

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2003年12月11日 (11.12.2003)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 03/102028 A1

- (51) 国際特許分類: C07K 14/47, (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (21) 国際出願番号: PCT/JP03/00882
- (22) 国際出願日: 2003年1月30日 (30.01.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願2002-161400 2002年6月3日 (03.06.2002) JP  
特願2002-214978 2002年7月24日 (24.07.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 岡部 英俊 (OKABE, Hidetoshi) [JP/JP]; 〒612-8017 京都府京都市伏見区 桃山南大島町 1 0 1-5 Kyoto (JP). 池川 志郎 (IKEGAWA, Shiro) [JP/JP]; 〒141-0021 東京都品川区上大崎 1 丁目 1 2-2 2-2 0 1 Tokyo (JP).
- (71) 出願人 および
- (72) 発明者: 茶野 徳宏 (CHANO, Tokuhiko) [JP/JP]; 〒525-0027 滋賀県草津市野村 5 丁目 9-3 4-8 0 9 Shiga (JP).
- (74) 代理人: 庄司 隆 (SHOJI, Takashi); 〒101-0032 東京都千代田区岩本町 3 丁目 2 番 1 0 号 SN岩本町ビル 6 階 Tokyo (JP).
- (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 規則4.17に規定する申立て:  
— すべての指定国のための不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て (規則4.17(v))
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告書  
— 不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドダンスノート」を参照。

(54) Title: RB1 GENE INDUCED PROTEIN (RB1CC1) AND GENE

(54) 発明の名称: RB1 遺伝子誘導蛋白質 (RB1CC1) 及び遺伝子

(57) Abstract: It is intended to search for and provide a novel gene participating in multiple tolerance in cancer and its protein. It is also intended to clarify the functions of the gene and the protein and to provide a method of examining the gene and an antibody against the protein. It is further intended to provide a method of examining and diagnosing cancer by using the above gene and antibody. Thus, a novel protein (RB1CC1) or a polypeptide, which occurs in the nucleus of a human or animal cell and has a transcriptional function and/or a function of inducing the expression of retinoblastoma-1 gene (RB1 gene) or its gene product, and its gene are found out. Then the amino acid sequence and the cDNA sequence thereof are determined and the gene is amplified and detected with the use of primers hybridizable with the novel gene. Thus, the expression, mutation, etc. of the novel gene are examined and the relationship thereof with the proliferation of cancer cells is found out, thereby examining cancer. An antibody against the novel protein is prepared and the novel protein is detected by using the antibody. Thus, the relationship between the novel protein and the proliferation of cancer cells is found out, thereby examining cancer.

(57) 要約: 癌における多剤耐性に関与している新規遺伝子及びその蛋白質の検索・提供し、それら遺伝子及びその蛋白質の機能の解明し、該遺伝子の検査方法及び該蛋白質に対する抗体を提供し、上記の遺伝子及び抗体を用いて、癌の検査診断方法を提供するために、ヒト又は動物の細胞の核に存在し、転写因子機能及び/又はレチノブラストマー-1 遺伝子 (RB1 遺伝子) 或いはその遺伝子産物の発現を誘導しうる機能を有する新規蛋白質 (RB1CC1) 又はポリペプチド、及びその遺伝子を見出した。そのアミノ酸配列及びcDNA配列を決定し、新規遺伝子とハイブリダイズするプライマーにより、遺伝子の増幅、検出を行い、新規遺伝子の発現、変異等を検査し、癌細胞の増殖との関連を見出し癌の検査を行い、新規蛋白質に対する抗体を調製し、抗体による新規蛋白質の検出により、新規蛋白質と癌細胞の増殖との関連を見出し癌の検査を行った。

WO 03/102028 A1

## 明 細 書

## RB1 遺伝子誘導蛋白質 (RB1CC1) 及び遺伝子

## 5 技術分野

本発明は、癌抑制遺伝子 (レチノブラストーマ遺伝子 : RB1 遺伝子) の発現を誘導しうる新規な蛋白質及びポリペプチド (以下新規蛋白質 RB1CC1) に関するものである。さらに詳しくは、新規蛋白質のアミノ酸配列の全部又は一部を有するポリペプチド、該ポリペプチドをコードする核酸 (以下 RB1CC1 遺伝子)、該核酸を含有する組換えベクター、該組換えベクターで形質転換された形質転換体、該形質転換体を使ったペプチド又はポリペプチドの製造方法、該ペプチド又はポリペプチドに対する抗体、これらを利用した化合物のスクリーニング方法、該スクリーニングされた化合物、該ポリペプチド若しくは該核酸に作用する活性阻害化合物又は活性賦活化合物、これらに関する医薬組成物、及びこれらに関する疾病の検査診断方法並びに試薬に関する。

## 背景技術

抗がん剤の治療に抵抗性である多剤耐性 (MDR) は癌治療を困難にさせている。MDR の成因は明確ではないが、いくつかの癌では MDR 関連遺伝子 (MDR1 遺伝子) 産物である P-糖蛋白質が関与していると言われている。一方、他の癌では P-糖蛋白質の発現が癌の発生や転移と逆に相関することも知られている。これらの P-糖蛋白質の異なる効果は異なる遺伝子産物の抑制を受けているか或いは異なった相互作用をしていると考えられる。MDR に関連する遺伝子の検索はこれらの現象を解明する上で必須である。

## 発明の開示

(解決しようとする課題)

本発明が解決しようとする課題は、上記のように抗がん剤に対する多剤耐性に関与する遺伝子及びその遺伝子産物を見いだすことである。より具体的には、本発明の課題は癌抑制遺伝子（レチノブラストーマ遺伝子:RB1 遺伝子）の発現を誘導しうる新規な蛋白質及びポリペプチド（新規蛋白質 RB1CC1）を提供することである。また本発明の別の課題は、新規蛋白質のアミノ酸配列の全部又は一部をコードする核酸（以下 RB1CC1 遺伝子）を提供し、遺伝子工学手法による、蛋白質又はポリペプチド（新規蛋白質 RB1CC1）の製造法を提供することである。さらに本発明の別の課題は、新規蛋白質 RB1CC1 由来のポリペプチドに対する抗体を提供することである。その他の本発明の課題は、上記のものを利用して新規蛋白質 RB1CC1 の有する作用の阻害剤・拮抗剤・賦活剤のスクリーニングをおこなうことであり、スクリーニングされた化合物を提供することであり、またこれらを利用した抗がん剤の治療に抵抗性である多剤耐性（MDR）の治療に用いる医薬組成物を提供することである。また別の本発明が解決しようとする課題は、本発明中で明らかになった、癌抑制遺伝子（レチノブラストーマ遺伝子:RB1 遺伝子）の発現を誘導しうる新規の蛋白質及びポリペプチド（RB1CC1 蛋白質）又は該蛋白質のアミノ酸配列の全部又は一部をコードする核酸（以下 RB1CC1 遺伝子）、これを検査することによって癌細胞又は癌の診断方法を提供することである。さらに、該蛋白質のアミノ酸配列の全部又は一部をコードする核酸を増幅しうる核酸プライマーを提供し、該プライマーを用いた核酸の増幅産物を検査することによる癌細胞又は癌の診断方法を提供することである。そして、該蛋白質又はポリペプチド（RB1CC1 蛋白質）と反応しうる抗体を提供することであり、またその抗体を用いた免疫学的

な検査方法を提供する。又本発明の課題は該検査方法に用いられる該プライマー又は該抗体を用いた検査試薬又はキットを提供することでもある。

5 (解決する手段)

課題解決のため、本発明者らは、U-2 OS 骨肉腫細胞と MDR 変異誘導細胞の間で別々に発現されている遺伝子を検索しその塩基配列及び該新規蛋白質の cDNA がコードするアミノ酸配列を決定した。また動物においても同様な蛋白質が存在することを証明するためマウスの新規蛋白質  
10 のアミノ酸配列及び該新規蛋白質の cDNA がコードするアミノ酸配列を決定した。さらには、これらの蛋白質を認識する抗体を調製し、遺伝子の発現、変異、欠損等の検査に加えて免疫学的な検討を行い、ある種の癌細胞において本遺伝子の発現及び蛋白質の発現が抑制されていることを見出し、本発明を完成した。

15 すなわち、本発明は以下の構成よりなる。

1、ヒト又は動物の細胞の核に存在し、転写因子機能及び／又はレチノブラストーマ遺伝子 (RB1 遺伝子) 或いはその遺伝子産物の発現を誘導しうる機能を有する蛋白質又はポリペプチド。

2、上記 1 記載のヒト蛋白質が下記の群より選ばれるポリペプチド又は  
20 蛋白質；(1) 配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列で示されるポリペプチド又は蛋白質、(2) 前記のポリペプチド又は蛋白質のアミノ酸配列の少なくとも 5 個のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、(3) 前記のポリペプチド又は蛋白質と少なくとも約 70% のアミノ酸配列上の相同性を有するポリペプチド又は蛋白質、(4) 及び前記 (1) から (3)  
25 のポリペプチド又は蛋白質のアミノ酸配列において 1 ないし数個のアミノ酸の欠失、置換又は付加などの変異あるいは誘発変異を有するポリペ

プチド又は蛋白質。

- 3、上記 1 記載の動物蛋白質がマウス由来の蛋白質であり、下記の群より選ばれるポリペプチド又は蛋白質；(1) 配列表の配列番号 2 に記載のアミノ酸配列で示されるポリペプチド又は蛋白質、(2) 前記のポリペプチド又は蛋白質のアミノ酸配列の少なくとも 5 個のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、(3) 前記のポリペプチド又は蛋白質と少なくとも約 70% のアミノ酸配列上の相同性を有するポリペプチド又は蛋白質、(4) 及び前記 (1) から (3) のポリペプチド又は蛋白質のアミノ酸配列において 1 ないし数個のアミノ酸の欠失、置換又は付加などの変異
- 10 あるいは誘発変異を有するポリペプチド又は蛋白質。
- 4、上記 1～3 に記載のポリペプチド又は蛋白質をコードする核酸又はその相補鎖。
- 5、上記 3 に記載の核酸又はその相補鎖とストリンジエントな条件下でハイブリダイゼーションする核酸。
- 15 6、配列表の配列番号 3～4 に記載の核酸又はその相補鎖の塩基配列のうち少なくとも 15 個の連続した塩基配列で示される核酸であって、該核酸の転写によって発現されるポリペプチドが上記 1～3 記載のポリペプチドである核酸。
- 7、上記 4～6 のいずれか 1 項に記載の核酸を含有する組換えベクター。
- 20 8、上記 7 の組換えベクターで形質転換された形質転換体。
- 9、上記 8 の形質転換体を培養する工程を含む、上記 1～3 に記載のポリペプチド又は蛋白質の製造方法。
- 10、上記 4～6 に記載の核酸又はその相補鎖とストリンジエントな条件下でハイブリダイゼーションする配列表の配列番号 5～132 に記載
- 25 の核酸プライマー。
- 11、上記 1～3 に記載のポリペプチド又は蛋白質を免疫学的に認識す

る抗体。

1 2、上記 1～3 に記載のポリペプチド又は蛋白質の転写因子活性及び  
／又は RB1 遺伝子の発現を誘導しうる機能を阻害もしくは増強する化  
合物のスクリーニング方法であって、上記 1～3 に記載のポリペプチド

5 又は蛋白質、上記 1 1 に記載の抗体のうち、少なくともいずれか 1 つを  
用いることを特徴とするスクリーニング方法。

1 3、上記 4 もしくは 6 に記載の核酸と相互作用して該核酸の発現を阻  
害もしくは増強する化合物のスクリーニング方法であって、上記 4～6  
のいずれか 1 項に記載の核酸、上記 7 に記載のベクター、上記 8 に記載  
10 の形質転換体、上記 1 0 に記載の核酸プライマーのうち少なくともいず  
れか 1 つを用いることを特徴とするスクリーニング方法。

1 4、上記 1 2 又は 1 3 に記載のスクリーニング方法でスクリーニング  
される化合物。

1 5、上記 1～3 に記載のポリペプチド又は蛋白質の転写因子活性及び  
15 ．／又は RB1 遺伝子の発現を誘導しうる機能を阻害もしくは増強する化  
合物。

1 6、上記 4～6 のいずれか 1 項に記載の核酸と相互作用して該核酸の  
発現を阻害もしくは増強する化合物。

1 7、上記 1～3 に記載のポリペプチド又は蛋白質、上記 4～6 のいず  
20 れか 1 項に記載の核酸、上記 7 に記載のベクター、上記 8 に記載の形質  
転換体、上記 1 0 に記載の核酸プライマー、上記 1 1 に記載の抗体、又  
は上記 1 4～1 6 のいずれか 1 項に記載の化合物のうち、少なくともい  
ずれか 1 つを含有することを特徴とする、抗がん剤の治療に抵抗性であ  
る多剤耐性の治療に用いる医薬組成物。

25 1 8、上記 1～3 に記載のポリペプチド又は蛋白質の発現又は活性に関  
連した疾病の検査診断方法であって、試料中の (a) 該ポリペプチド又

## 6

は蛋白質をコードしている核酸、及び／又は（b）該ポリペプチド又は蛋白質をマーカーとして分析することを含む検査診断方法。

19、癌細胞の検査方法又は癌の診断方法である上記18の検査診断方法。

5 20、上記11に記載の抗体を用いることを特徴とする、上記1～3に記載のポリペプチド又は蛋白質の全部又は一部の発現、増加、減少、欠損等を検査する上記18又は19に記載の方法。

21、上記10に記載の核酸プライマーの少なくとも何れかの1つを用いて上記1～3に記載のポリペプチド又は蛋白質をコードする遺伝子を増幅させる工程を経て、上記1～3に記載のポリペプチド又は蛋白質を  
10 コードする遺伝子の全部又は一部の発現、変異、欠損又は挿入等を検査する上記18又は19に記載の方法。

22、癌抑制遺伝子レチノブラストーマ遺伝子（RB1 遺伝子）或いはその遺伝子産物（RB1 蛋白質）の全部又は一部の発現、増加、減少、変異、  
15 欠損又は挿入等を検査することを組み合わせることを特徴とする上記18～21に記載の方法。

23、多剤耐性遺伝子、（MDR1 遺伝子）の或いはその遺伝子産物（MDR1 蛋白質：P-糖蛋白質）の全部又は一部の発現、増加、減少、変異、欠損  
又は挿入等を検査することを組み合わせることを特徴とする上記18～  
20 22に記載の方法。

24、細胞増殖マーカー、Ki-67 蛋白質、の全部又は一部の発現、増加、減少等を検査することを組み合わせることを特徴とする上記18～23  
に記載の方法

25、上記23記載の方法を用いる癌細胞の薬剤感受性を検査する方法。

25 26、上記18～25に記載の方法に用いる検査診断試薬及びキット。

図面の簡単な説明

第1図は、ヒト RB1CC1 遺伝子と MDR1 遺伝子の発現の関連を調べたノーザンブロットの写真である。

第2図は、ヒト RB1CC1 蛋白質が核に存在していることを示すウエスタンブロットと細胞の免疫染色の写真である。

第3図は、マウス Rb1cc1 蛋白質が核に存在していることを示すウエスタンブロットと細胞の免疫染色の写真である。

第4図は、抗癌剤ドキソルビシン処理による細胞増殖の効果を調べた図である。

10 第5図は、抗癌剤ドキソルビシン処理による細胞増殖と RB1CC1 遺伝子の発現と RB1 遺伝子の発現の関連を調べたノーザンブロットの写真である。

第6図は、各種癌細胞における RB1CC1 遺伝子の発現と RB1 遺伝子の発現の関連を調べた RT-PCR 産物の電気泳動写真である。

15 第7図は、ヒト各種臓器における RB1CC1 遺伝子の発現と RB1 遺伝子の発現の関連を調べたノーザンブロットの写真である。

第8図は、マウス各種臓器における RB1CC1 遺伝子の発現と RB1 遺伝子の発現の関連を調べたノーザンブロットの写真である。

第9図は、RB1CC1 遺伝子導入による RB1 遺伝子発現効果を調べた  
20 RT-PCR 産物の電気泳動写真である。

第10図は、RB1 遺伝子プロモーター領域の転写活性に及ぼす RB1CC1 遺伝子誘導の効果を調べた結果の図である。

第11図は、各種の原発性乳癌における RB1CC1 遺伝子ローカスのヘテロ接合性の消失の検査結果の写真である。

25 第12図は、原発性乳癌における RB1CC1 遺伝子の変異を調べた RT-PCR 産物の電気泳動の写真と遺伝子配列解析結果の図である。

第 1 3 図は、原発性乳癌における RB1CC1 蛋白質と RB1 蛋白質の発現を調べたウエスタンブロットの写真である。

第 1 4 図は、原発性乳癌における RB1CC1 蛋白質と RB1 蛋白質の発現を調べた免疫組織染色の写真である。

5 第 1 5 図は、染色指標の RB1CC1 と、Ki-67 及び RB1 との相関を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

(新規蛋白質 RB1CC1)

10 本発明において提供される新規蛋白質 RB1CC1 をコードする核酸は、U-2 OS 骨肉腫細胞と MDR 変異誘導細胞の間で別々に発現されている遺伝子を検索し、配列表・配列番号 5 ~ 3 7 に記載の核酸プライマーを用いて、U-2 OS mRNA を鋳型として増幅し、その塩基配列及び該新規蛋白質の cDNA がコードするアミノ酸配列を決定し、新規なアミノ酸配  
15 列を有する物質として、その cDNA が取得されたものである。本発明の新規蛋白質 RB1CC1 の cDNA は、6.6-kb の長さを持ち、4782 ヌクレオチドのオープンリーディングフレーム (ORF) を含み、分子量 180kDa の 1594 個のアミノ酸からなる蛋白質をコードしていた。

ヒト新規蛋白質 RB1CC1 はコンセンサス核局在シグナル配列部位 (リ  
20 ジン-プロリン-アルギニン-リジン配列: KPRK)、ロイシンジッパーモチーフ配列部位及びコイル-コイル構造を有していた。ヒト新規蛋白質 RB1CC1 は DNA 結合転写機能を持つことが示唆された。

(マウス新規蛋白質 Rb1cc1)

25 マウス筋肉の mRNA を鋳型にして配列表の配列番号 5 3 ~ 8 3 に記載の核酸プライマーを用いて増幅・解析した。得られたマウス新規蛋白質

質 Rb1cc1 をコードする cDNA は 6518bp の鎖長であり、1588 アミノ酸をコードしている 4764bp のオープンリーディングフレーム (ORF) を持っていた。マウス新規蛋白質 Rb1cc1 の遺伝子はヒト新規蛋白質 RB1CC1 遺伝子と 89% の相同性を持っていた。マウス新規蛋白質

5 Rb1cc1 もヒトと同様コンセンサス核局在シグナル配列部位 (リジン-プロリン-アルギニン-リジン配列: KPRK)、ロイシンジッパーモチーフ配列部位及びコイル-コイル構造を有していた。マウス新規蛋白質 Rb1cc1 も DNA 結合転写機能を持つことが示唆された。

10 (新規蛋白質及び遺伝子の機能)

MDR における本発明の RB1CC1 遺伝子の役割を調べるために、親細胞 U-2 OS 細胞、MDR に変異した細胞 (U-2 OS/DX580) と MDR1 遺伝子を導入した U-2 OS 細胞 (U-2/DOXO35) に対してドキソルビシン (doxorubicin) 処理をした場合の RB1CC1 遺伝子の発現を比較したと

15 ころ、親細胞 U-2OS 細胞と遺伝子導入コントロール細胞 (U-2/Neo8) において、ドキソルビシン (doxorubicin) は RB1CC1 遺伝子の発現を低下させ、細胞死を誘導した。対照的に、MDR に変異した細胞においてはドキソルビシン (doxorubicin) 処理は RB1CC1 遺伝子の発現レベル、細胞生存期間又は細胞増殖に抑制効果を示さず、MDR1 遺伝子を有

20 する細胞では RB1CC1 遺伝子の発現を増加させた。これらの細胞では RB1CC1 遺伝子の発現と RB1 遺伝子の発現が相関し、両遺伝子の発現はこれらの細胞の増殖を持続させた。

本発明の RB1CC1 遺伝子と RB1 遺伝子の発現の関係を調べるために、U-2 OS ヒト骨肉種細胞の 5 種の MDR への変異株と 24 種のヒト腫瘍細胞 (10 種の骨肉種、4 種の肺癌、7 種の乳癌、3 種の血液癌) での両遺

25 伝子の発現を調べたところ、全ての細胞で RB1CC1 遺伝子の発現は RB1

遺伝子の発現と強く相関した。非腫瘍組織のノーザンブロット解析においても RB1CC1 遺伝子と RB1 遺伝子の発現は同様な相関を示した。

さらに、K562 細胞とジャーカット (Jurkat) 細胞において本発明の RB1CC1 遺伝子の外来性発現は RB1 遺伝子発現を増加させた。MDR1  
5 遺伝子の発現はこれらの細胞では検出できなかった。RB1CC1 遺伝子の誘導は RB1 遺伝子のプロモーターの転写活性も刺激した。RB1CC1 遺伝子の導入は RB1 遺伝子のプロモーターの刺激活性を通じて RB1 遺伝子の発現を上昇させた。

新規蛋白質 RB1CC1 のアミノ酸配列、その核局在性及びその発現パターンから、本発明の RB1CC1 遺伝子は分子中間体を通して直接或いは間  
10 接的に、RB1 遺伝子発現を増強させる転写因子である可能性がある。ヒト及びマウス由来 RB1 遺伝子のプロモーター配列の解析から Sp1 や ATF のような構成転写因子が存在する可能性は示されているが、RB1 遺伝子発現を直接制御する転写因子は知られていない。約 80% のヒトの  
15 癌においては RB1 遺伝子経路に存在する分子がその発癌機構に関連しており、RB1 遺伝子の制御不能が多くの人の癌に重要な役割をしている。

本発明のヒト及びマウスの RB1CC1 遺伝子は表 1 に示すようにヒトでは 74kb、マウスでは 57kb 以上の長さを有している 24 のエクソンと  
20 23 個のイントロンから構成されている。そしてエクソン 3 の部位に翻訳開始箇所がある。マウスにおけるこの遺伝子構造は、配列表・配列番号 84~132 に記載のプライマーを用いて明らかにした。この遺伝子の染色体上の局在部位を調べたところ、ヒトでは第 8 染色体上の 8q11.2 に、マウスでは第 1 染色体の 1A2-4 に存在していることがわかった。

(表 1)

表1 RBICCI 遺伝子の構造

エキソン				イントロン				
番号	核酸鎖長 (bp)	番号	核酸鎖長 (kb)	ヒト	マウス	スプライシング受容配列	ヒトの配列	スプライシング供与配列
1	358	1	11.2	9.1	11.2			GGGTTGCCGG gtaagtgtcg
2	115	2	1.8	1.3	1.8	tcttttccag TTTTCIGAGT	GTGCCIGACG gtaagtcaca	GTGCCIGACG gtaagtcaca
3	122	3	3.5	1.4	3.5	tttcttctag TAACGTGATC	CAGTGC AAC gtaagttgta	CAGTGC AAC gtaagttgta
4	127	4	0.1	0.2	0.1	ttttttggaag TGTGGCAGAC	TGCTGGGACG gtaggtattc	TGCTGGGACG gtaggtattc
5	171	5	3.8	7.0	3.8	aaaaatatag GATACAAATC	GCTTGCATTG gtaagatata	GCTTGCATTG gtaagatata
6	203	6	1.3	2.1	1.3	tcaaatatag GAAATGTATG	AACCTTACTCA giatgittgc	AACCTTACTCA giatgittgc
7	430	7	3.8	5.7	3.8	gtatttttaag TTTAGGAAC	TATGAGCAGG gtaagtaacg	TATGAGCAGG gtaagtaacg
8	171	8	0.5	6.3	0.5	tgtcatttag CTTGATCCAA	GCTTGCCTCAG gtaacctatt	GCTTGCCTCAG gtaacctatt
9	185	9	0.2	0.3	0.2	tttctcaag GGATTTTTAG	TCAGACTGAA gtaagtgatt	TCAGACTGAA gtaagtgatt
10	187	10	0.1	0.1	0.1	tattctctag GTGGTGTGC	CTACAGGGAG gtagcraagt	CTACAGGGAG gtagcraagt
11	82	11	0.1	0.3	0.1	cctctctctag TGGGCTGGTG	AAATTTATTA gtaagsttcc	AAATTTATTA gtaagsttcc
12	62	12	1.6	1.6	1.6	ctttatacag GGAAGTCTTT	TTCCITTTGT gtagsttatt	TTCCITTTGT gtagsttatt
13	104	13	0.3	0.8	0.3	tttggtagacag ACTCAAAAGC	CATTCCTCAG gtaaatgtca	CATTCCTCAG gtaaatgtca
14	127	14	0.1	0.1	0.1	tctgtttcag GGTCCCTTA	TGACAAAAG gcaaatcaa	TGACAAAAG gcaaatcaa
15	1901	15	10.0	10.1	10.0	tgttttccag GCATCTGTGA	TAGCAAAAAG gtaagaatta	TAGCAAAAAG gtaagaatta
16	166	16	1.8	2.9	1.8	aatttgaag TCCIGCCATT	GGACACACAG gtcctgtatct	GGACACACAG gtcctgtatct
17	109	17	0.1	0.1	0.1	cttztccag ACCAAATTTA	CGGGA TAAAAG gtltgactz	CGGGA TAAAAG gtltgactz
18	241	18	1.1	6.3	1.1	tgtccttcag ATTIGATAGA	TGTCGTACA gtaagstagg	TGTCGTACA gtaagstagg
19	55	19	1.0	1.0	1.0	tcacttttag AGAAATATT	GTTAGAACGA gtaagtaaat	GTTAGAACGA gtaagtaaat
20	48	20	3.0	4.4	3.0	ccacctgcaag ACATTCGAAT	TCAAAAGCTG gtaagattt	TCAAAAGCTG gtaagattt
21	59	21	2.1	2.3	2.1	ttttttttag ATGCTCAGA	CTATTAGAGA gtaagattt	CTATTAGAGA gtaagattt
22	137	22	2.0	3.5	2.0	ctttattcag TTTTCAGGTG	GGTGA GGGTG gtaagtgta	GGTGA GGGTG gtaagtgta
23	71	23	1.6	0.8	1.6	atttcattag CTTCAGGTGC	AGCCAAAAG gtaaaaaaga	AGCCAAAAG gtaaaaaaga
24	1401	24	1379			tccctcttag GCACAAAACA		

エキソン配列は大文字で、イントロン配列は小文字で示した。

11/1/11

本発明の RB1CC1 遺伝子の変異を検出するために、35 例の原発性乳癌から調製した cDNA を用いて RB1CC1 遺伝子を解析したところ、7 例の癌で 9 種類の変異を確認した。9 種類全ての変異はエクソン 3 - 2 4 での抜け落ちの存在であり、断片化した新規蛋白質 RB1CC1 はコンセンサス核局在シグナル配列部位、ロイシンジッパーモチーフ配列部位及びコイル-コイル構造が失われており、基本的な新規蛋白質 RB1CC1 の機能がないものであった。

2 例の原発乳癌 (MMK3 と 6) では両方の対立遺伝子において複数のヘテロ接合体の抜け落ちがあり、抜け落ちを持つ RB1CC1 遺伝子からは明らかに断片化された新規蛋白質 RB1CC1 が得られることが予測される。MMK6 ではエクソン 3 - 2 4 (ヌクレオチド、534-5322) とエキ

15

20

25

ソン 9-23 (ヌクレオチド、1757-5187) での抜け落ちがあり、コドン 4 と 411 でそれぞれフレームシフトをしていた。MMK3 においては、エキソン 3-24 (ヌクレオチド、535-5324) とエキソン 5-11 (ヌクレオチド、849-2109) での抜け落ちがあり、前者ではコドン 4 での終

5 止が起こり、後者ではコドン 109 でのフレームシフトを引き起こし 122 アミノ酸の断片蛋白が得られる結果になっていた。癌試料のゲノム DNA の PCR ではそれぞれの抜け落ち変異に対応する変則な生成物が検出されたのに対して、胚細胞 DNA では変異が認められないことから、これらの変異は体細胞で見出されるものである。これらの癌では新規蛋白質

10 RB1CC1 が検出されず、そして RB1 蛋白質が MMK6 では欠如しており、MMK3 では優位に減少していた。両方とも染色体の RB1 ローカスでのヘテロ接合性の消失はなかった。一方、RB1CC1 遺伝子の変異がない癌試料 (MMK12 と 29) では新規蛋白質 RB1CC1 と RB1 蛋白質の両方が存在していた。このことは RB1CC1 遺伝子の不活性化変異は RB1 遺伝

15 子の発現を不十分にし、RB1 遺伝子経路の制御不能を促進し、そして癌発生を引き起こすことが示唆される。

5 例の他の乳癌 (MMK1、15、31、38 及び 40) においても、機能を持たない断片蛋白質を生成する RB1CC1 遺伝子内での抜け落ちを検出した。これらの変異は全てヘテロ接合体であったが、RB1CC1 ローカス

20 でのヘテロ接合性の消失も存在しており、すべてのケースで RB1CC1 遺伝子の発現もないことより、両方の対立遺伝子で機能消失が起きていることが示唆された。これらの癌において RB1 蛋白質の発現が RB1CC1 遺伝子と RB1 遺伝子の変異がないケース (MMK12 と 29) に比較して明らかに減少していた。これらの 5 例 (MMK1、15、31、38 及び 40)

25 では RB1 ローカスでのヘテロ接合性の消失は認められなかった。

本発明の RB1CC1 遺伝子のホモ接合不活性化は乳癌の発生に関連し

ている。調べた原発乳癌の約 20%において、明らかに機能を持たない断片の新規蛋白質 RB1CC1 を生成する RB1CC1 遺伝子の抜け落ち変異が認められた。これらの癌の 2 例は RB1CC1 遺伝子内部での複数のヘテロ接合の抜け落ちであり、残りは RB1CC1 遺伝子のヘテロ接合性の消失であった。7 例全てで新規蛋白質 RB1CC1 は検出できないが、RB1CC1 遺伝子の変異のない癌では蛋白質が発現されていた。RB1 蛋白質は RB1 ローカスでのヘテロ接合の消失がないにも拘わらず、7 例全てで存在しないか又は有意に減少していた。

新規蛋白質 RB1CC1 は RB1 遺伝子の発現を増加させる方向に制御しており、乳癌において RB1CC1 遺伝子は腫瘍抑制因子として働いている。そして、RB1CC1 遺伝子の異常・不活化は、RB1 遺伝子の発現低下をもたらし、癌の発生・進行を引き起こす。

上述のように RB1CC1 遺伝子及び蛋白質の発現が RB1 遺伝子の発現と相関していることから、本発明の RB1CC1 遺伝子及び蛋白質検査を RB1 遺伝子の発現又は蛋白質の発現と組み合わせて検査することによってより有用な癌細胞又は癌の診断方法が提供される。

さらに多剤耐性遺伝子 (MDR1) 又は蛋白質と組み合わせる検査によって、薬剤の癌又は癌細胞に対する効果を調べることができ、抗癌剤の選択、効果の予測に有用な検査方法又は診断方法が提供される。

20

(ポリペプチド又は蛋白質)

本発明の新規蛋白質は、配列表の配列番号 1 又は 2 に示すアミノ酸配列からなるポリペプチド又は蛋白質である。さらに本発明のポリペプチド又は蛋白質は、この配列表の配列番号 1 又は 2 に示すポリペプチドの部分配列を有するポリペプチドから選択される。その選択されるポリペプチドは、配列表の配列番号 1 又は 2 に示すポリペプチドと、好ましく

25

は約 70%以上、より好ましくは約 80%以上、さらに好ましくは約 90%をこえる相同性を有する。この相同性をもつポリペプチドの選択は、例えば RB1 遺伝子又は RB1 蛋白質の発現を指標にして行うことができる。

アミノ酸配列の相同性を決定する技術は、自体公知であり、例えばアミノ酸配列を直接決定する方法、推定される核酸の塩基配列を決定後これにコードされるアミノ酸配列を推定する方法等を使用することができる。

本発明のポリペプチドは、配列表の配列番号 1 又は 2 に示すアミノ酸配列からなるポリペプチド又は蛋白質の部分配列を有するポリペプチドから選択されるアミノ酸配列を試薬・標準物質・免疫原として利用できる。その最小単位としては、少なくとも約 5 個以上、好ましくは少なくとも約 8~10 個以上、さらに好ましくは少なくとも約 11~15 個以上のアミノ酸で構成されるアミノ酸配列からなり、免疫学的にスクリーニングしうるポリペプチドを本発明の対象とする。

さらに、このように特定されたポリペプチドをもとにして、RB1 遺伝子又は RB1 蛋白質の発現を指標とすることにより、1 ないし数個のアミノ酸の欠失・置換・付加などの変異あるいは誘発変異を有するアミノ酸配列からなるポリペプチドも提供することができる。欠失・置換・付加あるいは挿入の手段は自体公知であり、例えば Ulmer の技術 (Science, 219:666, 1983) を利用することが出来る。さらに、これら利用できるペプチドは、その構成アミノ基もしくはカルボキシル基などを修飾するなど、機能の著しい変更を伴わない程度に改変が可能である。

本発明のポリペプチドは、それら自体で、新規蛋白質 RB1CC1 の機能を制御するための医薬組成物に使用できる。また、本発明のポリペプチド又は蛋白質は、新規蛋白質 RB1CC1 の機能を制御しうる化合物、例えば、阻害剤、拮抗剤、賦活剤等を得るためのスクリーニングや、新規蛋

白質 RB1CC1 に対する抗体の取得に用いることができる。さらに、本発明のポリペプチド又は蛋白質は、試薬・標準品としても使用可能である。

(核酸)

- 5 本発明の核酸及びその相補鎖は、配列表の配列番号 1 又は 2 に記載のアミノ酸配列をコードする、配列表の配列番号 3 又は 4 に記載の核酸及び該核酸に対する相補鎖、これらの核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションする核酸、及びこれらの核酸のうち少なくとも 15 個の連続した塩基配列を有しかつコードするペプチドが新規蛋白質
- 10 RB1CC1 に対する抗体と結合能を有する核酸を意味する。核酸として DNA を代表例にとると、「DNA にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする DNA」とは、自体公知の方法で例えば *Molecular Cloning: A laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) に記載の方法によって得ることができる。ここで、「ストリンジェントな
- 15 条件下でハイブリタイズする」とは、例えば、 $6 \times \text{SSC}$ 、 $0.5\% \text{SDS}$  及び  $50\%$ ホルムアミドの溶液中で  $42^\circ\text{C}$ にて加温した後、 $0.1 \times \text{SSC}$ 、 $0.5\% \text{SDS}$  の溶液中で  $68^\circ\text{C}$ にて洗浄する条件でも依然として陽性のハイブリタイズのシグナルが観察されることを表す。

- 本発明の核酸は、配列表の配列番号 1 又は 2 に記載のアミノ酸配列を
- 20 コードする、配列表の配列番号 3 又は 4 の核酸の情報から選択される相同鎖及び相補鎖を意味し、指定されたヌクレオチド配列の領域に対応する少なくとも約 15~20 個以上の配列からなる核酸配列及び該相補鎖を意味する。この有用な核酸配列の決定は、公知の蛋白質発現系、例えば無細胞蛋白質発現系を利用して簡易に発現蛋白質の確認を行い、その生
- 25 理活性新規蛋白質 RB1CC1 に対する抗体との結合性を指標にして選別することにより行うことができる。無細胞蛋白質発現系としては、例え

ば胚芽、家兎網状赤血球等由来のリボソーム系の技術を利用できる (Nature, 179, 160~161, 1957)。

これらの核酸は、いずれも本発明の新規蛋白質 RB1CC1 及び本発明のポリペプチド又は蛋白質の製造に有用な遺伝子情報を提供するものであり、これらをコードする遺伝子等の核酸、又は mRNA 検出のためのプローブもしくはプライマーとして、あるいは遺伝子発現を制御するためのアンチセンスオリゴマーとして使用することができる。さらに、本発明の核酸は、核酸に関する試薬・標準品としても利用できる。

#### 10 (形質転換体)

上記のような無細胞蛋白質発現系以外にも、大腸菌、酵母、枯草菌、昆虫細胞、動物細胞等の自体公知の宿主を利用した遺伝子組換え技術によって、本発明からなる新規蛋白質 RB1CC1 及びその由来物からなるポリペプチドを提供可能である。

15 形質転換は、自体公知の手段を応用することができ、例えばレプリコンとして、プラスミド、染色体、ウイルス等を利用して宿主の形質転換を行う。より好ましい系としては、遺伝子の安定性を考慮するならば、染色体内へのインテグレート法があげられるが、簡便には核外遺伝子を用いた自律複製系を利用する。ベクターは、宿主の種類により選択され、  
20 発現目的の遺伝子配列と複製そして制御に関する情報を担持した遺伝子配列とを構成要素とする。構成要素は宿主が原核細胞か真核細胞かによって選択し、プロモーター、リボソーム結合部位、ターミネーター、シグナル配列、エンハンサー等を自体公知の方法によって組み合わせて使用する。

25 形質転換体は、自体公知の各々の宿主の培養条件に最適な条件を選択して培養することにより、本発明のポリペプチドの製造に用いることが

できる。培養は、発現産生される新規蛋白質 RB1CC1 及びその由来物からなるポリペプチドの生理活性、特に RB1 遺伝子誘導活性又は DNA 結合性転写因子活性を指標にして行ってもよいが、培地中の形質転換体量を指標にして継代培養又はバッチによって行う。

## 5

(新規蛋白質 RB1CC1 及びその由来物の回収)

培地からの新規蛋白質 RB1CC1 及びその由来物からなるポリペプチドの回収は、新規蛋白質 RB1CC1 に対する抗体との結合性を指標にして、分子篩、イオンカラムクロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィー等を組み合わせるか、溶解度差にもとづく硫酸、アルコール等の分画手段によっても精製回収できる。

10

(抗体)

抗体は、本発明の新規蛋白質 RB1CC1 及びその由来物からなるポリペプチドの抗原決定基を選別し、作成する。抗原決定基は、少なくとも5個、より好ましくは少なくとも8~10個のアミノ酸で構成される。このアミノ酸配列は、必ずしも配列表の配列番号1又は2と相同である必要はなく、蛋白質の立体構造上の外部への露出部位であればよく、露出部位が不連続部位であれば、該露出部位について連続的なアミノ酸配列であることも有効である。抗体は、免疫学的に新規蛋白質 RB1CC1 及びその由来物からなるポリペプチドを認識する限り特に限定されない。この認識の有無は、公知の抗原抗体結合反応によって決定する。

15

20

抗体を産生するためには、本発明の新規蛋白質 RB1CC1 及びその由来物からなるポリペプチドを、アジュバントの存在又は非存在下で、単独又は担体に結合して、動物に対して体液性応答及び／又は細胞性応答等の免疫誘導を行う。担体は、自身が宿主に対して有害作用をおこさなけ

25

れば特に限定されず、例えばセルロース、重合アミノ酸、アルブミン等が例示される。免疫する動物としては、マウス、ラット、兎、やぎ、馬等が好適に用いられる。ポリクローナル抗体は、自体公知の血清からの抗体回収法によって取得する。

- 5       モノクローナル抗体を生産するためには、上記の免疫手段が施された動物から抗体産生細胞を回収し、自体公知の永久増殖性細胞への形質転換手段を導入することによって行われる。

- ポリクローナル抗体又はモノクローナル抗体は、直接本発明からなる新規蛋白質 RB1CC1 と結合し、その活性を制御可能であり、新規蛋白質
- 10 RB1CC1 と RB1 遺伝子又は蛋白質の発現の制御を容易に行うことができる。そのため、RB1 遺伝子産物と新規蛋白質 RB1CC1 が関連する疾患の治療・予防のために有用である。

(スクリーニング)

- 15       かくして調製された新規蛋白質 RB1CC1 及びその由来物からなるポリペプチド、これらをコードする核酸及びその相補鎖、これらのアミノ酸配列及び塩基配列の情報に基づき形質転換させた細胞、並びに新規蛋白質 RB1CC1 及びその由来物からなるポリペプチドを免疫学的に認識する抗体は、単独又は複数手段を組み合わせることによって、新規蛋白質
- 20 質 RB1CC1 及びその由来物からなるポリペプチドとの結合性、新規蛋白質 RB1CC1 の機能、又は新規蛋白質 RB1CC1 の発現に対する阻害剤もしくは賦活剤のスクリーニングに有効な手段を提供する。すなわち、本発明のポリペプチド、本発明の抗体の少なくともいずれか1つを用いることで、本発明のポリペプチド又は蛋白質と RB1 遺伝子又は蛋白質の発
- 25 現を阻害もしくは増強する化合物を得るためのスクリーニング方法が、本発明の核酸、本発明のベクター、本発明の形質転換体、本発明の抗体

の少なくともいずれか1つを用いることで本発明の核酸と相互作用し該核酸の発現を阻害もしくは増強する化合物のスクリーニング方法が、本発明のポリペプチド又は蛋白質、本発明の抗体の少なくともいずれか1つを用いることで本発明のポリペプチド又は蛋白質の RB1 遺伝子又は蛋白質の発現制御機能を阻害もしくは増強する化合物のスクリーニング方法が提供可能である。例えば、ポリペプチドの立体構造に基づくドラッグデザインによる拮抗剤の選別、蛋白質発現系を利用した遺伝子レベルでの発現調整剤の選別、抗体を利用した抗体認識物質の選別等が、自体公知の医薬品スクリーニングシステムにおいて利用可能である。

10

(化合物、医薬組成物)

上記のスクリーニング方法で得られた化合物は、新規蛋白質 RB1CC1 及びその由来物からなるポリペプチドの RB1 遺伝子又は蛋白質の発現制御機能を調節する阻害剤、拮抗剤、賦活剤等の候補化合物として利用可能である。また、遺伝子レベルでの新規蛋白質 RB1CC1 及びその由来物からなるポリペプチドの発現に対する阻害剤、拮抗剤、賦活剤等の候補化合物としても利用可能である。上記の阻害剤、拮抗剤、賦活剤等の候補化合物としては、蛋白質、ポリペプチド、抗原性を有さないポリペプチド、低分子化合物等が挙げられ、好ましくは低分子化合物である。

かくして選別された候補化合物は、生物学的有用性と毒性のバランスを考慮して選別することによって、骨肉腫、白血病、更に、乳腺、前立腺、肺、及び大腸由来の腫瘍等の治療に用いる医薬組成物として調製可能である。また、本発明からなる新規蛋白質 RB1CC1 及びその由来物からなるポリペプチド、これらをコードする核酸及びその相補鎖、これらの塩基配列を含むベクター並びに、新規蛋白質 RB1CC1 及びその由来物からなるポリペプチドを免疫学的に認識する抗体は、それら自体が、新

25

規蛋白質 RB1CC1 と RB1 遺伝子産物との相互作用に対する阻害・拮抗・賦活等の機能を有する、乳癌、前立腺癌等の治療に用いる医薬手段として使用できる。ここで、乳癌、前立腺癌等とは、良性腫瘍ならびに悪性腫瘍を含み、なお、製剤化にあたっては、自体公知のポリペプチド、蛋白質、核酸、抗体等、各対象に応じた製剤化手段を導入すればよい。

本発明からなる新規蛋白質 RB1CC1 及びその由来物からなるポリペプチド、これらをコードする核酸及びその相補鎖、これらの塩基配列を含むベクター並びに、新規蛋白質 RB1CC1 及びその由来物からなるポリペプチドを免疫学的に認識する抗体は、本発明のポリペプチドの発現又はその活性が関連する疾患、例えば、本発明の新規蛋白質 RB1CC1 の発現又は RB1 遺伝子又はその産物との相互作用に関連した疾患等の検査診断方法として使用することができる。特に、乳癌、前立腺癌等の診断マーカー及び／又は試薬等の検査診断方法として有用である。診断は、新規蛋白質 RB1CC1 をコードしている核酸配列との相互作用・反応性を利用して、相応する核酸配列の存在量を決定すること、及び／又は新規蛋白質 RB1CC1 について生体内分布を決定すること、及び／又は新規蛋白質 RB1CC1 の試料中での存在量を決定することによって行う。詳しくは、新規蛋白質 RB1CC1 を診断マーカーとして検定する。その測定法は、自体公知の抗原抗体反応系、酵素反応系、PCR 反応系等を利用すればよい。さらに、検査診断の方法に用いる試薬キットなども含まれる。

(実施例)

以下、本発明を実施例に基づき具体的に説明するが、本発明は下記の実施例に限定されない。

25

(実施例 1 ヒト RB1CC1 の cDNA)

MDRに関連する遺伝子を同定するために、U-2 OS骨肉腫細胞とMDR変異誘導細胞の間で別々に発現されている遺伝子を検索し新規ヒト遺伝子を同定した。配列表の配列番号5と26のプライマー対(CC1-S1及びCC1-AS1)及び配列番号6と25のプライマー対(CC1-S2及び

5 CC1-AS2)を用いてクローニングし、更に配列番号7～24のプライマーを使ってその核酸配列を決定した。また、市販のcDNA末端配列迅速増幅キット(RACEキット、ロッシュ社製)を用い、配列番号27～37のプライマーを使って、5'末端及び3'末端cDNAの配列を同定した。

DNAとそのコードされるアミノ酸配列はDNAsis ver.3.2 シークエンス

10 アナライザー(日立ソフトウェア製)とPSORT II (<http://www.yk.rim.or.jp/~aisoai/molbio-j.html>)を用いて解析した。その結果、そのcDNAは、6.6-kbの長さを持ち、4782ヌクレオチドのオープンリーディングフレーム(ORF)を含み、180kDaの分子量で1594個のアミノ酸からなる蛋白質をコードしていた。

15

(実施例2 マウス Rb1cc1 の cDNA)

マウス筋肉のmRNAを鋳型にRT-PCR法を用いて増幅させ、配列表の配列番号53と73のプライマー対(MCC1-S1及びMCC1-AS1)及び配列番号54と72のプライマー対(MCC1-S2及びMCC1-AS2)を

20 使ってクローニングした。そして更に配列表・配列番号55～71のプライマーを使ってその核酸配列を決定した。また、配列表の配列番号74～77のプライマー(MCC-ASR1、MCC-ASR2、MCC-ASR3及びINTRON1ASR)を5'末端RACE用プライマー、配列番号78～83の

プライマー(MCC-SR1、MCC-SR2、MCC3-S3、MCC3-S4、MCC3-AS2

25 及びMCC3-AS3)を3'末端RACE用プライマーとしてcDNAの迅速増幅を行った以外は実施例1と同様に操作してマウス新規蛋白質 Rb1cc1

の cDNA を同定した。マウス新規蛋白質 Rb1cc1 をコードする cDNA は 6518bp の鎖長であり、1588 アミノ酸をコードしている 4764bp のオープンリーディングフレーム (ORF) を持っている。マウス新規蛋白質 Rb1cc1 の遺伝子はヒト新規蛋白質 RB1CC1 遺伝子と、核酸レベルにて  
5 86%、蛋白レベルにて 89% の相同性を持っていた (配列番号 1 ~ 4 参照)。

(実施例 3 本発明の RB1CC1 遺伝子と MDR1 遺伝子の分析)

親細胞 U-2 OS 細胞と数種の MDR 変異細胞における RB1CC1 遺伝子  
と MDR1 遺伝子の発現レベルをノーザンブロットで解析した。RB1CC1  
10 遺伝子の解析用プローブは RB1CC1 遺伝子配列のヌクレオチド番号  
4190~4654 の間にハイブリダイズするものを用い、MDR1 遺伝子には  
MDR1 遺伝子のヌクレオチド番号 834~1119 にハイブリザイズするプ  
ローブを用いた。プローブはデオキシシトシン-3-リン酸の  $\alpha$  位のリンを  
放射性同元素に置換した  $\alpha$ -32P-dCTP でラベルして用いた。グリセロア  
15 ルデヒド-3-リン酸脱水素酵素 (GAPDH) を mRNA 発現の指標として用  
いた。その結果両遺伝子の発現レベルは逆相関した (第 1 図)。

(実施例 4 抗体の調製とウエスタンブロット解析)

本発明の新規蛋白質 RB1CC1 のアミノ酸配列 642~658 (RB1CC-642)、  
20 744~757 (RB1CC-744) 及び 1104~1118 (RB1CC-1104) の 3 種類の  
合成ポリペプチドを調製し、それぞれのポリペプチドのアミノ末端にシ  
ステイン残基を導入したものを、ウサギに通常の方法で免疫し抗体を得  
た。U-2 OS 細胞の核成分と細胞質成分をそれぞれ SDS-PAGE 後、調製  
した抗体を用いてウエスタンブロットによる解析を行った。その結果、  
25 分子量 180kDa の RB1CC1 蛋白質が核に存在していることが示された  
(第 2 図)。

マウス NIH3T3-3 細胞の核成分と細胞質成分を同様に電気泳動後、RB1CC-642 抗体を用いてウエスタンブロット解析した。同時に抗スタスミンウサギ抗体を用いてスタスミンの検出も行った。その結果、Rb1cc1 蛋白質は核に局在し、スタスミンは細胞質に存在していることが示された。さらに同細胞を各抗体による免疫細胞染色を行い比較したところ、RB1CC-642 抗体では核が染色され、一方抗スタスミンウサギ抗体では細胞質が染色された (第 3 図)。

以上の結果、本発明の新規蛋白質 RB1CC1 は哺乳動物細胞の核に存在することが示された。

10

(実施例 5 本発明の RB1CC1 遺伝子の発現に対する抗癌剤の効果)  
親細胞 (U-2 OS)、MDR に変異した細胞 (U-2 OS/DX580) と MDR1 遺伝子を導入した U-2 OS 細胞 (U-2/DOXO35) に対してドキソルビシン (doxorubicin) 処理をした 4 種の細胞について、抗癌剤の影響を調べた。抗癌剤ドキソルビシン (doxorubicin)、450ng/mL の存在下での細胞増殖の影響を調べた。その結果、第 4 図に示すように親細胞 U-2 OS 細胞と遺伝子導入コントロール細胞 (U-2/Neo8) では抗癌剤によって細胞増殖が抑えられるのに対して、MDR に変異した細胞 (U-2 OS/DX580) と MDR1 遺伝子を導入した U-2 OS 細胞 (U-2/DOXO35) の場合には抗癌剤の効果はなく細胞増殖が 120 時間以上続いた (第 4 図)。

上記の実験で得られた各経時的に得られた細胞の mRNA 発現レベルの解析を行った。本発明の新規遺伝子 RB1CC1 遺伝子、RB1 遺伝子及び MDR1 遺伝子を、RB1 遺伝子の発現レベルをヒト RB1 mRNA のヌクレオチド配列 336~675 の部位にハイブリダイズするプローブを用いて検出した以外は実施例 3 と同様にそれぞれ解析した。その結果を第 5 図に示した。抗癌剤の効果認められた親細胞 U-2 OS 細胞と遺伝子導入

コントロール細胞 (U-2/Neo8) では、経時的に RB1CC1 遺伝子の発現が低下していた。対照的に、MDR に変異した細胞 (U-2 OS/DX580) と MDR1 遺伝子を導入した U-2 OS 細胞 (U-2/DOXO35) 細胞においてはドキシソルビシン (doxorubicin) 処理によって RB1CC1 遺伝子の発現レ  
5 ベルは抑制されず、RB1CC1 遺伝子の発現が増加した。これらの細胞では RB1CC1 遺伝子の発現と RB1 遺伝子の発現が相関していた (第 5 図)。

(実施例 6 本発明の RB1CC1 遺伝子と RB1 遺伝子の発現)

種々の癌細胞における RB1CC1 遺伝子と RB1 遺伝子の発現を半定量  
10 RT-PCR 法によって調べた。用いた細胞株は、SARG、IOR/OS9、10、14、15、18、MOS、(これらは進行したヒト骨肉種の手術試料から得た)、Saos-2、HOS、MCF-7、T-47D、BT-20、SK-BR3、ZR75-1、MDA-MB-231、Daudi、Jurkat、K562 (これらはアメリカン タイプ カルチャー コ  
レクションより購入)、NZK-K1 (これは 46 才女性の乳癌組織より樹立  
15 した)、LK2、QG56、EBC1 及び SBC2 (これらは愛知ガンセンターの成田達彦博士より分与された) である。各細胞株より 2  $\mu$ g の RNA を抽出し、RT-PCR を 22-30 サイクルかけて増幅した。RB1 遺伝子用のプライマーは公知のプライマーを合成して用いた (Sauerbrey ら、1996 年)。RB1CC1 増幅用プライマー対は配列表・配列番号 19 及び 20 (CC1-S  
20 と CC1-AS) の組み合わせを用いた。コントロールとして  $\beta$ 2 ミクログロブリンを用いた。これら全ての細胞で RB1CC1 遺伝子の発現は RB1 遺伝子の発現と強く相関した。正常リンパ球 1 例と 6 例の癌細胞 T-47D、MCF7、NZK-K1、Daudi、K562、Jurkat の結果を第 6 図に示した (第 6 図)。

25

(実施例 7 臓器での本発明の RB1CC1 遺伝子と RB1 遺伝子の発現)

ヒトの脳、心臓、骨格筋、大腸、胸腺、脾臓、腎臓、肝臓、小腸、胎盤、肺、リンパ球の各非腫瘍組織中に発現している RB1CC1 遺伝子と RB1 遺伝子を市販の MTN Blots (Clontech 社製) を用いてノーザンブロット解析によって行った。その結果を第 7 図に示した。心臓及び骨格筋では両遺伝子は強く発現しており、大腸、小腸、肺及びリンパ球では発現は弱かった。しかし、RB1CC1 遺伝子と RB1 遺伝子の発現は相関していた。一方マウスの心臓、脳、脾臓、肺、肝臓、筋肉、腎臓、睾丸の各組織中に発現している Rb1cc1 遺伝子をノーザンブロット解析した。その結果を第 8 図に示した。心臓では 6.2-kb と 6.8-kb の転写産物が強く発現しており、腎臓、肝臓及び筋肉で若干の発現が認められた。睾丸では 6.2-kb の発現が主であり、肺及び脾臓では発現は弱かった(第 7 図、第 8 図)。

(実施例 8 本発明の RB1CC1 遺伝子導入による RB1 遺伝子の発現)

15 実施例 6 で示した細胞の中で RB1CC1 遺伝子及び RB1 遺伝子の両方が弱い発現レベルであった Jurkat 及び K562 細胞に RB1CC1 遺伝子を外から導入して、RB1 遺伝子の発現レベルの変化を調べた。RB1CC1 分子の完全なコード領域を含む 4.9-kb を pCR3.1-Uni ベクター (Invitrogen 社製) に組み込み、クローニングして RB1CC1 発現ベクター (pCR-RB1CC) を調製した。調製した発現ベクターを K562 及び Jurkat 細胞に組み込み RB1CC1 形質転換細胞を調製した。対照として pCR3.1-Uni ベクターに lac Z 遺伝子を組み込んだものを調製した。親細胞と形質転換細胞 (RB1CC1 遺伝子導入細胞) のそれぞれの RB1CC1 遺伝子と RB1 遺伝子の発現レベルを実施例 6 と同様に操作して調べた。

25 その結果を第 9 図に示した。未転換の細胞及び lac Z 遺伝子を組み込んだ細胞では RB1CC1 遺伝子及び RB1 遺伝子ともに発現は弱い、

RB1CC1 遺伝子を組み込んだ細胞では RB1CC1 遺伝子はもとより RB1 遺伝子も強く発現されていることが判り、RB1CC1 遺伝子の導入（外来性発現）により RB1 遺伝子の発現も誘導されることが示された（第 9 図）。

- 5       （実施例 9   本発明の RB1CC1 遺伝子の RB1 遺伝子プロモーター転写活性）

RB1CC1 遺伝子の導入が RB1 遺伝子のプロモーター領域の転写活性を増強制御していることを調べた。約 2-kb の RB1 プロモーター領域の遺伝子をプライマー対、5'-GAA GAT CTT TGA AAT TCC TCC TGC  
10 ACC A-3' (Bgl.RbPro-S) と 5'-CCC AAG CTT AGC CAG CGA GCT  
GTG GAG-3' (Hind.RbPro-AS) で増幅させ、PicaGene Basic ベクター  
2 (東洋インク製) に組み込んだ。そして、RB1 プロモーターが蛍ルシ  
フェラーゼの発現を支配している pGV-RbPro ベクターを調製した。調  
製した pGV-RbPro ベクターはさらに、内部コントロールとしてシーパ  
15 ンジェルシフェラーゼ遺伝子をコードする pRL-SV40 で重転換させて、  
K562 細胞に LIPOFECTAMINE PLUS 試薬 (GIBCO 社製) を用いて組  
み込んだ。48 時間後に東洋インク社製の 2 重ルシフェラーゼ分析システ  
ムを用いて分析したところ、RB1CC1 遺伝子を導入した K562 細胞では  
コントロールの lac Z を組み込んだ K562 細胞に比べて強いルシフェラ  
20 ーゼ活性を示し、RB1CC1 遺伝子の導入が RB1 遺伝子プロモーターの  
転写活性を強めることが判った (第 10 図)。

(実施例 10   原発性乳癌における RB1CC1 遺伝子のローカス  
(D8S567) でのヘテロ接合性の消失)

- 25       癌組織の DNA 試料及び同一患者のゲノム DNA を PCR により増幅し  
た試料を尿素変性 8% ポリアクリルアミドゲル電気泳動により解析した。

電気泳動後、銀染色により得られた結果を第 11 図に示した。何れの患者でもゲノム DNA では 2 本のバンドが認められ、ヘテロ接合性が保持されているのに対して、5 例の癌組織の DNA で 1 本のバンドしか検出されず、ヘテロ接合性の消失を認めた (第 11 図)。

5

(実施例 11 乳癌における本発明の RB1CC1 遺伝子の変異解析)

実施例 1 で用いた配列番号 6 及び 25 のプライマー対 (CC1-S2 と CC1-AS2) により ELONGASE システム (GIBCO 社製) を用いて増幅した cDNA 試料を、ABI PRISM310 型遺伝子解析装置、及び配列表・  
10 配列番号 7 ~ 24 のプライマーを用いて、遺伝子配列を解析することにより RB1CC1 遺伝子の変異を同定した。その結果 35 例の乳癌中 7 例の変異例を確認し、9 種類の変異型を確認した。更にこれを配列番号 38 ~ 52 のプライマーを使って再確認した。その結果を表 2 に示した。

(表 2)

15

20

25

表2 原発性乳癌におけるRB1CCI遺伝子の変異

試料名	ヌクレオチド変異	存在部位 (エキソン)	予測される 影響	ゲノム DNA	RB1CCI遺伝子の状態		RB1の状態	
					対立遺伝子	蛋白質	LOH	蛋白質
MMK3	c.11_4800del	3-24	Y4fsX4	天然型	複数ヘテロ結合欠損	(-)	(-)	↓↓
	c.325_1585del	5-11	P109fsX122					
MMK6	c.10_4798del	3-24	Y4fsX48	天然型	複数ヘテロ結合欠損	(-)	(-)	(-)
	c.1233_4633del	9-23	D411fsX431					
MMK1	c.957_4785del	7-24	N319fsX368	天然型	ヘテロ接合性消失	(-)	(-)	↓↓
MMK15	c.1635_4719del	12-24	S545fsX557	天然型	ヘテロ接合性消失	(-)	(-)	(-)
MMK31	c.212_4188del	5-24	171fsX111	天然型	ヘテロ接合性消失	(-)	(-)	(-)
MMK38	c.241_4621del	5-22	C81fsX99	天然型	ヘテロ接合性消失	(-)	(-)	↓↓
MMK40	c.591_4678del	7-23	S197fsX212	天然型	ヘテロ接合性消失	(-)	(-)	↓↓

(-): absent, ↓↓: significantly decreased.  
LOH: ヘテロ接合性消失

## (実施例 1 2)

実施例 1 1 で解析した試料のうち RB1CC1 遺伝子に変異の求められた MMK6 と認められなかった MMK29 について PCR 産物を分析した結果とそれに対応する遺伝子配列解析結果を第 1 2 図に示した。その結果、  
5 変異のない MMK29 では 4.9-kb の遺伝子が発現されているのに対して変異のある MMK6 では 4.9-kb の発現は認められず断片遺伝子 (1456bp と 98bp) の発現が認められた (第 1 2 図)。

## (実施例 1 3 ウエスタンプロットによる解析)

10 実施例 1 1 で解析した試料のうち RB1CC1 遺伝子に変異を認めた 3 種の癌 (MMK6、MMK40、MMK38) 及び変異を認めなかった 2 例 (MMK12、MMK29) について、新規蛋白質 RB1CC1 と RB1 蛋白質の発現をウエスタンプロットで確認した。抽出蛋白質を 5%SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動した後、PVDF メンブランに転写し、実施例 4 で調製した  
15 抗ヒト RB1CC1 抗血清 ( $\alpha$ -RB1CC-642) を反応させた。RB1 蛋白質は抗 RB1 モノクローナル抗体 (G3-245;PharMingen 社製) を反応させた。反応後、検出は ECL 試薬 (Amersham 社製) で行った。その結果を第 1 3 図に示した。変異のない MMK12 と MMK29 においては 180kDa の分子量を持つ新規蛋白質 RB1CC1 と 110~116kDa の RB1 蛋白質の両  
20 蛋白質が発現しているのに対して、変異のある 3 例では何れも両蛋白質の発現は認められなかった (第 1 3 図)。

## (実施例 1 4 免疫組織染色)

実施例 1 1 で解析した試料のうち RB1CC1 遺伝子に変異を認めた 2  
25 種の癌 (MMK3、MMK6) 及び変異を認めなかった 1 例 (MMK12) の免疫組織染色を行った。反応させる抗体は実施例 1 3 と同じ抗体を用い、

それぞれの癌試料から得たパラフィン固定ブロックより調製した組織切片に抗体を反応させた。第 1 4 図に示したように新規蛋白質 RB1CC1 と RB1 蛋白質の発現レベルは相関しており、RB1CC1 遺伝子に変異を認めた 2 種の癌 (MMK3、MMK6) では変異を認めなかった 1 例 (MMK12) よりも明らかにその発現レベルは低下していることが確認された (第 1 4 図)。

(実施例 1 5)

実施例 1 4 と同様に操作し、54 例の原発性乳癌組織を免疫組織染色により検査したところ、15%にあたる 8 例で RB1CC1 蛋白質が検出されなかった。そして、これら全てで RB1 蛋白質の発現が欠如しているか或いは有意に低下していた。

一方、RB1CC1 蛋白質を発現している 46 例では、45 例において RB1 蛋白質が同時に発現していた。この RB1 蛋白質の発現を免疫組織染色の染色指標 (1000 個以上の細胞のうち染色される細胞の数の割合を%で表したもの) で RB1CC1 陽性群と陰性群で比較すると、RB1CC1 陽性群が  $78.6 \pm 13.9\%$  に対して陰性群は  $13.6 \pm 12.1\%$  と RB1CC1 の発現と正の相関を示していた (第 1 5 a 図)。一方、Ki-67 の免疫組織染色をマウスモノクローナル抗体 (NCL-Ki-67-MMI、ノボカストラ社製) を用いて行ったところ、その染色指標は RB1CC1 陽性群で  $20.3 \pm 12.8\%$  に対して、陰性群では  $65.0 \pm 12.2\%$  と明らかに RB1CC1 の発現と逆相関が認められた (第 1 5 b 図)。

これらのことから、RB1CC1 蛋白質の発現が抑制されている癌では、細胞増殖のマーカーである Ki-67 が多量に発現されており、癌細胞の増殖が盛んであることを示している。このように RB1CC1 蛋白質と Ki-67 の両者を組み合わせて検査することにより、癌の診断に有用であること

が判った。

産業上の利用の可能性

本発明の新規遺伝子（RB1CC1 遺伝子）及びその蛋白質（RB1CC1）  
5 を検査することにより、癌細胞の増殖及び癌の診断に有用な情報を提供  
できる。

10

15

20

25

## 請求の範囲

1. ヒト又は動物の細胞の核に存在し、転写因子機能及び／又はレチノブラストーマ遺伝子（RB1 遺伝子）或いはその遺伝子産物の発現を誘導しうる機能を有する蛋白質又はポリペプチド。  
5
  
2. 請求の範囲第 1 項記載のヒト蛋白質が下記の群より選ばれるポリペプチド又は蛋白質；(1) 配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列で示されるポリペプチド又は蛋白質、(2) 前記のポリペプチド又は蛋白質  
10 のアミノ酸配列の少なくとも 5 個のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、(3) 前記のポリペプチド又は蛋白質と少なくとも約 70% のアミノ酸配列上の相同性を有するポリペプチド又は蛋白質、(4) 及び前記(1) から(3) のポリペプチド又は蛋白質のアミノ酸配列において 1 ないし  
15 数個のアミノ酸の欠失、置換又は付加などの変異あるいは誘発変異を有するポリペプチド又は蛋白質。
  
3. 請求の範囲第 1 項記載の動物蛋白質がマウス由来の蛋白質であり、下記の群より選ばれるポリペプチド又は蛋白質；(1) 配列表の配列番号  
20 2 に記載のアミノ酸配列で示されるポリペプチド又は蛋白質、(2) 前記のポリペプチド又は蛋白質のアミノ酸配列の少なくとも 5 個のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、(3) 前記のポリペプチド又は蛋白質と少なくとも約 70% のアミノ酸配列上の相同性を有するポリペプチド又は  
25 蛋白質、(4) 及び前記(1) から(3) のポリペプチド又は蛋白質のアミノ酸配列において 1 ないし数個のアミノ酸の欠失、置換又は付加などの変異あるいは誘発変異を有するポリペプチド又は蛋白質。

4. 請求の範囲第1項～第3項に記載のポリペプチド又は蛋白質をコードする核酸又はその相補鎖。
5. 請求の範囲第3項に記載の核酸又はその相補鎖とストリンジエン  
5 トな条件下でハイブリダイゼーションする核酸。
6. 配列表の配列番号3～4に記載の核酸又はその相補鎖の塩基配列のうち少なくとも15個の連続した塩基配列で示される核酸であって、  
10 該核酸の転写によって発現されるポリペプチドが請求の範囲第1項～第3項記載のポリペプチドである核酸。
7. 請求の範囲第4項～第6項のいずれか1項に記載の核酸を含有する組換えベクター。
- 15 8. 請求の範囲第7項の組換えベクターで形質転換された形質転換体。
9. 請求の範囲第8項の形質転換体を培養する工程を含む、請求の範囲第1項～第3項に記載のポリペプチド又は蛋白質の製造方法。
- 20 10. 請求の範囲第4項～第6項に記載の核酸又はその相補鎖とストリンジエンな条件下でハイブリダイゼーションする配列表の配列番号5～132に記載の核酸プライマー。
11. 請求の範囲第1項～第3項に記載のポリペプチド又は蛋白質を  
25 免疫学的に認識する抗体。

- 1 2. 請求の範囲第 1 項～第 3 項に記載のポリペプチド又は蛋白質の転写因子活性及び／又は RB1 遺伝子の発現を誘導しうる機能を阻害もしくは増強する化合物のスクリーニング方法であって、請求の範囲第 1 項～第 3 項に記載のポリペプチド又は蛋白質、請求の範囲第 1 1 項に記載の抗体のうち、少なくともいずれか 1 つを用いることを特徴とするスクリーニング方法。
- 5
- 1 3. 請求の範囲第 4 項もしくは第 6 項に記載の核酸と相互作用して該核酸の発現を阻害もしくは増強する化合物のスクリーニング方法であって、請求の範囲第 4 項～第 6 項のいずれか 1 項に記載の核酸、請求の範囲第 7 項に記載のベクター、請求の範囲第 8 項に記載の形質転換体、請求の範囲第 1 0 項に記載の核酸プライマーのうち少なくともいずれか 1 つを用いることを特徴とするスクリーニング方法。
- 10
- 1 4. 請求の範囲第 1 2 項又は第 1 3 項に記載のスクリーニング方法でスクリーニングされる化合物。
- 15
- 1 5. 請求の範囲第 1 項～第 3 項に記載のポリペプチド又は蛋白質の転写因子活性及び／又は RB1 遺伝子の発現を誘導しうる機能を阻害もしくは増強する化合物。
- 20
- 1 6. 請求の範囲第 4 項～第 6 項のいずれか 1 項に記載の核酸と相互作用して該核酸の発現を阻害もしくは増強する化合物。
- 25
- 1 7. 請求の範囲第 1 項～第 3 項に記載のポリペプチド又は蛋白質、請求の範囲第 4 項～第 6 項のいずれか 1 項に記載の核酸、請求の範囲第

7項に記載のベクター、請求の範囲第8項に記載の形質転換体、請求の範囲第10項に記載の核酸プライマー、請求の範囲第11項に記載の抗体、又は請求の範囲第14項～第16項のいずれか1項に記載の化合物のうち、少なくともいずれか1つを含有することを特徴とする、抗がん剤の治療に抵抗性である多剤耐性の治療に用いる医薬組成物。

18. 請求の範囲第1項～第3項に記載のポリペプチド又は蛋白質の発現又は活性に関連した疾病の検査診断方法であって、試料中の(a)該ポリペプチド又は蛋白質をコードしている核酸、及び/又は(b)該ポリペプチド又は蛋白質をマーカーとして分析することを含む検査診断方法。

19. 癌細胞の検査方法又は癌の診断方法である請求の範囲第18項の検査診断方法。

15

20. 請求の範囲第11項に記載の抗体を用いることを特徴とする、請求の範囲第1項～第3項に記載のポリペプチド又は蛋白質の全部又は一部の発現、増加、減少、欠損等を検査する請求の範囲第18項又は第19項に記載の方法。

20

21. 請求の範囲第10項に記載の核酸プライマーの少なくとも何れかの1つを用いて請求の範囲第1項～第3項に記載のポリペプチド又は蛋白質をコードする遺伝子を増幅させる工程を経て、請求の範囲第1項～第3項に記載のポリペプチド又は蛋白質をコードする遺伝子の全部又は一部の発現、変異、欠損又は挿入等を検査する請求の範囲第18項又は第19項に記載の方法。

25

## 35

2 2. 癌抑制遺伝子レチノブラストーマ遺伝子 (RB1 遺伝子) 或いはその遺伝子産物 (RB1 蛋白質) の全部又は一部の発現、増加、減少、変異、欠損又は挿入等を検査することを組み合わせることを特徴とする請求の範囲第 1 8 項～第 2 1 項に記載の方法。

## 5

2 3. 多剤耐性遺伝子、(MDR1 遺伝子) の或いはその遺伝子産物 (MDR1 蛋白質 : P-糖蛋白質) の全部又は一部の発現、増加、減少、変異、欠損又は挿入等を検査することを組み合わせることを特徴とする請求の範囲第 1 8 項～第 2 2 項に記載の方法。

## 10

2 4. 細胞増殖マーカー、Ki-67 蛋白質、の全部又は一部の発現、増加、減少等を検査することを組み合わせることを特徴とする請求の範囲第 1 8 項～第 2 3 項に記載の方法。

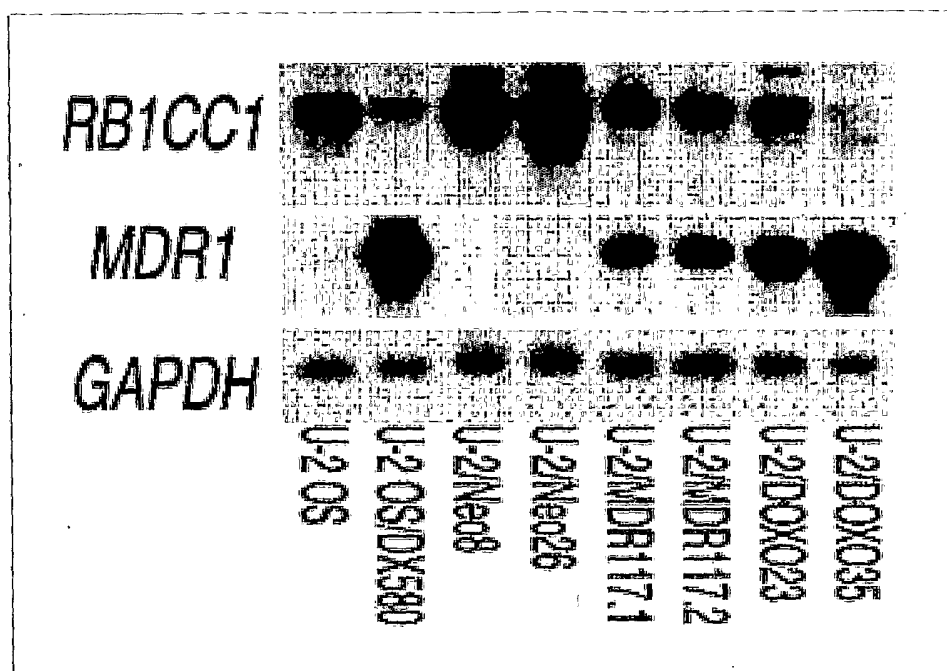
15 2 5. 請求の範囲第 2 3 項記載の方法を用いる癌細胞の薬剤感受性を検査する方法。

2 6. 請求の範囲第 1 8 項～第 2 5 項に記載の方法に用いる検査診断試薬及びキット。

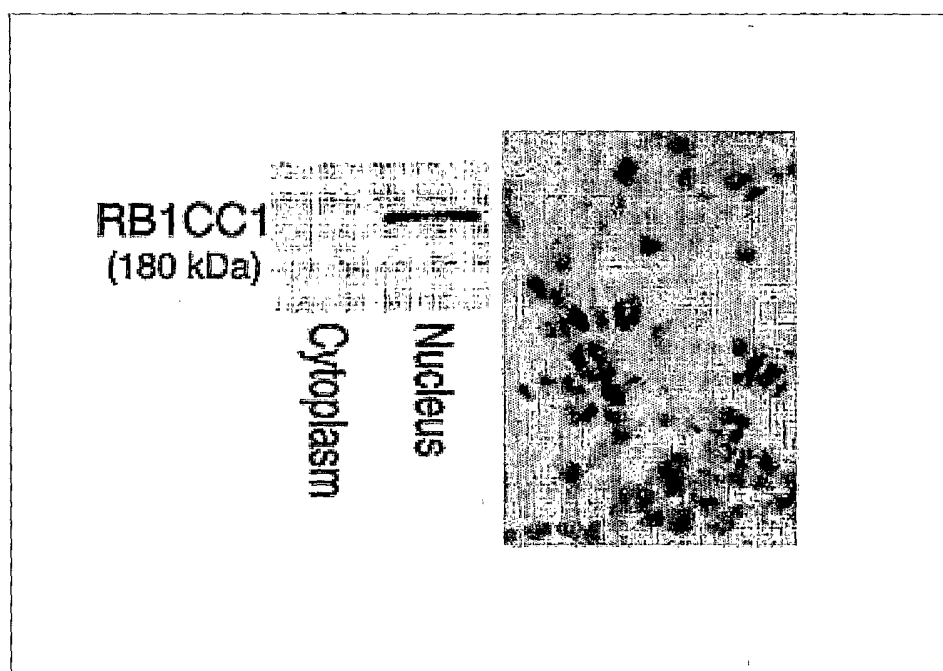
## 20

## 25

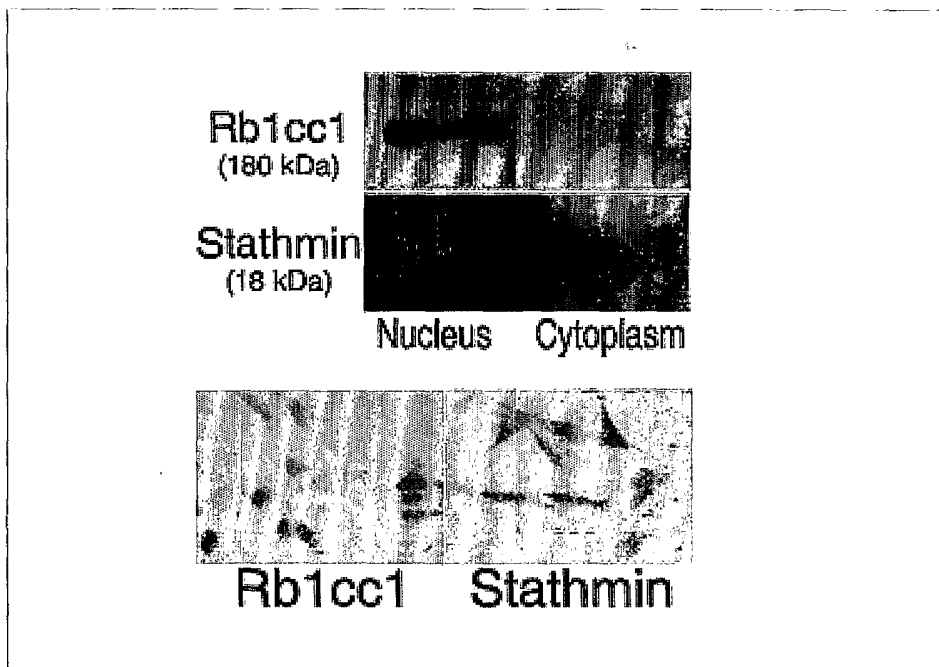
第 1 図



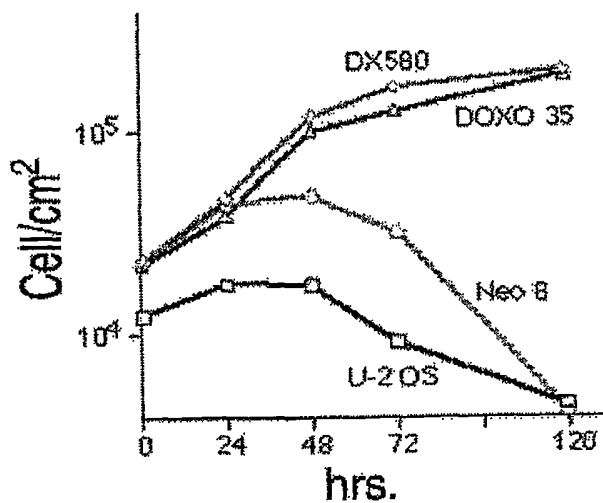
第 2 図



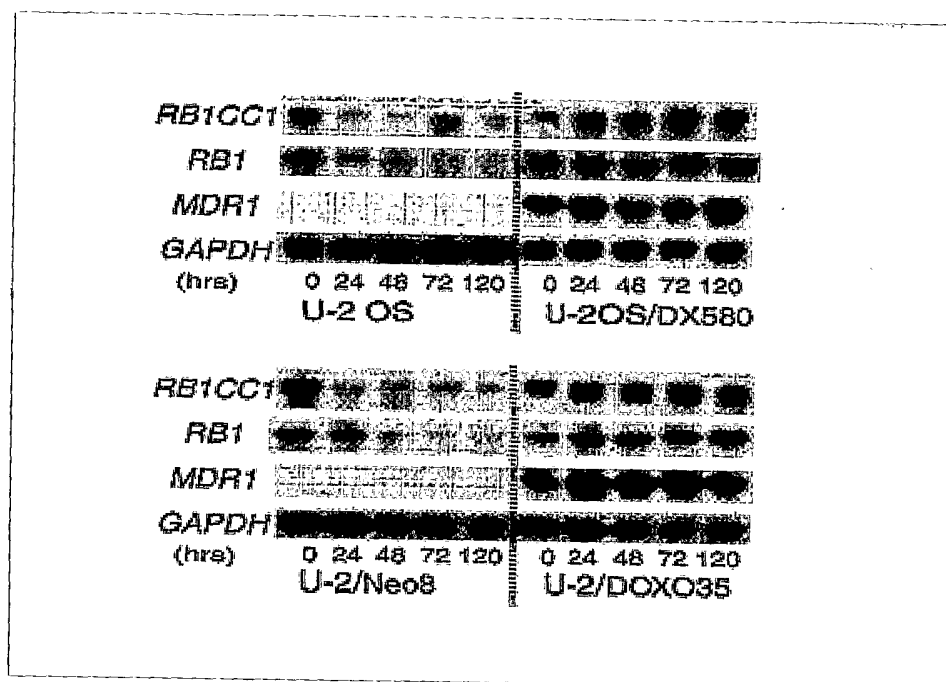
第3図



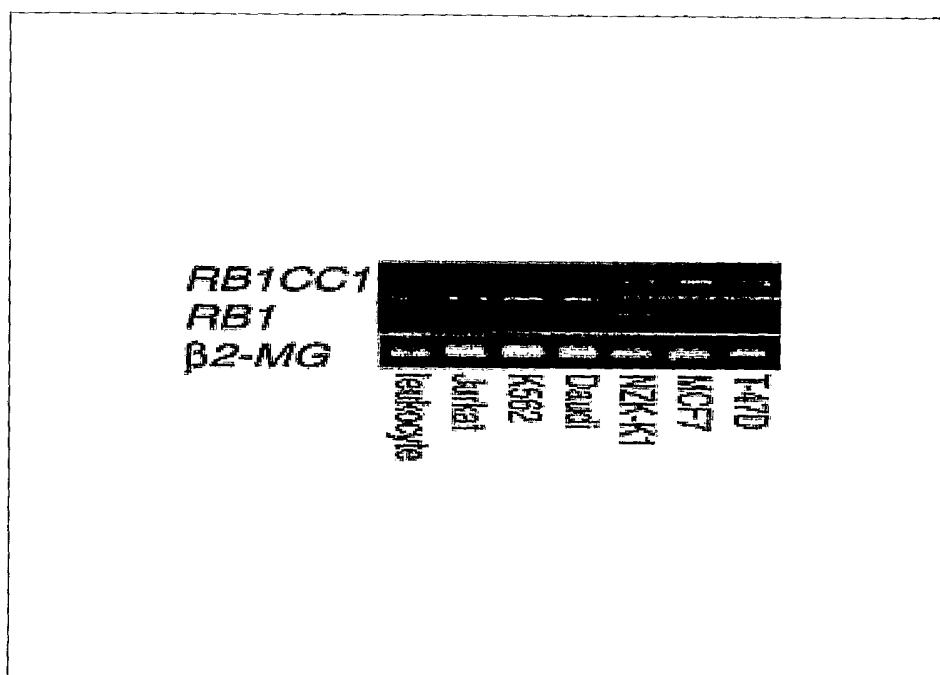
第4図



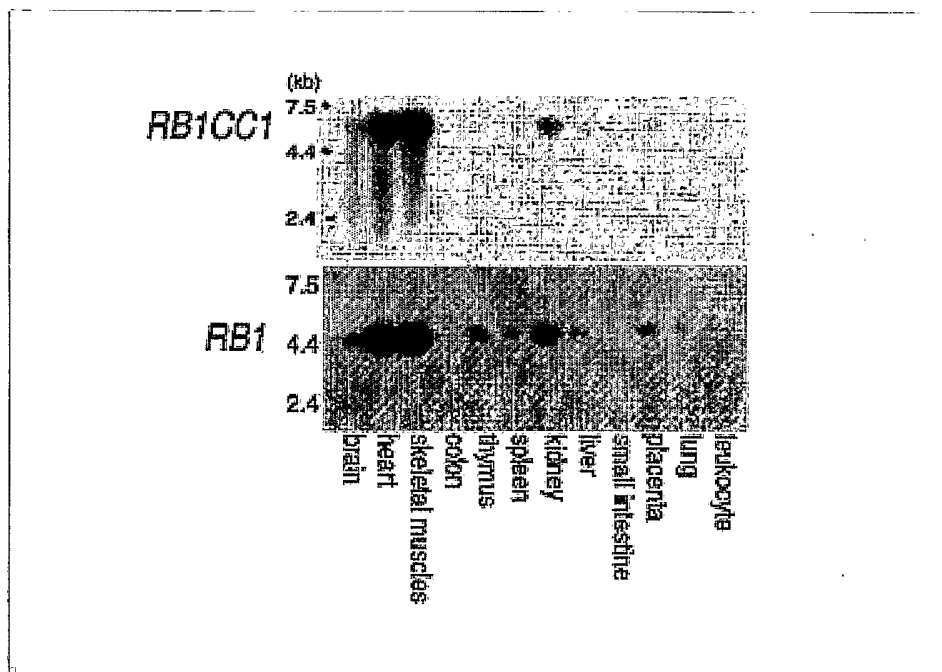
第5図



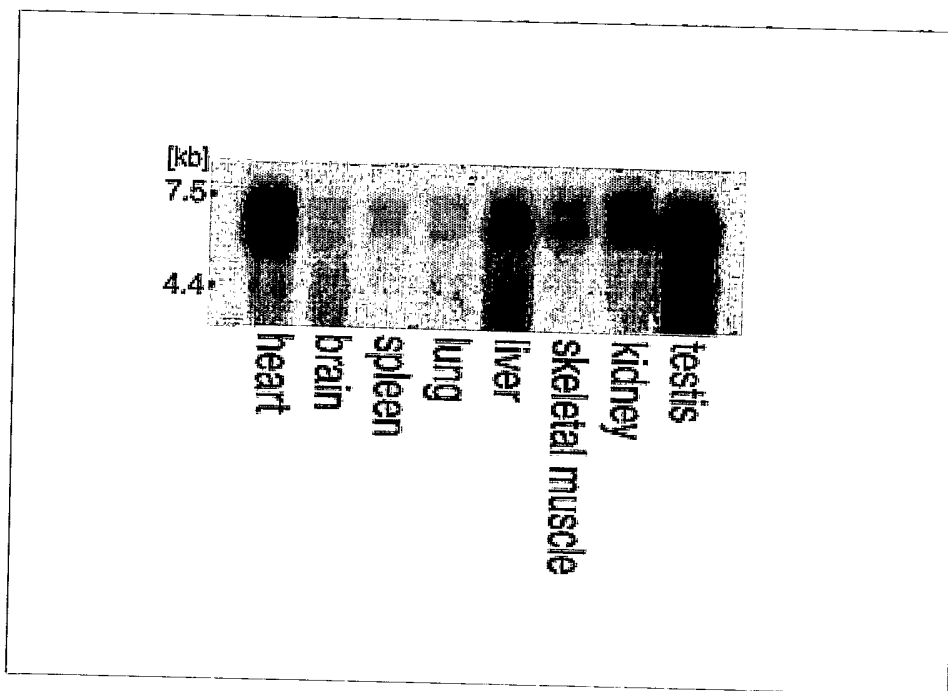
第6図



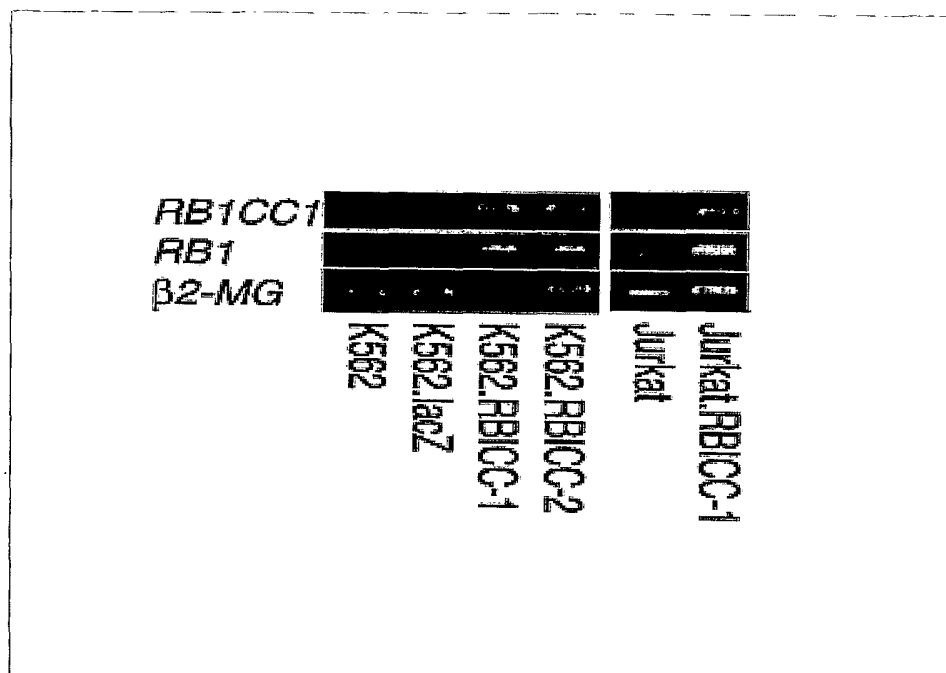
第7図



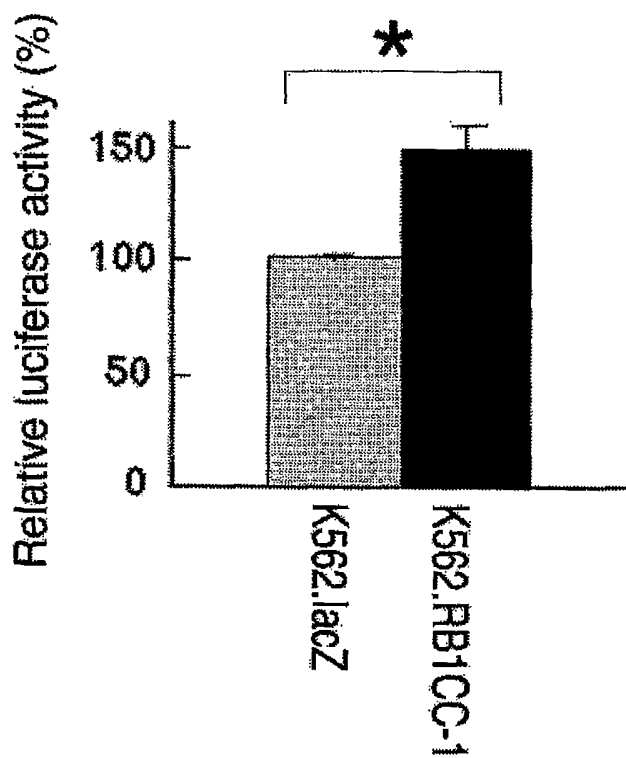
第8図



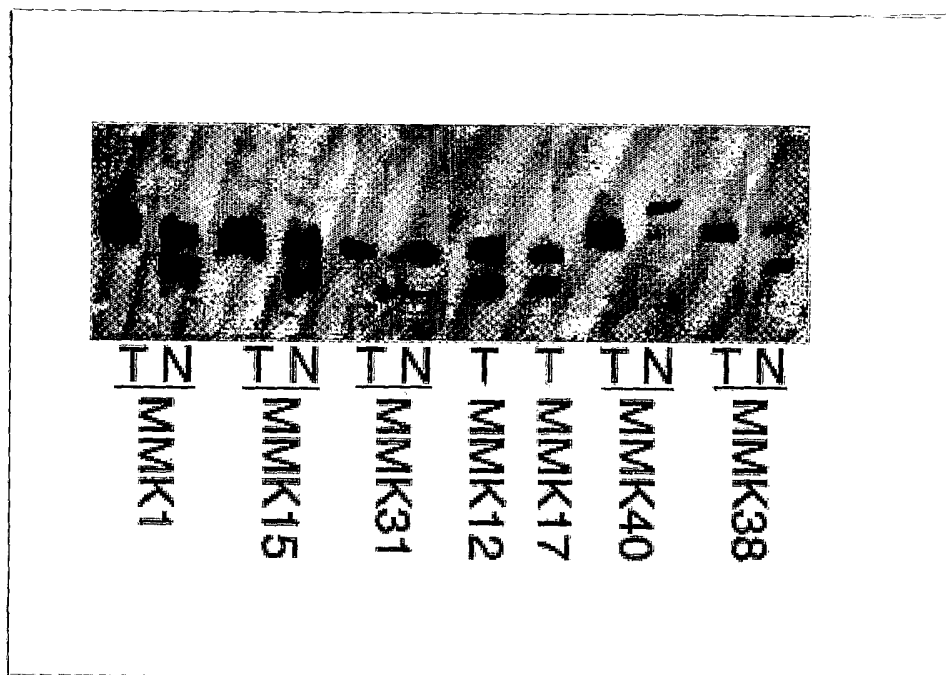
第 9 図



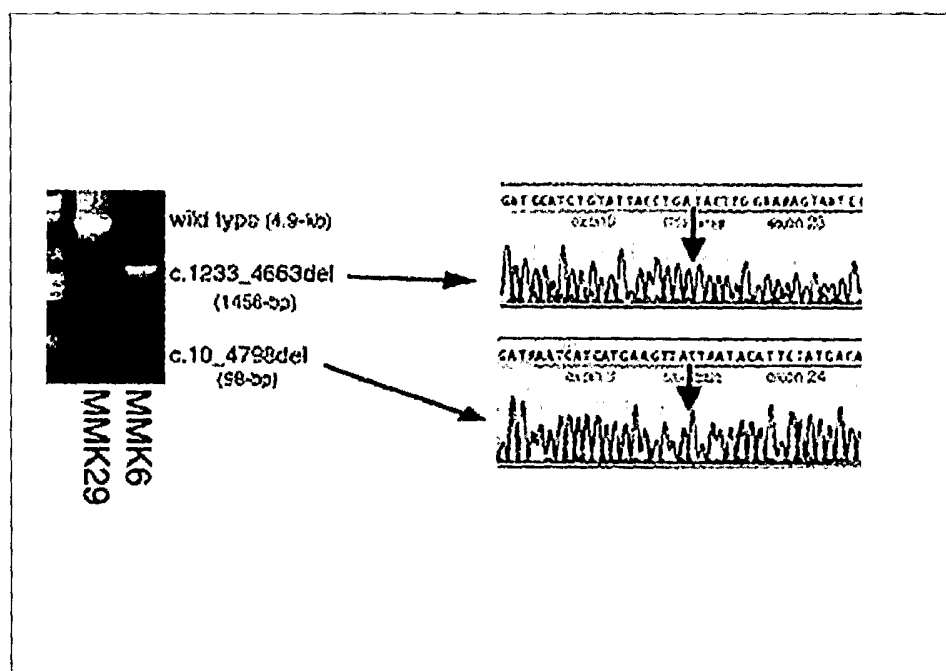
第 10 図



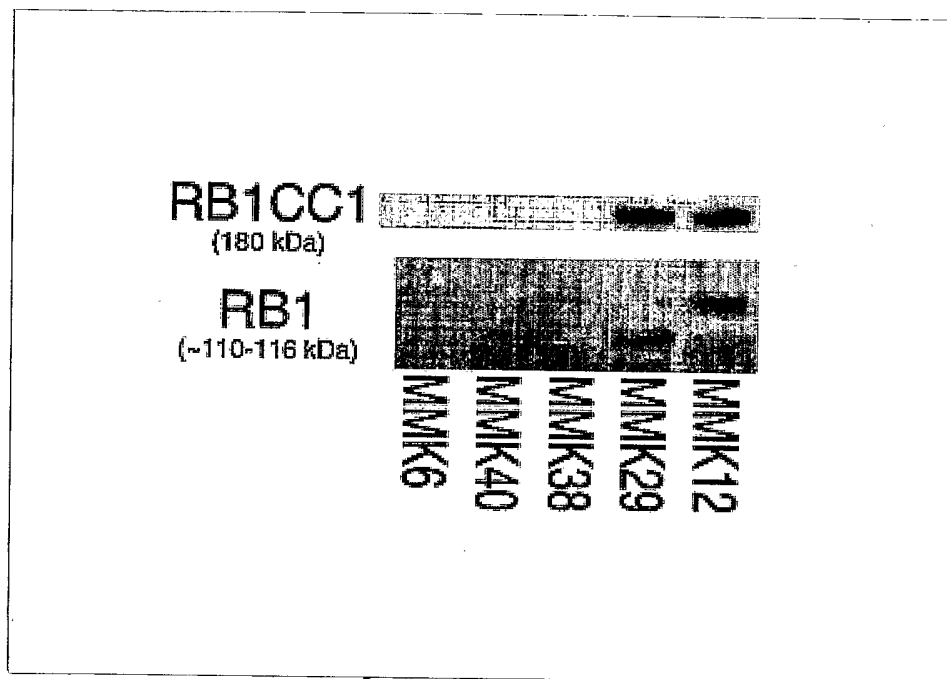
第 1 1 図



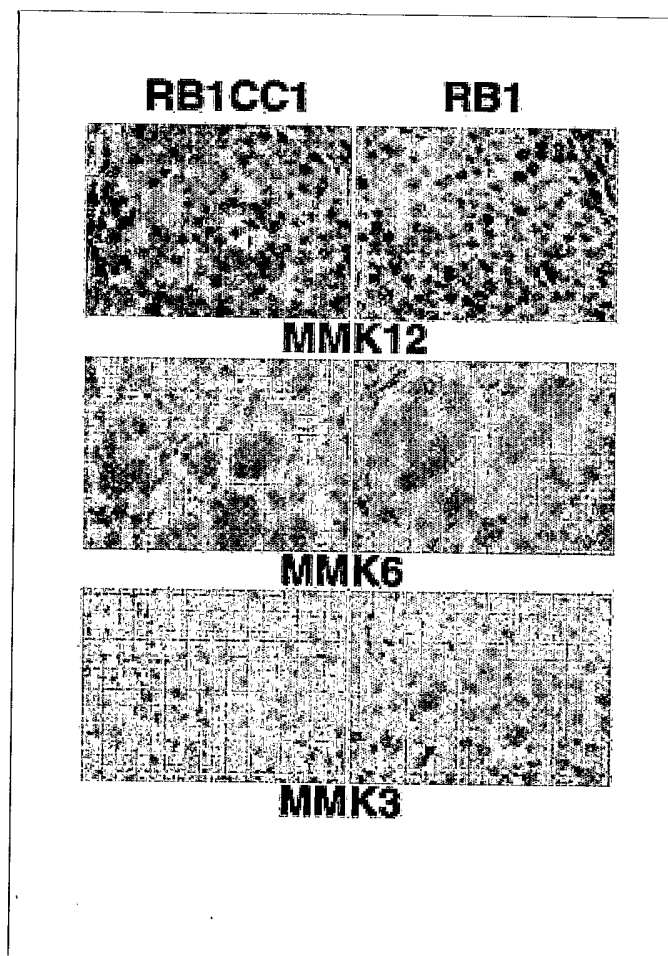
第 1 2 図



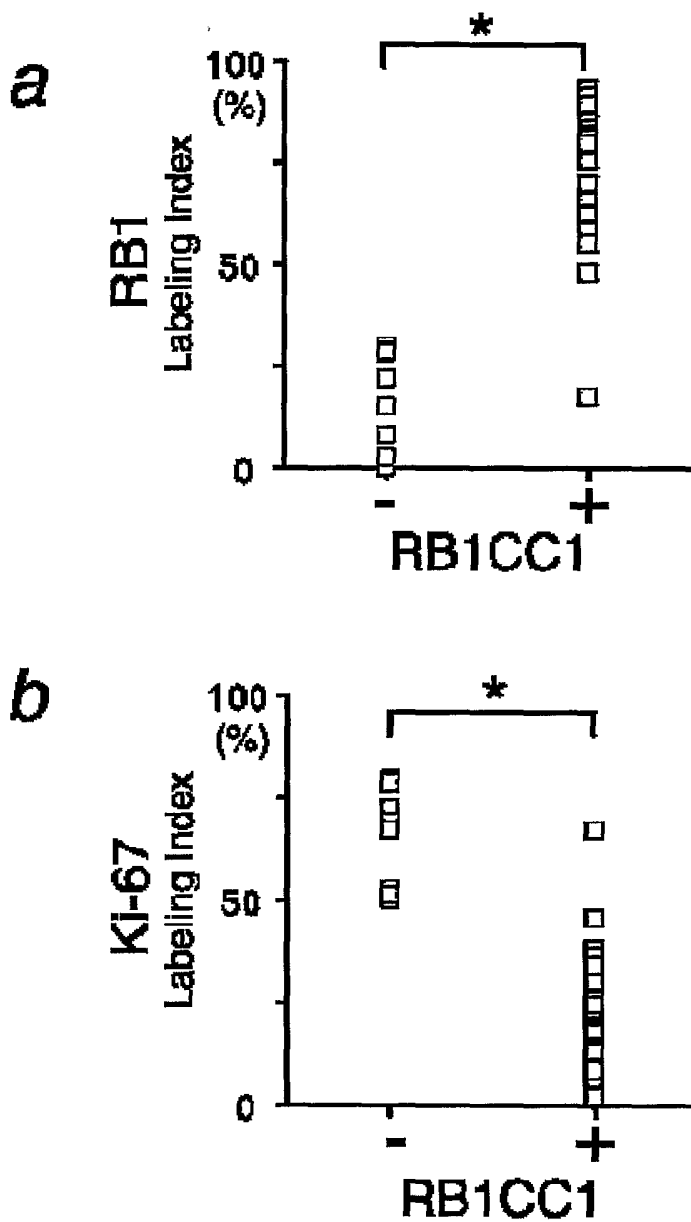
第 1 3 図



第 1 4 図



第 15 図



## SEQUENCE LISTING

<110> Chano, Tokuhiko  
Okabe, Hidetoshi  
Ikegawa, Shiro

<120> RB1 gene induced protein and gene thereof

<130> GP02-1023PGT

<150> JP P2002-161400

<151> 2002-06-03

<150> JP P2002-214978

<151> 2002-07-24

<160> 132

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1594

<212> PRT

<213> Unknown

<220>

<223> human RB1CC1

<400> 1

Met Lys Leu Tyr Val Phe Leu Val Asn Thr Gly Thr Thr Leu Thr Phe  
1                   5                   10                   15

Asp Thr Glu Leu Thr Val Gln Thr Val Ala Asp Leu Lys His Ala Ile  
20                   25                   30

Gln Ser Lys Tyr Lys Ile Ala Ile Gln His Gln Val Leu Val Val Asn  
35                   40                   45

Gly Gly Glu Cys Met Ala Ala Asp Arg Arg Val Cys Thr Tyr Ser Ala  
50                   55                   60

Gly Thr Asp Thr Asn Pro Ile Phe Leu Phe Asn Lys Glu Met Ile Leu



3 / 61

Ser Phe Pro Lys Ser Val Glu His Val Ser Pro Asp Thr Ala Asp Ala  
 260 265 270

Glu Ser Gly Lys Glu Ile Arg Glu Ser Cys Gln Ser Thr Val His Gln  
 275 280 285

Gln Asp Glu Thr Thr Ile Asp Thr Lys Asp Gly Asp Leu Pro Phe Phe  
 290 295 300

Asn Val Ser Leu Leu Asp Trp Ile Asn Val Gln Asp Arg Pro Asn Asp  
 305 310 315 320

Val Glu Ser Leu Val Arg Lys Cys Phe Asp Ser Met Ser Arg Leu Asp  
 325 330 335

Pro Arg Ile Ile Arg Pro Phe Ile Ala Glu Cys Arg Gln Thr Ile Ala  
 340 345 350

Lys Leu Asp Asn Gln Asn Met Lys Ala Ile Lys Gly Leu Glu Asp Arg  
 355 360 365

Leu Tyr Ala Leu Asp Gln Met Ile Ala Ser Cys Gly Arg Leu Val Asn  
 370 375 380

Glu Gln Lys Glu Leu Ala Gln Gly Phe Leu Ala Asn Gln Lys Arg Ala  
 385 390 395 400

Glu Asn Leu Lys Asp Ala Ser Val Leu Pro Asp Leu Cys Leu Ser His  
 405 410 415

Ala Asn Gln Leu Met Ile Met Leu Gln Asn His Arg Lys Leu Leu Asp  
 420 425 430

Ile Lys Gln Lys Cys Thr Thr Ala Lys Gln Glu Leu Ala Asn Asn Leu  
 435 440 445

4 / 61

His Val Arg Leu Lys Trp Cys Cys Phe Val Met Leu His Ala Asp Gln  
 450 455 460

Asp Gly Glu Lys Leu Gln Ala Leu Leu Arg Leu Val Ile Glu Leu Leu  
 465 470 475 480

Glu Arg Val Lys Ile Val Glu Ala Leu Ser Thr Val Pro Gln Met Tyr  
 485 490 495

Cys Leu Ala Val Val Glu Val Val Arg Arg Lys Met Phe Ile Lys His  
 500 505 510

Tyr Arg Glu Trp Ala Gly Ala Leu Val Lys Asp Gly Lys Arg Leu Tyr  
 515 520 525

Glu Ala Glu Lys Ser Lys Arg Glu Ser Phe Gly Lys Leu Phe Arg Lys  
 530 535 540

Ser Phe Leu Arg Asn Arg Leu Phe Arg Gly Leu Asp Ser Trp Pro Pro  
 545 550 555 560

Ser Phe Cys Thr Gln Lys Pro Arg Lys Phe Asp Cys Glu Leu Pro Asp  
 565 570 575

Ile Ser Leu Lys Asp Leu Gln Phe Leu Gln Ser Phe Cys Pro Ser Glu  
 580 585 590

Val Gln Pro Phe Leu Arg Val Pro Leu Leu Cys Asp Phe Glu Pro Leu  
 595 600 605

His Gln His Val Leu Ala Leu His Asn Leu Val Lys Ala Ala Gln Ser  
 610 615 620

Leu Asp Glu Met Ser Gln Thr Ile Thr Asp Leu Leu Ser Glu Gln Lys  
 625 630 635 640

5 / 61

Ala Ser Val Ser Gln Thr Ser Pro Gln Ser Ala Ser Ser Pro Arg Met  
645 650 655

Glu Ser Thr Ala Gly Ile Thr Thr Thr Thr Ser Pro Arg Thr Pro Pro  
660 665 670

Pro Leu Thr Val Gln Asp Pro Leu Cys Pro Ala Val Cys Pro Leu Glu  
675 680 685

Glu Leu Ser Pro Asp Ser Ile Asp Ala His Thr Phe Asp Phe Glu Thr  
690 695 700

Ile Pro His Pro Asn Ile Glu Gln Thr Ile His Gln Val Ser Leu Asp  
705 710 715 720

Leu Asp Ser Leu Ala Glu Ser Pro Glu Ser Asp Phe Met Ser Ala Val  
725 730 735

Asn Glu Phe Val Ile Glu Glu Asn Leu Ser Ser Pro Asn Pro Ile Ser  
740 745 750

Asp Pro Gln Ser Pro Glu Met Met Val Glu Ser Leu Tyr Ser Ser Val  
755 760 765

Ile Asn Ala Ile Asp Ser Arg Arg Met Gln Asp Thr Asn Val Cys Gly  
770 775 780

Lys Glu Asp Phe Gly Asp His Thr Ser Leu Asn Val Gln Leu Glu Arg  
785 790 795 800

Cys Arg Val Val Ala Gln Asp Ser His Phe Ser Ile Gln Thr Ile Lys  
805 810 815

Glu Asp Leu Cys His Phe Arg Thr Phe Val Gln Lys Glu Gln Cys Asp



7 / 61

Asp His Arg Val Ser Leu Glu Glu Leu Lys Lys Glu Asn Gln Gln  
 1010 1015 1020

Ile Ile Asn Gln Ile Gln Glu Ser His Ala Glu Ile Ile Gln Glu  
 1025 1030 1035

Lys Glu Lys Gln Leu Gln Glu Leu Lys Leu Lys Val Ser Asp Leu  
 1040 1045 1050

Ser Asp Thr Arg Cys Lys Leu Glu Val Glu Leu Ala Leu Lys Glu  
 1055 1060 1065

Ala Glu Thr Asp Glu Ile Lys Ile Leu Leu Glu Glu Ser Arg Ala  
 1070 1075 1080

Gln Gln Lys Glu Thr Leu Lys Ser Leu Leu Glu Gln Glu Thr Glu  
 1085 1090 1095

Asn Leu Arg Thr Glu Ile Ser Lys Leu Asn Gln Lys Ile Gln Asp  
 1100 1105 1110

Asn Asn Glu Asn Tyr Gln Val Gly Leu Ala Glu Leu Arg Thr Leu  
 1115 1120 1125

Met Thr Ile Glu Lys Asp Gln Arg Ile Ser Glu Leu Ile Ser Arg  
 1130 1135 1140

His Glu Glu Glu Ser Asn Ile Leu Lys Ala Glu Leu Asn Lys Val  
 1145 1150 1155

Thr Ser Leu His Asn Gln Ala Phe Glu Ile Glu Lys Asn Leu Lys  
 1160 1165 1170

Glu Gln Ile Ile Glu Leu Gln Ser Lys Leu Asp Ser Glu Leu Ser  
 1175 1180 1185

8 / 61

Ala Leu Glu Arg Gln Lys Asp Glu Lys Ile Thr Gln Gln Glu Glu  
 1190 1195 1200

Lys Tyr Glu Ala Ile Ile Gln Asn Leu Glu Lys Asp Arg Gln Lys  
 1205 1210 1215

Leu Val Ser Ser Gln Glu Gln Asp Arg Glu Gln Leu Ile Gln Lys  
 1220 1225 1230

Leu Asn Cys Glu Lys Asp Glu Ala Ile Gln Thr Ala Leu Lys Glu  
 1235 1240 1245

Phe Lys Leu Glu Arg Glu Val Val Glu Lys Glu Leu Leu Glu Lys  
 1250 1255 1260

Val Lys His Leu Glu Asn Gln Ile Ala Lys Ser Pro Ala Ile Asp  
 1265 1270 1275

Ser Thr Arg Gly Asp Ser Ser Ser Leu Val Ala Glu Leu Gln Glu  
 1280 1285 1290

Lys Leu Gln Glu Glu Lys Ala Lys Phe Leu Glu Gln Leu Glu Glu  
 1295 1300 1305

Gln Glu Lys Arg Lys Asn Glu Glu Met Gln Asn Val Arg Thr Ser  
 1310 1315 1320

Leu Ile Ala Glu Gln Gln Thr Asn Phe Asn Thr Val Leu Thr Arg  
 1325 1330 1335

Glu Lys Met Arg Lys Glu Asn Ile Ile Asn Asp Leu Ser Asp Lys  
 1340 1345 1350

Leu Lys Ser Thr Met Gln Gln Gln Glu Arg Asp Lys Asp Leu Ile  
 1355 1360 1365

9 / 61

Glu Ser Leu Ser Glu Asp Arg Ala Arg Leu Leu Glu Glu Lys Lys  
 1370 1375 1380

Lys Leu Glu Glu Glu Val Ser Lys Leu Arg Ser Ser Ser Phe Val  
 1385 1390 1395

Pro Ser Pro Tyr Val Ala Thr Ala Pro Glu Leu Tyr Gly Ala Cys  
 1400 1405 1410

Ala Pro Glu Leu Pro Gly Glu Ser Asp Arg Ser Ala Val Glu Thr  
 1415 1420 1425

Ala Asp Glu Gly Arg Val Asp Ser Ala Met Glu Thr Ser Met Met  
 1430 1435 1440

Ser Val Gln Glu Asn Ile His Met Leu Ser Glu Glu Lys Gln Arg  
 1445 1450 1455

Ile Met Leu Leu Glu Arg Thr Leu Gln Leu Lys Glu Glu Glu Asn  
 1460 1465 1470

Lys Arg Leu Asn Gln Arg Leu Met Ser Gln Ser Met Ser Ser Val  
 1475 1480 1485

Ser Ser Arg His Ser Glu Lys Ile Ala Ile Arg Asp Phe Gln Val  
 1490 1495 1500

Gly Asp Leu Val Leu Ile Ile Leu Asp Glu Arg His Asp Asn Tyr  
 1505 1510 1515

Val Leu Phe Thr Val Ser Pro Thr Leu Tyr Phe Leu His Ser Glu  
 1520 1525 1530

Ser Leu Pro Ala Leu Asp Leu Lys Pro Gly Glu Gly Ala Ser Gly

10 / 61

1535                      1540                      1545

Ala Ser Arg Arg Pro Trp Val Leu Gly Lys Val Met Glu Lys Glu  
 1550                      1555                      1560

Tyr Cys Gln Ala Lys Lys Ala Gln Asn Arg Phe Lys Val Pro Leu  
 1565                      1570                      1575

Gly Thr Lys Phe Tyr Arg Val Lys Ala Val Ser Trp Asn Lys Lys  
 1580                      1585                      1590

Val

<210> 2  
 <211> 1588  
 <212> PRT  
 <213> Unknown

<220>  
 <223> mouse Rb1cc1

<400> 2

Met Lys Leu Tyr Val Phe Leu Val Asn Thr Gly Thr Thr Leu Thr Phe  
 1                      5                      10                      15

Asp Thr Glu Leu Thr Val Gln Thr Val Ala Asp Leu Lys His Ala Ile  
                     20                      25                      30

Gln Ser Lys Tyr Lys Ile Ala Ile Gln His Gln Val Leu Val Val Asn  
                     35                      40                      45

Gly Gly Glu Cys Met Ala Ala Asp Arg Arg Val Cys Thr Tyr Ser Ala  
                     50                      55                      60

Gly Thr Asp Thr Asn Pro Ile Phe Leu Phe Asn Lys Glu Met Ile Leu  
 65                      70                      75                      80



12 / 61

260

265

270

Glu Arg Gly Lys Glu Leu Arg Glu Ser Cys Gln Ser Thr Val Gln Gln  
 275 280 285

Glu Glu Ala Ser Val Asp Ala Lys Asp Ser Asp Leu Pro Phe Phe Asn  
 290 295 300

Val Ser Leu Leu Asp Trp Ile Asn Val Gln Asp Arg Pro Asn Asp Val  
 305 310 315 320

Glu Ser Leu Val Arg Lys Cys Phe Asp Ser Met Ser Arg Leu Asp Pro  
 325 330 335

Lys Ile Ile Gln Pro Phe Met Leu Glu Cys His Gln Thr Ile Ala Lys  
 340 345 350

Leu Asp Asn Gln Asn Met Lys Ala Ile Lys Gly Leu Glu Asp Arg Leu  
 355 360 365

Tyr Ala Leu Asp Gln Met Ile Ala Ser Cys Ser Arg Leu Val Asn Glu  
 370 375 380

Gln Lys Glu Leu Ala Gln Gly Phe Leu Ala Asn Gln Met Arg Ala Glu  
 385 390 395 400

Asn Leu Lys Asp Ala Ser Val Leu Pro Asp Leu Cys Leu Ser His Ala  
 405 410 415

Asn Gln Leu Met Ile Met Leu Gln Asn His Arg Lys Leu Leu Asp Ile  
 420 425 430

Lys Gln Lys Cys Thr Thr Ala Lys Gln Glu Leu Ala Asn Asn Leu His  
 435 440 445

13 / 61

Val Arg Leu Lys Trp Cys Cys Phe Val Met Leu His Ala Asp Gln Asp  
 450 455 460

Gly Glu Lys Leu Gln Ala Leu Leu Arg Leu Val Ile Glu Leu Leu Glu  
 465 470 475 480

Arg Val Arg Ile Val Glu Ala Leu Ser Thr Val Pro Gln Met Tyr Cys  
 485 490 495

Leu Ala Val Val Glu Val Val Arg Arg Lys Met Phe Ile Lys His Tyr  
 500 505 510

Arg Glu Trp Ala Gly Ala Leu Val Lys Asp Gly Lys Gln Leu Tyr Glu  
 515 520 525

Ala Glu Lys Ser Lys Arg Glu Ser Phe Gly Lys Leu Phe Arg Lys Ser  
 530 535 540

Phe Leu Arg Asn Arg Leu Phe Lys Gly Leu Asp Ser Trp Pro Ser Ser  
 545 550 555 560

Phe Cys Thr Gln Lys Pro Arg Lys Phe Asp Cys Glu Leu Pro Asp Ile  
 565 570 575

Ser Leu Lys Asp Leu Gln Phe Leu Gln Ser Phe Cys Pro Ser Glu Val  
 580 585 590

Gln Pro Phe Leu Arg Val Pro Leu Leu Cys Asp Phe Glu Pro Leu His  
 595 600 605

Gln His Val Leu Ala Leu His Asn Leu Val Lys Ala Ala Gln Ser Leu  
 610 615 620

Asp Glu Met Ser Gln Thr Ile Thr Asp Leu Leu Asn Glu Gln Lys Val  
 625 630 635 640

14 / 61

Ser Thr Ser Gln Ala Ser Pro Gln Ser Ala Ala Ser Pro Arg Ile Glu  
645 650 655

Ser Thr Thr Gly Ile Thr Thr Thr Thr Ser Pro Lys Thr Pro Pro Pro  
660 665 670

Leu Thr Val Gln Asp Thr Leu Cys Pro Ala Val Cys Pro Leu Glu Glu  
675 680 685

Leu Ser Pro Asp Ser Ile Asp Ala His Thr Phe Asp Phe Glu Thr Ile  
690 695 700

Ser His Pro Asn Thr Glu Gln Pro Val His Gln Ala Ser Ile Asp Leu  
705 710 715 720

Asp Ser Leu Ala Glu Ser Pro Glu Ser Asp Phe Met Ser Ala Val Asn  
725 730 735

Glu Phe Val Ile Glu Glu Asn Leu Ser Ser Pro Asn Pro Ile Ser Asp  
740 745 750

Pro Gln Ser Pro Glu Met Met Val Glu Ser Leu Tyr Ser Ser Val Ile  
755 760 765

Asn Ala Ile Asp Ser Arg Arg Met Gln Asp Thr Ser Thr Arg Gly Asn  
770 775 780

Glu Gly Phe Gly Asp Arg Ala Ala Leu His Val Gln Leu Glu Lys Cys  
785 790 795 800

Arg Ala Ala Ala Gln Asp Ser His Thr Ser Ile Gln Thr Ile Lys Asp  
805 810 815

Asp Leu Cys His Phe Arg Thr Phe Val Gln Lys Glu Gln Cys Asp Leu  
820 825 830

15 / 61

Ala Asn Tyr Leu Lys Cys Thr Ala Val Glu Ile Arg Asn Ile Ile Glu  
835 840 845

Lys Val Lys Cys Ser Leu Glu Ile Thr Leu Lys Glu Lys His Gln Gln  
850 855 860

Glu Leu Gln Ser Leu Lys Ile Glu Tyr Glu Cys Lys Leu Asp Ala Leu  
865 870 875 880

Val Lys Asp Ser Glu Glu Asn Val Asn Lys Ile Leu Lys Leu Lys Glu  
885 890 895

Asn Leu Val Ser Leu Glu Glu Ala Leu Gln Asn Lys Asp Asn Glu Phe  
900 905 910

Thr Ser Ile Lys His Glu Lys Asp Ala Ile Val Cys Val Gln Gln Glu  
915 920 925

Lys Asp Gln Lys Leu Leu Glu Met Glu Lys Ile Met His Thr Gln His  
930 935 940

Cys Glu Ile Lys Glu Leu Lys Gln Ser Arg Glu Met Ala Leu Glu Asp  
945 950 955 960

Leu Lys Lys Leu His Asp Glu Lys Ile Glu Ser Leu Arg Ala Glu Phe  
965 970 975

Gln Cys Leu Glu Glu Asn His Leu Lys Glu Leu Glu Asp Thr Leu His  
980 985 990

Ile Arg His Thr Gln Glu Phe Glu Lys Val Met Thr Asp His Asn Met  
995 1000 1005

Ser Leu Glu Lys Leu Lys Lys Glu Asn Gln Gln Arg Ile Asp Gln

16 / 61

1010	1015	1020
Met Leu Glu Ser His Ala Ser Thr Ile Gln Glu Lys Glu Gln Gln 1025	1030	1035
Leu Gln Glu Leu Lys Leu Lys Val Ser Asp Leu Ser Asp Met Arg 1040	1045	1050
Cys Lys Leu Glu Val Glu Leu Ala Leu Lys Glu Ala Glu Thr Asp 1055	1060	1065
Glu Ile Lys Ile Leu Leu Glu Glu Ser Arg Thr Gln Gln Lys Glu 1070	1075	1080
Met Leu Lys Ser Leu Leu Glu Gln Glu Thr Glu Asn Leu Arg Thr 1085	1090	1095
Glu Ile Ser Lys Leu Asn Gln Lys Ile His Asp Asn Asn Glu Ser 1100	1105	1110
Tyr Gln Val Gly Leu Ser Glu Leu Arg Ala Leu Met Thr Ile Glu 1115	1120	1125
Lys Asp Gln Cys Ile Ser Glu Leu Ile Ser Arg His Glu Glu Glu 1130	1135	1140
Ser Asn Ile Leu Lys Ala Glu Leu Asp Asn Val Thr Ser Leu His 1145	1150	1155
Arg Gln Ala Tyr Glu Ile Glu Lys Lys Leu Lys Glu Gln Ile Val 1160	1165	1170
Glu Leu Gln Thr Arg Leu Asn Ser Glu Leu Ser Ala Leu Glu Lys 1175	1180	1185

17 / 61

Gln Lys Asp Glu Lys Ile Thr Gln Gln Glu Glu Lys Tyr Glu Ala  
1190 1195 1200

Leu Ile Gln Asn Leu Glu Lys Asp Lys Glu Arg Leu Val Lys Asn  
1205 1210 1215

His Glu Gln Asp Lys Glu His Leu Ile Gln Glu Leu Asn Phe Glu  
1220 1225 1230

Lys Asn Lys Ala Val Gln Thr Ala Leu Asp Glu Phe Lys Val Glu  
1235 1240 1245

Arg Glu Leu Val Glu Lys Glu Leu Leu Glu Lys Val Lys His Leu  
1250 1255 1260

Glu Asn Gln Ile Ala Lys Thr Pro Ala Phe Glu Ser Ala Arg Glu  
1265 1270 1275

Asp Ser Ser Ser Leu Val Ala Glu Leu Gln Glu Lys Leu Gln Glu  
1280 1285 1290

Glu Lys Ala Lys Phe Leu Glu Gln Leu Glu Glu Gln Glu Lys Arg  
1295 1300 1305

Lys Asn Glu Glu Met Gln Asn Val Arg Thr Ser Leu Ile Ala Glu  
1310 1315 1320

Gln Gln Thr Asn Phe Asn Thr Val Leu Thr Arg Glu Lys Met Arg  
1325 1330 1335

Lys Glu Asn Ile Ile Asn Asp Leu Ser Asp Lys Leu Lys Ser Thr  
1340 1345 1350

Met Gln Gln Gln Glu Arg Asp Lys Asp Leu Ile Glu Ser Leu Ser  
1355 1360 1365

18 / 61

Glu Asp Arg Ala Arg Leu Leu Glu Glu Lys Lys Gln Leu Glu Glu  
1370 1375 1380

Glu Val Ser Lys Leu Arg Thr Ser Ser Phe Leu Ser Ser Ala Pro  
1385 1390 1395

Val Ala Ala Ala Pro Glu Leu Tyr Gly Ala Cys Ala Pro Glu Leu  
1400 1405 1410

Pro Gly Glu Pro Glu Arg Ser Val Met Glu Thr Ala Asp Glu Gly  
1415 1420 1425

Arg Leu Asp Ser Ala Met Glu Thr Ser Met Met Ser Val Gln Glu  
1430 1435 1440

Asn Met Leu Ser Glu Glu Lys Gln Arg Ile Met Leu Leu Glu Arg  
1445 1450 1455

Thr Leu Gln Leu Lys Glu Glu Glu Asn Lys Arg Leu Asn Gln Arg  
1460 1465 1470

Leu Met Ser Gln Ser Leu Ser Ser Val Ser Ser Arg His Ser Glu  
1475 1480 1485

Lys Ile Ala Ile Arg Asp Phe Gln Val Gly Asp Leu Val Leu Ile  
1490 1495 1500

Ile Leu Asp Glu Arg His Asp Asn Tyr Val Leu Phe Thr Val Ser  
1505 1510 1515

Pro Thr Leu Tyr Phe Leu His Ser Glu Ser Leu Pro Ala Leu Asp  
1520 1525 1530

Leu Lys Pro Gly Glu Gly Ala Ser Gly Ala Ser Arg Arg Pro Trp  
1535 1540 1545

Val Leu Gly Lys Val Met Glu Lys Glu Tyr Cys Gln Ala Lys Lys  
 1550 1555 1560

Ala Gln Asn Arg Phe Lys Val Pro Leu Gly Thr Lys Phe Tyr Arg  
 1565 1570 1575

Val Lys Ala Val Ser Trp Asn Lys Lys Val  
 1580 1585

- <210> 3
- <211> 6636
- <212> DNA
- <213> Unknown

- <220>
- <223> human RB1CC1 gene

<400> 3  
 gtcgacaata acaaaccaag ccgcgggcgggt gtcgcgggcc ctgccgagcc ctggcggttg 60  
 cctcagaatc ccccagtgcg ctggggcccct cggctctgac aggcgcgggc cttctgtccc 120  
 ccggccccag acccagagcc gaggggcctg ctgcgctcct tgcgcgcccg gaccctccc 180  
 tgcctcctag agttcggggc cgcggcgggc gggcgcccgg gacgcggggc gttgtgtcgg 240  
 cttagcgggtg ccgaatgggc ggttggtaac cgctgccgag gactaggcgg cggcggaaga 300  
 tggtgccggg ggtcgcctggc tctgctgctg ccgccggcga aggaggaggc gttgccggtt 360  
 ttctgagttt aaccagtaat gccattcagt tgccaatctc aagcaaagca aacataagcc 420  
 agttttaatc tactttttaa gaaaagtggc agtcottttc acagtgcctg acgtaactgt 480  
 atcagagggt gaggtataag ctcacagaat toagataaat catcatgaag ttatatgtat 540  
 ttctggttaa cactggaact actctaacat ttgacactga acttacagtg caaactgtgg 600  
 cagaccttaa gcatgccatt caaagcaaat acaagattgc tattcaacac caggtgctgg 660  
 tggccaatgg aggagaatgc atggctgcag atogaagagt gtgtacctac agtgctggga 720

20 / 61

cgatacaaaa tccaatTTTT ctttttaaca aagaaatgat cttatgcgat cgtccaactg 780  
ctaticctaa aactacctt togacagaaa atgacatgga aataaaagt gaagaatctc 840  
ttatgatgcc tgcagTTTT cactactgtg ctccaaggac acagcttgca ttggaaatgt 900  
atgaagtgc caagaaact tgtctTTTT gtgaaggct tgtacatgat gaacatctc 960  
aacaccaagg ctgggctgca atcatggcca acctggagga ctgttcaaat tcatacaaaa 1020  
agctactttt caagttgaa agtatttatt caaattatct gcagtcata gaagacatca 1080  
agttaaaact tactcattta ggaactgcag tttcagtaat ggccaagatt ccaactgttg 1140  
agtgccatac cagacatagt tacagagaat gtttggaag actggattct ttacctgaac 1200  
atgaagactc agaaaaagt gagacgaaaa gatccaactga actggtgctc tctctgata 1260  
tgcttagaac aactaacgaa tctttgtaa cctcatttcc caagtcagt gaacatgtg 1320  
ccccagatac cgcagatgct gaaagtgca aagaaattag ggaatcttgt caaagtactg 1380  
ttcatcagca agatgaaact acgattgaca ctaaagatgg tgatctgcc tttttaatg 1440  
tctctttgtt agactggata aatgttcaag atagaactaa tgatgtgga tctttgtca 1500  
ggaagtgtt tgattctatg agcaggctg atccaaggat tattogacca tttatagcag 1560  
aatgccgca aactattgcc aaacttgata atcagaatat gaaagcatt aaaggactg 1620  
aagatcggct ctacgccctg gaccagatga ttgctagctg tggccgactg gtgaatgaac 1680  
agaaagagt tgcacagga ttttagcta atcagaagag agctgaaaac ttaaaggatg 1740  
catctgtatt acctgattta tgctgagtc acgcaaatca gttgatgatt atgttgcaaa 1800  
atcatagaaa actgttagat attaagcaga agtgtaccac tgccaacaa gaactagcaa 1860  
ataacctaca tgccagactg aagtggtgtt gotttgtaat gottcatgct gatcaagatg 1920  
gagagaagtt acaagctttg ctccgctcg taatagagct gttagaaga gtcaaaattg 1980  
ttgaagctct tagtacagt cctcagatgt actgcttagc tgttggtgag gttgtaagaa 2040  
gaaaaatgtt cataaacac tacaggagt gggctggtgc tttagtcaaa gatggaaga 2100  
gattatatga agcagaaaa tcaaaaagg aatccttgg gaaattattt aggaagtctt 2160

ttttaagaaa tcgtctgttt aggggactgg actcctggcc cccttccttt tgtactcaaa 2220  
agcctogaaa gttgactgt gaacttcag atatttcatt aaaagattta cagttttctgc 2280  
aatcattttg tccttcggaa gttcagccat tctcagggt tcccttactt tgtgactttg 2340  
aacctotaca ccagcatgta cttgctctac ataatttggg aaaagcagca caaagtttgg 2400  
atgaaatgtc acagaocatt acagatctac tgagtgaaca aaaggcatct gtgagccaga 2460  
catccccaca gtctgcttct tcaccaagga tggaaagtac agcaggaatt acaactacta 2520  
octcacogag aactcctcca ccactgactg ttcaggatcc cttatgtcct gcagtttgtc 2580  
ccttagaaga attatotcca gatagtattg atgcacatac gtttgatttt gaaactatto 2640  
cccatcaaaa catagaacag actattcacc aagtttcttt agaottggat tcattagcag 2700  
aaagtcctga atcagatttt atgtotgctg tgaatgagtt tgtaatagaa gaaaatttgt 2760  
cgtctcctaa toctataagt gatccacaaa gccagaaat gatggtggaa tcactttatt 2820  
catcagttat caatgcgata gacagtagac gaatgcagga tacaatgta tgtgtaagg 2880  
aggattttgg agatcact tctctgaatg tccagttgga aagatgtaga gttgttgccc 2940  
aagactctca cttcagtata caaaccatta aggaagacct ttgocacttt agaacatttg 3000  
tacaaaaaga acagtgtgac ttctcaaatt cattaatg tacagcagta gaaataagaa 3060  
acattattga aaaagtaaaa tgttctctgg aaataacact aaaagaaaaa catcaaaaag 3120  
aactactgtc tttaaaaaat gaatatgaag gtaaacttga oggactaata aaggaaactg 3180  
aagagaatga aaacaaaatt aaaaaattga agggagagtt agtatgcctt gaggaggttt 3240  
tacaaaataa agataatgaa tttgctttgg ttaaocatga aaaagaagct gtaatctgcc 3300  
tgcagaatga aaaggatcag aagttgttag agatggaaaa tataatgcac tctcaaaatt 3360  
gtgaaattaa agaactgaag cagtcacgag aaatagtgtt agaagactta aaaaagctcc 3420  
atgttgaaaa tgatgagaag ttacagttat tgagggcaga acttcagtcc ttggagcaaa 3480  
gtcatctaaa ggaattagag gacacacttc aggttaggca catacaagag tttgagaagg 3540

ttatgacaga ccacagagtt tctttggagg aattaaaaaa ggaaaatcaa caaataatta 3600  
atcaaataca agaattctoat gctgaaatta tccaggaaaa agaaaaacag ttacaggaat 3660  
taaaactcaa ggtttctgat ttgtcagaca cgagatgoaa gttagagggtt gaacttgcgt 3720  
tgaaggaagc agaaactgat gaaataaaaa ttttgctgga agaaagcaga gccagcaga 3780  
aggagacctt gaaatctctt ctgacaag agacagaaaa ttgagaaca gaaattagta 3840  
aactcaacca aaagattcag gataataatg aaaattatca ggtgggotta gcagagctaa 3900  
gaactttaat gacaattgaa aaagatcagc gtatttcoga gtaattagt agacatgaag 3960  
aagaatctaa tatacttaaa gctgaattaa acaaagtaac atctttgcat aaccaagcat 4020  
ttgaaataga aaaaaaccta aaagaacaaa taattgaact gcagagtaaa ttgattcag 4080  
aattgagtgc tcttgaaga caaaaagatg aaaaaattac ccaacaagaa gagaaatacg 4140  
aagctattat ccagaacctt gagaagaca gacaaaaatt ggtcagcagc caggagcaag 4200  
acagagaaca gtaattcag aagcttaatt gtgaaaaaga tgaagctatt cagactgcc 4260  
taaaagaatt taaattggag agagaagttg ttgagaaaga gttattagaa aaagttaaac 4320  
atcttgagaa tcaaatagca aaaagtctg ccattgactc taccagagga gattcttcaa 4380  
gcttagttgc tgaacttcaa gaaaagcttc aggaagaaaa agctaagttt ctagaacaac 4440  
ttgaagagca agaaaaaga aagaatgaag aaatgcaaaa tgttogaaca tctttgattg 4500  
cggaacaaca gaccaatfff aacctgttt taacaagaga gaaaatgaga aaagaaaaca 4560  
taataaatga tottagtgat aagttgaaaa gtacaatgca gcaacaagaa cgggataaag 4620  
atttgataga gtcactttct gaagatcgag ctcgtttgct tgaggaaaag aaaaagcttg 4680  
aagaagaagt cagtaagttg cgcagtagca gttttgttc ttcaccatat gtagctacag 4740  
ccccagaact ttatggagct tgtgcacctg aactcccagg tgaatcagat agatccgctg 4800  
tggaacagc agatgaagga agagtggatt cagcaatgga gacaagcatg atgtctgtac 4860  
aagaaaatat tcatatgtg tctgaagaaa aacagcggat aatgctgta gaacgaacat 4920  
tgoaattgaa agaagaagaa aataaacggt taaatcaaag actgatgtct cagagcatgt 4980

cttcagtatc ttcaaggcat tctgaaaaga tagctattag agattttoag gtgggagatt 5040  
tggtactcat catcctagac gaacgccatg acaattatgt gttatttact gttagtacta 5100  
ctttatattt tctacattca gagtctctac ctgccctgga totcaaaocca ggtgagggtg 5160  
cttcagggtc atctagaaga ccttgggtac ttgaaaaagt aatggaaaaa gaatactgtc 5220  
aagccaaaaa ggcacaaaaac agatttaaag ttcotttggg gacaaaagttt tacagagtga 5280  
aagccgtatc atggaataag aaagtataac ttatggacaa aattaatata ttctatgaca 5340  
ttttttctg atttgtcctg cagtgtcat tcatcactcc aaaaacagca ggccatcttt 5400  
ttatgaaaaa gtcagcgtga caatatactt cactgggtga catcgtttac tttttaactg 5460  
gottcatttt aggaataata aattcatcag aatccttggc tgaattaaaa tggttttgt 5520  
tttttggtt ttttttttac ccagacaact ctagaatgc ggaccaaact acttcatttt 5580  
ctcaaagggc ataccttgtg catttggct tatgatgagc catattaatt gcctgttaaa 5640  
tatacactag ottgaaacta gatgttaaat gttattatta ccagcatttg tctttttgtg 5700  
aaatcagtat cagaataact gcactottha acacattctt tataaaatgt ataaattatt 5760  
cagaactatt taaaataaag aggagtgtta ttgcatgctg ataatoattt tgagtttgc 5820  
tcagtagata ctaaagocaa ttgtttcagt ttttttaaat gccctttgat gtttcaaaaa 5880  
aaaaaaggaa ctgtaatttg attgactgat ttaagatca gccataagta atcagcaatc 5940  
ttcaaaagca ctttcagtggt attggtcatc tgggttotaa agggaagagt ctgtgctact 6000  
aaccatttca aatgcagact caaaccttc caacatcttt atgactotag aataatcata 6060  
ttgatgaaat cgttaattcat ggttgagttt cagaacaaaa gatattoatt gcacattaac 6120  
catttagagg tcatthaaat aacaaaatat tgtattgtaa aagaactgta caattttaa 6180  
acaataaaga tttgaacctg taaatgtgtg tgcotthaa agaaggatac atthtaata 6240  
tatttgagtg attgctggga agtgtgaaaa tattgttatg tatcatatca aagagaaca 6300  
tgthtattac aaaaatgthc tthtaactata tactatgtaa cagggtaac agtgttatgt 6360

24 / 61

agaatagaat t<sub>g</sub>t<sub>g</sub>t<sub>a</sub>a<sub>a</sub>a<sub>c</sub>t a<sub>g</sub>a<sub>t</sub>c<sub>t</sub>t<sub>t</sub>t<sub>a</sub>g a<sub>g</sub>a<sub>a</sub>g<sub>t</sub>t<sub>g</sub>c<sub>c</sub> a<sub>t</sub>t<sub>g</sub>a<sub>g</sub>c<sub>a</sub>a<sub>a</sub> g<sub>t</sub>t<sub>a</sub>t<sub>t</sub>t<sub>a</sub>a<sub>a</sub> 6420  
 t<sub>g</sub>a<sub>g</sub>t<sub>t</sub>a<sub>g</sub>t<sub>t</sub> g<sub>a</sub>g<sub>t</sub>t<sub>g</sub>g<sub>a</sub>t<sub>g</sub> a<sub>g</sub>a<sub>a</sub>t<sub>t</sub>g<sub>t</sub>t<sub>t</sub> g<sub>a</sub>g<sub>g</sub>t<sub>t</sub>t<sub>g</sub>t<sub>t</sub> g<sub>c</sub>t<sub>a</sub>g<sub>a</sub>g<sub>a</sub>a<sub>c</sub> a<sub>a</sub>t<sub>a</sub>t<sub>a</sub>t<sub>a</sub>a<sub>a</sub>a 6480  
 t<sub>a</sub>a<sub>t</sub>t<sub>c</sub>t<sub>t</sub>t<sub>t</sub> t<sub>c</sub>a<sub>g</sub>a<sub>a</sub>a<sub>a</sub>t<sub>a</sub> t<sub>t</sub>t<sub>a</sub>a<sub>t</sub>t<sub>t</sub>t<sub>c</sub>t t<sub>c</sub>a<sub>t</sub>a<sub>a</sub>a<sub>a</sub>a<sub>t</sub> a<sub>a</sub>g<sub>t</sub>t<sub>a</sub>a<sub>a</sub>t<sub>a</sub> t<sub>t</sub>t<sub>t</sub>t<sub>t</sub>t<sub>a</sub>a<sub>a</sub> 6540  
 t<sub>a</sub>t<sub>g</sub>t<sub>a</sub>t<sub>a</sub>t<sub>a</sub>t<sub>c</sub> t<sub>a</sub>a<sub>t</sub>a<sub>g</sub>t<sub>a</sub>c<sub>a</sub> a<sub>a</sub>a<sub>t</sub>g<sub>g</sub>a<sub>a</sub>t<sub>a</sub> a<sub>a</sub>c<sub>a</sub>t<sub>c</sub>a<sub>t</sub>a<sub>g</sub> t<sub>g</sub>t<sub>a</sub>t<sub>a</sub>g<sub>a</sub>a<sub>a</sub> a<sub>c</sub>t<sub>g</sub>a<sub>a</sub>t<sub>t</sub>t<sub>g</sub> 6600  
 a<sub>c</sub>a<sub>a</sub>g<sub>t</sub>t<sub>a</sub>a<sub>t</sub> g<sub>a</sub>t<sub>a</sub>t<sub>a</sub>a<sub>a</sub>t<sub>g</sub>a a<sub>c</sub>a<sub>a</sub>a<sub>t</sub>g<sub>a</sub>t<sub>t</sub> t<sub>c</sub>a<sub>a</sub>a<sub>a</sub> 6636

<210> 4  
 <211> 6518  
 <212> DNA  
 <213> Unknown

<220>  
 <223> mouse Rb1cc1 gene

<400> 4  
 c<sub>g</sub>a<sub>g</sub>a<sub>t</sub>c<sub>g</sub>a<sub>c</sub> a<sub>a</sub>t<sub>a</sub>a<sub>c</sub>a<sub>a</sub>a<sub>c</sub> c<sub>c</sub>c<sub>a</sub>c<sub>g</sub>g<sub>c</sub>g<sub>g</sub> c<sub>c</sub>g<sub>c</sub>g<sub>a</sub>c<sub>c</sub>c<sub>a</sub> g<sub>c</sub>c<sub>c</sub>t<sub>g</sub>c<sub>c</sub>a<sub>a</sub> g<sub>c</sub>t<sub>c</sub>t<sub>c</sub>a<sub>g</sub>t<sub>g</sub> 60  
 c<sub>c</sub>t<sub>c</sub>g<sub>g</sub>c<sub>c</sub>g<sub>g</sub> c<sub>g</sub>g<sub>a</sub>c<sub>t</sub>c<sub>g</sub>g<sub>g</sub> t<sub>c</sub>c<sub>c</sub>c<sub>g</sub>c<sub>g</sub>c<sub>g</sub> g<sub>a</sub>g<sub>c</sub>c<sub>g</sub>a<sub>g</sub>g<sub>g</sub> g<sub>c</sub>c<sub>g</sub>g<sub>a</sub>g<sub>c</sub>a<sub>g</sub> c<sub>g</sub>g<sub>t</sub>g<sub>c</sub>g<sub>c</sub>c 120  
 c<sub>g</sub>a<sub>c</sub>t<sub>c</sub>c<sub>c</sub>a<sub>t</sub> c<sub>c</sub>t<sub>t</sub>c<sub>g</sub>g<sub>g</sub>c c<sub>t</sub>c<sub>g</sub>c<sub>c</sub>g<sub>g</sub>g<sub>t</sub> a<sub>c</sub>t<sub>c</sub>g<sub>g</sub>c<sub>g</sub>g<sub>c</sub> t<sub>g</sub>g<sub>g</sub>c<sub>g</sub>c<sub>c</sub>g<sub>a</sub> c<sub>g</sub>g<sub>t</sub>t<sub>g</sub>t<sub>g</sub>t<sub>c</sub> 180  
 g<sub>g</sub>t<sub>t</sub>g<sub>g</sub>c<sub>g</sub>g<sub>c</sub> g<sub>c</sub>c<sub>g</sub>c<sub>a</sub>g<sub>g</sub>g<sub>g</sub> c<sub>g</sub>g<sub>t</sub>t<sub>g</sub>a<sub>t</sub>a<sub>g</sub> c<sub>c</sub>g<sub>c</sub>c<sub>g</sub>c<sub>c</sub>g<sub>a</sub> g<sub>g</sub>c<sub>c</sub>a<sub>g</sub>g<sub>g</sub>c<sub>g</sub> g<sub>c</sub>g<sub>g</sub>c<sub>a</sub>g<sub>a</sub>a<sub>g</sub> 240  
 a<sub>t</sub>g<sub>g</sub>t<sub>g</sub>c<sub>g</sub>g<sub>a</sub> g<sub>g</sub>g<sub>c</sub>c<sub>g</sub>c<sub>c</sub>g<sub>g</sub> c<sub>t</sub>g<sub>t</sub>g<sub>t</sub>t<sub>g</sub>t<sub>c</sub> g<sub>c</sub>c<sub>g</sub>c<sub>g</sub>g<sub>g</sub>c<sub>g</sub> g<sub>a</sub>g<sub>g</sub>a<sub>g</sub>g<sub>g</sub>c<sub>g</sub> t<sub>g</sub>c<sub>c</sub>g<sub>g</sub>t<sub>t</sub>c<sub>t</sub> 300  
 c<sub>t</sub>g<sub>a</sub>g<sub>t</sub>t<sub>t</sub>c<sub>a</sub> c<sub>c</sub>a<sub>g</sub>t<sub>a</sub>a<sub>t</sub>g<sub>c</sub> c<sub>a</sub>c<sub>t</sub>c<sub>a</sub>g<sub>t</sub>t<sub>g</sub> c<sub>c</sub>a<sub>a</sub>t<sub>a</sub>t<sub>c</sub>a<sub>a</sub> g<sub>c</sub>a<sub>a</sub>g<sub>g</sub>c<sub>a</sub>t a<sub>t</sub>a<sub>a</sub>g<sub>a</sub>c<sub>a</sub>a<sub>t</sub> 360  
 t<sub>g</sub>t<sub>a</sub>a<sub>t</sub>c<sub>t</sub>t<sub>t</sub> t<sub>a</sub>a<sub>g</sub>a<sub>a</sub>a<sub>a</sub>g<sub>t</sub> a<sub>g</sub>t<sub>a</sub>c<sub>t</sub>t<sub>c</sub>t<sub>c</sub> t<sub>t</sub>c<sub>a</sub>c<sub>a</sub>g<sub>t</sub>a<sub>t</sub> c<sub>t</sub>g<sub>g</sub>c<sub>g</sub>g<sub>a</sub>t<sub>c</sub> a<sub>a</sub>c<sub>a</sub>c<sub>t</sub>g<sub>g</sub>a<sub>g</sub> 420  
 g<sub>g</sub>t<sub>g</sub>a<sub>g</sub>g<sub>t</sub>g<sub>t</sub> c<sub>a</sub>g<sub>c</sub>t<sub>t</sub>c<sub>c</sub>a<sub>g</sub> a<sub>a</sub>a<sub>g</sub>a<sub>t</sub>c<sub>a</sub>t<sub>c</sub> a<sub>t</sub>g<sub>a</sub>a<sub>g</sub>t<sub>t</sub>a<sub>t</sub> a<sub>t</sub>g<sub>t</sub>g<sub>t</sub>t<sub>t</sub>c<sub>t</sub> g<sub>g</sub>t<sub>t</sub>a<sub>a</sub>c<sub>a</sub>c<sub>c</sub> 480  
 g<sub>g</sub>a<sub>a</sub>c<sub>c</sub>a<sub>c</sub>g<sub>c</sub> t<sub>g</sub>a<sub>c</sub>a<sub>t</sub>t<sub>t</sub>g<sub>a</sub> c<sub>a</sub>c<sub>t</sub>g<sub>a</sub>g<sub>c</sub>t<sub>a</sub> a<sub>c</sub>t<sub>g</sub>t<sub>g</sub>c<sub>a</sub>a<sub>a</sub> c<sub>t</sub>g<sub>t</sub>g<sub>g</sub>c<sub>t</sub>g<sub>a</sub> t<sub>c</sub>t<sub>t</sub>a<sub>a</sub>g<sub>c</sub>a<sub>t</sub> 540  
 g<sub>c</sub>c<sub>a</sub>t<sub>t</sub>c<sub>a</sub>a<sub>a</sub> g<sub>c</sub>a<sub>a</sub>a<sub>t</sub>a<sub>c</sub>a<sub>a</sub> g<sub>a</sub>t<sub>t</sub>g<sub>c</sub>t<sub>a</sub>t<sub>t</sub> c<sub>a</sub>g<sub>c</sub>a<sub>c</sub>c<sub>a</sub>g<sub>g</sub> t<sub>t</sub>c<sub>t</sub>g<sub>t</sub>g<sub>t</sub>g<sub>t</sub> c<sub>a</sub>a<sub>t</sub>g<sub>g</sub>a<sub>g</sub>a 600  
 g<sub>a</sub>a<sub>t</sub>g<sub>c</sub>a<sub>t</sub>g<sub>g</sub> c<sub>t</sub>g<sub>c</sub>a<sub>g</sub>a<sub>t</sub>c<sub>g</sub> a<sub>a</sub>g<sub>a</sub>g<sub>t</sub>g<sub>t</sub>g<sub>t</sub> a<sub>c</sub>t<sub>t</sub>a<sub>c</sub>a<sub>g</sub>c<sub>g</sub> c<sub>t</sub>g<sub>g</sub>g<sub>a</sub>c<sub>g</sub>g<sub>a</sub> c<sub>a</sub>c<sub>a</sub>a<sub>a</sub>t<sub>c</sub>c<sub>a</sub> 660  
 a<sub>t</sub>t<sub>t</sub>t<sub>t</sub>c<sub>t</sub>t<sub>t</sub> t<sub>t</sub>a<sub>a</sub>t<sub>a</sub>a<sub>a</sub>g<sub>a</sub> a<sub>a</sub>t<sub>g</sub>a<sub>t</sub>c<sub>t</sub>t<sub>a</sub> t<sub>g</sub>t<sub>g</sub>a<sub>c</sub>c<sub>g</sub>t<sub>g</sub> c<sub>a</sub>c<sub>c</sub>t<sub>g</sub>c<sub>t</sub>a<sub>t</sub> t<sub>c</sub>c<sub>t</sub>a<sub>a</sub>a<sub>a</sub>g<sub>c</sub>t 720  
 a<sub>c</sub>c<sub>t</sub>t<sub>t</sub>t<sub>c</sub>a<sub>a</sub> c<sub>a</sub>g<sub>a</sub>a<sub>a</sub>a<sub>t</sub>g<sub>a</sub> c<sub>a</sub>t<sub>g</sub>g<sub>a</sub>a<sub>a</sub>t<sub>a</sub> a<sub>a</sub>a<sub>g</sub>t<sub>t</sub>g<sub>a</sub>a<sub>g</sub> a<sub>g</sub>t<sub>c</sub>t<sub>c</sub>t<sub>t</sub>a<sub>t</sub> g<sub>a</sub>t<sub>g</sub>c<sub>c</sub>t<sub>g</sub>c<sub>a</sub> 780  
 g<sub>t</sub>t<sub>t</sub>t<sub>c</sub>a<sub>c</sub>a c<sub>t</sub>g<sub>t</sub>t<sub>g</sub>c<sub>t</sub>t<sub>c</sub> a<sub>a</sub>g<sub>g</sub>a<sub>c</sub>a<sub>c</sub>a<sub>g</sub> c<sub>t</sub>t<sub>g</sub>c<sub>a</sub>g<sub>t</sub>g<sub>g</sub> a<sub>a</sub>a<sub>t</sub>g<sub>t</sub>a<sub>t</sub>g<sub>a</sub> c<sub>g</sub>t<sub>t</sub>g<sub>c</sub>c<sub>a</sub>a<sub>g</sub> 840

aagctctgct ctttctgtga agggcttgtc catgatgaac atcttcagca ccaaggctgg 900  
gotgcaatca tggccaatct ggaggactgt tcaaattcat accaaaaact tcttttcaag 960  
tttgaaagta ttattcttga ttatcttcaa tocatagaag acatcaagtt aaaacttact 1020  
catttaggaa ctgctgttct agtaatggcc aagattccac tattggagtg cctaaccaga 1080  
catagttaca gggaaatgitt gggaagaccg gattctttga atgaacatga aggctcagag 1140  
aaagctgaga tgaagagatc tactgaactg gtgctctctc ctgatatgcc tagaacaacg 1200  
aacacatcct tggtaacctc atttcacaag tcaatggagc atgtagctcc agatcccacc 1260  
ggtactgaac gtggcaaaga acttagggaa tottgtcaaa gtactgtcca gcaagaagaa 1320  
gcttcagtggt atgotaaaga cagtgatctg ctttttttta atgtttcttt gttagactgg 1380  
ataaatgttc aagatagacc caatgatgtg gaatctctgg tcaggaagtg ctttgattct 1440  
atgagcaggc ttgacccaaa gattattcaa ccatttatgt tagaatgoca tcaactatt 1500  
gccaaaactg ataatoagaa tatgaaagcc attaaaggcc ttgaagatcg gotgtatgcc 1560  
ttggaccaga tgattgctag ctgtagccgg ctggtaaagc aacagaaaga gcttgctcag 1620  
ggatttttag ctaatcagat gagagctgaa aacttgaagg atgcatctgt gttacctgat 1680  
ctgtgtctga gtcattgcaa tcaactaatg attatgttgc aaaaccacag aaaactgttg 1740  
gatattaaac agaagtgcac cactgccaaa caagagctag caaacaatct ccacgtcaga 1800  
ctgaagtggg ttgtttttgt gatgottcat gctgatcaag atggagaaaa actgcaggca 1860  
ctgctcggcc ttgtaataga gctgttagaa agagtcagaa ttgttgagcc tottagtaca 1920  
gttcctcaga tgtattgcct agctgttgtt gaggttgtaa gaagaaaaat gttcattaaa 1980  
cactacagag agtgggctgg tgctttagtc aaagaogaa aacaactata tgaagctgaa 2040  
aagtcaaaaa gggaaatcctt tgggaaatta tttaggaagt cttttttaag aaatcgtctg 2100  
tttaaaggac tggactcctg gccttcctca ttttgtactc agaagcctcg aaaatttgac 2160  
tgtgaacttc cagatatatc attaaaagat ttacagtttc ttcaatcatt ttgtccttca 2220

gaagtcagc cattcctcag ggtccocotta othtgtgact ttgaaoctot acaccagcat 2280  
 gtacttgccc tacataatth ggtaaaagca gcacaaagtt tggatgaaat gtcacagact 2340  
 attacagatc toctaaatga acaaaaggta tocacaagtc aggcattccc acagtcagct 2400  
 gcttctccaa gaatagaaag tacaacaggc attacaacca ctacctcacc aaaaactcct 2460  
 cctccactaa ctgttcagga caccttatgt cgggcagtgt gtccottaga agaattatct 2520  
 ccagatagta tcatgtctca tacatttgat ttogaaaacca tctcccatcc aaacacagaa 2580  
 caacctgttc accaagcttc tatagacttg gattcattag cagaaagccc tgagtctgac 2640  
 tttatgtctg ctgtgaatga gtttgtgata gaagaaaatt tatcgtctcc aaacctata 2700  
 agtcatccac aaagtcaga aatgatggtg gagtcacttt actcttcagt catcaatgca 2760  
 atagatagta ggcatatgca agacacaagt acactggaa acgagggtt tgggatcgg 2820  
 gctgtctac atgtccagct ggagaaatgc agagctgtg cacaagactc tcacaccagt 2880  
 atacaaacca tcaaggacga tctgtgcat ttcagaacat ttgtacaaa agaacagtgt 2940  
 gacttagcaa attatttaaa atgtacagct gtagaaataa gaaatattat tgaaaaagta 3000  
 aaatgttctc tagaaataac actaaaggaa aagcatcagc aagaactcca atcttataaa 3060  
 attgatgatg aatgtaaact tgatgtctca gtaaagaca gtgaagaaaa tgtaaataaa 3120  
 attttaaaat tgaaagaaaa tttagtatcc cttgaagagg ctttataaaa taaagacaat 3180  
 gaattcactt cgattaaaca tgaaaaggat gctattgtct gtgtgcagca agaaaaggat 3240  
 cagaagtgt tagagatgga aaagataatg catactcaac attgtgaaat taaagaactg 3300  
 aagcagtcac gagagatggc attagaagac ctgaaaaagc tgcatgatga aaaaatcgag 3360  
 tcattgagag ctgaatttca gtgcttagaa gaaaatcacc tgaaggaatt agaggacaca 3420  
 ctgcacatca ggcacacaca ggagtttgag aaagttatga cagaccacaa tatgtctttg 3480  
 gagaaattaa aaaaagaaaa tcagcaaaga attgaccaga tgctagaatc tcatgcctca 3540  
 actattcagg aaaaagacga acagctgcag gagttgaaac tcaaagtttc tgacttgtca 3600  
 gacatgagat giaagttaga gtttgaactt gcactaaagg aagcagaaac agatgagata 3660

aagatcttgt tggaagagag cagaacacag cagaaggaaa tgctgaagtc tttacttgaa 3720  
caagagaccg aaaacttaag aacagaaata agtaactaa accaaaaaat tcatgataat 3780  
aatgagagtt accaggtggg ttgtcagag ttaagagctt taatgacaat tgaaaaagat 3840  
cagtgcattt cagagttaat cagtagacat gaagaagaat ctaatatact taaggctgaa 3900  
ttagacaatg ttacatcttt gcatcgccaa gcatatgaaa tagaaaaaaa actgaaagaa 3960  
caaatagttg aattgcagac tagattgaac tcagaattga gtgctcttga aaaacagaaa 4020  
gatgaaaaaa ttaccoaaca agaagagaag tatgaagcac ttatccagaa ctttgagaaa 4080  
gacaaggaga gactgggtcaa gaaccacgag caagacaaag aacacttaat tcaggagctt 4140  
aattttgaaa aaaacaaagc tgttcaaact gcactagatg aatttaaggt ggagagagaa 4200  
ottgttgaga aagagttatt agaaaaagtt aaacatcttg agaatcaaat agccaaaact 4260  
octgcotttg agtcagocag agaagattct tcaagcttag ttgcggaact tcaagagaaa 4320  
ottcaagaag aaaagctaa gtttctgaa caacttgaag aacaagagaa aagaaagaat 4380  
gaggaaatgc aaaatgtcag aacctctttg attgtgagc agcagaccaa cttaacaca 4440  
gtottaacaa gagagaaaat gaggaaagaa aacataataa atgatcttag tgataagcta 4500  
aaaagtacaa tgcagcagca agagcgggat aaagatttga tagagtcgct ctctgaggac 4560  
cgagctcgtt tgcttgaaga gaagaagcag cttgaagagg aagtgagtaa actccgcaact 4620  
agcagttttc tttcctcagc acctgtggct gcagcccag agctctatgg tgcgtgtgca 4680  
cotgagctcc caggggagcc agagagatca gtcatggaga oggcagatga aggaagactg 4740  
gattccgcaa tggagacaag catgatgtct gtccaagaaa acatgttatc tgaagagaag 4800  
cagaggatca tgctcctaga acggacattg cagttgaaag aagaagaaaa caagcggtta 4860  
aatoaaagac tgatgtctoa gagtttgtcc tcagtctctt caaggcattc tgaaaaaata 4920  
gccattagag attttcaggt gggagatttg gttctcatca tcctagatga gcggcacgac 4980  
aattatgtat tgttactgt tagtctact ttatatcttc tgcaactcaga gtctcttct 5040

gccctggatc tcaaaccagg tgaggagct tcaggtgcat ctagaagacc ctgggtocct 5100  
gggaaagtaa tggaaaagga atactgtcaa gccaaaaagg cacaaaaacag atttaaagtt 5160  
cctttgggga caaagtttta cagagtgaaa gctgtgtcat ggaataagaa agtatagcca 5220  
cagaagaaat ctctacatct cataccattt ttgattttgc ctocagtgct gataaactac 5280  
tctaaaaaca gctggccatt gttgggtttt tttttgttgt ttgtttgttt gtttgttttt 5340  
acaaaagtca acataacaat ataattcatt gttggactgc acttaccttt taagtggcta 5400  
catcttagga acaataaatt tattaaaatt cttggctgaa tcaaatggt ttgttttgt 5460  
ttccacocaa ataactagaa attcggacca aatagatgt tttocaaggg cagagcotgc 5520  
actgtggcct gtgactagcc tcattagttg cctgttaata aacattagct gaatagttac 5580  
cagtgttgtt accagcattt gtctcttgt gaattcaaga gtctctgcac tctttaacat 5640  
gttctttata aaatgtataa acccttcaa actatttaa gaggagtgtt attgcatgca 5700  
gataatcata attttgagtt tgcctcagaa gactactaa gcaatttgt tcatttttt 5760  
ttaaaaaat gocctttaat gtttcaaaaa aaaataacag tgtaatttga ctgactttaa 5820  
gatcagccat aaataatgag cagtcttcaa aagcactttt cacacagatc atctgggctc 5880  
cagggaggaa gagtctgtgc cactgatgtt ttcaagtga ggactcactc aaacctctca 5940  
gcatcttagg actgtttcaa gtaatcatat tgatgaactc gtaattcatg gttgacctc 6000  
agaagaagat attcattgta tattaacatt tagaggatcat ttaaataaca aaagtctgta 6060  
ttgtaaagga cotgtacaat ttaagacaa taaagaattg aaagtgtaaa tgtgtgtgcc 6120  
ttttaaaggt tacattttaa atatatgog tgatttctgg gaaaggtgaa aaaaatgttc 6180  
tgtatcaaag agaaacctgt ttattaaaa atgttgtttg tctctatgt aacagggtga 6240  
agtgggttct tgtggaacag aacctgtaa actcaaggtt taaaagctgg cactgaacaa 6300  
agatattgaa gtagctagcc tagttgattg gaaagagttt cttcagggtt gttgttagca 6360  
gtaataaatg attcttttct agaaatattt aatttctcca taaaaataag ttggatattt 6420  
ttataaatat gtaatctaat agaataaaaa tggataaac atagtgtata gaatacctaa 6480

ttcaaaaaca tattaatgaa taaacgaaca aatgatta 6518

<210> 5  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-S1

<400> 5  
gacgtaactg tatcagaggg 20

<210> 6  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-S2

<400> 6  
tcagagggtg aggtataagc 20

<210> 7  
<211> 28  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-S3

<400> 7  
atcatcatga agttatatgt atttctgg 28

<210> 8  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-ASP2

30 / 61

<400> 8  
ttggccatta ctgaaactgc a 21

<210> 9  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-S4

<400> 9  
tgtggaatct ttggtcagga 20

<210> 10  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-ASP1

<400> 10  
taatccttgg atcaagcctg c 21

<210> 11  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-S5

<400> 11  
tgtaccaactg ccaaacaaga a 21

<210> 12  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

31 / 61

<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-S6

<400> 12

cttoggaagt tcagccatto

20

<210> 13

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-S6R

<400> 13

tccatccttg gtgaagaagc

20

<210> 14

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-S7

<400> 14

tcccatcca aacatagaac a

21

<210> 15

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-S8

<400> 15

aaggaagacc tttgccactt t

21

<210> 16

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial

32 / 61

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called CC1-S9

&lt;400&gt; 16

gaactgaagc agtcacgaga aa

22

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called CC1-S10

&lt;400&gt; 17

ttgtcagaca cgagatgcaa

20

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 22

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called CC1-S11

&lt;400&gt; 18

aaattatcag gtgggcttag ca

22

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called CC1-S

&lt;400&gt; 19

ccaggagcaa gacagagaac

20

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-AS

<400> 20

cgagctcgat ctcagaaag

20

<210> 21

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-AS5

<400> 21

tgcttgctc cattgotgaa

20

<210> 22

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-AS4

<400> 22

ccaaatctcc cacctgaaaa

20

<210> 23

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called HCC22INTS

<400> 23

ctagacgaac gccatgacaa

20

<210> 24

<211> 23

<212> DNA

34 / 61

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called HCC22INTAS

<400> 24

tggottgaca gtattctttt tcc

23

<210> 25

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-AS2

<400> 25

tgagcactgc aggacaaatc a

21

<210> 26

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called CC1-AS1

<400> 26

tgatgaatga gactgcagg a

21

<210> 27

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called RB1CC-RS1

<400> 27

cctccctgcc tcctagagtt

20

<210> 28

<211> 20

35 / 61

<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called RB1CC-R4

<400> 28  
tagtcctcgg cagcggttac 20

<210> 29  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called RB1CC-R3

<400> 29  
aaactcagaa aaccggcaac 20

<210> 30  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called RB1CC-R2

<400> 30  
tgccacagtt tgcactgtaa g 21

<210> 31  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called RB1CC-R1

<400> 31  
tttccaatgc aagctgtgtc 20

<210> 32

36 / 61

<211> 21  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called RB1CC-RS2

<400> 32

gagtgaaagc cgtatcatgg a

21

<210> 33  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called RB1CC-RS3

<400> 33

aatgoggacc aaactacttc a

21

<210> 34  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called on RB1CC-RS4

<400> 34

tcagtggatt ggtcatotgg

20

<210> 35  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called RB1CC-RS5

<400> 35

tgattgctgg gaagtgtgaa

20

37 / 61

<210> 36  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called RB1CC-RS6

<400> 36

gagaattggt tgaggtttgt tgc

23

<210> 37  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called RB1CC-R5

<400> 37

ttgctcaatg gcaacttctc

20

<210> 38  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MMK3-1-S

<400> 38

gggtgaggta taagtcaca gaa

23

<210> 39  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MMK3-2-S

<400> 39

tottatgtga togtccacct g

21

<210> 40  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MMK3-2-AS

<400> 40  
caaaggattc cctttttgat ttt 23

<210> 41  
<211> 26  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MMK6-2-S

<400> 41  
gotaatcaga agagagctga aaactt 26

<210> 42  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MMK1-1-S

<400> 42  
gatggtgata tgccttttt 20

<210> 43  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MMK1-2-S

<400> 43  
taagcatgcc attoaagca 20

<210> 44  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MMK15-1-S

<400> 44

tttctttata caggaagtc ttt

23

<210> 45  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MMK15-2-AS

<400> 45

ttttcagaat gccttgaaga t

21

<210> 46  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MMK31-2-S

<400> 46

aggataccat catcctagac gaa

23

<210> 47  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MMK31-2-AS

<400> 47

40 / 61

cttaccaccc tcacctggtt 20

<210> 48  
<211> 26  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MMK40-S

<400> 48  
ttttgtattt taagtttagg aactgc 26

<210> 49  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MMK38-S

<400> 49  
ataggataca aatccaattt ttc 23

<210> 50  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MMK31-S

<400> 50  
aaaatatagg atacaaatcc aatgaca 27

<210> 51  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MMK36-S

41 / 61

<400> 51  
aaaggatgca tctgtattac ctga 24

<210> 52  
<211> 19  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MMK340-S1

<400> 52  
gccaaacctgg aggactgtt 19

<210> 53  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-S1

<400> 53  
ggttctctga gtttcaccag taa 23

<210> 54  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-S2

<400> 54  
atcaaacactg gagggtgagg 20

<210> 55  
<211> 28  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called EcoGC1S3

<400> 55  
atcatcatga agttatatgt gtttctgg 28

<210> 56  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-S7

<400> 56  
gatgctgca gtttccaca 20

<210> 57  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-S8

<400> 57  
acgtggcaaa gaacttaggg 20

<210> 58  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-AS4

<400> 58  
gottcttott gctggacagt 20

<210> 59  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

43 / 61

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-S11

<400> 59

ccttgacca gatgattgct

20

<210> 60

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-S9

<400> 60

gggtcccctt actttgtgac t

21

<210> 61

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-AS8

<400> 61

catccaaact ttgtgctgct

20

<210> 62

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-S12

<400> 62

tgctgcacaa gactctcaca

20

<210> 63

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

44 / 61

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MCC-AS6

&lt;400&gt; 63

ggcacagatc gtccttgatg g

21

&lt;210&gt; 64

&lt;211&gt; 22

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MCC-S13

&lt;400&gt; 64

tgaacttgca ctaaaggaag ca

22

&lt;210&gt; 65

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MCC-AS7

&lt;400&gt; 65

cagcatttcc ttctgotgtg

20

&lt;210&gt; 66

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MCC-S14

&lt;400&gt; 66

tgagtgotct tgaaaaacag aaag

24

&lt;210&gt; 67

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

45 / 61

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MCC-S15

&lt;400&gt; 67

ttgggaact tcaagagaaa c

21

&lt;210&gt; 68

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MIRB1CC-5

&lt;400&gt; 68

ctggaacaac ttgaagaaca agag

24

&lt;210&gt; 69

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MIRB1CC-3

&lt;400&gt; 69

acgagotcgg tctoagaga

20

&lt;210&gt; 70

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MCC-S3

&lt;400&gt; 70

tcaggtggga gatttggttc

20

&lt;210&gt; 71

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

46 / 61

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-AS3

<400> 71

tgccgctcat ctaggatgat

20

<210> 72

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-AS2

<400> 72

cagcactgga ggacaaatca

20

<210> 73

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-AS1

<400> 73

agtcacaagc cacagtgag

20

<210> 74

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-ASR1

<400> 74

tgctttgaat ggcatgetta

20

<210> 75

<211> 20

47 / 61

<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-ASR2

<400> 75

cctcaccctc cagtgttgat

20

<210> 76

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-ASR3

<400> 76

cctcgcacc atctctg

18

<210> 77

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called INTRON1ASR

<400> 77

cagggtcccc gtaggaact

18

<210> 78

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-SR1

<400> 78

tcaggtggga gatttggttc

20

<210> 79

48 / 61

<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-SR2

<400> 79  
ccagcatttg tcctottgtg 20

<210> 80  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MCC3-S3

<400> 80  
ttttgagttt gcctcagaag a 21

<210> 81  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MCC3-S4

<400> 81  
tcggaattca tggttgacct 20

<210> 82  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MCC3-AS2

<400> 82  
tttccagaa atcaogcaat 20

49 / 61

<210> 83  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC3-AS13

<400> 83

tctttgttca gtgocagctt t

21

<210> 84  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC15S

<400> 84

accagtgagg tttgtcagag

20

<210> 85  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC15AS

<400> 85

cttggcgatg caaagatgta

20

<210> 86  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-3S

<400> 86

acaotggagg gtgaggtgc

20

50 / 61

<210> 87  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MCC-3AS

<400> 87

gtgtcaaatg tcagcgtggt

20

<210> 88  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT1-S

<400> 88

gacggttggtg tcggttgg

18

<210> 89  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT1-AS

<400> 89

ttggcaactg agtggoatta

20

<210> 90  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT2-S0

<400> 90

tgccactcag ttgccaagta

20

<210> 91  
<211> 22  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT2-S

<400> 91

cacagtatct ggcgtaagt ca

22

<210> 92  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT3-AS

<400> 92

cccagcgctg taagtacaca

20

<210> 93  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT4-S

<400> 93

taagcatgcc attcaaagca

20

<210> 94  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT4-AS

<400> 94

52 / 61

caggtgcaag gtcacataag 20

<210> 95  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MINT5-S

<400> 95  
gcagttttcc acaotggttc 20

<210> 96  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MINT5-AS

<400> 96  
ctccagattg gccatgattg 20

<210> 97  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MINT6-S

<400> 97  
gccaatctgg aggactgttc 20

<210> 98  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MINT6-AS

<400> 98  
agaatccggt cttoccaaac 20

<210> 99  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MINT7-S

<400> 99  
cccaatgatg tggaatctct g 21

<210> 100  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MINT7-AS

<400> 100  
agcaatcadc tggccaagg 20

<210> 101  
<211> 19  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MINT8-S

<400> 101  
aagatcggt gtatgcctt 19

<210> 102  
<211> 22  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MINT8-AS

54 / 61

<400> 102  
caacagtttt ctgtggtttt gc 22

<210> 103  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT9-S

<400> 103  
ggatgcatct gtgttacctg a 21

<210> 104  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT9-AS

<400> 104  
gcctgcagtt tttctccatc 20

<210> 105  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT10-S

<400> 105  
gtccgcctt gtaatagagc 20

<210> 106  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

55 / 61

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT10-AS

<400> 106

ccaaaggatt ccotttttga

20

<210> 107

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT11-S

<400> 107

gggctggtgc ttagtcaaa

20

<210> 108

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT11-AS

<400> 108

aaaatgagga aggccaggag

20

<210> 109

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT12-S

<400> 109

actcctggcc ttctcattt

20

<210> 110

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

56 / 61

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MINT12-AS

&lt;400&gt; 110

tgaggaatgg ctgcacttot

20

&lt;210&gt; 111

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MINT13-S

&lt;400&gt; 111

gocctgaaaa tttgactgtg a

21

&lt;210&gt; 112

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MINT13-AS

&lt;400&gt; 112

tccaaacttt gtgctgcttt t

21

&lt;210&gt; 113

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MINT14-S

&lt;400&gt; 113

aaaagcagca caaagtttgg a

21

&lt;210&gt; 114

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

57 / 61

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MINT14-AS

&lt;400&gt; 114

tggaggagga gtttttgggtg

20

&lt;210&gt; 115

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MINT15-S

&lt;400&gt; 115

ccacgagcaa gacaaagaac

20

&lt;210&gt; 116

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MINT15-AS

&lt;400&gt; 116

tcgcgaacta agcttgaaga a

21

&lt;210&gt; 117

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; artificially synthesized primer sequence called MINT16-S

&lt;400&gt; 117

tgaggaaatg caaaatgtca

20

&lt;210&gt; 118

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

58 / 61

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT16-AS

<400> 118

gctcttgctg ctgcattgta

20

<210> 119

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT17-S

<400> 119

aaagtacaat gcagcagcaa ga

22

<210> 120

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT17-AS

<400> 120

tgotgaggaa agaaaactgc t

21

<210> 121

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT18-S

<400> 121

agctctatgg tgcgtgtgc

19

<210> 122

<211> 21

59 / 61

<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MINT18-AS

<400> 122  
gagcatgata ctctgcttct c 21

<210> 123  
<211> 22  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MINT19-S

<400> 123  
totgaagaga agcagaggat ca 22

<210> 124  
<211> 22  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MINT19-AS

<400> 124  
cagtotttga ttttaaccgct tg 22

<210> 125  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>  
<223> artificially synthesized primer sequence called MINT20-S

<400> 125  
cattgcagtt gaaagaagaa gaaa 24

<210> 126

60 / 61

<211> 21  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT20-AS

<400> 126

tgcocttgaag agactgagga c

21

<210> 127  
<211> 22  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT21-S

<400> 127

tcctttcaag gcattctgaa aa

22

<210> 128  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT21-AS

<400> 128

atccagggca ggaagagact

20

<210> 129  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT22-S

<400> 129

agcggcagca caattatgta

20

61 / 61

<210> 130  
<211> 22  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT22-AS

<400> 130

ttttcatta ctttccaag ga

22

<210> 131  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT23-S

<400> 131

ctgggtcctt gggaaagtaa

20

<210> 132  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial

<220>

<223> artificially synthesized primer sequence called MINT23-AS

<400> 132

cagcactgga ggacaaatca

20

## 特許協力条約に基づく国際出願願書

GP02-1023PCT

原本（出願用） - 印刷日時 2003年01月30日（30.01.2003）木曜日 11時53分04秒

VIII-5-1	不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て 不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て（規則4.17(v)及び51の2.1(a)(v)）	本国際出願に関し、  茶野 徳宏は、 本国際出願の請求項に記載された対象が以下のよう に開示されたことを申し立てる。
VIII-5-1 (i)	開示の種類	刊行物
VIII-5-1 (ii)	開示の日付:	2002年02月14日 (14.02.2002)
VIII-5-1 (iii)	開示の名称:	Oncogene
VIII-5-1 (iv)	開示の場所:	
VIII-5-1 (v)	本申立ては、次の指定国のため になされたものである。:	すべての指定国

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP03/00882

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
 Int.Cl<sup>7</sup> C07K14/47, C12N15/12, C07K16/18, A61K38/00

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

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
 Int.Cl<sup>7</sup> C07K14/47, C12N15/12, C07K16/18, A61K38/00

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
 SwissProt/PIR/GeneSeq, MEDLINE (STN), WPI (DIALOG),  
 Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, BIOSIS (DIALOG)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Chano T., et al., Isolation, characterization and mapping of the mouse and human RB1CC1 genes., Gene. (2002 May), Vol.291, No.1 to 2, pages 29 to 34	1-13,26
X	Chano T., et al., Identification of RB1CC1, a novel human gene that can induce RB1 in various human cells., Oncogene. (2002 Feb), Vol.21, No.8, pages 1295 to 1298	1-13,26
X	WO 00/73801 A2 (OBATA, Yuichi), 07 December, 2000 (07.12.00), & AU 200050478 A & EP 1259812 A2	1-13,26

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

\* Special categories of cited documents:  
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
 "E" earlier document but published on or after the international filing date  
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art  
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
 25 February, 2003 (25.02.03)

Date of mailing of the international search report  
 11 March, 2003 (11.03.03)

Name and mailing address of the ISA/  
 Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.  
PCT/JP03/00882

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00/55174 A1 (HUMAN GENOME SCIENCES, INC.), 21 September, 2000 (21.09.00), & US 2002/0151681 A1 & EP 1165589 A1 & AU 200036194 A	1-13, 26

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP03/00882

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: 18-25

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 18 to 25 pertain to diagnostic methods to be practiced on the human body and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required to search.

2.  Claims Nos.: 14-17

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Concerning "a compound screened by a screening method", "a compound inhibiting or potentiating the function of inducing the expression of a gene - - -" and "a compound inhibiting or potentiating the expression of a nucleic acid - - -" as set forth in claims 14 to 17, (continued to extra sheet)

3.  Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**  The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.  
PCT/JP03/00882

Continuation of Box No.I-2 of continuation of first sheet(1)

it is completely unknown what specific compounds are involved and what are not. Thus, these claims are described in an extremely unclear manner. Such being the case, no meaningful opinion can be presented on the novelty and industrial applicability of the inventions as set forth in the above claims.

<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))                  Int. Cl. <sup>7</sup> C07K14/47, C12N15/12, C07K16/18, A61K38/00</p>											
<p>B. 調査を行った分野                  調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))                  Int. Cl. <sup>7</sup> C07K14/47, C12N15/12, C07K16/18, A61K38/00</p>											
<p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p>											
<p>国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)                  SwissProt/PIR/GeneSeq, MEDLINE (STN), WPI (DIALOG),                  Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, BIOSIS (DIALOG)</p>											
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求の範囲の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>Chano T, et. al., Isolation, characterization and mapping of the mouse and human RB1CC1 genes., Gene. (2002 May), Vol. 291, No. 1-2, p. 29-34</td> <td>1-13, 26</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>Chano T, et. al., Identification of RB1CC1, a novel human gene that can induce RB1 in various human cells., Oncogene. (2002 Feb), Vol. 21, No. 8, p. 1295-1298</td> <td>1-13, 26</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号	X	Chano T, et. al., Isolation, characterization and mapping of the mouse and human RB1CC1 genes., Gene. (2002 May), Vol. 291, No. 1-2, p. 29-34	1-13, 26	X	Chano T, et. al., Identification of RB1CC1, a novel human gene that can induce RB1 in various human cells., Oncogene. (2002 Feb), Vol. 21, No. 8, p. 1295-1298	1-13, 26
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号									
X	Chano T, et. al., Isolation, characterization and mapping of the mouse and human RB1CC1 genes., Gene. (2002 May), Vol. 291, No. 1-2, p. 29-34	1-13, 26									
X	Chano T, et. al., Identification of RB1CC1, a novel human gene that can induce RB1 in various human cells., Oncogene. (2002 Feb), Vol. 21, No. 8, p. 1295-1298	1-13, 26									
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>											
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <table border="0"> <tr> <td style="vertical-align: top;"> <p>「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの                      「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの                      「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)                      「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献                      「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願</p> </td> <td style="vertical-align: top;"> <p>の日の後に公表された文献                      「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの                      「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの                      「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの                      「&amp;」 同一パテントファミリー文献</p> </td> </tr> </table>			<p>「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの                      「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの                      「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)                      「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献                      「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願</p>	<p>の日の後に公表された文献                      「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの                      「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの                      「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの                      「&amp;」 同一パテントファミリー文献</p>							
<p>「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの                      「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの                      「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)                      「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献                      「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願</p>	<p>の日の後に公表された文献                      「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの                      「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの                      「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの                      「&amp;」 同一パテントファミリー文献</p>										
<p>国際調査を完了した日 25. 02. 03</p>	<p>国際調査報告の発送日 11.03.03</p>										
<p>国際調査機関の名称及びあて先                  日本国特許庁 (ISA/JP)                  郵便番号 100-8915                  東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>	<p>特許庁審査官 (権限のある職員)                  鈴木 美葉子 印                  電話番号 03-3581-1101 内線 3488</p>										

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO 00/73801 A2(OBATA, Yuichi)2000. 12. 07 & AU 200050478 A & EP 1259812 A2	1-13, 26
X	WO 00/55174 A1 (HUMAN GENOME SCIENCES, INC.)2000. 09. 21 & US 2002/0151681 A1 & EP 1165589 A1 & AU 200036194 A	1-13, 26

## 第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1.  請求の範囲 18-25 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、  
請求の範囲18-25は、人体の診断方法に該当するものであるから、国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである
2.  請求の範囲 14-17 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、  
請求の範囲14-16に記載の「スクリーニング方法でスクリーニングされる化合物」、「・・遺伝子の発現を誘導しうる機能を阻害もしくは増強する化合物」、「・・核酸の発現を阻害もしくは増強する化合物」については、化合物として具体的にどの化合物が包含され、どのような化合物が包含されないのかが全く不明であって、請求項の範囲の記載は著しく不明確であるから、前記請求項に記載された発明に係る新規性、産業上の利用可能性についての有意義な見解を示すことができない。
3.  請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1.  出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2.  追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3.  出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4.  出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。  
 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。