGCGCTGGTGGGG ( 配列番号 379 )  
 GTGGGGAGGAGAG ( A ) TTAGCGAGAGA ( 配列番号 380 )  
 GGCGAGAGAGTTAGXGAGAGGA ( 配列番号 381 )  
 XGGAGAGTTAGXGAGAGGA ( 配列番号 382 )  
 XGGAGAGTTAGXGAGAGGATCT ( 配列番号 383 )  
 AGAGCTTGAGAGGAGGATCTT ( 配列番号 384 )  
 GTTAXGAGAGGAGCTTTTCTT ( 配列番号 385 )  
 XCGTGTGGXGGAGAGTTAGXG ( 配列番号 386 )  
 PTGGXGGXGGAGAGTTAGXG ( 配列番号 387 )  
 GGXGGAGAGAGTTAGXGAG ( 配列番号 388 )  
 XGGAGAGTTAGXGAG ( 配列番号 389 )  
 GGAGAGTTAGXGAG ( 配列番号 390 )  
 XCGTGTGGXGGAGAGTTAGXG ( 配列番号 391 )  
 XCGTGTGGXGGAGAGTTAG ( 配列番号 392 )  
 CXCGTGTGGXGGAGAGTTAG ( 配列番号 393 )  
 XCGTGTGGXGGAGAG ( 配列番号 394 )  
 XCGTGTGGXGGAGAGTTAGXGAG ( 配列番号 395 )  
 XCGTGTGGXGGAGAGTTAGXGAG ( 配列番号 396 )  
 XCGTGTGGXGGAGAGTTAGXGAG ( 配列番号 397 )  
 XCGTGTGGXGGAGAGTTAGXTAG ( 配列番号 398 )  
  
**C66** 13 - 39  
 5'-TSGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG-3' ( 配列番号 399 )  
 CTGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 400 )  
 CTGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 401 )  
 CTGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 402 )  
 CTGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 403 )  
 ACCATGTGXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 404 )  
 TKGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 405 )  
 TKGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 406 )  
 TKGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 407 )  
 TGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 408 )  
 TGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 409 )  
 CTGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 410 )  
 ATCTGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 411 )  
 CACTGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 412 )  
 CACTGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 413 )  
 CACTGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 414 )  
 CACTGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 415 )  
 AACACATGKXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXG ( 配列番号 416 )  
 GAGAACCTCTGKXGCCCAACXGCCAKXG ( 配列番号 417 )  
 AGCGAACCTACCTGKXGCCCAACXGCCAKXG ( 配列番号 418 )  
 AACACAGGAAACCATCTGKXGCCCAACXGCCAKXG ( 配列番号 419 )  
 GXCXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 420 )  
 CACXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 421 )  
 ACXGCCCAACXGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 422 )  
 GCAACGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 423 )  
 XGCCAACGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 424 )  
 CGGCCAACGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 425 )  
 CCAACGCCAACGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 426 )  
 CACXGCCAACGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 427 )  
 CXGCCAACGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 428 )  
 GCAACGCCAACXGCCAKXGKXTG ( 配列番号 429 )

### 【 図 2 9 - 3 】

CCAXGCCAXCAGXGKGT ( 配列番号 430 )  
TGKXGCCAACAGXCCAGXGKGT ( 配列番号 431 )  
TGKXGCCAACAGXCCAGXGKGT ( 配列番号 432 )  
TGKXGCCAACAGXCCAGXGKGT ( 配列番号 433 )  
TGKXGCCAACAGXCCAGXGKGT ( 配列番号 434 )  
TGKXGCCAACAGXCCAGXGKGT ( 配列番号 435 )  
TGKXGCCAACAGXCCAGXGKGT ( 配列番号 436 )  
TGKXGCCAACAGXCCAGXGKGT ( 配列番号 437 )  
TGKXGCCAACAGXCCAGXGKGT ( 配列番号 438 )  
TGKXGCCAACAGXCCAGXGKGT ( 配列番号 439 )  
TGKXGCCAACAGXCCAGXGKGT ( 配列番号 440 )

【図30-1】

## 【図30-2】

Figure 30

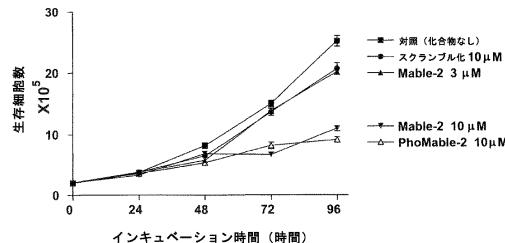
GES	805-830	
1-1	AGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA-3'	( 配列番号 1299)
1A	AGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1300)
1T	TAAGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1301)
1G	TAAGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1302)
1C	GTTAAGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1303)
1G	TTAAGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1304)
1A	AGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1305)
1G	AGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1306)
1C	AGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1307)
1G	AGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1308)
1A	AGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1309)
1G	AGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1310)
1T	TAAGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1311)
1G	TAAGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1312)
1G	GTTAAGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1313)
1G	TTAAGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1314)
1A	TAAGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1315)
1G	GGGGGGXGGGGAGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1316)
1T	TTTGGGGTAAGGGGGXGGGGAGCTGTAG	( 配列番号 1317)
1G	TTTGGGGTAAGGGGGXGGGGAGCTGTAG	( 配列番号 1318)
1G	TTGGGGTTGGGGTAAGGGGGXGGGGAG	( 配列番号 1319)
1G	GGGGGGXGCTGAGXGCACTXGA	( 配列番号 1320)
1G	GGGGGGXGCTGAGXGCACTXGA	( 配列番号 1321)
1A	GAGCTGAGXGCACTXGA	( 配列番号 1322)
1G	GAGCTGAGXGCACTXGA	( 配列番号 1323)
1C	GAGCTGAGXGCACTXGA	( 配列番号 1324)
1G	GAGCTGAGXGCACTXGA	( 配列番号 1325)
1G	XCTGAGXGCACTXGA	( 配列番号 1326)
1G	GGGGGGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1327)
1A	GGGGGGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1328)
1C	ACXTGAGXGCACTXGA	( 配列番号 1329)
1G	GCTGAGXGCACTXGA	( 配列番号 1330)
1G	AGGGGGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1331)
1G	AGGGGGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1332)
1G	AGGGGGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1333)
1G	AGGGGGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1334)
1G	AGGGGGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1335)
1G	AGGGGGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1336)
1G	AGGGGGXGCTAGXGCACTXGA	( 配列番号 1337)

【図30-3】

GACCTGGATCCAGGCTGGXGGCGGAGCGG ( 配列番号 1412 )  
 CTGGATCCAGGCTGGXGGCGAGCGG ( 配列番号 1413 )  
 GAGATCCAGGCTGGXGGCGAGCGG ( 配列番号 1414 )  
 GGGGGXGACTGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1415 )  
 GGGXGACTGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1416 )  
 GGGXGACTGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1417 )  
 XGAGCTGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1418 )  
 ACCCTGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1419 )  
 CTGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1420 )  
 CGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1421 )  
 GATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1422 )  
 TCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1423 )  
 CCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1424 )  
 GGGXGGGGXGACTGGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1425 )  
 GGGXGGGGXGACTGGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1426 )  
 GGGXGGGGXGACTGGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1427 )  
 GGGXGGGGXGACTGGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1428 )  
 GGGXGGGGXGACTGGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1429 )  
 GGGXGGGGXGACTGGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1430 )  
 GGGXGGGGXGACTGGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1431 )  
 GGGXGGGGXGACTGGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1432 )  
 GGGXGGGGXGACTGGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1433 )  
 GGGXGGGGXGACTGGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1434 )  
 GGGXGGGGXGACTGGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1435 )  
 GGGXGGGGXGACTGGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1436 )  
 GGGXGGGGXGACTGGGATCCAGGCTGGXG ( 配列番号 1437 )

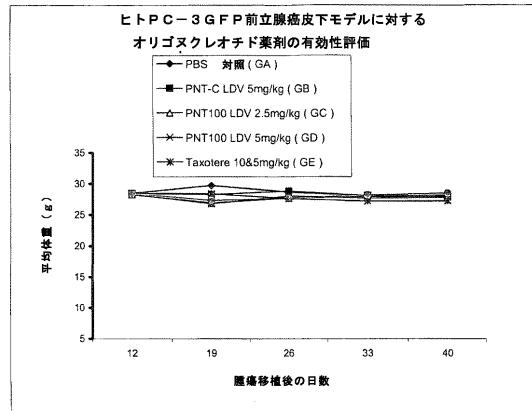
【図31】

Figure 31



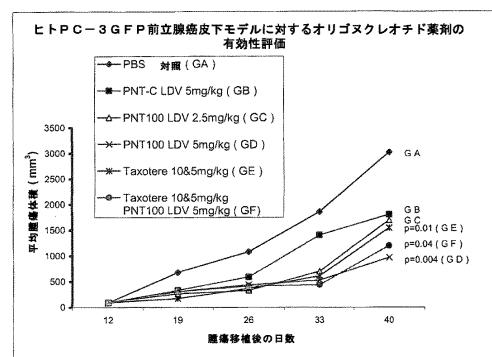
【図33】

Figure 33



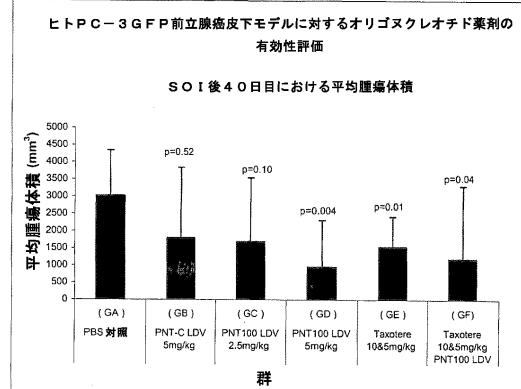
【図32】

Figure 32



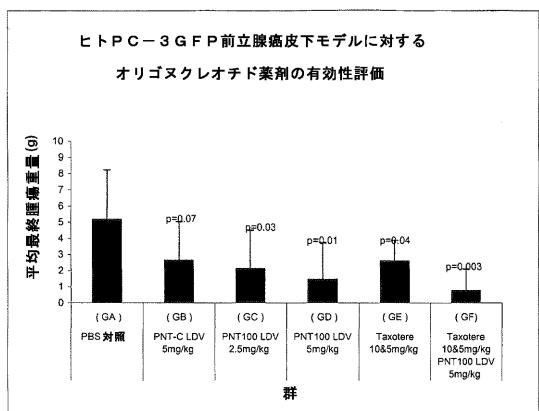
【図34】

Figure 34



## 【図35】

Figure 35



## 【配列表】

0004906717000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I
A 6 1 K 9/127 (2006.01)	A 6 1 K 9/127
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A

(31)優先権主張番号 10/858,145  
 (32)優先日 平成16年6月1日(2004.6.1)  
 (33)優先権主張国 米国(US)  
 (31)優先権主張番号 10/858,146  
 (32)優先日 平成16年6月1日(2004.6.1)  
 (33)優先権主張国 米国(US)  
 (31)優先権主張番号 10/858,164  
 (32)優先日 平成16年6月1日(2004.6.1)  
 (33)優先権主張国 米国(US)  
 (31)優先権主張番号 10/858,341  
 (32)優先日 平成16年6月1日(2004.6.1)  
 (33)優先権主張国 米国(US)  
 (31)優先権主張番号 60/611,974  
 (32)優先日 平成16年9月22日(2004.9.22)  
 (33)優先権主張国 米国(US)  
 (31)優先権主張番号 60/637,212  
 (32)優先日 平成16年12月17日(2004.12.17)  
 (33)優先権主張国 米国(US)

(74)代理人 100127638  
 弁理士 志賀 美苗  
 (74)代理人 100138911  
 弁理士 櫻井 陽子  
 (72)発明者 ゴーラムレザ・シェイクネージャド  
 アメリカ合衆国4 8 1 7 6 ミシガン州セイリーン、ベッドビュー・ドライブ 6 3 9 4 番  
 (72)発明者 ミナ・ペイテル・スーク  
 アメリカ合衆国4 8 3 2 3 ミシガン州ウエスト・ブルームフィールド、レイクモント・サークル 6  
 8 9 4 番  
 (72)発明者 ニール・グッドワイン  
 アメリカ合衆国4 9 0 8 0 ミシガン州ブレインウェル、1 0 9 アベニュー 1 2 0 番  
 (72)発明者 デイビッド・オルソン  
 アメリカ合衆国4 8 1 0 3 ミシガン州アナーバー、ザ・グレイド・ストリート 3 3 0 3 番

審査官 鳥居 敬司

(56)参考文献 特表2 0 0 1 - 5 0 2 1 7 2 (JP, A)  
 Cancer Biother. Radiopharm., 2003, Vol.18, No.1, p.17-26  
 Nucleic Acids Res., 2001, Vol.29, No.3, p.622-628  
 Current Pharmaceutical Design, 2004.03, Vol.10, p.805-819

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
 C12N 15/00-15/90  
 CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)  
 JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq  
WPI