

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2006-500946

(P2006-500946A)

(43) 公表日 平成18年1月12日(2006.1.12)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 Z N A A	2 G O 4 5
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088	4 B O 2 4
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00 H	4 B O 2 9
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 E	4 B O 6 3
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 T	4 C O 8 4
	審査請求 未請求 予備審査請求 未請求	(全 77 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2004-541223 (P2004-541223)	(71) 出願人	504445356 オンコセラピー・サイエンス株式会社 神奈川県川崎市高津区坂戸3丁目2-1
(86) (22) 出願日	平成15年9月12日 (2003. 9. 12)	(71) 出願人	504137912 国立大学法人 東京大学 東京都文京区本郷7丁目3番1号
(85) 翻訳文提出日	平成17年3月28日 (2005. 3. 28)	(74) 代理人	100102978 弁理士 清水 初志
(86) 国際出願番号	PCT/JP2003/011711	(74) 代理人	100128048 弁理士 新見 浩一
(87) 国際公開番号	W02004/031410	(72) 発明者	中村 祐輔 神奈川県横浜市青葉区あざみ野1丁目17 番33号
(87) 国際公開日	平成16年4月15日 (2004. 4. 15)		
(31) 優先権主張番号	60/414, 677		
(32) 優先日	平成14年9月30日 (2002. 9. 30)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 精巢精上皮腫の診断方法

(57) 【要約】

精巢精上皮腫 (TS) を検出および診断する客観的な方法を本明細書において記述する。一つの態様において、本診断法は、TS細胞と正常細胞とを識別するTS関連遺伝子の発現レベルを決定する段階を含む。本発明は、TSの治療において有用な治療薬剤をスクリーニングする方法、TSを治療する方法、およびTSに対するワクチンを被験者に接種する方法をさらに提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

患者由来の生物学的試料においてTS関連遺伝子の発現レベルを決定する段階を含む、被験者におけるTSを診断するか、またはTS発症の素因を診断する方法であって、該遺伝子の正常対照レベルと比較して該レベルが増加または減少すれば、該被験者がTSを有するか、またはTS発症のリスクを有することを示す方法。

【請求項 2】

TS関連遺伝子がTS 1~346からなる群より選択され、正常対照レベルと比較してレベルが増加すれば、被験者がTSを有するか、またはTS発症のリスクを有することを示す、請求項1記載の方法。

10

【請求項 3】

増加が正常対照レベルより少なくとも10%大きい、請求項2記載の方法。

【請求項 4】

TS関連遺伝子が、TS 347~939からなる群より選択され、正常対照レベルと比較してレベルが減少すれば、被験者がTSを有するか、または発症のリスクを有することを示す、請求項1記載の方法。

【請求項 5】

減少が正常対照レベルより少なくとも10%低い、請求項4記載の方法。

【請求項 6】

複数のTS関連遺伝子の発現レベルを決定する段階をさらに含む、請求項1記載の方法。

20

【請求項 7】

発現レベルが、以下からなる群より選択される任意の一つの方法によって決定される、請求項1記載の方法：

- (a) TS関連遺伝子のmRNAの検出；
- (b) TS関連遺伝子にコードされるタンパク質の検出；および
- (c) TS関連遺伝子にコードされるタンパク質の生物学的活性の検出。

【請求項 8】

患者由来の生物学的試料の遺伝子転写物とTS関連遺伝子プローブとのハイブリダイゼーションを検出することにより発現レベルを決定する、請求項1記載の方法。

【請求項 9】

ハイブリダイゼーション段階がDNAアレイ上で行われる、請求項8記載の方法。

30

【請求項 10】

生物学的試料が上皮細胞を含む、請求項1記載の方法。

【請求項 11】

生物学的試料がTS細胞を含む、請求項1記載の方法。

【請求項 12】

生物学的試料がTSからの上皮細胞を含む、請求項8記載の方法。

【請求項 13】

TS 1~939からなる群より選択される二つまたはそれ以上の遺伝子の遺伝子発現パターンを含む、TS参照発現プロファイル。

40

【請求項 14】

TS 1~346からなる群より選択される二つまたはそれ以上の遺伝子の遺伝子発現パターンを含む、TS参照発現プロファイル。

【請求項 15】

TS 347~939からなる群より選択される二つまたはそれ以上の遺伝子の遺伝子発現パターンを含む、TS参照発現プロファイル。

【請求項 16】

以下の段階を含む、TSを治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法：

- a) TS 1~939によりコードされるポリペプチドに被験化合物を接触させる段階；
- b) ポリペプチドと被験化合物との結合活性を検出する段階；および

50

c) ポリペプチドに結合する化合物を選択する段階。

【請求項 17】

以下の段階を含む、TSを治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法：

a) TS 1~939からなる群より選択される一つまたは複数のマーカー遺伝子を発現する細胞に候補化合物を接触させる段階；および

b) TS 1~346からなる群より選択される一つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを低下させるか、またはTS 347~939からなる群より選択される一つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを上昇させる化合物を選択する段階。

【請求項 18】

以下の段階を含む、TSを治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法：

a) TS 1~939からなる群より選択されるポリヌクレオチドにコードされるポリペプチドに被験化合物を接触させる段階；

b) 段階(a)のポリペプチドの生物学的活性を検出する段階；および

c) 被験化合物の非存在下において検出される生物学的活性と比較して、TS 1~346によりコードされるポリペプチドの生物学的活性を抑制するか、または被験化合物の非存在下において検出される生物学的活性と比較して、TS 347~939によりコードされるポリペプチドの生物学的活性を増強する化合物を選択する段階。

【請求項 19】

被験細胞が精巢精上皮腫細胞である、請求項17記載の方法。

【請求項 20】

以下の段階を含む、TSを治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法：

a) TS 1~939からなる群より選択される一つまたは複数のマーカー遺伝子の転写調節領域と、転写調節領域の制御下で発現されるレポーター遺伝子とを含むベクターが導入されている細胞に候補化合物を接触させる段階；

b) レポーター遺伝子の活性を測定する段階；および

c) 対照と比較して、該マーカー遺伝子がTS 1~346からなる群より選択される上方制御されたマーカー遺伝子である場合には、該レポーター遺伝子の発現レベルを低下させる化合物、または該マーカー遺伝子がTS 347~939からなる群より選択される下方制御されたマーカー遺伝子である場合には、該レポーター遺伝子の発現レベルを増強する化合物を選択する段階。

【請求項 21】

TS 1~939からなる群より選択される二つもしくはそれ以上の核酸配列に結合する検出試薬を含むキット。

【請求項 22】

TS 1~939からなる群より選択される二つまたはそれ以上の核酸配列に結合する核酸を含むアレイ。

【請求項 23】

TS 1~346からなる群より選択されるコード配列と相補的なヌクレオチド配列を含むアンチセンス組成物を被験者に投与する段階を含む、被験者におけるTSを治療または予防する方法。

【請求項 24】

TS 1~346からなる群より選択される核酸配列の発現を低下させるsiRNA組成物を被験者に投与する段階を含む、被験者におけるTSを治療または予防する方法。

【請求項 25】

siRNAが、標的配列として配列番号：85または86のヌクレオチド配列を含む、請求項24記載の方法。

【請求項 26】

TS 1~346からなる群より選択される任意の一つの遺伝子にコードされるタンパク質に結合する抗体またはその断片の薬学的有効量を被験者に投与する段階を含む、被験者におけるTSを治療または予防する方法。

10

20

30

40

50

【請求項 27】

TS 1~346からなる群より選択される核酸にコードされるポリペプチドもしくは該ポリペプチドの免疫学的活性断片、またはポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むワクチンを被験者に投与することを含む、被験者におけるTSを治療または予防する方法。

【請求項 28】

TS 347~939の発現または活性を増加させる化合物を被験者に投与する段階を含む、被験者におけるTSを治療または予防する方法。

【請求項 29】

請求項16~20のいずれか一項記載の方法によって得られる化合物を投与する段階を含む、被験者におけるTSを治療または予防する方法。

10

【請求項 30】

TS 347~939からなる群より選択されるポリヌクレオチドまたはそれにコードされるポリペプチドの薬学的有効量を被験者に投与する段階を含む、被験者におけるTSを治療または予防する方法。

【請求項 31】

TS 1~346からなる群より選択されるポリヌクレオチドに対するアンチセンスポリヌクレオチドまたは低分子干渉RNAの薬学的有効量を含む、TSを治療または予防するための組成物。

【請求項 32】

低分子干渉RNAが、標的配列として配列番号：85または86のヌクレオチド配列を含む、請求項31記載の組成物。

20

【請求項 33】

TS 1~346からなる群より選択される任意の一つの遺伝子にコードされるタンパク質に結合する抗体またはその断片の薬学的有効量を含む、TSを治療または予防するための組成物。

【請求項 34】

活性成分として請求項16~20のいずれか一項記載の方法によって選択される化合物の薬学的有効量と、薬学的に許容される担体とを含む、TSを治療または予防するための組成物。

【請求項 35】

センス鎖に配列番号：85または86のヌクレオチド配列を含む、低分子干渉RNA。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

技術分野

本発明は、精巣精上皮腫を診断する方法に関する。

【0002】

優先権に関する情報

本出願は、2002年9月30日に提出された米国特許出願第60/414,677号に対する優先権を主張する。

40

【背景技術】

【0003】

発明の背景

精巣の生殖細胞腫瘍 (TGCT) が男性の全ての癌に占める割合は約1~2%であるが、それらは、年齢20~40歳群の男性において認められる最も一般的な癌であり(1)、その発生率は過去数十年のあいだにますます増加しつつある(2,3)。TGCTは、二つの主要な組織学タイプに分類され、一つは、未分化の生殖細胞に類似する精上皮腫であり、もう一つはいずれの経路にも分化能を有するために胚および胚体外組織の双方に類似する非精上皮腫である(7)。精上皮腫は、TGCTにおける最も一般的な組織学的精巣腫瘍であり、TGCTの全症例の約60%~65%を占める(8)。現在、フェトプロテイン (AFP)、ヒトサブユ

50

ニット絨毛性性腺刺激ホルモン (HCG)、および乳酸脱水素酵素 (LDH) が、TGCTの診断マーカーとして用いられている (9)。しかし、合胞体栄養性巨細胞を含まない精上皮腫の特異的腫瘍マーカーは同定されていない。

【0004】

cDNAマイクロアレイ技術によって、正常および悪性細胞における包括的遺伝子発現プロファイルを得て、悪性細胞および対応する正常細胞における遺伝子発現を比較することが可能となった (Okabeら、Cancer Res. 61: 2129~37 (2001); Kitaharaら、Cancer Res. 61: 3544~9 (2001); Linら、Oncogene 21: 4120~8 (2002); Hasegawaら、Cancer Res. 62: 7012~7 (2002))。このアプローチにより、癌細胞の複雑な特性を明らかにすることが可能となり、これは発癌のメカニズムを理解するために役立つ。腫瘍において脱制御される遺伝子を同定することによって、個々の癌のより精密で正確な診断を得ることができ、新規治療標的を開発することができる (Bienz and Clevers、Cell 103: 311~20 (2000))。ゲノム全体での観点から腫瘍の基礎となるメカニズムを明らかにするため、そして診断のための標的分子の発見および新規治療薬の開発のために、本発明者らは、遺伝子23040個のcDNAマイクロアレイを用いて腫瘍細胞の発現プロファイルを解析している (Okabeら、Cancer Res. 61: 2129~37 (2001); Kitaharaら、Cancer Res. 61: 3544~9 (2001); Linら、Oncogene 21: 4120~8 (2002); Hasegawaら、Cancer Res. 62: 7012~7 (2002))。

10

【0005】

発癌メカニズムを解明するように計画された研究によって、抗腫瘍薬剤の分子標的の同定が既に促進されている。例えば、Rasに関連する増殖-シグナル伝達経路を阻害するように当初開発されたファルネキシルトランスフェラーゼ阻害剤 (FTI) (この活性は翻訳後のファルネシル化に依存する) は、動物モデルにおいてRas依存性腫瘍を治療するために有効である (Heら、Cell 99: 335~45 (1999))。抗癌剤と、癌原遺伝子受容体HER2/neuに拮抗するための抗HER-2モノクローナル抗体トラスツズマブを併用したヒトに対する臨床試験が実施されており、乳癌患者の臨床応答および総生存率の改善が得られている (Linら、Cancer Res. 61: 6345~9 (2001))。bcr-abl融合タンパク質を選択的に不活化するチロシンキナーゼ阻害剤STI-571は、bcr-ablチロシンキナーゼの構成的活性化が白血球の形質転換において重要な役割を果たしている慢性骨髄性白血病を治療するために開発されている。これらの種類の薬剤は、特定の遺伝子産物の発癌活性を抑制するように設計されている (Fujitaら、Cancer Res. 61: 7722~6 (2001))。したがって、癌性細胞において一般的に上方制御される遺伝子産物は、新規抗癌剤を開発するための潜在的な標的として役立つ可能性がある。

20

30

【0006】

CD8+細胞障害性Tリンパ球 (CTL) は、MHCクラスI分子上に提示された腫瘍関連抗原 (TAA) に由来するエピトープペプチドを認識して、腫瘍細胞を溶解することが証明されている。TAAの最初の例としてMAGEファミリーが発見されて以来、免疫学的アプローチを用いて他にも多くのTAAが発見されている (Boon、Int. J. Cancer 54: 177~80 (1993); Boonおよびvan der Bruggen、J. Exp. Med. 183: 725~9 (1996); van der Bruggenら、Science 254: 1643~7 (1991); Brichardら、J. Exp. Med. 178: 489~95 (1993); Kawakamiら、J. Exp. Med. 180: 347~52 (1994))。発見されたTAAのいくつかは、現在免疫治療の標的として臨床開発段階にある。これまで発見されたTAAには、MAGE (van der Bruggenら、Science 254: 1643~7 (1991))、gp100 (Kawakamiら、J. Exp. Med. 180: 347~52 (1994))、SART (Shichijoら、J. Exp. Med. 187: 277~88 (1998))、およびNY-ESO-1 (Chenら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 1914~8 (1997)) が含まれる。一方、腫瘍細胞において特に過剰発現されることが示されている遺伝子産物は、細胞性免疫応答を誘導する標的として認識されることが示されている。そのような遺伝子産物には、p53 (Umanoら、Brit. J. Cancer 84: 1052~7 (2001))、HER2/neu (Tanakaら、Brit. J. Cancer 84: 94~9 (2001))、CEA (Nukayaら、Int. J. Cancer 80: 92~7 (1999)) 等が含まれる。

40

50

【0007】

TAAに関する基礎および臨床研究における有意な進歩にもかかわらず (Rosenbergら、Nature Med. 4: 321~7 (1998); Mukherjiら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 8078~82 (1995); Huら、Cancer Res. 56: 2479~83 (1996))、結腸癌を含む腺癌の治療に利用できるのは、ごく限られた数の候補TAAに過ぎない。癌細胞において豊富に発現されると共にその発現が癌細胞に限定されるTAAは、免疫療法の標的として有望な候補薬剤となるであろう。さらに、強力で特異的な抗腫瘍免疫応答を誘導する新規TAAが同定されれば、様々なタイプの癌におけるペプチドワクチン接種法の臨床利用を促進すると期待される (Boonおよびvan der Bruggen、J. Exp. Med. 183: 725~9 (1996); van der Bruggenら、Science 254: 1643~7 (1991); Brichardら、J. Exp. Med. 178: 489~95 (1993); Kawakamiら、J. Exp. Med. 180: 347~52 (1994); Shichijoら、J. Exp. Med. 187: 277~88 (1998); Chenら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 1914~8 (1997); Harris、J. Natl. Cancer Inst. 88: 1442~5 (1996); Butterfieldら、Cancer Res. 59: 3134~42 (1999); Vissersら、Cancer Res. 59: 5554~9 (1999); van der Burgら、J. Immunol. 156: 3308~14 (1996); Tanakaら、Cancer Res. 57: 4465~8 (1997); Fujieら、Int. J. Cancer 80: 169~72 (1999); Kikuchiら、Int. J. Cancer 81: 459~66 (1999); Oisoら、Int. J. Cancer 81: 387~94 (1999))。

10

【0008】

特定の健康なドナーからのペプチド刺激された末梢血単核球細胞 (PBMC) は、ペプチドに反応して著しいIFN- γ レベルを産生するが、 ^{51}Cr -放出アッセイによるとHLA-A24または-A0201拘束的に腫瘍細胞に対して細胞障害性を発揮することはまれであることは繰り返し報告されている (Kawanoら、Cancer Res. 60: 3550~8 (2000); Nishizakaら、Cancer Res. 60: 4830~7 (2000); Tamuraら、Jpn. J. Cancer Res. 92: 762~7 (2001))。しかし、HLA-A24およびHLA-A0201はいずれも、白人のみならず、日本人における一般的なHLA対立遺伝子の一つである (Dateら、Tissue Antigens 47: 93~101 (1996); Kondoら、J. Immunol. 155: 4307~12 (1995); Kuboら、J. Immunol. 152: 3913~24 (1994); Imanishiら、Proceeding of the eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference、オックスフォード大学出版、オックスフォード、1065 (1992); Williamsら、Tissue Antigen 49: 129 (1997))。このように、これらのHLAによって提示される癌の抗原性ペプチドは、日本人および白人における癌の治療において特に有用となる可能性がある。さらに、インビトロでの低親和性CTLの誘導は、通常高濃度のペプチドを利用し、高レベルの特異的なペプチド/MHC複合体を、CTLを効果的に活性化する抗原提示細胞 (APCs) 上に生成することに起因することは知られている (Alexander-Millerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 4102~7 (1996))。

20

30

【0009】

PYRIN含有Apaf-1様タンパク質 (PYPAFs) は、最近同定されたタンパク質である (37)。ヒトには、PYPAF遺伝子14個が存在することが報告されている (38)。ロイシンリッチリピート、PYRIN、NACHT、およびNACHT関連ドメインを含むPYPAFタンパク質は全て、アポトーシスおよび炎症性シグナル伝達経路において機能を有すると考えられている。N末端のPYRINDメインは、タンパク質-タンパク質相互作用に関連することが報告されている (38)。さらに、NACHTドメインは、アポトーシスプロテアーゼ活性化因子1 (APAF-1) のヌクレオチド結合モチーフと配列相同性を有し、ATPに結合すると予想される (37)。しかし、PYRIN含有Apaf-1様タンパク質は腫瘍発生に決して関与していなかった。

40

【発明の開示】

【0010】

発明の概要

本発明は、精巢精上皮腫 (TS) に関連した遺伝子発現パターンの発見に基づく。TSにおいて発現に差のある遺伝子は、本明細書において集合的に「TS核酸」または「TSポリヌクレオチド」と呼ばれ、対応するコードされたポリペプチドは、「TSポリペプチド」または「TSタンパク質」と呼ばれる。

50

【0011】

したがって、本発明は、組織試料のような患者に由来する生物学的試料におけるTS関連遺伝子の発現レベルを決定することによって、被験者におけるTSに対する素因を診断または決定する方法を特徴とする。TS関連遺伝子とは、正常細胞と比較して精巢生殖細胞腫瘍細胞から得られた細胞において発現レベルが異なることを特徴とする遺伝子を意味する。正常細胞は、精巢組織から得られた細胞である。TS関連遺伝子は、TS 1~939の一つまたは複数である。遺伝子の正常対照レベルと比較して遺伝子の発現レベルが変化する、例えば増加または減少すれば、被験者がTSを有するか、または発症のリスクを有することを示している。

【0012】

正常な対照レベルとは、正常な健康個体またはTSを有しないことがわかっている個体集団において検出された遺伝子発現レベルを意味する。対照レベルは、単一の参照集団または複数の発現パターンに由来する単一の発現パターンである。例えば、対照レベルは、既に試験された細胞からの発現パターンのデータベースでありうる。正常な個体は、TSの臨床症状を有しない個体である。

【0013】

正常対照レベルと比較して被験試料においてTS 1~346レベルの増加が検出されれば、(試料を採取した)被験者がTSを有するか、または発症するリスクを有することを示している。対照的に、正常な対照レベルと比較して被験試料においてTS 347~939レベルの減少が検出されれば、被験者がTSを有する、または発症のリスクを有することを示している。

【0014】

または、試料におけるTS関連遺伝子パネルの発現を、同じ遺伝子パネルのTS対照レベルと比較する。TS対照レベルとは、TSを有する集団において認められるTS関連遺伝子の発現プロファイルを意味する。

【0015】

遺伝子発現は、対照レベルと比較して10%、25%、50%増加または減少する。または、遺伝子発現は、対照レベルと比較して0.1、0.2、1、2、5、10倍またはそれ以上増加または減少する。発現は、患者由来組織試料の遺伝子転写物に対するTS関連遺伝子プローブの、例えばアレイ上でのハイブリダイゼーションを検出することによって決定される。

【0016】

患者由来組織試料は、試験被験者、例えばTSを有することがわかっているかまたは疑われる患者からの任意の組織である。例えば、組織は精巢生殖細胞腫瘍細胞を含む。例えば、組織は、精巢由来の細胞である。

【0017】

本発明はまた、TS 1~346の二つまたはそれ以上の遺伝子発現レベルのTS参照発現プロファイルを提供する。または、本発明は、TS 1~346またはTS 347~939の二つまたはそれ以上の発現レベルのTS参照発現プロファイルを提供する。

【0018】

本発明はさらに、TS関連遺伝子を発現する被験細胞を試験薬剤に接触させる段階、およびTS関連遺伝子の発現レベルを決定する段階によって、TS関連遺伝子、例えばTS 1~939の発現または活性を阻害または増強する薬剤を同定する方法を提供する。被験細胞は、精巢生殖細胞腫瘍由来の精巢細胞のような精巢細胞である。遺伝子の対照レベルと比較してレベルが減少すれば、試験薬剤がTS関連遺伝子の阻害剤であり、TSの症状を減少させることを示している。または、遺伝子の対照レベルまたは活性と比較してレベルまたは活性が増加すれば、その試験薬剤が、TS関連遺伝子の発現または機能のエンハンサーであり、TSの症状、例えばTS 347~939を減少させることを示している。

【0019】

本発明はまた、二つもしくはそれ以上のTS核酸配列に結合するか、または核酸配列にコードされる遺伝子産物に結合する検出試薬を有するキットを提供する。同様に、二つまた

10

20

30

40

50

はそれ以上のTS核酸に結合する核酸のアレイも提供する。

【0020】

治療法には、被験者にアンチセンス組成物を投与することによって被験者におけるTSを治療または予防する方法が含まれる。アンチセンス組成物は、特異的標的遺伝子の発現を減少させ、例えばアンチセンス組成物は、TS 1~346からなる群より選択される配列と相補的であるヌクレオチドを含む。もう一つの方法には、短鎖干渉RNA (siRNA) 組成物を被験者に投与する段階が含まれる。siRNA組成物は、TS 1~346からなる群より選択される核酸の発現を減少させる。本発明者らは、精巣精上皮腫においてPYPAF3が一般的に上方制御されること、および低分子干渉RNAによるPYPAF3転写物のノックダウンで精巣生殖細胞腫瘍細胞の細胞増殖が阻害されることを立証した。

10

【0021】

もう一つの方法において、被験者におけるTSの治療または予防は、被験者にリボザイム組成物を投与することによって行われる。核酸特異的リボザイム組成物は、TS 1~346からなる群より選択される核酸の発現を減少させる。他の治療法には、TS 347~939の発現またはTS 347~939にコードされるポリペプチドの活性を増加させる化合物を被験者に投与する方法が含まれる。さらにTSは、TS 347~939によりコードされるタンパク質を投与することによって治療することができる。タンパク質は患者に直接投与してもよく、または例えば目的の下方制御されたマーカー遺伝子を有する発現ベクターもしくは宿主細胞を投与することにより患者へ導入した後に、インビボで発現させてもよい。目的の遺伝子をインビボで発現させるための適切な手法は当技術分野で公知である。

20

【0022】

本発明にはまた、ワクチンおよびワクチン接種法が含まれる。例えば、被験者におけるTSを治療または予防する方法は、TS 1~346からなる群より選択される核酸にコードされるポリペプチドまたはそのようなポリペプチドの免疫学的活性断片を含むワクチンを被験者に投与することによって行われる。免疫学的活性断片は、完全長の天然に存在するタンパク質より長さが短く、免疫応答を誘導するポリペプチドである。例えば、免疫学的活性断片は、長さが少なくとも8残基であって、T細胞またはB細胞のような免疫細胞を刺激する。免疫細胞の刺激は、細胞増殖、サイトカイン(例えば、IL-2)の産生、または抗体の産生を検出することによって測定される。

【0023】

特に定義していなければ、本明細書において用いた科学技術用語は全て、本発明が属する当業者によって一般的に理解される意味と同じ意味を有する。本明細書に記述の方法および材料と類似または同等の方法および材料を、本発明の実践または試験において用いることができるが、適した方法および材料を下記に記述する。本明細書において言及した全ての刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献はその全体が参照として本明細書に組み入れられる。矛盾する場合には、定義を含めて本明細書が優先する。さらに、材料、方法、および例は、一例に過ぎず、制限することを意図しない。

30

【0024】

本明細書に記述の方法の一つの長所は、明白な臨床症状を検出する前に疾患が同定されることである。本発明のその他の特徴および長所は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲から明らかとなるであろう。

40

【0025】

詳細な説明

本発明は、TS患者の精巣由来の細胞における多数の核酸配列発現パターンに変化を発見したことに一部基づいている。遺伝子発現の差は、包括的cDNAマイクロアレイシステムを用いて同定した。

【0026】

遺伝子23,040個を含むcDNAマイクロアレイを用いて、患者13人の包括的遺伝子発現プロフィールを構築した。特定の遺伝子が、TS患者において低レベルまたは高レベルで発現される。本方法において、患者の血清または喀痰において癌関連タンパク質を検出する可能

50

性のある候補分子マーカーを選択し、ヒト精巣癌におけるシグナル抑制戦略を開発するためのいくつかの可能性のある標的を発見した。

【0027】

本明細書において同定された発現差のある遺伝子は、TSのマーカーとして、およびその発現がTSの症状を治療または軽減するために改変される遺伝子標的として、診断目的のために用いられる。

【0028】

TS患者においてその発現レベルが変動している（すなわち、増加または減少している）遺伝子を、表2、3に要約し、本明細書において総称して「TS関連遺伝子」TS関連遺伝子「TS核酸」、または「TSポリヌクレオチド」と呼び、対応するコードされたポリペプチドを「TSポリペプチド」または「TSタンパク質」と呼ぶ。特に明記していなければ、「TS」は、本明細書に開示の任意の配列（例えば、TS 1~939）を指すことを意味する。遺伝子は、以前に記述されており、データベースのアクセッション番号とともに示される。

10

【0029】

細胞試料における様々な遺伝子の発現を測定することによって、TSが診断される。同様に、様々な薬剤に反応したこれらの遺伝子の発現を測定することによって、TSを治療するための薬剤を同定することができる。

【0030】

本発明は、表2、3に記載したTS配列の少なくとも一つから全てまでの発現を決定する（例えば、測定する）ことを含む。既知の配列に関するGenBank（登録商標）データベース登録項目に提供された配列情報を用いて、TS関連遺伝子を当業者に周知である技術を用いて検出および測定する。例えば、TS配列に対応する配列データベース登録項目内の配列を用いて、例えばノーザンブロットハイブリダイゼーション解析においてTS RNA配列を検出するためのプローブを構築する。プローブには、参照配列の少なくとも10、20、50、100、200ヌクレオチドが含まれる。もう一つの例として、配列を用いて、例えば、逆転写を利用したポリメラーゼ連鎖反応のような増幅に基づく検出法においてTS配列を特異的に増幅するためのプライマーを構築することができる。

20

【0031】

次に、被験細胞集団、例えば患者由来の組織試料におけるTS配列の一つまたは複数の発現レベルを、参照集団におけるいくつかの配列の発現レベルと比較する。参照細胞集団には、比較されるパラメータが既知である一つまたは複数の細胞、すなわち、TS細胞または非TS細胞が含まれる。

30

【0032】

参照細胞集団と比較した被験細胞集団における遺伝子発現レベルがTSまたはそれに対する素因を示すか否かは、参照細胞集団の組成に依存する。例えば、参照細胞集団が非TS細胞からなる場合、被験細胞集団と参照細胞集団とにおける遺伝子発現パターンが類似であれば、被験細胞集団が非TSであることを示している。逆に、参照細胞集団がTS細胞で構成されている場合、被験細胞集団と参照細胞集団のあいだの遺伝子発現プロファイルが類似であれば、被験細胞集団にTS細胞が含まれることを示している。

【0033】

被験細胞集団におけるTSマーカー遺伝子の発現レベルは、発現レベルが、参照細胞集団における対応するTS配列の発現レベルから1.0、1.5、2.0、5.0、10.0倍またはそれ以上参照細胞集団と異なる場合、発現レベルが変化していると見なされる。

40

【0034】

被験細胞集団と参照細胞集団との遺伝子発現の差を、対照核酸、例えばハウスキーピング遺伝子に対して標準化する。例えば、対照核酸は、細胞の精巣腫瘍または非精巣腫瘍状態に応じて差がないことが知られている核酸である。試験核酸および参照核酸における対照核酸の発現レベルを用いて、比較される集団におけるシグナルレベルを標準化することができる。対照遺伝子には、 α -アクチン、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、またはリボソームタンパク質P1が含まれる。

50

【0035】

被験細胞集団を複数の参照細胞集団と比較する。複数の参照集団のそれぞれは、既知のパラメータが異なってもよい。このように、被験細胞集団を、例えばTS細胞を含むことがわかっている第一の参照細胞集団と共に、例えば非TS細胞（正常細胞）を含むことがわかっている第二の参照集団と比較してもよい。被験細胞は、TS細胞を含むことがわかっているか、または含むことが疑われる被験者からの組織タイプまたは細胞試料に含まれる。

【0036】

被験細胞は、生体組織または体液、例えば生物学的液体（血液または尿）から得る。例えば、被験細胞は、組織から精製される。好ましくは、被験細胞集団は上皮細胞を含む。上皮細胞は、TSであることがわかっているか、または疑われる組織から得る。

10

【0037】

参照細胞集団における細胞は、被験細胞と類似の組織タイプに由来する。選択的に、参照細胞集団は、細胞株、例えばTS細胞株（陽性対照）または正常な非TS細胞株（陰性対照）である。または、対照細胞集団は、アッセイされるパラメータまたは条件が既知である細胞に由来する分子情報のデータベースに由来する。

【0038】

被験者は好ましくは哺乳動物である。哺乳動物は、例えばヒト、ヒト以外の霊長類、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ウマ、またはウシでありうる。

【0039】

本明細書に開示される遺伝子の発現は、当技術分野において既知の方法を用いてタンパク質または核酸レベルで決定される。例えば、これらの配列の一つまたは複数の特異的に認識するプローブを用いるノーザンハイブリダイゼーション解析を用いて、遺伝子発現を決定することができる。または、発現は、例えば発現に差のある配列に対して特異的なプライマーを用いて、逆転写を利用したPCRアッセイを用いて測定される。発現はまた、タンパク質レベルで、すなわち本明細書に記載の遺伝子産物にコードされるポリペプチドのレベルまたはその生物学的活性を測定することによって決定される。そのような方法は当技術分野で周知であり、例えば遺伝子にコードされるタンパク質に対する抗体を利用したイムノアッセイが含まれる。遺伝子にコードされるタンパク質の生物学的活性も同様に周知である。

20

【0040】

TSの診断

TSは、被験細胞集団（すなわち患者に由来する生物学的試料）からの一つまたは複数のTS核酸配列の発現レベルを測定することによって診断される。好ましくは、被験細胞集団は、上皮細胞、例えば精巣組織から得た細胞を含む。遺伝子発現はまた、血液、または尿のような他の体液から測定される。他の生物学的試料は、タンパク質レベルを測定するために用いることができる。例えば、診断される被験者に由来する血液、または血清におけるタンパク質レベルは、イムノアッセイまたは生物学的アッセイによって測定することができる。

30

【0041】

一つまたは複数のTS関連遺伝子、例えばTS 1~939の発現を、被験細胞または生物学的試料において決定して、正常対照レベルの発現と比較する。正常対照レベルは、TSを有しないことがわかっている集団において典型的に認められるTS関連遺伝子の発現プロファイルである。TS関連遺伝子の患者由来組織試料における発現レベルが増加または減少すれば、被験者がTSを有するか、またはTS発症のリスクを有することを示している。例えば、正常対照レベルと比較して被験集団におけるTS 1~346のレベルが増加すれば、被験者がTSを有するか、またはTS発症のリスクを有することを示している。逆に、正常対照レベルと比較して被験集団におけるTS 347~939の発現が減少すれば、被験者がTSを有するか、または発症のリスクを有することを示している。

40

【0042】

一つまたは複数のTS関連遺伝子が、正常対照レベルと比較して被験集団において変化し

50

ている場合、被験者がTSを有するか、またはTS発症のリスクを有することを示している。例えば、TS関連遺伝子のパネル（TS 1～346、TS 347～939、またはTS 1～939）の少なくとも1%、5%、25%、50%、60%、80%、90%またはそれ以上が変化している。

【0043】

TS関連遺伝子の発現を阻害または増強する薬剤の同定

TS関連遺伝子の発現または活性を阻害する薬剤は、上方制御されたTS関連遺伝子を発現する被験細胞集団を試験薬剤に接触させ、TS関連遺伝子の発現レベルを決定することによって同定される。対照レベルと比較して（または試験薬剤の非存在下でのレベルと比較して）薬剤の存在下で発現が減少すれば、その薬剤が上方制御されたTS関連遺伝子の阻害剤であり、TSを阻害するのに有用であることを示している。

10

【0044】

または、下方制御されたTS関連遺伝子の発現または活性を増強する薬剤は、TS関連遺伝子を発現する被験細胞集団を試験薬剤に接触させ、下方制御されたTS関連遺伝子の発現レベルまたは活性を決定することによって同定される。TS関連遺伝子の対照発現レベルまたは活性と比較して発現または活性が増加すれば、試験薬剤が下方制御されたTS関連遺伝子の発現または活性を増強することを示している。

【0045】

被験細胞集団は、TS関連遺伝子を発現する任意の細胞である。例えば、被験細胞集団は、精巣に由来する細胞のような、上皮細胞を含む。例えば、被験細胞は、精巣生殖細胞腫瘍に由来する不死化細胞株である。または、被験細胞は、TS関連遺伝子を導入した細胞、またはレポーター遺伝子に機能的に結合したTS関連遺伝子の調節配列（例えば、プロモーター配列）を導入した細胞である。

20

【0046】

被験者におけるTS治療の有効性の評価

本明細書において同定された発現差のあるTS配列によって、TSの治療経過をモニターすることもできる。この方法において、被験細胞集団は、TSの治療を受けている被験者から提供される。望ましければ、被験細胞集団は、治療前、治療中、または治療後の様々な時点で被験者から得られる。次に、細胞集団における一つまたは複数のTS配列の発現を決定して、TS状態が既知である細胞を含む参照細胞集団と比較する。参照細胞は治療を受けていない。

30

【0047】

参照細胞集団がTS細胞を含まない場合、被験細胞集団と参照細胞集団におけるTS配列の発現が類似であれば、治療が有効であることを示している。しかし、被験集団と正常対照参照細胞集団におけるTS配列の発現に差があれば、あまり好ましくない臨床転帰または予後を示している。

【0048】

「有効」とは、治療によって、病理学的に上方制御された遺伝子の発現が減少するか、病理学的に下方制御された遺伝子の発現が増加するか、または被験者における精巣腫瘍の大きさ、発生率、もしくは転移能が減少することを意味する。治療を予防的に適用する場合、「有効である」とは、治療がTSの形成を遅らせるかもしくは防止すること、または臨床的なTSの症状を遅らせるか、予防するか、もしくは軽減することを意味する。精巣腫瘍の評価は、標準的な臨床プロトコルを用いて行われる。

40

【0049】

有効性は、TSを診断または治療する任意の既知の方法に関連して決定される。TSは、例えば症候性の異常、例えば精巣の無痛腫脹を同定することによって診断される。

【0050】

特定の個体にとって適切なTS治療用の治療薬剤の選択

個体における遺伝的構成の差によって、個体が様々な薬剤を代謝する相対的能力に差が起こりうる。被験者において代謝されて抗TS薬剤として作用する薬剤は、被験者の細胞において、TS状態に特徴的な遺伝子発現パターンから非TS状態に特徴的な遺伝子発現パター

50

ンへの変化を誘導することによって顕在化しうる。したがって、薬剤が被験者において適したTS阻害剤であるか否かを決定するために、本明細書に開示される発現差のあるTS配列によって、選択された被験者からの被験細胞集団において推定の治療的または予防的なTS阻害剤を調べることができる。

【0051】

特定の被験者にとって適当であるTSの阻害剤または増強剤を同定するために、被験者からの被験細胞集団を治療薬剤に曝露して、TS 1~939配列の一つまたは複数の発現を決定する。

【0052】

被験細胞集団は、TS関連遺伝子を発現するTS細胞を含む。好ましくは、被験細胞は上皮細胞である。例えば、被験細胞集団を候補薬剤の存在下でインキュベートし、被験試料の遺伝子発現パターンを測定して、一つまたは複数の参照プロファイル、例えばTS参照発現プロファイルまたは非TS参照発現プロファイルと比較する。

10

【0053】

TSを含む参照細胞集団と比較して、被験細胞集団におけるTS 1~346の一つもしくは複数の発現が減少するか、またはTS 347~939の一つもしくは複数の発現が増加すれば、薬剤が治療効果があることを示している。

【0054】

試験薬剤はいかなる化合物または組成物であってよい。例えば、試験薬剤は免疫調節剤である。

20

【0055】

治療薬剤を同定するためのスクリーニングアッセイ

本明細書に開示される発現差のある配列はまた、TSを治療するための候補治療薬剤を同定するためにも用いることができる。この方法は、候補治療薬剤をスクリーニングし、その薬剤がTS状態に特徴的なTS 1~939配列の発現プロファイルを非TS状態を示すパターンに変換させるか否かを決定することに基づく。

【0056】

この方法において、細胞を、試験薬剤または試験薬剤の組み合わせ（連続的または結果的に）に曝露して、細胞における一つまたは複数のTS 1~939配列の発現を測定する。被験細胞集団におけるTS配列の発現プロファイルを、試験薬剤に曝露していない参照細胞集団におけるTS配列の発現レベルと比較する。

30

【0057】

過小発現された遺伝子の発現を刺激するために、または過剰発現された遺伝子の発現を抑制するために有効な薬剤は、临床上の利益をもたらすと思われ、そのような化合物を、動物または試験被験者における精巢上皮、例えば精巢上皮の腺および/または支質の増殖の予防能に関してさらに試験する。

【0058】

さらなる態様において、本発明は、TSの治療における潜在的な標的である候補薬剤をスクリーニングする方法を提供する。先に詳細に考察したように、マーカー遺伝子の発現レベルまたは活性を制御することによって、TSの発症および進行を制御することができる。このように、TSの治療における潜在的な標的である候補薬剤は、マーカー遺伝子の発現レベルおよび活性を指標として用いるスクリーニングによって同定することができる。本発明の状況において、そのようなスクリーニングは、例えば以下の段階を含んでよい：

40

- a) TS 1~939にコードされるポリペプチドに被験化合物を接触させる段階；
- b) ポリペプチドと被験化合物との結合活性を検出する段階；および
- c) ポリペプチドに結合する化合物を選択する段階。

【0059】

または、本発明のスクリーニング法は、以下の段階を含んでもよい：

- a) TS 1~939からなる群より選択される一つまたは複数のマーカー遺伝子を発現する細胞に候補化合物を接触させる段階；および

50

b) TS 1~346からなる群より選択される一つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを減少させるか、またはTS 347~939からなる群より選択される一つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを上昇させる化合物を選択する段階。
マーカー遺伝子を発現する細胞には、例えばTSから確立された細胞株が含まれ；そのような細胞は本発明の上記のスクリーニングに用いることができる。

【0060】

または、本発明のスクリーニング法は、以下の段階を含んでもよい：

- a) TS 1~939からなる群より選択される遺伝子にコードされるポリペプチドに被験化合物を接触させる段階；
- b) 段階(a)のポリペプチドの生物学的活性を検出する段階；および
- c) 被験化合物の非存在下で検出された生物学的活性と比較して、TS 1~346にコードされるポリペプチドの生物学的活性を抑制するか、または被験化合物の非存在下で検出された生物学的活性と比較して、TS 347~939にコードされるポリペプチドの生物学的活性を増強する化合物を選択する段階。

10

スクリーニングに必要なタンパク質は、マーカー遺伝子のヌクレオチド配列を用いて、組み換え型タンパク質として得ることができる。マーカー遺伝子の情報に基づいて、当業者は、タンパク質の任意の生物学的活性を選択し、選択された生物学的活性に基づいて、スクリーニングおよび測定法を行うことができる。

【0061】

または、本発明のスクリーニング法は以下の段階を含んでもよい：

- a) TS 1~939からなる群より選択される一つまたは複数のマーカー遺伝子の転写調節領域と、転写調節領域の制御下で発現されるレポーター遺伝子とを含むベクターが導入されている細胞に候補化合物を接触させる段階；
- b) 該レポーター遺伝子の活性を測定する段階；および
- c) 該マーカー遺伝子がTS 1~346からなる群より選択される上方制御されたマーカー遺伝子である場合には、対照と比較して該レポーター遺伝子の発現レベルを減少させる化合物、または該マーカー遺伝子がTS 347~939からなる群より選択される下方制御されたマーカー遺伝子である場合には、対照と比較して該レポーター遺伝子の発現レベルを増強する化合物を選択する段階。

20

適したレポーター遺伝子および宿主細胞は当技術分野で周知である。スクリーニングのために必要なレポーター構築物は、マーカー遺伝子の転写調節領域を用いて調製することができる。マーカー遺伝子の転写調節領域が当業者に既知である場合、レポーター構築物は、これまでの配列情報を用いて調製することができる。マーカー遺伝子の転写調節領域がまだ同定されていない場合、マーカー遺伝子のヌクレオチド配列情報に基づいて、転写調節領域を含むヌクレオチドセグメントをゲノムライブラリから単離することができる。

30

【0062】

スクリーニングによって単離された化合物は、マーカー遺伝子にコードされるタンパク質の活性を阻害し、かつTSの治療または予防に適用することができる候補薬物である。

【0063】

その上、マーカー遺伝子にコードされるタンパク質の活性を阻害する化合物の構造の一部が、付加、欠失、および/または置換によって変換されている化合物も同様に、本発明のスクリーニング法によって得ることができる化合物に含まれる。

40

【0064】

本発明の方法によって単離された化合物をヒト、ならびにマウス、ラット、モルモット、ウサギ、ネコ、イヌ、ヒツジ、ブタ、ウシ、サル、ヒヒ、およびチンパンジーのような他の哺乳動物のための薬剤として投与する場合、単離された化合物を直接投与してもよく、または既知の薬学的調製法を用いて投与剤形に調製してもよい。例えば、必要に応じて、薬物は、糖衣錠、カプセル剤、エリキシル剤およびマイクロカプセルとして経口摂取されるか、または水もしくは他の任意の薬学的に許容される液体との滅菌溶液もしくは懸濁液の注射剤形で非経口摂取される。例えば、化合物は、薬学的に許容される担体または

50

媒体、具体的には滅菌水、生理食塩液、植物油、乳化剤、懸濁剤、界面活性剤、安定化剤、着香料、賦形剤、溶剤、保存剤、結合剤などと共に、一般的に許容される投薬実施に必要な単位投与剤形で混合することができる。これらの調製物における活性成分の量によって、指示範囲内の適した用量を得ることができる。

【0065】

錠剤およびカプセル剤に混合することができる添加剤の例は、ゼラチン、コーンスターチ、トラガカントゴム、およびアラビアゴムのような結合剤；結晶セルロースのような賦形剤；コーンスターチ、ゼラチンおよびアルギン酸のような膨張剤；ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤；ショ糖、乳糖、またはサッカリンのような甘味料；ならびにペパーミント、アカモノ油、およびチェリーのような着香料である。単位投与剤形がカプセル剤である場合、油のような液体担体も同様に上記の成分にさらに含めることができる。注射用滅菌組成物は、注射用蒸留水のような溶剤を用いて通常の投薬実施に従って調製することができる。

10

【0066】

生理食塩液、グルコース、ならびにD-ソルビトール、D-マンノース、D-マンニトール、および塩化ナトリウムのような補助剤を含む他の等張液は、注射用水溶液として用いることができる。これらは、アルコール、特にエタノール、プロピレングリコールおよびポリエチレングリコールのような多価アルコール、ポリソルベート80（商標）およびHC0-50のような非イオン性界面活性剤のような適した溶解剤と共に用いることができる。

【0067】

ゴマ油または大豆油を油脂性液体として用いることができ、かつ安息香酸ベンジルまたはベンジルアルコールを溶解剤として共に用いてもよく、リン酸緩衝液および酢酸ナトリウム緩衝液のような緩衝液；塩酸プロカインのような鎮痛剤；ベンジルアルコールおよびフェノールのような安定化剤、ならびに抗酸化剤と共に調製してもよい。調製された注射剤は適したアンプルに充填してもよい。

20

【0068】

当業者に周知の方法を用いて、本発明の薬学的組成物を患者に、例えば動脈内、静脈内、または経皮注射として投与してもよく、同様に鼻腔内、気管支内、筋肉内、または経口投与としても投与してもよい。投与の用量および方法は、患者の体重および年齢ならびに投与法に応じて変化する；しかし、当業者は、適した投与法を日常的に選択することができる。該化合物がDNAによってコードされうる場合、DNAを遺伝子治療のベクターに挿入して、治療を行うためにベクターを患者に投与することができる。投与の用量および方法は、患者の体重、年齢、および症状に応じて変化するが、当業者はそれらを適切に選択することができる。

30

【0069】

例えば、本発明のタンパク質に結合してその活性を調節する化合物の用量は、症状に依存するが、用量は、正常な成人（体重60 kg）に経口投与する場合、約0.1 mg～約100 mg/日、好ましくは約1.0 mg～約50 mg/日、より好ましくは約1.0 mg～約20 mg/日である。

【0070】

正常な成人（体重60 kg）に注射剤形で非経口投与する場合、患者、標的臓器、症状および投与法によって多少の差があるが、約0.01 mg～約30 mg/日、好ましくは約0.1～約20 mg/日、およびより好ましくは約0.1～約10 mg/日を静脈内注射することが都合がよい。同様に、他の動物の場合においても、体重60 kgに変換した量を投与することが可能である。

40

【0071】

TSを有する被験者の予後の評価

被験細胞集団における一つまたは複数のTS配列の発現を、患者に由来する参照細胞集団における配列の発現と、病期のスペクトルについて比較することによって、TSを有する被験者の予後を評価する方法も同様に提供される。被験細胞集団と参照細胞集団における一つもしくは複数のTS配列の遺伝子発現を比較することによって、または被験者に由来する

50

被験細胞集団における経時的な遺伝子発現パターンを比較することによって、被験者の予後を評価することができる。

【0072】

正常対照と比較してTS 347~939配列の一つもしくは複数の発現の減少、または正常対照と比較してTS 1~346配列の一つもしくは複数の発現の増加は、予後があまり好ましくないことを示している。TS 347~939配列の一つまたは複数の発現が増加していれば、より好ましい予後を示し、TS 1~346配列の発現が減少していれば、被験者にとってより好ましい予後を示している。

【0073】

キット

本発明にはまた、TS検出試薬、例えばオリゴヌクレオチド配列のような一つまたは複数のTS核酸に特異的に結合するか、またはこれを同定する核酸であって、TS核酸の一部と相補的である核酸またはTS核酸にコードされるタンパク質に結合する抗体が含まれる。試薬は、キットの形で共に包装される。試薬、例えば核酸または抗体（固相マトリクスに結合させるか、またはそれらをマトリクスに結合させるための試薬とは別に包装される）、対照試薬（陽性および/または陰性）、ならびに/または検出標識は異なる容器に包装される。アッセイを行うための説明書（例えば、書面、テープ、VCR、CD-ROM等）がキットに含まれる。キットのアッセイ形式は、当技術分野で既知のノーザンハイブリダイゼーションまたはサンドイッチELISAである。

10

【0074】

例えば、TS検出試薬は、少なくとも一つのTS検出部位を形成するために多孔性ストリップのような固相マトリクスに固定する。多孔性ストリップの測定または検出領域には、核酸を含む多数の部位が含まれてもよい。試験ストリップはまた、陰性および/または陽性対照のための部位を含んでもよい。または、対照部位は、試験ストリップとは異なるストリップに存在する。任意で、異なる検出部位は、異なる量の固定された核酸を含んでもよく、すなわち第一の検出部位はより多い量を含み、それに続く部位ではより少ない量を含んでもよい。被験試料を加えると、検出可能なシグナルを示す部位の数が、試料に存在するTSの量の定量的な指標となる。検出部位は、任意の適した検出可能な形状で構成されてもよく、一般的には試験ストリップの幅に及ぶバーまたはドットの形状である。

20

【0075】

または、キットは、一つまたは複数の核酸配列を含む核酸基質アレイを含む。アレイ上の核酸は、TS 1~939によって示される一つまたは複数の核酸配列を特異的に同定する。TS 1~939によって表される配列の2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、40、または50個またはそれ以上の発現は、アレイ試験小片またはチップへの結合レベルによって同定される。基質アレイは、例えば固相基質上、例えば米国特許第5,744,305号に記載される「チップ」上に存在しうる。

30

【0076】

アレイと複数性

本発明にはまた、一つまたは複数の核酸を含む核酸基質アレイも含まれる。アレイ上の核酸は、TS 1~939によって示される一つまたは複数の核酸配列に特異的に対応する。TS 1~939によって表される配列の2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、40、または50個またはそれ以上の発現レベルは、アレイに結合する核酸を検出することによって同定される。

40

【0077】

本発明にはまた、単離された複数の核酸配列（すなわち、二つまたはそれ以上の核酸の混合物）が含まれる。核酸配列は、液相または固相に存在し、例えばニトロセルロースメンブレンのような固相支持体に固定される。複数には、TS 1~939によって示される核酸配列の一つまたは複数が含まれる。様々な態様において、複数には、TS 1~939によって表される配列の2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、40、または50個またはそれ以上が含まれる。

50

【0078】

TSを阻害する方法

本発明は、TS 1~346の発現もしくは活性を減少させること、またはTS 347~939の発現もしくは活性を増加させることによって、被験者におけるTSの症状を治療または軽減する方法を提供する。治療化合物は、TSを有する、発症のリスクを有する（または感受性がある）被験者に対して予防的または治療的に投与される。そのような被験者は、標準的な臨床的方法を用いて、または（例えばTS 1~939の）発現もしくは活性の異常なレベルを検出することによって同定される。治療薬剤には、細胞周期調節、細胞増殖、およびタンパク質キナーゼ活性の阻害剤が含まれる。

【0079】

治療法には、TS細胞が由来する同じ組織型の正常細胞と比較して、TS細胞において発現が減少している遺伝子（「過小発現遺伝子」）の一つまたは複数の遺伝子産物の発現、機能、またはその両者を増加させることが含まれる。これらの方法において、被験者において過小発現されている遺伝子の一つまたは複数の量を増加させる化合物の有効量によって被験者を治療する。投与は全身または局所的となりうる。治療化合物には、過小発現遺伝子のポリペプチド産物、またはその生物学的活性断片、過小発現遺伝子をコードし、TS細胞における発現を許容する発現制御因子を有する核酸、例えばTS細胞に対して内因性のそのような遺伝子の発現レベルを増加させる（すなわち、一つまたは複数の過小発現遺伝子の発現を上方制御する）薬剤が含まれる。そのような化合物の投与は、被験者の精巣細胞における一つまたは複数の異常に過小発現された遺伝子の効果に対抗して、被験者の臨床状態を改善する。

【0080】

本方法にはまた、精巣細胞においてその発現が異常に増加している遺伝子（「過剰発現遺伝子」）の一つまたは複数の遺伝子産物の発現、機能、またはその双方を減少させることが含まれる。発現は、当業者に既知のいくつかの任意の方法によって阻害される。例えば、一つまたは複数の過剰発現された遺伝子の発現を阻害またはこれに拮抗する核酸、例えば一つまたは複数の過剰発現された遺伝子の発現を妨害するアンチセンスオリゴヌクレオチドまたは低分子干渉RNAを被験者に投与することによって発現は阻害される。

【0081】

先に述べたように、TS 1~346のヌクレオチド配列に対応するアンチセンス核酸を用いて、TS 1~346の発現レベルを減少させることができる。TSにおいて上方制御されるTS 1~346に対応するアンチセンス核酸は、TSの治療において有用である。具体的には、本発明のアンチセンス核酸は、TS 1~346またはそれに対応するmRNAに結合して、それによって遺伝子の転写もしくは翻訳を阻害し、mRNAの分解を促進し、かつ/またはTS 1~346にコードされるタンパク質の発現を阻害して、最終的にタンパク質の機能を阻害することによって作用してもよい。本明細書において用いられる「アンチセンス核酸」という用語は、アンチセンス核酸が標的配列に特異的にハイブリダイズすることができる限り、標的配列と完全に相補的であるヌクレオチドおよび一つまたは複数のヌクレオチドのミスマッチを有するヌクレオチドの双方を含む。例えば、本発明のアンチセンス核酸には、少なくとも15連続ヌクレオチドの長さにわたって少なくとも70%またはそれ以上、好ましくは80%またはそれ以上、より好ましくは90%またはそれ以上、さらにより好ましくは95%またはそれ以上の相同性を有するポリヌクレオチドが含まれる。当技術分野で既知のアルゴリズムを用いて相同性を決定することができる。

【0082】

本発明のアンチセンス核酸誘導体は、タンパク質をコードするDNAまたはmRNAに結合し、転写または翻訳を阻害し、mRNAの分解を促進し、かつタンパク質の発現を阻害し、それによってタンパク質の機能を阻害することによって、マーカー遺伝子にコードされるタンパク質を産生する細胞に作用する。

【0083】

本発明のアンチセンス核酸誘導体は、誘導体に対して不活性な適した基剤と混合するこ

10

20

30

40

50

とによって、リニメントまたは湿布剤のような外用調製物に調製することができる。

【0084】

同様に、必要に応じて、誘導体は、賦形剤、等張剤、溶解剤、安定化剤、保存剤、鎮痛剤等を加えることによって、錠剤、粉剤、顆粒剤、カプセル剤、リポソームカプセル、注射剤、溶液、点鼻液、および凍結乾燥剤に調製することができる。これらは以下の既知の方法によって調製することができる。

【0085】

アンチセンス核酸誘導体は、患部に直接適用することによって、または患部に達するように血管に注入することによって、患者に投与される。アンチセンス封入剤も、持続性および膜透過性を増加するために用いることができる。例としては、リポソーム、ポリ-L-リジン、脂質、コレステロール、リポフェクチンまたはこれらの誘導体である。

10

【0086】

本発明のアンチセンス核酸誘導体の用量は、患者の病態に応じて適切に調節して、所望の量で用いることができる。例えば、0.1~100 mg/kg、好ましくは0.1~50 mg/kgの用量範囲を投与することができる。

【0087】

本発明のアンチセンス核酸は、本発明のタンパク質の発現を阻害するので、本発明のタンパク質の生物学的活性を抑制するのに有用である。同様に、本発明のアンチセンス核酸を含む発現阻害剤は、それらが本発明のタンパク質の生物学的活性を阻害できることから有用である。

20

【0088】

本発明のアンチセンス核酸には、修飾オリゴヌクレオチドが含まれる。例えば、チオエート型オリゴヌクレオチドを用いて、オリゴヌクレオチドにヌクレアーゼ抵抗性を付与してもよい。

【0089】

同様に、マーカー遺伝子に対するsiRNAを用いて、マーカー遺伝子の発現レベルを減少させることができる。「siRNA」という用語は、標的mRNAの翻訳を妨げる二本鎖RNA分子を意味する。DNAがRNAを転写する鋳型となる技術を含む、siRNAを細胞に導入する標準的な方法が用いられる。本発明の状況において、siRNAは、TS 1~346のような、上方制御されたマーカー遺伝子に対するセンス核酸配列およびアンチセンス核酸配列を含む。siRNAは、単一の転写物が、標的遺伝子からのセンス配列および相補的アンチセンス配列の双方を有するように、例えばヘアピンを有するように構築される。

30

【0090】

この方法は、例えば細胞の悪性形質転換の結果として上方制御された細胞内の発現を変化させるために用いられる。標的細胞におけるTS 1~346の一つに対応する転写物に対するsiRNAの結合によって、細胞によるタンパク質産生の減少が起こる。オリゴヌクレオチドの長さは少なくとも10ヌクレオチドであり、天然に存在する転写物と同じ長さであってもよい。好ましくは、オリゴヌクレオチドは、長さが19~25ヌクレオチドである。最も好ましくは、オリゴヌクレオチドが長さが75、50、25ヌクレオチド未満である。例えば、PY PAF3に対するsiRNAは標的配列として配列番号：85または86の核酸配列を含み、TSの細胞増殖を阻害する。

40

【0091】

siRNAのヌクレオチド配列は、アンピオン (Ambion) のウェブサイト (http://www.ambion.com/techlib/misc/siRNA_finder.html) から入手できるsiRNA設計コンピュータプログラムを用いて設計した。コンピュータプログラムは、以下のプロトコールに基づいてsiRNA合成のためのヌクレオチド配列を選択する。

【0092】

siRNA標的部位の選択：

1. 対象となる転写物のAUG開始コドンから始めて、AAジヌクレオチド配列を求めて下流にスキャンする。潜在的なsiRNA標的部位として、各AAおよび3'隣接ヌクレオチド19個の出

50

現を記録する。Tuschlらは、5'および3'非翻訳領域(UTR)および開始コドン近傍(75塩基以内)の領域が、調節タンパク質結合部位により富んでいる可能性があることから、これらに対してsiRNAを設計しないことを推奨している。UTR-結合タンパク質および/または翻訳開始複合体は、siRNAエンドヌクレアーゼ複合体の結合を妨害しうる。

2. 潜在的な標的部位をヒトゲノムデータベースと比較して、他のコード配列と有意な相同性を有する如何なる標的配列も検討から除外する。相同性検索は、NCBIサーバー、www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/において認められうるBLASTを用いて行うことができる。

3. 合成のために適格な標的配列を選択する。アンピオンでは、好ましくは、評価すべき遺伝子の長さに沿っていくつかの標的配列を選択することができる。

【0093】

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはsiRNAは、本発明のポリペプチドの発現を阻害するので、本発明のポリペプチドの生物学的活性を抑制するのに有用である。同様に、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはsiRNAを含む発現阻害剤は、それらが本発明のポリペプチドの生物学的活性を阻害できるという点において有用である。したがって、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはsiRNAを含む組成物は、TSを治療するのに有用である。

【0094】

または、一つまたは複数の過剰発現された遺伝子の遺伝子産物の機能は、遺伝子産物に結合する化合物、さもなければ遺伝子産物の機能を阻害する化合物を投与することによって阻害される。例えば、化合物は、一つまたは複数の過剰発現された遺伝子産物に結合する抗体である。

【0095】

本発明は、抗体、特に上方制御されたマーカー遺伝子にコードされるタンパク質に対する抗体、または抗体の断片を用いることに言及する。本明細書において用いられるように、「抗体」という用語は、抗体を合成するために用いられる抗原(すなわち、上方制御されたマーカー遺伝子産物)またはそれに近縁の抗原のみと相互作用する(すなわち結合する)、特異的構造を有する免疫グロブリン分子を指す。さらに抗体は、それがマーカー遺伝子にコードされるタンパク質の一つまたは複数に結合する限り、抗体断片または修飾抗体であってもよい。例えば、抗体断片は、Fab、F(ab')₂、Fv、またはHおよびL鎖からのFv断片が適当なリンカーによって連結されている一本鎖Fv(scFv)であってもよい(Huston, J.S.ら、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85: 5879~5883(1988))。より詳しく述べると、抗体断片は、抗体をパインまたはペプシンのような酵素によって処理することによって産生してもよい。または、抗体断片をコードする遺伝子を構築して、発現ベクターに挿入し、適当な宿主細胞において発現させてもよい(例えば、Co M.S.ら、J. Immunol. 152: 2968~2976(1994); Better M.およびHorwitz A.H.、Methods Enzymol. 178: 476~496(1989); Pluckthun A.およびSkerra A.、Methods Enzymol. 178: 497~515(1989); Lamoyi E.、Methods Enzymol. 121: 652~663(1986); Rousseaux J.ら、Methods Enzymol. 121: 663~669(1986); Bird R.E.およびWalker B.W.、Trends Biotechnol. 9: 132~137(1991)を参照されたい)。

【0096】

抗体は、ポリエチレングリコール(PEG)のような多様な分子に結合させることによって修飾してもよい。本発明は、そのような修飾抗体を提供する。修飾抗体は、抗体を化学修飾することによって得ることができる。これらの修飾法は、当技術分野で常套的である。

【0097】

または、抗体は、ヒト以外の抗体に由来する可変領域とヒト抗体に由来する定常領域とのキメラ抗体として、またはヒト以外の抗体に由来する相補性決定領域(CDR)、ヒト抗体に由来するフレームワーク領域(FR)、および定常領域を含むヒト化抗体として得てもよい。そのような抗体は、既知の技術を用いて調製することができる。

【0098】

10

20

30

40

50

癌細胞において起こる特異的な分子変化に対する癌治療は、進行乳癌を治療するためのトラスツズマブ（ヘルセプチン）、慢性骨髄性白血病のためのイマチニブメチレート（グリベック）、非小細胞肺癌（NSCLC）のためのゲフィチニブ（イレッサ）、ならびにB細胞リンパ腫およびマントル細胞リンパ腫のためのリツキシマブ（抗CD20 mAb）のような抗癌剤の臨床開発および規制認可によって確認されている（Ciardiello F, Tortora G. A novel approach in the treatment of cancer: targeting the epidermal growth factor receptor. Clin Cancer Res. 2001 10月；7(10)：2958～70. Review.；Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pegram M, Baselga J, Norton L. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. N Engl J Med. 2001 3月15日；344(11)：783～92.；Rehwald U, Schulz H, Reiser M, Sieber M, Stak JO, Morschhauser F, Driessen C, Rudiger T, Muller-Hermelink K, Diehl V, Engert A. Treatment of relapsed CD20+ Hodgkin lymphoma with the monoclonal antibody rituximab is effective and well tolerated: results of a phase 2 trial of the German Hodgkin Lymphoma Study Group. Blood. 2003 1月15日；101(2)：420～424.；Fang G, Kim CN, Perkins CL, Ramadevi N, Winton E, Wittmann SおよびBhalla KN. (2000). Blood, 96, 2246～2253.）。これらの薬剤は、形質転換した細胞のみを標的とすることから、臨床的に有効であり、従来剤より許容性が良好である。したがって、そのような薬剤は、癌患者の生存および生活の質を改善するのみならず、分子標的癌治療の考え方が正当であることを証明している。さらに、標的特異的薬剤は、標準的な化学療法と併用して用いた場合に、その有効性を増強することができる（Gianni, L. (2002)、Oncology 63 補遺1、47～56；Klejman A., Rushen L., Morrione A., Slupianek AおよびSkorski T. (2002)、Oncogene 21：5868～5876）。したがって、将来の癌治療はおそらく、従来剤を血管新生および浸潤性のような腫瘍細胞の異なる特徴をねらった標的特異的薬剤と併用することを含むであろう。

【0099】

これらの調節法は、エクスピボまたはインピトロで（例えば、細胞を薬剤と共に培養することによって）、またはインピボで（例えば被験者に薬剤を投与することによって）行われる。この方法は、発現差のある遺伝子の異常な発現または活性を相殺する治療として、タンパク質もしくはタンパク質の組み合わせ、または核酸分子もしくは核酸分子の組み合わせを投与することを含む。

【0100】

遺伝子のレベルまたは生物学的活性の増加（疾患または障害を有しない被験者と比較して）を特徴とする疾患または障害は、一つまたは複数の過剰発現された遺伝子の活性に拮抗する（すなわち、減少または阻害する）治療剤によって治療してもよい。活性に拮抗する治療剤を治療または予防目的で投与する。

【0101】

利用してもよい治療剤には、例えば、(i)一つまたは複数の過小発現された配列のポリペプチド、またはその類似体、誘導體、断片、もしくは相同体、(ii)一つまたは複数の過剰発現された配列に対する抗体、(iii)一つまたは複数の過小発現された配列をコードする核酸、(iv)アンチセンス核酸または「機能欠損」核酸（すなわち、一つまたは複数の過剰発現配列のコード配列内への異種挿入による）；(v)低分子干渉RNA (siRNA)；または(vi)調節因子（すなわち、過剰/過小発現ポリペプチドとその結合パートナーとの相互作用を変化させる阻害剤、アゴニスト、およびアンタゴニスト）。機能欠損アンチセンス分子は、相同的組み換えによってポリペプチドの内因性の機能を「ロックアウト」するために利用される（例えば、Capecchi、Science 244：1288～1292（1989）を参照されたい）。

【0102】

レベルまたは生物学的活性の減少（疾患または障害を有しない被験者と比較して）を特徴とする疾患および障害は、活性を増加させる（すなわちアゴニストである）治療剤によ

って治療してもよい。活性を上方制御する治療剤は、治療または予防目的で投与してもよい。利用してもよい治療剤には、ポリペプチド（またはその類似体、誘導體、断片もしくは相同体）または生物学的利用能を増加させるアゴニストが含まれるがこれらに限定されない。

【0103】

レベルの増加または減少は、ペプチドおよび/またはRNAを定量することによって、患者の組織試料を採取し（例えば、生検組織から）、これをRNAまたはペプチドのレベル、発現されたペプチドの構造および/または活性（またはその発現が変化している遺伝子のmRNA）に関してインビトロでアッセイすることによって、容易に検出することができる。当技術分野において周知である方法には、イムノアッセイ（例えば、ウェスタンブロット解析、免疫沈降後のドデシル硫酸ナトリウム（SDS）ポリアクリルアミドゲル電気泳動、免疫細胞化学等）、および/またはmRNAの発現を検出するハイブリダイゼーションアッセイ（例えば、ノーザンアッセイ、ドットプロット、インサイチュールハイブリダイゼーション等）が含まれるがこれらに限定されない。

10

【0104】

予防目的の投与は、疾患もしくは障害が予防されるように、またはその進行が遅れるように、疾患の明白な臨床症状が発現する前に行われる。

【0105】

治療法には、発現差のある遺伝子の遺伝子産物の活性の一つまたは複数を調節する薬剤に細胞を接触させることが含まれる。タンパク質活性を調節する薬剤には、核酸またはタンパク質、これらのタンパク質、ペプチド、ペプチド模倣体、または他の低分子の、天然に存在する同起源のリガンドが含まれる。例えば、薬剤は、一つまたは複数の異なるように過小発現される遺伝子の一つまたは複数のタンパク質活性を刺激する。

20

【0106】

本発明はまた、TS 1~346からなる群より選択される核酸にコードされるポリペプチド、もしくは該ポリペプチドの免疫学的活性断片、またはポリペプチドもしくはその断片をコードするポリヌクレオチドを含むワクチンを被験者に投与する段階を含む、被験者におけるTSを治療または予防する方法にも関する。ポリペプチドの投与は、被験者において抗腫瘍免疫を誘導する。抗腫瘍免疫を誘導するために、TS 1~346からなる群より選択される核酸にコードされるポリペプチド、もしくは該ポリペプチドの免疫学的活性断片、またはポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを投与する。ポリペプチドまたはその免疫学的活性断片はTSに対するワクチンとして有用である。場合によっては、タンパク質またはその断片は、T細胞受容体（TCR）に結合した形で投与してもよく、またはマクロファージ、樹状細胞（DC）、もしくはB細胞のような抗原提示細胞（APC）によって提示された形で投与してもよい。DCの強い抗原提示能のため、APCの中では、DCを用いることが最も好ましい。

30

【0107】

本発明において、TSに対するワクチンとは、動物に接種すると抗腫瘍免疫を誘導する機能を有する物質を指す。本発明によると、TS 1~346にコードされるポリペプチドまたはその断片は、TS 1~346を発現するTS細胞に対して強力かつ特異的な免疫応答を誘導する可能性のあるHLA-A24またはHLA-A*0201拘束性エピトープであることが示唆された。このように、本発明はまた、ポリペプチドを用いて抗腫瘍免疫を誘導する方法も含む。一般的に、抗腫瘍免疫には、以下のような免疫応答が含まれる：

40

- 腫瘍に対する細胞障害性リンパ球の誘導、
- 腫瘍を認識する抗体の誘導、および
- 抗腫瘍サイトカイン産生の誘導。

【0108】

したがって、あるタンパク質が、動物への接種時にこれらの免疫応答のいずれか一つを誘導する場合、そのタンパク質は、抗腫瘍免疫誘導効果を有すると判定される。タンパク質による抗腫瘍免疫の誘導は、宿主におけるタンパク質に対する免疫系の反応をインビボ

50

またはインビトロで観察することによって検出することができる。

【0109】

例えば、細胞障害性Tリンパ球の誘導を検出する方法は周知である。生体内に入る外来物質は、抗原提示細胞（APC）の作用によってT細胞およびB細胞に提示される。APCによって提示された抗原に対して抗原特異的に応答するT細胞は、抗原による刺激によって細胞障害性T細胞（または細胞障害性Tリンパ球；CTL）に分化した後増殖する（これはT細胞の活性化と呼ばれる）。したがって、あるペプチドによるCTL誘導は、APCによるT細胞へのペプチドの提示およびCTLの誘導を検出することによって評価することができる。さらに、APCは、CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、マクロファージ、好酸球、およびNK細胞を活性化する効果を有する。CD4+ T細胞およびCD8+ T細胞も同様に抗腫瘍免疫において重要であることから、ペプチドの抗腫瘍免疫誘導作用は、これらの細胞の活性化効果を指標として用いて評価することができる。

10

【0110】

APCとして樹状細胞（DC）を用いてCTLの誘導作用を評価する方法は、当技術分野で周知である。DCは、APCの中でも最も強力なCTL誘導作用を有する代表的なAPCである。この方法では、被験ポリペプチドをまずDCに接触させて、このDCをT細胞に接触させる。DCに接触させた後に、対象細胞に対して細胞障害作用を有するT細胞が検出されれば、被験ポリペプチドが細胞障害性T細胞の誘導活性を有することを示している。腫瘍に対するCTLの活性は、例えば⁵¹Cr標識腫瘍細胞の溶解を指標として用いて検出することができる。または、³H-チミジン取り込み活性またはLDH（乳糖デヒドロゲナーゼ）放出を指標として用いて腫瘍細胞の損傷の程度を評価する方法も同様に周知である。

20

【0111】

DCとは別に、末梢血単核球（PBMC）も同様にAPCとして用いてもよい。CTLの誘導は、GM-CSFおよびIL-4の存在下でPBMCを培養することによって増強されることが報告されている。同様に、CTLは、キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）およびIL-7の存在下でPBMCを培養することによって誘導されることが示されている。

【0112】

これらの方法によってCTL誘導活性を有することが確認された被験ポリペプチドは、DC活性化効果およびその後のCTL誘導活性を有するポリペプチドである。したがって、腫瘍細胞に対してCTLを誘導するポリペプチドは、腫瘍に対するワクチンとして有用である。さらに、ポリペプチドに接触させることによって腫瘍に対するCTLの誘導能を獲得したAPCは、腫瘍に対するワクチンとして有用である。さらに、APCによるポリペプチドの抗原提示により細胞障害性を獲得したCTLも同様に、腫瘍に対するワクチンとして用いることができる。APCおよびCTLによる抗腫瘍免疫を用いるそのような腫瘍の治療法は、細胞免疫療法と呼ばれる。

30

【0113】

一般的に、細胞免疫療法のためにポリペプチドを用いる場合、CTL誘導効率は、異なる構造を有する複数のポリペプチドを組み合わせ、それらをDCに接触させることによって増加することが知られている。したがって、DCをタンパク質断片によって刺激する場合、複数のタイプの断片の混合物を用いることが有利である。

40

【0114】

または、ポリペプチドによる抗腫瘍免疫の誘導は、腫瘍に対する抗体産生の誘導を観察することによって確認することができる。例えば、ポリペプチドに対する抗体が、そのポリペプチドで免疫した実験動物において誘導される場合、そして腫瘍細胞の増殖がそれらの抗体によって抑制される場合、ポリペプチドは、抗腫瘍免疫の誘導能を有すると判定することができる。

【0115】

抗腫瘍免疫は本発明のワクチンを投与することによって誘導され、抗腫瘍免疫の誘導によって、TSを治療および予防することができる。癌の治療または癌の発症の予防には、癌性細胞の増殖の阻害、癌の退縮、および癌の発生抑制のような段階のいずれかが含まれる

50

。癌を有する個体の死亡率の低下、血液中の腫瘍マーカーの減少、癌に伴う検出可能な症状の軽減等も同様に、癌の治療または予防に含まれる。そのような治療および予防効果は好ましくは統計学的に有意である。例えば、細胞増殖疾患に対するワクチンの治療または予防効果を、ワクチン投与を行わない対照と比較する観察において、5%以下は有意水準である。例えば、スチューデントのt-検定、マン-ホイットニーのU検定、またはANOVAを統計解析に用いてもよい。

【0116】

免疫学的活性を有する上記のタンパク質またはそのタンパク質をコードするベクターをアジュバントと併用してもよい。アジュバントは、免疫学的活性を有するタンパク質と共に（または連続して）投与した場合にタンパク質に対する免疫応答を増強する化合物を指す。アジュバントの例には、コレラ毒素、サルモネラ毒素、ミョウバン等が含まれるがこれらに限定されない。さらに、本発明のワクチンは、薬学的に許容される担体と適切に組み合わせてもよい。そのような担体の例は、滅菌水、生理食塩液、リン酸緩衝液、培養液等である。さらに、ワクチンは必要に応じて、安定化剤、懸濁剤、保存剤、界面活性剤等を含んでもよい。ワクチンは、全身または局所投与される。ワクチン投与は、1回投与によって行ってもよく、または複数回投与によって追加免疫してもよい。

10

【0117】

本発明のワクチンとしてAPCまたはCTLを用いる場合、腫瘍を例えばエクスピボ法によって治療または予防することができる。より詳しく述べると、治療または予防を受けている被験者のPBMCを採取して、細胞をエクスピボでポリペプチドに接触させて、APCまたはCTLの誘導後、細胞を被験者に投与してもよい。APCはまた、ポリペプチドをコードするベクターをエクスピボでPBMCに導入することによって誘導することができる。インビトロで誘導されたAPCまたはCTLは、投与前にクローニングすることができる。標的細胞を損傷する高い活性を有する細胞をクローニングして増殖させることによって、細胞免疫療法をより効率よく行うことができる。さらに、このようにして単離されたAPCおよびCTLを用いて、細胞が由来する個体に対してのみならず、他の個体からの類似のタイプの腫瘍に対する細胞免疫療法のために用いてもよい。

20

【0118】

さらに、本発明のポリペプチドの薬学的有効量を含む、癌のような細胞増殖疾患を治療または予防するための薬学的組成物が提供される。薬学的組成物は、抗腫瘍免疫を惹起するために用いてもよい。

30

【0119】

TSを阻害するための薬学的組成物

薬学的製剤には、経口、直腸内、鼻腔内、局所（口腔内および舌下を含む）、膈内、もしくは非経口（筋肉内、皮下、および静脈内を含む）投与に適した製剤、または吸入もしくは吹入による投与に適した製剤が含まれる。好ましくは、投与は静脈内である。製剤は任意で個別の用量単位に包装される。

【0120】

経口投与に適した薬学的製剤には、それぞれが活性成分の規定量を含むカプセル剤、カシエ剤、または錠剤が含まれる。製剤にはまた、粉剤、顆粒剤、または溶液、懸濁液、または乳液が含まれる。活性成分は、任意でポラス舐剤またはペーストとして投与される。経口投与用の錠剤およびカプセル剤は、結合剤、充填剤、潤滑剤、崩壊剤、または湿潤剤のような通常の賦形剤を含んでもよい。錠剤は、任意で一つまたは複数の製剤成分との圧縮または成形によって作製してもよい。圧縮錠は、粉剤または顆粒剤のような流動状の活性成分を、任意で結合剤、潤滑剤、不活性希釈剤、潤滑剤、表面活性剤、または分散剤と混合して、適した装置において圧縮することによって調製してもよい。成形錠剤は、不活性液体希釈剤によって湿らせた粉末化合物の混合物を適した機械において成形することによって作製してもよい。錠剤は、当技術分野で周知の方法に従ってコーティングしてもよい。経口液体調製物は、例えば、水性もしくは油性懸濁液、溶液、乳液、シロップ剤、もしくはエリキシル剤の形であってもよく、または使用前に水もしくは他の適した溶剤に

40

50

よって構成するための乾燥製品として提供してもよい。そのような液体調製物は、懸濁剤、乳化剤、非水性溶剤（食用油が含まれてもよい）、または保存剤のような通常の添加剤を含んでもよい。錠剤は任意で、活性成分の徐放または制御放出を提供するように調製してもよい。錠剤の包装は、毎月服用される錠剤1錠を含んでよい。

【0121】

非経口投与用製剤には、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤および意図するレシピエントの血液と製剤を等張にする溶質を含んでもよい水性および非水性滅菌注射剤、ならびに懸濁剤および濃化剤を含んでもよい水性および非水性滅菌懸濁液が含まれる。製剤は、単位用量または複数回用量容器、例えば密封アンプルおよびバイアルに入れてもよく、滅菌液体担体、例えば生理食塩液、注射用水を使用直前に加えるだけでよい凍結乾燥状態で保存してもよい。または、製剤は、連続注入用であってもよい。即時調合注射溶液および懸濁液は、既に記述した種類の滅菌粉末、顆粒、および錠剤から調製してもよい。

10

【0122】

直腸投与用製剤には、カカオバターまたはポリエチレングリコールのような標準的な担体を含む坐剤が含まれる。口内への、例えば口腔内または舌下への局所投与用製剤には、ショ糖およびアカシアまたはトラガカントのような着香基剤に活性成分を含むトローチ剤、ならびにゼラチンとグリセリンまたはショ糖とアカシアのような基剤に活性成分を含む香錠が含まれる。鼻腔内投与の場合、本発明の化合物を液体スプレー、もしくは分散性の粉末として、または点鼻剤の形態で用いてもよい。点鼻剤は、一つまたは複数の分散剤、溶解剤、または懸濁剤も含む水性または非水性基剤によって調製してもよい。

20

【0123】

吸入による投与の場合、吸入器、ネブライザー、加圧パックまたはエアロゾルスプレーを送達するための他の便利な手段によって化合物を適宜送達する。加圧パックは、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素、または他の適したガスのような適した噴射剤を含んでもよい。加圧エアロゾルの場合、用量単位は、一定量を送達するための弁を提供することによって決定してもよい。

【0124】

あるいは、吸入または吹入による投与の場合、化合物は、乾燥粉末組成物、例えば化合物と、乳糖またはデンプンのような適した粉末基剤との粉末混合物の形状をとってもよい。粉末組成物は、単位投与剤形、例えば、粉末が吸入器または吹入器を利用して投与されるカプセル剤、カートリッジ、ゼラチンまたはプリスターパックの形としてもよい。

30

【0125】

他の製剤には、治療薬剤を放出する埋め込み可能装置および接着パッチが含まれる。

【0126】

望ましければ、活性成分を持続的に放出するように適合された上記の製剤を用いてもよい。薬学的組成物はまた、抗菌剤、免疫抑制剤、または保存剤のような他の活性成分を含んでもよい。

【0127】

上記で特に言及した成分の他に、本発明の製剤には、当該製剤のタイプに関して当技術分野において通常の他の薬剤が含まれてもよいと理解すべきであり、例えば経口投与に適した製剤は着香料を含んでもよい。

40

【0128】

好ましい単位投与製剤は、下記に引用するように、活性成分またはその適当な分画の有効量を含む製剤である。

【0129】

上記の条件のそれぞれに関して、組成物、例えばポリペプチドおよび有機化合物は、約0.1~約250 mg/kg/日の用量で経口または注射によって投与される。成人ヒトの用量範囲は一般的に、約5 mg~約17.5 g/日、好ましくは約5 mg~約10 g/日、および最も好ましくは約100 mg~約3 g/日である。錠剤または個別の単位で提供される他の単位投与剤形は、便宜上、同一単位量を複数回投与した量で有効性を示すような単位量、例えば約5 mg~約

50

500 mg、通常約100 mg～約500 mgを含みうる。

【0130】

用いられる用量は、被験者の年齢および性別、治療される正確な障害、およびその重症度を含む多数の要因によって左右されると考えられる。同様に、投与経路も、病態およびその重症度に依存して変化してもよい。

【0131】

本発明はさらに、添付の請求の範囲に記述される本発明の範囲を制限しない以下の実施例において説明される。以下の実施例は、TS細胞において発現に差のある遺伝子の同定および特徴付けを説明する。

【0132】

実施例1：被験試料の調製

疾患状態（例えば、TS）で発現に差のある遺伝子を同定するために、疾患組織（例えば、精巣生殖細胞腫瘍からの精巣細胞）から得た組織および正常組織を評価した。アッセイは以下のように実施した。

【0133】

患者、組織試料、およびレーザー捕獲顕微解剖（LCM）

TGCT試料を、精巣摘除術を受けた患者13人から得た。これらの患者の臨床特徴を表1に要約する。精上皮腫と診断された試料12例および精上皮腫と卵黄嚢腫瘍の双方を有する試料1例を用いた。

【0134】

試料は全て、-80℃で凍結してから、TissueTek OCT培地（Sakura）に抱埋した。凍結した標本を低温槽（Sakura）において厚さ8 μmの連続切片にして、分析した領域を明らかにするために、ヘマトキシリン-エオジンによって染色した。次に、精上皮腫細胞を、いくつかの改変を加えた製造元のプロトコールに従って、PixCell II LCMシステム（Arcturus Engineering）によって各染色組織から選択的に顕微解剖した（21）。

【0135】

（表1）精巣精上皮腫患者13人の臨床特徴

症例番号	年齢	組織病理タイプ	進行期	転帰
1	43	精上皮腫	I	生存
2	20	精上皮腫	I	生存
3	34	精上皮腫	I	生存
4	33	精上皮腫	I	生存
5	26	精上皮腫	I	生存
6	34	精上皮腫	I	生存
7	45	精上皮腫	I	生存
8	24	精上皮腫	I	生存
9	44	精上皮腫	I	生存
10	27	精上皮腫	I	生存
11	49	精上皮腫	I	生存
12	42	精上皮腫	III B	生存
13	33	精上皮腫 + 卵黄嚢腫瘍	II B	生存

【0136】

RNAの抽出と精製およびT7に基づくRNA増幅

捕獲した細胞からの総RNAを、RLT溶解緩衝液（QIAGEN）350 μlにおいて抽出した。抽出したRNAを、DNアーゼI（QIAGEN）30単位で室温にて15分間処理した。DNアーゼIで処理した全てのRNAに、Ampliscribe T7転写キット（Epicentre Technologies）を用いてT7に基づく増幅を行った（20）。2回の増幅によって、各組織に関して増幅RNA（aRNA）30～238 μgが得られた。対照プローブとして、正常なヒトポリ(A)⁺RNA（Clontech）を、T7に基づく増幅によって2回増幅した。各癌様組織および対照からのaRNAのアリコート2.5 μgをそれぞれ、Cy5-dCTPおよびCy3-dCTPの存在下で逆転写した（22）。

10

20

30

40

50

【0137】

cDNAマイクロアレイの調製

米国国立バイオテクノロジー情報センター（NCBI）のUniGeneデータベース（構築#131）から選択したcDNA 23,040個を含む「ゲノム全体」のcDNAマイクロアレイシステムを確立した。簡単に説明すると、様々なヒト臓器から単離したポリ(A)⁺RNAを鋳型として用いて、RT-PCRによってcDNAを増幅した。アンプリコンの長さは、反復またはポリ(A)配列を除き、200~1,100 bpの範囲であった。PCR産物を、マイクロアレイスポットター、ジェネレーションIII（Amersham Biosciences）を用いて、7型スライドガラス上にスポットした；遺伝子4608個をスライドガラス1枚に2連にスポットした。異なる5つのスライドガラスを調製して（すなわち、全体で遺伝子23,040個）、そのそれぞれの上に同じハウスキーピング遺伝子52個と陰性対照遺伝子2個も同様にスポットした（23）。 10

【0138】

ハイブリダイゼーションおよびデータの獲得

ハイブリダイゼーションおよび洗浄は、全ての過程を自動スライドプロセッサ（Amersham Biosciences）によって実施したことを除き、既に記述されているプロトコールに従って行った。各ハイブリダイゼーションシグナルの強度は、アレイビジョンコンピュータープログラム（Amersham Biosciences）によって測光法によって計算し、バックグラウンドの強度を差し引いた。各Cy3およびCy5シグナル強度の標準化は、ハウスキーピング遺伝子52個のシグナルの平均値を用いて行った。各発現レベルのカットオフ値は、バックグラウンドの変動に従って自動的に計算した。Cy5/Cy3を相対的発現比として計算した。Cy3およびCy5シグナル強度がいずれもカットオフ値より低い場合、その試料における対応する遺伝子の発現は、これまでの報告に従ってなしと評価された（23）。他の遺伝子に関して、Cy5/Cy3比は、各試料の生データを用いて計算した。 20

【0139】

実施例2：TS関連遺伝子の同定

TSにおいて一般的に上方制御または下方制御される遺伝子が同定されたとき、それらの遺伝子は以下の基準に従って分析された。まず、50%を超える症例についてその相対的発現比を計算することができる遺伝子、および70%を超える症例においてその発現が上方制御または下方制御される遺伝子を選択した。その上、35~50%の症例について相対的発現比を計算することができれば、遺伝子は、全ての症例で上方制御または下方制御されると評価された。各遺伝子の相対的発現比（Cy5/Cy3強度比）は、以下のように4つのカテゴリーのうちの1つに分類された：（1）上方制御される（発現比は5.0より大きい）；（2）下方制御される（発現比は0.2未満）；（3）発現に変化なし（発現比は0.2~5.0）；および（4）発現されない（またはわずかに発現されるが検出用のカットオフ値未満である）。これらのカテゴリーを用いて、発現比の変化が特定のサブグループに対して特異的であると共に試料において一般的である遺伝子の組を検出した。精上皮腫細胞において一般的に上方制御または下方制御される候補遺伝子を検出するために、遺伝子23,040個の全体的な発現パターンをスクリーニングして、5.0より大きい、または0.2より小さい発現比を有する遺伝子を選択した。 30

【0140】

TS細胞において臨床的に関連する発現パターンを有する遺伝子の同定

TGCTの発症および進行の基礎となる遺伝子事象を解明するために、本発明者らは、ゲノム全体のcDNAマイクロアレイによって臨床材料における遺伝子発現を分析した。マイクロアレイ技術によって、1回の実験で何千もの遺伝子の発現を分析することが可能となり、癌の分子機構に対する新しい洞察を得ることができる。そのようなデータは、臨床管理の改善に関与し、それによって癌患者のよりよい生活水準が提供されると期待される。 40

【0141】

ある研究グループは、第17染色体の長腕がしばしばTGCTにおいて過剰発現されていることから、第17染色体に存在する遺伝子の注文製作したcDNAマイクロアレイを用いて、遺伝子発現プロフィールを分析した（13）。しかし、その試験では、第17染色体上の遺伝子63 50

6個およびゲノムの他からの遺伝子512個を分析したにすぎなかった。本発明者らの知る限り、本発明者らの試験は、TGCTに関する最初のゲノム全体のcDNAマイクロアレイ分析である。

【0142】

本発明者らは、LCMによって精製した精上皮腫細胞の集団を調べるために遺伝子23,040個を含む包括的cDNAマイクロアレイシステムを用いて、特にTSを重点的に調べた。顕微鏡的な視覚化により、本手順により選択された癌細胞集団がほぼ100%であると推定した。

【0143】

発現比が5.0を超える上方制御された遺伝子346個が同定され(表2)、発現比が0.2未満である下方制御された遺伝子593個が同定された(表3)。さらに、発現比が10.0を超える特に高度に上方制御された遺伝子213個が同定された(データは示していない)。一方、発現比が0.1未満である下方制御された遺伝子376個が同定された(データは示していない)。

【0144】

それらのいくつかは、新規治療剤の分子標的となる可能性があり、かつ/または診断的腫瘍マーカーとして役立つ可能性がある。表4における遺伝子のリストには、TSの発癌または細胞増殖に関係することが既に知られている遺伝子である、CCND2(1)、POV1(24)、PIM2(25)、JUP(26)、およびMYCN(14)が含まれる。例えば、RBタンパク質のリン酸化を調節して、G1-S細胞周期チェックポイントを制御するCCND2は、TSにおいてしばしば高度に発現されている；D型サイクリンの過剰発現によるこのチェックポイントの破壊は、ヒトにおける腫瘍発生の主要な経路の一つである(1)。前立腺癌において過剰発現される遺伝子として初めて同定されたPOV1(24)は後に、精巣の上皮内癌と共に全てのTSにおいて高度に発現されることが示された。この遺伝子は、膜貫通ドメイン12個を有する膜輸送タンパク質をコードして、細胞増殖にとって必須の栄養および/または代謝物を輸送する可能性がある(27)。したがって、その産物は、TSおよび前立腺癌を治療するための抗癌剤の分子標的となる可能性がある。セリントレオニンキナーゼをコードする癌原遺伝子であるPIM2は、これまでに、造血幹細胞、白血球細胞株およびリンパ腫細胞株、ならびにTSにおいて高度に発現されることが報告された；その産物は、造血および腫瘍形成性形質転換において重要な役割を有するようと思われる(25)。カテニンとしても知られるJUPは、細胞接着およびWntシグナル伝達経路において重要な役割を果たす；JUPは、APC腫瘍抑制遺伝子によって調節され、結腸癌におけるその腫瘍形成活性は、カテニンの活性とは異なると考えられる(26)。MYCN遺伝子の増幅は、多様なヒト腫瘍において認められており、神経芽腫において最も頻繁であり、その過剰発現は、精上皮腫および非精上皮腫の双方において報告されている(14)。このように、これらの腫瘍形成機能の抑制は、TSの治療に対する新規アプローチとなる可能性がある。その上、これらの上方制御されたエレメントには、シグナル伝達経路、腫瘍遺伝子、細胞周期、ならびに細胞接着および細胞骨格に關与する有意な遺伝子が含まれていた(表4)。

【0145】

精巣癌に何らかの關与を有することが知られている遺伝子の他に、本発明者らは、PIM-1、RET、およびVAV2を含む他の腫瘍遺伝子の過剰発現を認めた。セリン/トレオニンキナーゼをコードするPIM-1(28)は、本発明者らのマイクロアレイにおいて調べられた情報の得られた精上皮腫11例全てにおいて過剰発現されていた。RETも同様に、情報の得られた精上皮腫6例全てにおいて過剰発現されていた。RET遺伝子は、細胞の増殖および分化のためのシグナルを伝達する細胞表面分子である受容体チロシンキナーゼをコードする；RET遺伝子における生殖系列変異は、二つの遺伝性の癌症候群、すなわち多発性内分泌新生物2A型および2B型に關与している(29)。VAV腫瘍遺伝子ファミリーのメンバーであるVAV2は、本発明者らのマイクロアレイにおいて調べられた情報の得られた精上皮腫症例12例中11例において過剰発現されていた。VAVタンパク質は、細胞の形質転換および腫瘍形成に關連している；これは、形質転換した細胞の転移特性を増強するか、またはRasのような腫瘍遺伝子タンパク質の形質転換活性に關与する補助因子として作用するよう思われ

10

20

30

40

50

る(30)。

【0146】

一方、本発明者らのリストにおける下方制御される遺伝子には、少なくとも一つの既知の腫瘍抑制因子であるWT1が含まれ、それが不活化されるとウィルムス腫瘍および、ウィルムス腫瘍に対する感受性、無虹彩症、尿性器異常、および精神遅滞を特徴とするWAGR症候群を引き起こす(31)。WT1を有する染色体領域でのヘテロ接合性の喪失が、精巢生殖細胞腫瘍においてしばしば認められている(32)。さらに、ウィルムス腫瘍1関連タンパク質(KIAA0105、WTAP)、WT1結合パートナーも同様に、本発明者らの研究において下方制御された。WT1は、尿性器系の正常な発達に関連していることから、その産物は、精巢の腫瘍形成に関与する一つの候補物質となる可能性があるが、その分子機構はまだ不明である。

10

【0147】

分子標的薬を用いて、臨床上的改善が最近得られたことにより、特定の癌を治療する薬物を開発するための新規分子標的を発見する重要性が強調されてきた。例えば、抗HER-2モノクローナル抗体であるトラスツズマブは、抗癌剤と併用して、癌原遺伝子受容体HER2/neuに拮抗させ、何人かの乳癌患者の臨床反応および生存の改善をもたらした(33)。bc r-ablを標的とするチロシンキナーゼ阻害剤であるSTI-571は、今では慢性骨髄性白血病の治療にとって第一選択薬であり(34)、上皮細胞増殖因子受容体阻害剤であるゲフィチニブは、肺の非小細胞癌の治療にとって有用である(35)。抗CD20モノクローナル抗体であるリツキシマブは、B細胞リンパ腫またはマントル細胞リンパ腫の患者において完全寛解率および全体的な生存率を改善した(36)。したがって、本明細書において同定された細胞増殖に関連する上方制御される遺伝子の産物は、TSを治療する新規物質を設計するための有望な標的となる可能性がある。特に、自己分泌細胞増殖経路において機能する分泌型タンパク質は、薬物を開発するための良好な候補物質となるはずであり、このタイプの癌の新規診断マーカーとなりうるであろう。

20

【0148】

本研究において分析した症例13例中11例が、臨床病理的にI期であると分類された。したがって、本発明者のマイクロアレイにおいて一般的に上方制御または下方制御される遺伝子は、腫瘍形成の比較的初期段階に関連する可能性がある。その結果、本発明者らのデータは、癌関連遺伝子に関する新規情報を提供するのみならず、既知の遺伝子と腫瘍形成との新規相関を提供する。それにもかかわらず、本明細書に記述された情報は、TS発症の際の遺伝子活性の変化における複雑度が高度であることを開示した；結果は、このタイプの癌に関して可能性のある治療標的および/またはバイオマーカーの長大なリストである。

30

【0149】

(表2) 精巢精上皮腫において5倍またはそれ以上一般的に上方制御される遺伝子346個

TS 付与 番号	アクセッ ション番号	記号	遺伝子の名称	
1	AI141839	ABCD4	ATP 結合カセット、サブファミリー-D (ALD)、メン バー4	
2	X02994	ADA	アデノシンデアミナーゼ	
3	U41767	ADAM15	ジスインテグリンおよびメタロプロテイナーゼ ドメイン 15 (メタージディン)	
4	AF024714	AIM2	黒色腫非存在 2 (absent in melanoma 2)	10
5	H57960	AK3	アデニレートキナーゼ 3	
6	U24266	ALDH4	アルデヒドデヒドロゲナーゼ 4(グルタメート γ - セミアルデヒドデヒドロゲナーゼ; ピロリン-5- カルボキシレートデヒドロゲナーゼ)	
7	AA180314	ANKRD2	アンキリンリピートドメイン 2 (伸張反応筋)	
8	AA910946	AP1M2	アダプター関連タンパク質複合体 1、 μ 2 サブユ ニット	
9	AA676726	APELIN	アペリン、APJ 受容体に対するペプチドリガンド	20
10	U79268	APEX	APEX ヌクレアーゼ (多機能 DNA 修復酵素)	
11	X00570	APOC1	アポリポタンパク質 C-I	
12	L08424	ASCL1	無毛-小楯板(achaete-scute)複合体 (ショウジョ ウバエ) 相同体様 1	
13	D89052	ATP6F	ATP アーゼ、H ⁺ 輸送、ライソゾーム (液胞プロト ンポンプ) 21 kD	
14	AF038195	BCS1L	BCS1 (酵母相同体) 様	
15	M88714	BDKRB2	ブラジキニン受容体 B2	30
16	AF001383	BIN1	架橋インテグレータ 1	
17	W91908	BRAG	B 細胞 RAG 関連タンパク質	
18	R43935	CACNA1G	カルシウムチャンネル、電位依存的 α 1G サブユニ ット	
19	U66063	CAMK2G	カルシウム/カルモジュリン依存的タンパク質 キナーゼ (CaM キナーゼ) II γ	
20	AA682870	CCND2	サイクリン D2	
21	U45983	CCR8	ケモカイン (C-C モチーフ) 受容体 8	40
22	M16445	CD2	CD2 抗原 (p50)、ヒツジ赤血球細胞受容体	
23	AA083656	CD37	CD37 抗原	
24	M37033	CD53	CD53 抗原	
25	M81934	CDC25B	細胞分裂サイクル 25B	
26	X63629	CDH3	カドヘリン 3、タイプ 1、P-カドヘリン (胎盤)	
27	M16965	CDR1	小脳変性関連タンパク質 (34 kD)	

28	U51095	CDX1	尾側型ホメオボックス転写因子 1	
29	AA319695	CEBPD	CCAAT/エンハンサー結合タンパク質 (C/EBP)、 δ	
30	U14518	CENPA	セントロメアタンパク質 A (17 kD)	
31	U58514	CHI3L2	キチナーゼ 3 様 2	
32	X14830	CHRNB1	コリン作動性受容体、ニコチン性、 β ポリペプチド 1 (筋)	
33	AC002115	COX6B	チトクローム c オキシダーゼサブユニット VIb	
34	X59932	CSK	c-src チロシンキナーゼ	10
35	AW167729	CTSC	カテプシン C	
36	AA579959	CYP2S1	EST から予測されるチトクローム P540 ファミリーメンバー	
37	N20321	D19S1177E	第 19 染色体 (ユニーク) 1177 発現配列上の DNA セグメント	
38	U79775	D21S2056E	第 21 染色体 (ユニーク) 2056 発現配列上の DNA セグメント	
39	AI092999	D2S448	黒色腫関連遺伝子	
40	Z29093	DDR1	ジスコイジンドメイン受容体ファミリー、メンバー 1	20
41	U49785	DDT	D-ドパクロムトートメラーゼ	
42	T78186	DNMT3A	DNA (シトシン-5-) -メチルトランスフェラーゼ 3 α	
43	D78011	DPYS	ジヒドロピリミジナーゼ	
44	U88047	DRIL1	デッドリンガー (ショウジョウバエ) 様 1	
45	AA128470	DSP	デスモプラキン (DPI、DPII)	
46	X92896	DXS9879E	X 染色体 (ユニーク) 9879 発現配列上の DNA セグメント	30
47	AA233853	E1B-AP5	E1B-55 kDa 関連タンパク質 5	
48	S49592	E2F1	E2F 転写因子 1	
49	AA422074	ENO2	エノラーゼ 2 (γ 、神経)	
50	M57736	ENPP1	エクトヌクレオチドピロフォスファターゼ/ホスホジエステラーゼ 1	
51	U07695	EPHB4	EphB4	
52	U15655	ERF	Ets2 リプレッサー因子	40
53	D12765	ETV4	ets 変異体遺伝子 4 (E1A エンハンサー結合タンパク質、E1AF)	
54	X86779	FASTK	Fas 活性化セリン/トレオニンキナーゼ	
55	J04162	FCGR3B	IgG の Fc 断片、低親和性 IIIb、(CD16) の受容体	
56	M60922	FLOT2	フロチリン 2	
57	R72881	GABBR1	γ アミノ酪酸 (GABA) B 受容体、1	

58	AF077740	GCAT	グリシンC-アセチルトランスフェラーゼ (2-アミノ-3-ケトブチレート補酵素Aリガーゼ)	
59	M18185	GIP	胃障害ポリペプチド	
60	AA669536	GJA5	ギャップ接合部タンパク質、 α 5、40 kD (コネキシン40)	
61	U78027	GLA	ガラクトシダーゼ、 α	
62	N26076	GOV	膠芽細胞腫過剰発現	
63	D64154	GP110	細胞膜糖タンパク質、110000 M(r) (表面抗原)	10
64	AF062006	GPR49	Gタンパク質共役受容体49	
65	AA877534	GPRC5C	Gタンパク質共役受容体、ファミリーC、グループ5、メンバーC	
66	X68314	GPX2	グルタチオンペルオキシダーゼ2 (消化管)	
67	AI346758	GYG2	グリコゲニン2	
68	J04501	GYS1	グリコーゲンシンターゼ1 (筋)	
69	U26174	GZMK	グランザイムK (セリンプロテアーゼ、グランザイム3; トリプターゼII)	20
70	X57129	H1F2	H1ヒストンファミリー、メンバー2	
71	AA904505	H3FD	H3ヒストンファミリー、メンバーD	
72	M16707	H4F2	H4ヒストン、ファミリー2	
73	M58285	HEM1	造血タンパク質1	
74	AA903016	HM74	推定のケモカイン受容体; GTP結合タンパク質	
75	D66904	HRMT1L2	HMT1 (hnRNPメチルトランスフェラーゼ、出芽酵母) 様2	
76	AW084318	HSPB1	熱ショック27 kDタンパク質1	
77	AA564686	HSPC025	HSPC025	30
78	AA775500	HsPOX2	プロリンオキシダーゼ2	
79	AI189477	IDH2	ミトコンドリアイソクエン酸デヒドロゲナーゼ2 (NADP+)	
80	AA436509	IER5	前初期反応5	
81	X16302	IGFBP2	インスリン様増殖因子結合タンパク質2 (36 kD)	
82	AJ001563	IGHG3	免疫グロブリン重鎖定常領域 γ 3 (G3mマーカー)	
83	M87790	IGL λ	免疫グロブリン λ 遺伝子座	
84	AI189680	IL1RAP	インターロイキン1受容体アクセサリタンパク質	40
85	M20566	IL6R	インターロイキン6受容体	
86	J05272	IMPDH1	IMP (イノシンーリン酸) デヒドロゲナーゼ1	
87	S78296	INA	インターネキシン神経中間フィラメントタンパク質、 α	
88	M15395	ITGB2	インテグリン、 β 2 (抗原CD18 (p95)、リンパ球機能関連抗原1; マクロファージ抗原1 (mac) β	

サブユニット)

89	X16260	ITIH1	インター α (グロブリン) 阻害剤、H1 ポリペプチド	
90	AA226073	ITM2C	膜内在性タンパク質 2C	
91	AI205103	ITPK1	イノシトール 1, 3, 4-三リン酸 5/6 キナーゼ	
92	Z68228	JUP	接合プラコグロビン	
93	AA707252	KIAA0468	シンデカン 3 (N-シンデカン)	
94	D52745	KIAA0821	レクトメジン-2	10
95	H06478	KIF3C	キネシンファミリーメンバー3C	
96	U06698	KIF5A	キネシンファミリーメンバー5A	
97	AA845512	KLF4	クルッペル様因子 4 (腸管)	
98	X77744	KR18	KRAB ジンクフィンガータンパク質 KR18	
99	X87342	LLGL2	致死性巨大幼虫 (ショウジョウバエ) 相同体 2	
100	BF971926	LMNA	ラミン A/C	
101	AI298111	LOC51116	CGI-91 タンパク質	
102	AA714315	LOC51181	カルボニル還元酵素	20
103	D89078	LTB4R	ロイコトリエン b4 受容体 (ケモカイン受容体様 1)	
104	U42376	LY6E	リンパ球抗原 6 複合体、遺伝子座 E	
105	AC005546	LYL1	リンパ芽球性白血病由来配列 1	
106	AA179832	M6PR	マンノース-6-ホスフェート受容体 (陽イオン依存的)	
107	D87116	MAP2K3	マイトジェン活性化タンパク質キナーゼキナーゼ 3	
108	AA583183	MAP4K3	マイトジェン活性化タンパク質キナーゼキナーゼキナーゼキナーゼ 3	30
109	AA744607	MASL1	ロイシンリッチタンデムリピート 1 を有する MFH 増幅配列	
110	X74795	MCM5	ミニ染色体維持欠損 (出芽酵母) 5 (細胞分裂サイクル 46)	
111	U78313	MDFI	MyoD ファミリー阻害剤	
112	L10612	MIF	マクロファージ遊走阻害因子 (グリコシル化阻害因子)	
113	J05070	MMP9	マトリクスメタロプロテイナーゼ 9 (ゼラチナーゼ B、92 kD ゼラチナーゼ、92 kD IV 型コラゲナーゼ)	40
114	H46518	MRPS26	ミトコンドリアリボソームタンパク質 S26	
115	AA101822	MSDC1	中胚葉発達候補因子 1	
116	N70019	MT1E	メタロチオネイン 1E (機能的)	
117	AI094778	MT2A	メタロチオネイン 2A	

118	J04031	MTHFD1	メチレンテトラヒドロ葉酸デヒドロゲナーゼ (NADP+依存的)、メテニルテトラヒドロ葉酸シクロヒドロラーゼ、ホルミルテトラヒドロ葉酸合成酵素	
119	X13293	MYBL2	v-myb トリ骨髄芽球症ウイルス腫瘍遺伝子相同体様 2	
120	Y00664	MYCN	V-myc トリ骨髄芽球症ウイルス関連腫瘍遺伝子、神経芽腫由来	10
121	AI188406	NDUFA4	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 α サブ複合体 4 (9 kD、MLRQ)	
122	AA989104	NDUFB2	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 β サブ複合体 2 (8 kD、AGGG)	
123	X83957	NEB	ネブリン	
124	H08616	NESCA	ネスカタンパク質	
125	AA977227	NET-6	テトラスパン NET-6 タンパク質	
126	W46617	NF2	ニューロフィブロミン 2 (両側性聴神経腫)	20
127	AI300590	NFE2L3	核因子 (赤芽球由来 2) 様 3	
128	X77909	NFKBIL1	B 細胞阻害剤様 1 における κ 軽鎖ポリペプチド遺伝子エンハンサーの核因子	
129	AJ001258	NIPSNAP1	NIPSNAP、C. エレガンス、相同体 1	
130	U23070	NMA	推定の膜貫通タンパク質	
131	X17620	NME1	非転移細胞 1 において発現されるタンパク質 (NM23A)	
132	L16785	NME2	非転移細胞 2 において発現されるタンパク質 (NM23B)	30
133	AA242961	NOD1	カスパーゼ補充ドメイン 4	
134	AI085648	NOLA3	核小体タンパク質ファミリーA、メンバー3 (H/ACA 小核小体 RNPs)	
135	U56079	NPY5R	神経ペプチド Y 受容体 Y5	
136	AA628440	NR1I3	核受容体サブファミリー1、グループ I、メンバー 3	
137	R16767	NRBP	核受容体結合タンパク質	
138	AI049668	OAZ1	オルニチンデカルボキシラーゼアンチザイム 1	40
139	D10523	OGDH	オキソグルタラートデヒドロゲナーゼ (リポアミド)	
140	X17094	PACE	塩基性アミノ酸対切断酵素 (フリン、膜関連受容体タンパク質)	
141	AI146846	PAR3	C. エレガンス PAR3 と類似の PDZ 3 個含有タンパク質 (分配欠損)	

142	AI248183	PAX5	対のあるボックス遺伝子 5 (B-細胞系列特異的活性化タンパク質)	
143	AI265770	PDLIM1	PDZ および LIM ドメイン 1 (elfin)	
144	X54936	PGF	胎盤増殖因子、血管内皮増殖因子関連タンパク質	
145	AA532444	PHLDA3	プレクストリン相同性様ドメイン、ファミリーA、メンバー3	
146	X80907	PIK3R2	ホスホイノシチド-3-キナーゼ、調節サブユニット、ポリペプチド 2 (p85 β)	10
147	M16750	PIM1	pim 腫瘍遺伝子	
148	U77735	PIM2	pim-2 腫瘍遺伝子	
149	D00244	PLAU	プラスミノゲン活性化因子、ウロキナーゼ	
150	X07743	PLEK	プレクストリン	
151	M80397	POLD1	ポリメラーゼ (DNA依存性)、 δ 1、触媒サブユニット (125 kD)	
152	S90469	POR	P450 (チトクローム) オキシドレダクターゼ	
153	AF045584	POV1	前立腺癌過剰発現遺伝子 1	20
154	S57501	PPP1CA	タンパク質ホスファターゼ 1、触媒サブユニット、 α イソ型	
155	N44532	PPP1R14C	タンパク質ホスファターゼ 1、調節 (阻害) サブユニット 14C	
156	AI274279	PRDM4	PR ドメイン含有 4	
157	AI309741	PRG6	p53 反応性遺伝子 6	
158	AF027208	PROML1	プロミニン (マウス) 様 1	
159	M24398	PTMS	パラサイモシン	30
160	U47025	PYGB	ホスホリラーゼ、グリコーゲン; 脳	
161	Y15233	PYGL	ホスホリラーゼ、グリコーゲン; 肝臓 (ハース病、グリコーゲン貯蔵疾患 VI 型)	
162	AA346311	RAI3	レチン酸誘導 3	
163	M29893	RALA	v-ral サル白血病ウイルス腫瘍遺伝子相同体 A (ras 関連)	
164	Y00291	RARB	レチン酸受容体、 β	
165	Y12336	RASGRP2	RAS グアニル放出タンパク質 2 (カルシウムおよび DAG-調節)	40
166	X64652	RBMS1	RNA 結合モチーフ、一本鎖相互作用タンパク質 1	
167	AF040105	RCL	推定の c-Myc 反応性	
168	AA807607	RDGBB	網膜変性 B β	
169	AA932768	REPRIMO	p53 依存的 G2 停止の候補メディエータ	
170	X12949	RET	ret 癌原遺伝子 (多発性内分泌新生物 MEN2A、MEN2B および髄様甲状腺癌 1、ヒルシュスプルング病)	

171	NM_139176	PYPAF3	PYRIN 含有 Apaf-1 様タンパク質 3	
172	AA921313	RPL11	リボソームタンパク質 L11	
173	L11566	RPL18	リボソームタンパク質 L18	
174	AA402920	RPL18A	リボソームタンパク質 L18a	
175	AA962580	RPL22	リボソームタンパク質 L22	
176	AI123363	RPL23A	リボソームタンパク質 L23a	
177	AI341159	RPL26	リボソームタンパク質 L26	
178	AA313541	RPL37	リボソームタンパク質 L37	10
179	R50505	RPLP1	リボソームタンパク質、大 P1	
180	AI131289	RPLP2	リボソームタンパク質、大 P2	
181	M81757	RPS19	リボソームタンパク質 S19	
182	L04483	RPS21	リボソームタンパク質 S21	
183	N27409	RPS23	リボソームタンパク質 S23	
184	U14970	RPS5	リボソームタンパク質 S5	
185	X99920	S100A13	S100 カルシウム結合タンパク質 A13	
186	AI261620	SAAS	グラニン様神経内分泌ペプチド前駆体	20
187	U72355	SAFB	足場結合因子 B	
188	X98834	SALL2	sal (ショウジョウバエ) 様 2	
189	T30682	SC02	SC0 チトクロームオキシダーゼ欠損相同体 2 (酵母)	
190	AB000887	SCYA19	小さい誘導型サイトカインサブファミリー A (Cys-Cys)、メンバー 19	
191	AA534943	SCYB14	小さい誘導型サイトカインサブファミリー B (Cys-X-Cys)、メンバー 14 (BRAK)	30
192	AI080351	SEC63L	SEC63、小胞体トランスロコン成分 (出芽酵母) 様	
193	K01396	SERPINA1	セリン (またはシステイン) プロテイナーゼ阻害剤、クレード A (α アンチプロテイナーゼ、アンチトリプシン)、メンバー 1	
194	AI050752	SGCB	サルコグリカン、 β (43 kD ジストロフィン関連糖タンパク質)	
195	AA421248	SH3BGL3	SH3 ドメイン結合グルタミン酸リッチタンパク質 様 3	40
196	L11932	SHMT1	セリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ 1	
197	T29731	SHMT2	セリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ 2 (ミトコンドリア)	
198	U44403	SLA	Src 様アダプター	
199	J03592	SLC25A6	溶質担体ファミリー 25 (ミトコンドリア担体; アデニンヌクレオチド転座因子)、メンバー 6	

200	AW511361	SLC29A1	溶質担体ファミリー29 (ヌクレオシド輸送体)、 メンバー1	
201	D84454	SLC35A2	溶質担体ファミリー35 (UDP ガラクトース輸送 体)、メンバー2	
202	M65105	SLC6A2	溶質担体ファミリー6 (神経伝達物質輸送体、ノ ルアドレナリン)、メンバー2	
203	AW504047	SMARCA4	SWI/SNF 関連、マトリクス関連、アクチン依存的 染色質調節物質、サブファミリーa、メンバー4	10
204	AI143147	SNRPF	核内低分子リボ核タンパク質ポリペプチドF	
205	X70683	SOX4	SRY (性決定領域Y) ボックス4	
206	U49240	SPK	シンプレキシン; ハンチントン相互作用タンパク質 I	
207	J03161	SRF	血清反応因子 (c-fos 血清反応エレメント結合転 写因子)	
208	AA683542	STAU2	スタウフェン (ショウジョウバエ、RNA 結合タン パク質) 相同体2	
209	AI151087	T1A-2	肺 I 型細胞膜関連糖タンパク質	20
210	AA235074	TCF19	転写因子 19 (SC1)	
211	X82240	TCL1A	T 細胞白血病/リンパ腫 1A	
212	AA399645	TCOF1	トリーチャー・コリンズ-フランスシェッティ症 候群 1	
213	U85658	TFAP2C	転写因子 AP-2 γ (活性化エンハンサー結合タンパ ク質 2 γ)	
214	AI049960	TGIF2	TGFB 誘導因子 2 (TALE ファミリーホメオボックス)	
215	AA293042	THY1	Thy 細胞表面抗原	30
216	AJ005895	TIM17B	内部ミトコンドリア膜 17 (酵母) 相同体 B のトラ ンスロカーゼ	
217	AA536113	TMEPAI	膜貫通、前立腺アンドロゲン誘導 RNA	
218	AI261341	TMP21	膜貫通移動タンパク質	
219	M64247	TNNI3	トロポニン I、心臓	
220	M19309	TNNT1	トロポニン T1、骨格、遅い	
221	M19713	TPM1	トロポミオシン 1 (α)	
222	AA890188	TUBG2	チューブリン、 γ 2	
223	AA481924	TYROBP	TYRO タンパク質チロシンキナーゼ結合タンパク 質	40
224	U73379	UBCH10	ユビキチン運搬体タンパク質 E2-C	
225	AA465240	VAV2	vav2 腫瘍遺伝子	
226	Z71621	WNT2B	無翼奇形型 MMTV 組込部位ファミリー、メンバー 2B	

227	AA644644	YWHAH	チロシン 3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン 5-モノオキシゲナーゼ活性化タンパク質、 η ポリペプチド	
228	AA555115	LOC51260	仮説上のタンパク質	
229	AA056472	LOC57228	クローン 643 由来 仮説上のタンパク質	
230	R37098	DKFZp547M236	仮説上のタンパク質 DKFZp547M236	
231	AA776240	DKFZP586J091	DKFZP586J0917 タンパク質 7	
232	AA609417	DKFZp762M136	仮説上のタンパク質 DKFZp762M136	10
233	N80485	FLJ10199	仮定上のタンパク質 FLJ10199	
234	W18181	FLJ10430	仮定上のタンパク質 FLJ10430	
235	U69190	FLJ10432	仮定上のタンパク質	
236	AA287875	FLJ10549	仮定上のタンパク質 FLJ10549	
237	AI206219	FLJ10634	仮定上のタンパク質 FLJ10634	
238	AA368409	FLJ10688	仮定上のタンパク質 FLJ10688	
239	AI014673	FLJ10709	仮定上のタンパク質 FLJ10709	
240	AA219141	FLJ10713	仮定上のタンパク質 FLJ10713	20
241	AA477929	FLJ10767	仮定上のタンパク質 FLJ10767	
242	AK026707	FLJ11328	仮定上のタンパク質 FLJ11328	
243	AA306716	FLJ11937	仮定上のタンパク質 FLJ11937	
244	AI017753	FLJ20069	仮定上のタンパク質 FLJ20069	
245	AA843844	FLJ20171	仮定上のタンパク質 FLJ20171	
246	AI360274	FLJ20494	マウス神経タンパク質 15.6 と類似	
247	AI276023	FLJ20539	仮定上のタンパク質 FLJ20539	
248	AA058761	FLJ20550	仮定上のタンパク質 FLJ20550	30
249	Z24980	FLJ22195	仮定上のタンパク質 FLJ22195	
250	AA813912	KIAA0130	KIAA0130 遺伝子産物	
251	AA394063	KIAA0144	KIAA0144 遺伝子産物	
252	AI090862	KIAA0147	ショウジョウバエスクリブルのヒト相同体	
253	AB007925	KIAA0456	KIAA0456 タンパク質	
254	AB014544	KIAA0644	KIAA0644 遺伝子産物	
255	AB014590	KIAA0690	KIAA0690 タンパク質	
256	AA954348	KIAA0870	KIAA0870 タンパク質	40
257	AA737525	KIAA1031	KIAA1031 タンパク質	
258	AA443202	KIAA1053	KIAA1053 タンパク質	
259	W90578	KIAA1198	KIAA1198 タンパク質	
260	AA191449	KIAA1254	KIAA1254 タンパク質	
261	AI076459	KIAA1272	ヒト cDNA FLJ12819 fis、クローン NT2RP2002727、 ドブネズミのチューリップ 2 mRNA と弱く類似	

262	AA579859	KIAA1273	KIAA1273 タンパク質	
263	AA731891	KIAA1517	KIAA1517 タンパク質	
264	AI093595	LOC55895	22 kDa ペルオキシソーム膜タンパク質様	
265	AA149846		ヒト mRNA ; cDNA DKFZp762B195 (クローン DKFZp762B195 由来)	
266	AA741366		ヒト mRNA ; cDNA DKFZp761K2312 (クローン DKFZp761K2312 由来)	
267	AA400449	DKFZp434K062 1	ヒト mRNA ; cDNA DKFZp434K0621 (クローン DKFZp434K0621 由来) ; 部分的 cds	10
268	AI168147		ヒト HSPC289 mRNA、部分的 cds	
269	L02326		ヒトクローン Hu λ 7、 λ 様タンパク質 (IGLL2) 遺伝子、部分的 cds	
270	F09520	EST	ヒトクローン 24841 mRNA 配列	
271	AA975205		ヒトクローン 23570 mRNA 配列	
272	AI348289		ヒト cDNA : FLJ23227 fis、クローン CAE00645、AF052138 ヒトクローン 23718 mRNA 配列と高度に類似	20
273	AA669034		ヒト cDNA : FLJ23125 fis、クローン LNG08217	
274	W76303		ヒト cDNA : FLJ22662 fis、クローン HSI08080	
275	T04932		ヒト cDNA : FLJ21545 fis、クローン COL06195	
276	AA147751		ヒト cDNA FLJ14146 fis、クローン MAMMA1002947	
277	N91027		ヒト cDNA FLJ13549 fis、クローン PLACE1007097	
278	AA188494	FLJ113352	ヒト cDNA FLJ13352 fis、クローン OVARC1002165、3-オキシ-5- α -ステロイド 4-デヒドロゲナーゼ 2 (EC 1.3.99.5) に弱く類似	30
279	AA903456		ヒト cDNA FLJ13325 fis、クローン OVARC1001762、N 末端アセチルトランスフェラーゼ 1 (EC 2.3.1.88) と弱く類似	
280	AA628522		ヒト cDNA FLJ12758 fis、クローン NT2RP2001328	
281	AA626414		ヒト cDNA FLJ12436 fis、クローン NT2RM1000062	
282	AA610175	FLJ12195	ヒト cDNA FLJ12195 fis、クローン MAMMA1000865	
283	AW083127		ヒト cDNA FLJ11856 fis、クローン HEMBA1006789	
284	F18016		ヒト cDNA FLJ11018 fis、クローン PLACE1003602、胎盤において発現されるヒト mRNA と高度に類似	40
285	AA442071	EST	ヒト cDNA FLJ10247 fis、クローン HEMBB1000705	
286	AA036947		ヒト cDNA FLJ10229 fis、クローン HEMBB1000136	
287	AA234475	NCOA6IP	メチルトランスフェラーゼドメインとの PRIP 相互作用タンパク質	
288	AI041186		HSPC182 タンパク質	

289	K01505		DC クラス II 組織適合抗原 α 鎖	
290	Z38677		クラウドイン 10	
291	AA236315		第 1 染色体オープンリーディングフレーム 27	
292	AA411333		EST、ジンクフィンガー様[ヒト]と弱く類似	
293	AA150200		EST、タフテリン[ハツカネズミ]と弱く類似	
294	AI341906		EST、ORF YNL310c[出芽酵母]と弱く類似	
295	AI349804	EST	EST、IQGA_ヒト RAS GTP アーゼ活性化様タンパク質 IQGAP1[ヒト]と弱く類似	10
296	W94363		EST、ALU4_ヒト ALU サブファミリー-SB2 配列混入警告エントリー[ヒト]と弱く類似	
297	AA053248		EST、RS10_ヒト 40S リボソームタンパク質 S10[ヒト]と高度に類似	
298	AA514648		EST、LMA1_ヒトラミニン α 鎖前駆体[ヒト]と高度に類似	
299	T03298		EST、LDHH_ヒト L-乳酸デヒドロゲナーゼ H 鎖[ヒト]と高度に類似	
300	T55019		EST、胎児脾臓	20
301	AI088718		EST	
302	AA024920		EST	
303	R77448	PLXNA2	EST	
304	W31174		EST	
305	AA463626		EST	
306	AI344249		EST	
307	R61891		EST	
308	AA479350		EST	30
309	AA327207		EST	
310	AA528140		EST	
311	AA826148	EST	EST	
312	AA913950		EST	
313	AI243620		EST	
314	AI039201		EST	
315	AA936889		EST	
316	AA687757		EST	40
317	AI366259		EST	
318	AA317670		EST	
319	AI141923		EST	
320	AA778238	EST	EST	
321	T72555		EST	
322	AA602585		EST	

323	AA527570		EST	
324	C75253		EST	
325	AA351680		EST	
326	N75945		EST	
327	AA528243		EST	
328	AA688195		EST	
329	AA063157		EST	
330	AA419568		EST	10
331	D85376		EST	
332	AA521342		EST	
333	AI365844		EST	
334	T55926		EST	
335	R94687		EST	
336	T61564		EST	
337	AI305234	LOC152217	EST	20
338	AA233870		EST	
339	T16470		EST	
340	T16802		EST	
341	AA830668	EST	EST	
342	AA489212		EST	
343	AA758394		EST	
344	AA609658		EST	
345	AA683373		EST	30
346	N34387		EST	

【 0 1 5 0 】

(表3) 精巢精上皮腫において0.2倍またはそれ未満一般的に下方制御される遺伝子593個

TS 付与 番号	アクセッ ション番号	記号	遺伝子の名称	
347	U57961	13CDNA73	推定の遺伝子産物	
348	M35296	ABL2	v-abl アベルソンマウス白血病ウイルス腫瘍遺伝子相同体 2 (arg、アベルソン関連遺伝子)	
349	AA406601	ABLIM	アクチン結合 LIM タンパク質 1	
350	AA815365	ACT	精巣における CREM の活性化因子	
351	AI357650	AD026	AD026 タンパク質	10
352	AF029900	ADAM21	ジスインテグリンおよびメタロプロテイナーゼドメイン 21	
353	X74210	ADCY2	アデニレートシクラーゼ 2 (脳)	
354	X03350	ADH2	アルコールデヒドロゲナーゼ 2 (クラス I)、 β ポリペプチド	
355	L22214	ADORA1	アデノシン A1 受容体	
356	X66503	ADSS	アデニレートスクシネートシンターゼ	
357	AA766028	AF15Q14	AF15q14 タンパク質	20
358	AA434178	AGPAT1	1-アシルグリセロール-3-ホスフェート-0-アシルトランスフェラーゼ 1 (リゾホスファチジン酸アシルトランスフェラーゼ、 α)	
359	AF038564	AIP4	アトロフィン相互作用タンパク質 4	
360	AI028271	AKAP3	A キナーゼ (PRKA) アンカータンパク質 3	
361	AA398240	AKAP4	A キナーゼ (PRKA) アンカータンパク質 4	
362	U05861	AKR1C1	アルドケトレダクターゼファミリー1、メンバーC1 (ジヒドロジオールデヒドロゲナーゼ 1 ; 20- α (3- α)-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ)	30
363	D17793	AKR1C3	アルドケトレダクターゼファミリー1、メンバーC3 (3- α -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ、タイプ II)	
364	K03000	ALDH1	アルデヒドデヒドロゲナーゼ 1、可溶性	
365	M18786	AMY1A	アミラーゼ、 α 1A ; 唾液	
366	M19383	ANXA4	アネキシン A4	
367	Y12226	AP1G1	アダプター関連タンパク質複合体 1、 γ 1 サブユニット	40
368	AI278652	AP1S2	アダプター関連タンパク質複合体 1、 Σ 2 サブユニット	
369	AA421206	APG	熱ショックタンパク質 (hsp110 ファミリー)	
370	AI168526	ARHGAP5	Rho GTP アーゼ活性化タンパク質 5	

371	AI025137	ARHGEF3	Rho グアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) 3	
372	AB002305	ARNT2	アリアル炭化水素受容体核転座因子 2	
373	U47054	ART3	ADP リボシルトランスフェラーゼ 3	
374	AA928117	ATP8A2	ATP アーゼ、アミノリン脂質輸送体様、クラス I、 タイプ 8A、メンバー2	
375	H80325	BAZ1A	ジンクフィンガードメインに隣接するプロモドメ イン、1A	
376	M55575	BCKDHB	分岐鎖ケト酸デヒドロゲナーゼ E1、 β ポリペプチ ド (メープルシロップ尿症)	10
377	D87461	BCL2L2	BCL2 様 2	
378	AA620708	BCLG	アポトーシス調節因子 BCL-G	
379	U70824	BLu	BLu タンパク質	
380	AA916688	BRF1	酪酸反応因子 1 (EGF-反応因子 1)	
381	U03274	BTD	ビオチニダーゼ	
382	D31716	BTEB1	基礎転写エレメント結合タンパク質 1	
383	W45244	C3	補体成分 3	20
384	U36448	CADPS	分泌のための Ca ²⁺ 依存的活性化タンパク質	
385	X56667	CALB2	カルビンディン 2 (29 kD、カルレチニン)	
386	AA600048	CALD1	カルデスモン 1	
387	R39610	CAPN2	カルパイン 2 (m/II) 大サブユニット	
388	AI085802	CAV2	カベオリン 2	
389	M58583	CBLN1	セレベリン 1 前駆体	
390	D78333	CCT6B	シャペロニン含有 TCP1、サブユニット 6B (ζ 2)	
391	AA917718	CDC10	CDC10 (細胞分裂サイクル 10、出芽酵母、相同体)	30
392	L27711	CDKN3	サイクリン依存的キナーゼ阻害剤 3 (CDK2 関連二 重特異性ホスファターゼ)	
393	AI140736	CDV	CDV タンパク質	
394	AF083322	CEP1	中心体タンパク質 1	
395	AI142230	CETN3	セントリン、EF ハンドタンパク質、3 (CDC31 酵母 相同体)	
396	J03483	CHGA	クロモグラニン A (副甲状腺分泌タンパク質 1)	
397	D10704	CHK	コリンキナーゼ	
398	AA400791	CHST3	糖質 (コンドロイチン 6/ケラタン) スルホトラン スフェラーゼ 3	40
399	U65092	CITED1	Cbp/p300-相互作用トランス活性化因子、Glu/Asp- に富むカルボキシ末端ドメインを有する、1	
400	AI333035	CKAP2	細胞骨格関連タンパク質 2	
401	AI078139	CKN1	コケーン症候群 1 (古典的)	
402	D86322	CLGN	カルメジン	

403	M64722	CLU	クラステリン (補体溶解阻害剤、SP-40、40、硫酸化糖タンパク質 2、テストステロン抑制前立腺メッセージ 2、アポリポタンパク質 J)	
404	D17408	CNN1	カルポニン 1、塩基性、平滑筋	
405	L25286	COL15A1	コラーゲン、XV 型、 $\alpha 1$	
406	T93566	CPE	カルボキシペプチダーゼ E	
407	F21182	CRAT	カルニチンアセチルトランスフェラーゼ	
408	AI334396	CRSP9	Sp1 転写活性化に必要な共因子、サブユニット 9 (33 kD)	10
409	M55268	CSNK2A2	カゼインキナーゼ 2、 α プライムポリペプチド	
410	X16312	CSNK2B	カゼインキナーゼ 2、 β ポリペプチド	
411	U16306	CSPG2	コンドロイチン硫酸プロテオグリカン 2 (バーシカン)	
412	M33146	CSRP1	システインおよびグリシンに富むタンパク質 1	
413	AA780301	CTSF	カテプシン F	
414	AB001928	CTSL2	カテプシン L2	20
415	AA417733	CUL1	カリン 1	
416	Z22780	CYLC1	サイリシン、精子頭部細胞骨格の塩基性タンパク質 1	
417	M14564	CYP17	チトクローム P450、サブファミリー XVII (ステロイド 17- α -ヒドロキシラーゼ)、副腎過形成	
418	U62015	CYR61	システインリッチ、血管新生誘導因子、61	
419	AA608804	D6S51E	HLA-B 関連転写物-2	
420	AA640753	DDAH1	ジメチルアルギニンジメチルアミノヒドロラーゼ 1	30
421	X62535	DGKA	ジアシルグリセロールキナーゼ、 α (80 kD)	
422	AI209130	DJ402G11.8	マウス MOV10 と類似の新規タンパク質	
423	AA432207	DMRT1	二重性および mab-3 関連転写因子 1	
424	AJ000522	DNAH17	ダイネイン、軸糸、重鎖ポリペプチド 17	
425	U53445	DOC1	卵巣癌において下方制御されている 1	
426	AA488466	DRG1	発達調節 GTP 結合タンパク質 1	
427	X68277	DUSP1	二重特異性ホスファターゼ 1	
428	AA313118	DUSP10	二重特異性ホスファターゼ 10	40
429	U89278	EDR2	初期発達調節因子 2 (ポリホメオティック 2 の相同体)	
430	M62829	EGR1	初期増殖反応 1	
431	AA398573	EIF5A2	真核細胞転写開始因子 5A2	
432	AI097529	EPAS1	内皮 PAS ドメインタンパク質 1	
433	U62740	EXT2	外骨腫症 (多重) 2	

434	M14354	F13A1	凝固因子 XIII、A1 ポリペプチド	
435	D10040	FACL2	脂肪酸補酵素 A リガーゼ、長鎖 2	
436	L13923	FBN1	フィブリリン 1 (マルファン症候群)	
437	AI194045	FE65L2	FE65 様 2	
438	AI351061	FEM1B	FEM (C.エレガンス) 相同体 b	
439	D14446	FGL1	フィブリノーゲン様 1	
440	U60115	FHL1	4 と 1/2 LIM ドメイン 1	
441	AA678103	FKBP5	FK506 結合タンパク質 5	10
442	L37033	FKBP8	FK506 結合タンパク質 8 (38 kD)	
443	AA876478	FLJ10578	Sec61 α 型 2	
444	AI141417	FLJ10873	UDP グルコース;糖タンパク質グルコシルトランスフェラーゼ 2	
445	AA813008	FOP	FGFR1 腫瘍遺伝子パートナー	
446	X74142	FOYG1B	フォークヘッドボックス G1B	
447	AI025916	FSP-2	フィブロウシェシン II	
448	X03674	G6PD	グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ	20
449	N34138	GABARAP	GABA (A) 受容体関連タンパク質	
450	U13044	GABPA	GA 結合タンパク質転写因子、 α サブユニット (60 kD)	
451	S68805	GATM	グリシンアミジノトランスフェラーゼ (L-アルギニン:グリシンアミジノトランスフェラーゼ)	
452	AA583339	GCNT3	グルコサミニル (N-アセチル) トランスフェラーゼ 3、ムチン型	
453	AI014575	GCP60	ゴルジ局在タンパク質 GCP60	
454	AA578014	GGA1	ADP リボシル化因子結合タンパク質 GGA1	30
455	AA523541	GILZ	グルココルチコイド誘導ロイシンジッパー	
456	AA293636	GJA1	ギャップ接合タンパク質、 α 1、43 kD (コネキシン 43)	
457	AA608780	GKP2	グリセロールキナーゼ偽遺伝子 2	
458	AA887118	GLRX2	グルタレドキシシン 2	
459	AA446421	GMPS	グアニン-リン酸合成酵素	
460	AF055013	GNAI1	グアニンヌクレオチド結合タンパク質 (G タンパク質)、 α 阻害活性ポリペプチド 1	40
461	AA401492	GNAS1	グアニンヌクレオチド結合タンパク質 (G タンパク質)、 α 刺激活性ポリペプチド 1	
462	AF007548	GOSR2	ゴルジ SNAP 受容体複合体メンバー 2	
463	AA031372	GPC4	グリピカン 4	
464	AI126171	GPP130	II 型ゴルジ膜タンパク質	
465	L42324	GPR18	G タンパク質共役受容体 18	

466	X71973	GPX4	グルタチオンペルオキシダーゼ 4(リン脂質ヒドロペルオキシダーゼ)	
467	L76687	GRB14	増殖因子受容体結合タンパク質 14	
468	AI015487	GRTH	ゴナドトロピン調節精巣 RNA ヘリカーゼ	
469	D87119	GS3955	GS3955 タンパク質	
470	AA993251	GSTA2	グルタチオン S-トランスフェラーゼ A2	
471	L13275	GSTA3	グルタチオン S-トランスフェラーゼ A3	
472	L02321	GSTM5	グルタチオン S-トランスフェラーゼ M5	10
473	U14193	GTF2A2	全般的転写因子 IIA、2 (12 kD サブユニット)	
474	AI126491	HBACH	細胞質アシル補酵素 A チオエステルヒドロラーゼ	
475	AF019214	HBP1	HMG ボックス含有タンパク質 1	
476	W95267	HIBADH	3-ヒドロキシイソ酪酸デヒドロゲナーゼ	
477	U40992	HLJ1	DnaJ 様熱ショックタンパク質 40	
478	M11058	HMGCR	3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル-補酵素 A レダクターゼ	
479	X83618	HMGCS2	3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル補酵素 A シンターゼ 2 (ミトコンドリア)	20
480	AI215478	HMMR	ヒアルロナン介在運動性受容体 (RHAMM)	
481	Y09980	HOXD3	ホメオボックス D3	
482	AF070616	HPCAL1	ヒポカルシン様 1	
483	Y12711	HPR6. 6	プロゲステロン結合タンパク質	
484	AA825654	HRB	HIV Rev 結合タンパク質	
485	AI027700	HS1-2	推定の膜貫通タンパク質	
486	M65217	HSF2	熱ショック転写因子 2	
487	AI205684	HSPA2	熱ショック 70 kD タンパク質 2	30
488	AA971601	HSSOX6	SRY (性決定領域 Y) ボックス 6	
489	AA493561	IGSF4	免疫グロブリンスーパーファミリー、メンバー4	
490	AA916823	IL1A	インターロイキン 1、 α	
491	M27492	IL1R1	インターロイキン 1 受容体、I 型	
492	D61009	ING1L	増殖阻害因子ファミリー、メンバー1 様	
493	L08488	INPP1	イノシトールポリリン酸-ホスファターゼ	
494	AI192189	INPP5A	イノシトールポリリン酸-5-ホスファターゼ、40 kD	
495	W76477	JUN	v-jun トリ肉腫ウイルス 17 腫瘍遺伝子相同体	40
496	AA933702	KCNK4	カリウム内向き整流チャンネル、サブファミリー K、メンバー4	
497	U25138	KCNMB1	カリウム大伝導度カルシウム活性化チャンネル、サブファミリーM、 β メンバー1	
498	AF064093	KE04	C.エレガンスタンパク質 C42C1. 9 と類似	
499	D14661	KIAA0105	ウィルムス腫瘍 1 関連タンパク質	

500	AB014531	KIAA0631	超長鎖アシル-CoA シンテターゼ; リピドシン	
501	H98203	KIAA0987	肺腺癌において異なるように発現される	
502	AA037452	KIAA0992	パラディン	
503	Y08319	KIF2	キネシン重鎖メンバー2	
504	AL044356	KPNB3	カリオフィリン (インポーチン) β 3	
505	M59832	LAMA2	ラミニン、 α 2 (メロシン、先天性筋ジストロフィー)	
506	AF064492	LDB2	LIM ドメイン結合 2	10
507	L13210	LGALS3BP	レクチン、ガラクトシド結合、可溶性、3 結合タンパク質 (ガレクチン6 結合タンパク質)	
508	AA252389	LHFP	脂肪腫 HMGIC 融合パートナー	
509	AA191662	LOC51617	HMP19 タンパク質	
510	AI160184	LOC51673	脳特異的タンパク質	
511	AA569922	LOC51706	チトクローム b5 レダクターゼ 1 (B5R. 1)	
512	AA527435	LOC63928	肝細胞癌抗原遺伝子 520	
513	AA173168	LRRFIP2	ロイシンリッチリピート (FLII における) 相互作用タンパク質 2	20
514	M83202	LTF	ラクトトランスフェリン	
515	AA459595	LZK1	C3HC4 型ジンクフィンガータンパク質	
516	U44378	MADH4	MAD (デカペントプレジックに対する母親、ショウジョウバエ) 相同体 4	
517	X74837	MAN1A1	マンノシダーゼ、 α 、クラス 1A、メンバー1	
518	M69226	MAOA	モノアミノオキシダーゼ A	
519	AA157731	MAP1ALC3	微小管関連タンパク質 1A および 1B、軽鎖 3	
520	U07620	MAPK10	マイトゲン活性化タンパク質キナーゼ 10	30
521	D10511	MAT	ミトコンドリアアセトアセチル CoA チオラーゼ	
522	X68836	MAT2A	メチオニンアデノシルトランスフェラーゼ II、 α	
523	AA228022	MCAM	黒色腫接着分子	
524	X12556	MCF2	MCF. 2 細胞株由来トランスフォーミング配列	
525	AI215620	MCSP	ミトコンドリアカプセルセレノタンパク質	
526	AA815051	MDG1	微小血管内皮分化遺伝子 1	
527	L38486	MFAP4	細線維関連タンパク質 4	
528	AA135566	MGEA6	髄膜腫発現抗原 6 (コイルドコイルプロリンリッチ)	40
529	X53331	MGP	マトリクス Gla タンパク質	
530	U77604	MGST2	ミクロソームグルタチオン S-トランスフェラーゼ 2	
531	M16279	MIC2	モノクローナル抗体 12E7、F21、O13 によって同定された抗原	

532	U38320	MMP19	マトリクスメタロプロテイナーゼ 19	
533	M93405	MMSDH	メチルマロネートセミアルデヒドデヒドロゲナーゼ	
534	AI140756	MP1	メタロプロテアーゼ 1 (ピトリリシンファミリー)	
535	AA868815	MSL3L1	雄性特異的致死 3 (ショウジョウバエ) 様 1	
536	X59657	MTP	マイクロソームトリグリセリド転移タンパク質 (大ポリペプチド、88 kD)	
537	J05581	MUC1	ムチン 1、膜貫通	10
538	AA401638	MUL	マリブレー小人症	
539	AA319638	MYH9	ミオシン、重鎖ポリペプチド 9、非筋	
540	X85337	MYLK	ミオシン、軽鎖ポリペプチドキナーゼ	
541	D87930	MYPT1	ミオシンホスファターゼ、標的サブユニット 1	
542	J02854	MYRL2	ミオシン調節軽鎖 2、平滑筋イソ型	
543	D50370	NAP1L3	ヌクレオソーム集合タンパク質 1 様 3	
544	AA906200	NAP4	Nck、Ash およびホスホリパーゼ C 結合タンパク質	
545	AA855085	NCOA4	核受容体共活性化因子 4	20
546	U22897	NDP52	核ドメイン 10 タンパク質	
547	AI088622	NDUFS2	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) Fe-S タンパク質 2 (49 kD) (NADH 補酵素 Q レダクターゼ)	
548	Y00067	NEF3	ニューロフィラメント 3 (150 kD 中等度)	
549	M58603	NFKB1	B 細胞における κ 軽鎖ポリペプチド遺伝子エンハンサーの核因子 1 (p105)	
550	U83843	NIP7-1	HIV-1 Nef 相互作用タンパク質	
551	AA707108	NKX3A	NK ホメオボックス (ショウジョウバエ)、ファミリー 3、A	30
552	AA340728	NR2F2	核受容体サブファミリー 2、グループ F、メンバー 2	
553	AA215284	NSF	N-エチルマレイミド感受性因子	
554	X55740	NT5	5'ヌクレオチダーゼ (CD73)	
555	X76732	NUCB2	ヌクレオペンディン 2	
556	AJ007558	NUP155	ヌクレオポリン 155 kD	
557	AA902823	NYD-SP12	NYD-SP12 タンパク質	
558	AA699559	NYD-SP15	タンパク質キナーゼ NYD-SP15	
559	AI208877	NYD-SP21	精巣発達関連 NYD-SP21	40
560	AA729034	ODC1	オルニチンデカルボキシラーゼ 1	
561	AF012549	ODF2	精子尾の外側の密度の高い線維 2	
562	AA889218	OGN	オステオグリシン (骨誘導因子、ミメカン)	
563	AA922747	OXR1	酸化抵抗性 1	
564	M37721	PAM	ペプチジルグリシン α アミド生成モノオキシゲナーゼ	

565	X76770	PAP	ポリ(A)ポリメラーゼ	
566	U02020	PBEF	プレB細胞コロニー増強因子	
567	AA626775	PCDHA5	プロトカドヘリン α 5	
568	D84307	PCYT2	ホスフェートシチジリルトランスフェラーゼ2、エタノールアミン	
569	AA004890	PDCD8	プログラムされた細胞死8(アポトーシス誘導因子)	
570	AA400893	PDE1A	ホスホジエステラーゼ1A、カルモジュリン依存的	10
571	AI192411	PDGFRA	血小板由来増殖因子受容体、 α ポリペプチド	
572	C05229	PDK4	ピルビン酸デヒドロゲナーゼキナーゼ、イソ酵素4	
573	U79296	PDX1	ピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体、リポイル含有複合体X; E3結合タンパク質	
574	J00123	PENK	プロエンケファリン	
575	AF048755	PEX13	ペルオキシソーム生物発生因子13	
576	D25328	PFKP	ホスホフルクトキナーゼ、血小板	
577	W58700	PHKB	ホスホリラーゼキナーゼ、 β	20
578	AA057243	PHRET1	網膜におけるPHドメイン含有タンパク質1	
579	AA515710	PIGN	ホスファチジルイノシトールグリカン、クラスN	
580	AA634825	PINK1	PTEN誘導推定キナーゼ1	
581	U09117	PLCD1	ホスホリパーゼC、 δ 1	
582	AA777648	PMP22	末梢ミエリンタンパク質22	
583	AF023455	PPEF1	タンパク質ホスファターゼ、EFハンドカルシウム結合ドメイン1	
584	AF034803	PPFIBP2	PTPRF相互作用タンパク質、結合タンパク質2(リプリン β 2)	30
585	Z50749	PPP1R7	タンパク質ホスファターゼ1、調節サブユニット7	
586	M60484	PPP2CB	タンパク質ホスファターゼ2(これまでの2A)、触媒サブユニット、 β イソ型	
587	U37352	PPP2R5C	タンパク質ホスファターゼ2、調節サブユニットB(B56)、 γ イソ型	
588	AI299911	PPP3CA	タンパク質ホスファターゼ3(これまでの2B)、触媒サブユニット、 α イソ型(カルシニューリンA α)	
589	N29328	PPP4R1	タンパク質ホスファターゼ4、調節サブユニット1	40
590	X75756	PRKCM	タンパク質キナーゼC、 μ	
591	AI357236	PRM1	プロタミン1	
592	X07862	PRM2	プロタミン2	
593	AI242370	PRND	プリオン遺伝子複合体、下流	
594	U51990	PRP18	出芽酵母Prp18と類似のプレmRNAスプライシング因子	

595	Y00971	PRPS2	ホスホリボシルピロホスフェートシンテターゼ 2	
596	D87258	PRSS11	プロテアーゼ、セリン、11 (IGF 結合)	
597	M61900	PTGDS	プロスタグランジン D シンテターゼ遺伝子	
598	M57399	PTN	プレイオトロフィン (ヘパリン結合増殖因子 8、神経突起増殖促進因子 1)	
599	W84417	RANBP9	RAN 結合タンパク質 9	
600	AA635922	RANGAP1	Ran GTP アーゼ活性化タンパク質 1	
601	AB008109	RGS5	G タンパク質シグナル伝達調節因子 5	10
602	AA778308	RNASE1	リボヌクレアーゼ、RN アーゼ A ファミリー、1 (膵臓)	
603	AA854469	RNF6	リングフィンガータンパク質 (C3H2C3 型) 6	
604	AI095724	RPL17	リボソームタンパク質 L17	
605	AF056929	SARCOSIN	サルコメア筋タンパク質	
606	Y13647	SCD	ステアロイル CoA デサチュラーゼ (δ -9-デサチュラーゼ)	
607	AJ224677	SCRG1	スクレイピー反応性タンパク質 1	20
608	T36260	SEC23B	Sec23 (出芽酵母) 相同体 B	
609	AA401227	SEC31B-1	分泌経路成分 Sec31B-1	
610	AA703667	SEC8	分泌タンパク質、SEC8	
611	AI026695	SENP1	セントリン/SUMO 特異的プロテアーゼ	
612	Z11793	SEPP1	セレノタンパク質 P、血漿、1	
613	AF042081	SH3BGRL	SH3 ドメイン結合グルタミン酸リッチタンパク質様	
614	AF036269	SH3GL3	SH3 ドメイン GRB2 様 3	
615	T35854	SIAH2	セブンインアブサンス (seven in absentia) (ショウジョウバエ) 相同体 2	30
616	N53491	SIRT3	sir2 様 3	
617	AA639599	SLC12A2	溶質担体ファミリー12 (ナトリウム/カリウム/塩素輸送体)、メンバー2	
618	N30856	SLC19A2	溶質担体ファミリー19 (チアミン輸送体)、メンバー2	
619	M55531	SLC2A5	溶質担体ファミリー2 (促進型グルコース輸送体)、メンバー5	40
620	AA838741	SLC35A1	溶質担体ファミリー35 (CMP シアル酸輸送体)、メンバー1	
621	AA758636	SMAP	甲状腺ホルモン受容体共活性化タンパク質	
622	M88163	SMARCA1	SWI/SNF 関連、マトリクス関連、アクチン依存的染色質調節物質、サブファミリーa、メンバー1	

623	W70141	SMARCA3	SWI/SNF 関連、マトリクス関連、アクチン依存的染色質調節物質、サブファミリーa、メンバー3	
624	AI222903	SMARCD2	SWI/SNF 関連、マトリクス関連、アクチン依存的染色質調節物質、サブファミリーd、メンバー2	
625	AI351686	SMOC1	分泌型モジュラーカルシウム結合タンパク質 1	
626	AA946930	SNRPG	核内低分子リボ核タンパク質ポリペプチド G	
627	W56480	SOS1	サンオブセブンレス (son of sevenless) (ショウジョウバエ) 相同体 1	10
628	Z46629	SOX9	SRV (性決定領域 Y) ボックス 9 (カンボメリック異形成、常染色体性逆転)	
629	AA760720	SPAG6	精子関連抗原 6	
630	AI459767	SPARCL1	SPARC 様 1 (mast9、hevin)	
631	AA779272	SPINK2	セリンプロテアーゼ阻害剤、カザル型、2 (アクロシン-トリプシン阻害剤)	
632	M61199	SSFA2	精子特異抗原 2	
633	AI024234	SSTK	セリン/トレオニンタンパク質キナーゼ SSTK	20
634	U17280	STAR	ステロイド原性急性調節タンパク質	
635	U14550	STHM	シアリルトランスフェラーゼ	
636	L77564	STK22B	セリン/トレオニンキナーゼ 22B (精子形成関連)	
637	AA935437	STRIN	STRIN タンパク質	
638	H10341	SULTX3	スルホトランスフェラーゼ関連タンパク質	
639	AA643682	SUV39H2	斑入り抑制因子 3-9 (ショウジョウバエ) 相同体 2; 仮説上のタンパク質 FLJ23414	
640	Z21437	TAF2G	TATA ボックス結合タンパク質 (TBP) 関連因子、RNA ポリメラーゼ II、G、32 kD	30
641	AI093734	TAZ	PDZ 結合モチーフ (TAZ) を有する転写共活性化因子	
642	AA628669	TBL2	トランスデューシン (β) 様 2	
643	AI243203	TEX14	精巣発現配列 14	
644	S95936	TF	トランスフェリン	
645	AA573143	TIMP2	メタロプロテイナーゼ 2 の組織阻害因子	
646	AI086204	TM4SF6	膜貫通 4 スーパーファミリーメンバー 6	
647	U81006	TM9SF2	膜貫通 9 スーパーファミリーメンバー 2	40
648	L01042	TMF1	TATA エレメント調節因子 1	
649	X64559	TNA	テトラネクチン (プラスミノーゲン結合タンパク質)	
650	X07948	TNP1	移行タンパク質 1 (ヒストンからプロタミン置換の際の)	
651	J04088	TOP2A	トポイソメラーゼ (DNA) II α (170 kD)	

652	U54831	TOP2B	トポイソメラーゼ (DNA) II β (180 kD)	
653	AA913471	TOPK	PDZ 結合キナーゼ; T 細胞由来タンパク質キナーゼ	
654	X66397	TPR	転座したプロモーター領域 (活性化 MET 腫瘍遺伝子に対して)	
655	M25532	TPX1	精巣特異的タンパク質 1 (プローブ H4 p3)	
656	X63679	TRAM	転座鎖関連膜タンパク質	
657	AF064801	TRC8	腎臓癌において転座した斑入り関連タンパク質	
658	AI346969	TRIM14	トリプレットモチーフ含有 14	10
659	AF065388	TSPAN	テトラスパン 1	
660	AA432312	TSPYL	TSPY 様	
661	AA456299	T-STAR	Sam68 様ホスホチロシンタンパク質、T-STAR	
662	X69490	TTN	チチン	
663	AA709190	TUBA2	チューブリン、 $\alpha 2$	
664	X02308	TYMS	チミジレートシンテターゼ	
665	AI344684	UBE2N	ユビキチン結合酵素 E2N (酵母 UBC13 と相同)	
666	AA416852	UBL3	ユビキチン様 3	20
667	N44888	UPF3A	酵母 Upf3 と類似、変種 A	
668	AA116022	USP18	ユビキチン特異的プロテアーゼ 18	
669	AA846445	USP6	ユビキチン特異的プロテアーゼ 6 (Tre-2 腫瘍遺伝子)	
670	BG028760	USP7	ユビキチン特異的プロテアーゼ 7 (ヘルペスウイルス関連)	
671	T29210	UTRN	ウトロフィン (ジストロフィンと相同)	
672	AI018129	VAMP4	小胞関連膜タンパク質 4	30
673	D87459	WASF1	WAS タンパク質ファミリー、メンバー 1	
674	S69790	WASF3	WAS タンパク質ファミリー、メンバー 3	
675	AA364135	WDR10	WD リpeatドメイン 10	
676	AA160764	WHSC1	ウォルフ-ヒルシュホーン症候群候補物質 1	
677	X51630	WT1	ウィルムス腫瘍 1	
678	W55933	WW45	WW ドメイン含有遺伝子	
679	N66453	XPC	色素性乾皮症、相補群 C	
680	D83407	ZAKI4	ダウン症候群肝要領域遺伝子 1 様 1	
681	M92843	ZFP36	マウスにおける Zfp-36 と相同なジンクフィンガータンパク質	40
682	X84801	ZNF165	ジンクフィンガータンパク質 165	
683	AF017433	ZNF213	ジンクフィンガータンパク質 213	
684	AA703988	ZNF259	ジンクフィンガータンパク質 259	
685	AA897714	ZNF6	ジンクフィンガータンパク質 6 (CMPX1)	

686	U54996	ZW10	ZW10 (ショウジョウバエ) 相同体、セントロメア ノキネトコアタンパク質	
687	AA936961	LOC57032	アセチル補酵素 A シンテターゼと類似	
688	AA234377	CL25022	仮説上のタンパク質	
689	N35437	DJ1181N3. 1	仮説上のタンパク質 dJ1181N3. 1	
690	Z20328	DKFZp434C032 8	仮説上のタンパク質 DKFZp434C0328	
691	H19830	DKFZP434G156	仮説上のタンパク質 DKFZp434G156	10
692	AI127752	DKFZP434I092	DKFZP434I092 タンパク質	
693	T65389	DKFZP434J214	DKFZP434J214 タンパク質	
694	AA284134	DKFZP434L243	DKFZP434L243 タンパク質	
695	AI192351	DKFZP564B167	DKFZP564B167 タンパク質	
696	AA865478	DKFZP564J086 3	DKFZP564J0863 タンパク質	20
697	AI306435	DKFZP586A052 2	DKFZP586A0522 タンパク質	
698	AA709155	FLJ10134	仮説上のタンパク質 FLJ10134	
699	AA582581	FLJ10159	仮説上のタンパク質 FLJ10159	
700	AI076154	FLJ10283	仮説上のタンパク質 FLJ10283	
701	AA759066	FLJ10392	仮説上のタンパク質 FLJ10392	
702	AA452368	FLJ10582	仮説上のタンパク質 FLJ10582	
703	U69201	FLJ10761	仮説上のタンパク質 FLJ10761	
704	AA418149	FLJ10850	仮説上のタンパク質 FLJ10850	30
705	AA775271	FLJ10914	仮説上のタンパク質 FLJ10914	
706	AA293776	FLJ10921	仮説上のタンパク質 FLJ10921	
707	AI221110	FLJ10980	仮説上のタンパク質 FLJ10980	
708	AA634293	FLJ11088	仮説上のタンパク質 FLJ11088	
709	D81610	FLJ11109	仮説上のタンパク質 FLJ11109	
710	AA056538	FLJ11210	仮説上のタンパク質 FLJ11210	
711	AA781142	FLJ11307	仮説上のタンパク質 FLJ11307	
712	AA214211	FLJ13110	仮説上のタンパク質 FLJ13110	40
713	AI147953	FLJ20010	仮説上のタンパク質	
714	C00491	FLJ20121	仮説上のタンパク質 FLJ20121	
715	AK024920	FLJ20152	仮説上のタンパク質	
716	AA634416	FLJ20425	仮説上のタンパク質 FLJ20425	
717	AA809070	FLJ20535	仮説上のタンパク質 FLJ20535	
718	H20535	FLJ21324	仮説上のタンパク質 FLJ21324	

719	AI346388	FLJ21347	仮説上のタンパク質 FLJ21347	
720	AI016734	FLJ22104	仮説上のタンパク質 FLJ22104	
721	AA677445	H41	仮説上のタンパク質	
722	AA126461	HSA272196	仮説上のタンパク質、クローン 2746033	
723	AI003803	HSD-3. 1	仮説上のタンパク質	
724	AI300283	IMPACT	仮説上のタンパク質 IMPACT	
725	D38521	KIAA0077	KIAA0077 タンパク質	
726	D86984	KIAA0231	KIAA0231 タンパク質	10
727	D87438	KIAA0251	KIAA0251 タンパク質	
728	D87465	KIAA0275	KIAA0275 遺伝子産物	
729	AF007170	KIAA0452	DEME-6 タンパク質	
730	AA910738	KIAA0579	KIAA0579 タンパク質	
731	N30392	KIAA0608	KIAA0608 タンパク質	
732	AB014534	KIAA0634	KIAA0634 タンパク質	
733	AI167680	KIAA0643	ヒト cDNA FLJ13257 fis、クローン OVARC1000846、 ヌクレオリンと弱く類似	20
734	AA506972	KIAA0668	KIAA0668 タンパク質	
735	AA665890	KIAA0729	KIAA0729 タンパク質	
736	N49366	KIAA0737	KIAA0737 遺伝子産物	
737	H09503	KIAA0740	KIAA0740 遺伝子産物	
738	AF052170	KIAA0750	KIAA0750 遺伝子産物	
739	AA234129	KIAA0863	KIAA0863 タンパク質	
740	AA399583	KIAA0874	KIAA0874 タンパク質	
741	H03641	KIAA0914	KIAA0914 遺伝子産物	30
742	AI253232	KIAA0996	KIAA0996 タンパク質	
743	AA339816	KIAA1028	KIAA1028 タンパク質	
744	AI187395	KIAA1053	KIAA1053 タンパク質	
745	AA056734	KIAA1110	KIAA1110 タンパク質	
746	AI217997	KIAA1128	KIAA1128 タンパク質	
747	AA037467	KIAA1165	仮説上のタンパク質 KIAA1165	
748	AA994997	KIAA1223	KIAA1223 タンパク質	
749	W68261	KIAA1327	KIAA1327 タンパク質	40
750	AA781940	KIAA1336	KIAA1336 タンパク質	
751	AI082425	KIAA1430	KIAA1430 タンパク質	
752	AI243817	KIAA1494	ヒト cDNA : FLJ23073 fis、クローン LNG05726	
753	AA824313	KIAA1505	KIAA1505 タンパク質	
754	D59339	KIAA1529	ヒト mRNA ; cDNA DKFZp434I2420 (クローン DKFZp434I2420 由来)	

755	AA044905	KIAA1596	KIAA1596 タンパク質	
756	T34177	LOC51255	仮説上のタンパク質	
757	AA776749	LOC57821	仮説上のタンパク質 LOC57821	
758	R00068	PR01580	仮説上のタンパク質 PR01580	
759	AI302506	PR01912	PR01912 タンパク質	
760	AF113020	PR02463	PR02463 タンパク質	
761	AI218544	FLJ20425	仮説上のタンパク質 FLJ20425	
762	AI214973	KIAA1223	KIAA1223 タンパク質	10
763	AI215074		ヒト cDNA FLJ11095 fis、クローン PLACE1005374	
764	AA587860		ヒト cDNA FLJ11205 fis、クローン PLACE1007843	
765	AA043562		ヒト cDNA FLJ11667 fis、クローン HEMBA1004697	
766	AI277493		ヒト cDNA FLJ11756 fis、クローン HEMBA1005595、 ダイネイン重鎖、細胞質と弱く類似	
767	AI078809		ヒト cDNA FLJ12627 fis、クローン NT2RM4001813、 レクチン BRA-2 と弱く類似	
768	AI028392		ヒト cDNA FLJ13229 fis、クローン OVARC1000106	20
769	AA830551		ヒト cDNA FLJ13848 fis、クローン THYRO1000855	
770	AA853955		ヒト cDNA FLJ13992 fis、クローン Y79AA1002139、 DNAJ タンパク質相同体 1 と弱く類似	
771	AA320463		ヒト cDNA : FLJ21127 fis、クローン CAS06212	
772	AA393838		ヒト cDNA : FLJ21849 fis、クローン HEP01928	
773	AA400674		ヒト cDNA : FLJ21962 fis、クローン HEP05564	
774	AA148493		ヒト cDNA : FLJ22300 fis、クローン HRC04759	
775	AA411157		ヒト cDNA : FLJ22448 fis、クローン HRC09541	
776	AA631197		ヒト cDNA : FLJ22477 fis、クローン HRC10815	30
777	T65582		ヒト cDNA : FLJ22637 fis、クローン HSI06677	
778	AI192127		ヒト cDNA : FLJ22712 fis、クローン HSI13435	
779	AA148566		ヒト cDNA : FLJ22790 fis、クローン KAIA2176、 HUMPMCA ヒト血漿膜カルシウムポンプ ATP アーゼ (PMCA4) mRNA と高度に類似	
780	AA633352		ヒト cDNA : FLJ23067 fis、クローン LNG04993	
781	AI084531		ヒト cDNA : FLJ23093 fis、クローン LNG07264	
782	AA450190		ヒト cDNA : FLJ23316 fis、クローン HEP12031	40
783	AA975521		ヒト cDNA : FLJ23518 fis、クローン LNG04878	
784	AI097058		ヒト cDNA : FLJ23538 fis、クローン LNG08010、BETA2 ヒト MEN1 領域クローン ϵ/β mRNA と高度に類似	
785	AA405953		ヒト第 11 染色体未知 mRNA 配列	
786	N32181		ヒトクローン 25056 mRNA 配列	
787	AA262802		ヒトクローン SP329 未知 mRNA	

788	AA293837	ヒト GKAP42 (FKSG21) mRNA、完全な cds	
789	AA970955	ヒト mRNA ; cDNA DKFZp434B0610 (クローン DKFZp434B0610 由来) ; 部分的 cds	
790	AA843455	ヒト mRNA ; cDNA DKFZp434E232 (クローン DKFZp434E232 由来)	
791	AA421199	ヒト mRNA ; cDNA DKFZp434L0217 (クローン DKFZp434L0217 由来) ; 部分的 cds	
792	AA393597	ヒト mRNA ; cDNA DKFZp434P2072 (クローン DKFZp434P2072 由来) ; 部分的 cds	10
793	AA976808	ヒト mRNA ; cDNA DKFZp564C046 (クローン DKFZp564C046 由来)	
794	AI280901	ヒト mRNA ; cDNA DKFZp564D016 (クローン DKFZp564D016 由来)	
795	AA443685	ヒト mRNA ; cDNA DKFZp564H142 (クローン DKFZp564H142 由来)	
796	N41310	ヒト mRNA ; cDNA DKFZp564P046 (クローン DKFZp564P046 由来)	20
797	AI299718	ヒト mRNA ; cDNA DKFZp586B1922 (クローン DKFZp586B1922 由来)	
798	AA280818	ヒト mRNA ; cDNA DKFZp586G2222 (クローン DKFZp586G2222 由来)	
799	AI150152	7q34-q36 由来ヒト PAC クローン RP5-98107	
800	AI016755	ヒトロップリン mRNA、完全な cds	
801	AI014769	ヒト TRAF4 関連因子 1 mRNA、部分的 cds	
802	AA004698	ヒトユビキチン様融合タンパク質 mRNA、完全な cds	30
803	AA431698	染色体 20p11. 212. 3 上のクローン 1068E13 由来 ヒト DNA 配列、推定の新規遺伝子 2 個、ウシ SCP2 (ステロール担体タンパク質 2) および HSD17B4 (ヒドロキシステロイド (17-β) デヒドロゲナーゼ 4) の一部と類似の新規タンパク質の遺伝子、EEF1A1 を含む	
804	AA126472	染色体 6q135 上のクローン 747H23 由来ヒト DNA 配列、リンゴ酸酵素 1 の ME1 遺伝子、可溶性 (NADP 依存的リンゴ酸酵素、リンゴ酸オキシドレダクターゼ、EC 1. 1. 1. 40)、新規遺伝子の 3' 部分と、N-アセチルグルコサミンの遺伝子の 5' 部分とを含む	40

805	AA651872		染色体 6q24. 1-25. 2 上のクローン RP12G14 由来 ヒト DNA 配列、新規シクロフィリン型ペプチジル プロリルシストランスイソメラーゼの遺伝子、新 規遺伝子、RPS18 (40S リボソームタンパク質 S18) 偽遺伝子の 5' 末端と KATNA1 遺伝子の 3' 末端とを 含む	
806	A25270		IFN- γ アンタゴニストサイトカイン	
807	AA650281		おそらくマウス腫瘍壊死因子 α 誘導脂肪関連タン パク質のオルソログ	10
808	AI015633		溶質担体ファミリー26、メンバー8	
809	N47682	KIAA1673	EST	
810	AA578684	KIAA1674	EST	
811	Z21254	KIAA1771	EST、名前のないタンパク質産物[ヒト]と弱く類似	
812	R61253	KIAA1877	EST	
813	W67209	KIAA0251	EST、p53 調節 PA26-T2 核タンパク質[ヒト]と中等 度に類似	20
814	AA609891		EST	
815	W86641		EST	
816	AA815470		EST	
817	AA992324		EST	
818	AA446449		EST	
819	AI004873		EST	
820	AI093982		EST	
821	AA393055		EST	
822	AI168436		EST	30
823	AA809072		EST	
824	AA926704		EST	
825	AI183575		EST	
826	AA121865		EST	
827	AA725836		EST	
828	AA621076		EST	
829	AI018394		EST	
830	AA885079		EST	40
831	AI148659		EST	
832	AA460513		EST	
833	AA758005		EST	
834	AA868233		EST	
835	AA488768		EST	
836	AA496024		EST	

837	AA496252	EST	
838	AI339257	EST	
839	T64080	EST	
840	AA844729	EST	
841	AI041148	EST	
842	AA813319	EST	
843	AI138555	EST	
844	AA633536	EST	10
845	AA688025	EST	
846	U51712	EST	
847	N50822	EST	
848	R38569	EST	
849	AA889533	EST	
850	AA629398	EST	
851	AA628190	EST	
852	AI041289	EST	20
853	AI204513	EST	
854	AA001410	EST	
855	AI027500	EST	
856	AA658107	EST	
857	AA923244	EST	
858	AA723819	EST	
859	AA437069	EST	
860	AA400934	EST	30
861	M32093	EST	
862	AA262466	EST	
863	AA897137	EST	
864	AA446184	EST	
865	AA036631	EST	
866	H86103	EST	
867	AA401541	EST	
868	H05826	EST	40
869	AA406039	EST	
870	AA448082	EST	
871	AA446064	EST	
872	H81935	EST	
873	AA889152	EST	
874	AI127656	EST	

875	AI033705	EST	
876	AI138800	EST	
877	AI183653	EST	
878	AA969732	EST	
879	AI024328	EST	
880	AA913732	EST	
881	AA397520	EST	
882	AI025509	EST	10
883	AA382504	EST	
884	AI341170	EST	
885	AA909257	EST	
886	AA812677	EST	
887	AA416673	EST	
888	AA972840	EST	
889	W31789	EST	
890	AI261804	EST	20
891	AI091533	EST	
892	AA991994	EST	
893	AI024578	EST	
894	AI040955	EST	
895	AA953477	EST	
896	AA846324	EST	
897	AA417966	EST	
898	AA150262	EST	
899	AA724720	EST	30
900	AI031941	EST	
901	AA620800	EST	
902	AA813092	EST	
903	AA101229	EST	
904	AA025055	EST	
905	AA382809	EST	
906	R60655	EST、ヒト ESTs AA412402[ヒト]に対応する AC005534 2 と高度に類似	40
907	AA521265	EST、AF117065 1 雄性特異的致死 3 相同体 1[ヒト] と高度に類似	
908	D50640	EST、CD3B_ヒト cGMP 阻害 3', 5'-環状ホスホジエス テラーゼ B[ヒト]と高度に類似	
909	W44613	EST、ファンコーニ貧血において異なるように発現 されるもの[ヒト]と高度に類似	

910	AA400550	EST、ALU4_ヒト ALU サブファミリーSB2 配列混入警告エントリー[ヒト]と中等度に類似	
911	AA648782	EST、GNPI_ヒトグルコサミン-6-ホスフェートイソメラーゼ[ヒト]と中等度に類似	
912	AA496122	EST、KIAA1165 タンパク質[ヒト]と中等度に類似	
913	AI039250	EST、p60 カタニン[ヒト]と中等度に類似	
914	AI187883	EST、アクチン結合タンパク質 MAYVEN[ヒト]と弱く類似	
915	AA865734	EST、AF141326 1 RNA ヘリカーゼ HDB/DICE1[ヒト]と弱く類似	10
916	D20934	EST、AF148856 1 未知[ヒト]と弱く類似	
917	AI434204	EST、Afg1p[出芽酵母]と弱く類似	
918	AA876372	EST、ALU1_ヒト ALU サブファミリーJ 配列混入警告エントリー[ヒト]と弱く類似	
919	AI150114	EST、ALU1_ヒト ALU サブファミリーJ 配列混入警告エントリー[ヒト]と弱く類似	
920	AA533191	EST、ALU7_ヒト ALU サブファミリーSQ 配列混入警告エントリー[ヒト]と弱く類似	20
921	AA885514	EST、CAYP_ヒトカルシフォシン[ヒト]と弱く類似	
922	AA960902	EST、COXM_ヒトチトクローム C オキシダーゼポリペプチド VIIB 前駆体[ヒト]と弱く類似	
923	AI336338	EST、dJ1108D11.1[ヒト]と弱く類似	
924	AI208582	EST、dJ134E15.1[ヒト]と弱く類似	
925	AA927467	EST、I38428 T 複合体タンパク質 10A[ヒト]と弱く類似	30
926	AA789329	EST、カタニン p80 サブユニット[ヒト]と弱く類似	
927	AA453640	EST、KCC1_ヒトカルシウム/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I 型[ヒト]と弱く類似	
928	AA744373	EST、KIAA1006 タンパク質[ヒト]と弱く類似	
929	AA393227	EST、KIAA1016 タンパク質[ヒト]と弱く類似	
930	AI126471	EST、MRJ[ヒト]と弱く類似	
931	AA843459	EST、PRP2 マウスプロリンリッチタンパク質 MP-2 前駆体[マウス]と弱く類似	40
932	R79064	EST、推定の III 型アルコールデヒドロゲナーゼ[D.メラノガスター]と弱く類似	
933	AA708149	EST、ヒト ADP/ATP 担体タンパク質[C.エレガンス]との類似性に対して弱く類似	
934	AA946954	EST、精巣濃縮酵素[マウス]と弱く類似	
935	AA045194	EST、精巣テクチン B1 様タンパク質[ヒト]と弱く	

		類似
936	AA223199	EST、未知遺伝子産物[ヒト]と弱く類似
937	AA843452	EST、SP : YAD5 CLOAB[C. エレガンス]に対する弱い類似性と弱く類似
938	AI224867	EST、ジンクフィンガータンパク質[ヒト]と弱く類似
939	AI024879	EST、透明帯結合タンパク質[ヒト]と弱く類似

【 0 1 5 1 】

10

(表4) 精巢精上皮腫における既知機能を有する代表的な上方制御される遺伝子

TS 付与 番号	アクセッ ション番号	記号	遺伝子の名称	
シグナル伝達経路に関与する遺伝子				
107	D87116	MAP2K3	マイトジェン活性化タンパク質キナーゼキナーゼ3	
97	AA845512	KLF4	クルッペル様因子4 (腸管)	
108	AA583183	MAP4K3	マイトジェン活性化タンパク質キナーゼキナーゼキナーゼ3	20
162	AA346311	RAI3	レチン酸誘導3	
163	M29893	RALA	v-ral サル白血病ウイルス腫瘍遺伝子相同体A (ras 関連)	
120	M13228	MYCN	v-myc トリ骨髄芽球症ウイルス関連腫瘍遺伝子、神経芽腫由来	
腫瘍形成に関与する遺伝子				
153	AF045584	POV1	前立腺癌過剰発現遺伝子1	30
147	M16750	PIM1	pim 腫瘍遺伝子	
148	U77735	PIM2	pim-2 腫瘍遺伝子	
225	AA465240	VAV2	rav2 腫瘍遺伝子	
170	X12949	RET	ret 癌原遺伝子	
細胞周期に関与する遺伝子				
20	AA682870	CCND2	サイクリン D2	40
25	M81934	CDC25B	細胞分裂サイクル 25B	
細胞接着および細胞骨格に関与する遺伝子				
92	Z68228	JUP	接合プラコグロビン	
45	AA128470	DSP	デスモプラキン (DPI、DPII)	
26	X63629	CDH3	カドヘリン 3、1型、P-カドヘリン (胎盤)	
96	U06698	KIF5A	キネシンファミリーメンバー5A	

50

【 0 1 5 2 】

半定量的RT-PCR

上方制御された遺伝子29個を選択して、半定量的RT-PCR実験を適用することによってその発現レベルを調べた。各試料からのaRNAのアリコート3 μ gをランダムプライマー (Roche) およびスーパースク립トII (Life Technologies, Inc.) を用いて一本鎖cDNAを得るために逆転写した。各cDNA混合物を、標的DNAまたは チューブリン特異的反応のために調製した同じプライマーの組によるその後のPCR増幅のために希釈した。プライマー配列を表5に記載する。 チューブリンの発現を内部対照とした。PCR反応は、増幅の直線相内で産物の強度を確保するためにサイクル数に関して最適にした。情報の得られた全ての症例のほとんどにおいてその発現が過剰発現であった上方制御された遺伝子29個 (CCND2、GIP、H1F2、NMA、PIM2、POV1、PRDM4、PTMS、RAI3、PYPAF3、T1A-2、TCOF1、TGIF2、FLJ10713、FLJ20069、KIAA0456、KIAA1198、DKFZp434K0621、EST(270)、FLJ13352、FLJ12195、EST(285)、NCOA6IP、EST(295)、PLXNA2、EST(311)、EST(320)、LOC152217、EST(341)) の発現レベルの比を比較したところ、結果は、調べた症例の大多数においてマイクロアレイ分析の結果と高度に類似であった (図1、図2A)。

10

【 0 1 5 3 】

(表5) RT-PCRのプライマー配列

TS 付与 番号	遺伝子	フォワードプライマー	配列 番号	リバースプライマー	配列 番号	
20	CCND2	5'-TGATCAGTGTAT GCGAAAAGGT-3'	1	5'-GGTCAAGGTGAGTT TATTGTCCA-3'	2	
59	GIP	5'-TTGCCATGGACA AGATTCAC-3'	3	5'-TTGTCTGATCCAGC AAGCAG-3'	4	
70	H1F2	5'-CGGAACCAAACC TAAGAAGC-3'	5	5'-CTTCACAGCCTTAG CAGCACTT-3'	6	
130	NMA	5'-CCTCTGCAAACA GAATCTTG-3'	7	5'-AAGATGTAGAAGCT TACATAGGGCA-3'	8	10
148	PIM2	5'-GGAAATAAGGCT TGCTGTTTGT-3'	9	5'-AATAGTGGGTTTCC ACACATGG-3'	10	
153	POV1	5'-CACAACATGCAA TGTGTCTGTG-3'	11	5'-TCCTCTAAGACTTG CAAGCAGC-3'	12	
156	PRDM4	5'-CATGAAGGAAAA CGGGATTATG-3'	13	5'-GTGCAGAAAGAGA CTCATCCG-3'	14	
159	PTMS	5'-TCCCACCTAACCT CTGCATC-3'	15	5'-GAAGCGCGACCATT TCTTTA-3'	16	
162	RAI3	5'-GGCTGATACTTCT CTCATCTTGC-3'	17	5'-GCCACCACATCTTT ATTGCATAC-3'	18	20
171	PYPAF3	5'-TGGGGTTCTAAG ACAAAGAAGT-3'	19	5'-GTGAGAAAACCAGT GTCAAATCC-3'	20	
209	T1A-2	5'-TGCTGGTGCTATT TACTGACGTA-3'	21	5'-AAAAGACCGTTTCT GACTCTGTG-3'	22	
212	TCOF1	5'-AAGTGACCTCCT CTCCTTCC-3'	23	5'-CACCTTCCTCCAA GTCTTTTAT-3'	24	
214	TGIF2	5'-GAACCCAGTGGA TGTAACAGAAC-3'	25	5'-TACTGCAGAGACTT AGCTGGTCC-3'	26	
240	FLJ1071 3	5'-ACTTATAGTCCTG CGAGTCTGGG-3'	27	5'-GGCAGGAGAGAAG AACATCTTG-3'	28	30
244	FLJ2006 9	5'-CATCTCCTTTGTT TCGATAGGA-3'	29	5'-GATCACTGTGGGTC TTAAGCAA-3'	30	
253	KIAA04 56	5'-GGGCTGGTGCAG ATCTACTT-3'	31	5'-TCCAACATCTGTTG AGTGACAGT-3'	32	
259	KIAA11 98	5'-CACTCAGAATTC TTACCTCCCCT-3'	33	5'-GTGATGTGAAGCAA GGTAGTTCC-3'	34	
267	DKFZp4 34K0621	5'-GCCAAAAATGGC TCTCTAGG-3'	35	5'-CAGACACGCACTTG TGGTTTATT-3'	36	
270	EST	5'-GTGTCCACTTAG AGCCTCACG-3'	37	5'-ATCCTTCTTCCTATA CTTCCCCC-3'	38	40
278	FLJ1335 2	5'-TTTAATCAGGCC CTGTCTGC-3'	39	5'-GGGGTATAGAAATG GAATGGAGA-3'	40	
282	FLJ1219 5	5'-CTGGAAGAAGAA GGAACAGGTCT-3'	41	5'-GGTTGCTGAGATTT TATCTGTGG-3'	42	
285	EST	5'-CAAATGCTCTGC TTTGTACTCCT-3'	43	5'-CATGAATGAGCCTG AAATAGTCC-3'	44	

287	NCOA6I P	5'-CGGGAGGATTGT AAGATACTGTG-3'	45	5'-ACTTCTCATGAGTT CAGCCTCAG-3'	46
295	EST	5'-GTAGATGTGGGG ACAACAGAGAG-3'	47	5'-TTTAAAGTCACCTT AGGTTGGGG-3'	48
303	PLXNA 2	5'-GTTTTTGTGGGG ACTAAGAGTG-3'	49	5'-GGAGGAAGTAGCT AGAAGCTAAG-3'	50
311	EST	5'-CTTTTCCCACAAG AACCATTTC-3'	51	5'-CTGGTGTAATCAGA CACCACGTA-3'	52
320	EST	5'-CTCATCTGTACCC TCACTGGGAT-3'	53	5'-CTAAAGTCTCCCAG TTTCCCCT-3'	54
337	LOC152 217	5'-AAGCCAGAGAGC CTTTCCTC-3'	55	5'-CGGTATTCTTAACA CATCTTGCC-3'	56
341	EST	5'-ACCTAACGTTTGT GCCTTATGTG-3'	57	5'-AGGTTGGAAGATCC ATTTCCTT-3'	58
	TUBA	5'-CTTGGGTCTGTA ACAAAGCATTC-3'	59	5'-AAGGATTATGAGGA GGTTGGTGT-3'	60
	β 2MG	5'-TTAGCTGTGCTCG CGCTACT-3'	61	5'-TCACATGGTTCACA CGGCAC-3'	62

10

20

30

40

50

【 0 1 5 4 】

実施例3：PYPAF3の発現を減少させるように設計されたsiRNAの増殖阻害作用

cDNAマイクロアレイによるゲノム全体の発現プロファイルの分析を通して、本発明者らは、診断腫瘍マーカーに関する新規分子標的を単離し、精巣生殖細胞腫瘍を治療および予防するために応用した。精巣精上皮腫において一般的に上方制御される遺伝子において、本発明者らは、半定量的RT-PCR分析によって、精巣、心臓、肺、肝臓、腎臓、脳、および骨髄を含む正常なヒト臓器と比較して、精巣精上皮腫症例8例中7例において有意に上方制御されたPYRIN含有Apaf-1様タンパク質3 (PYPAF3 (NM_139176)) を重点的に調べた。本発明者らは、今では、精巣精上皮腫において上方制御された遺伝子としてPYPAF3を同定したが (構築#160)、本発明者らは当初、米国国立バイオテクノロジー情報センターのUniGeneデータベース (構築#131) から検索した遺伝子23,040個を表すcDNAマイクロアレイを用いた発現プロファイルを通してこの遺伝子をRMP:RMB5介在タンパク質であると記載した。

【 0 1 5 5 】

プローブとしてPYPAF3 cDNA断片を用いる多組織ノーザンブロット分析から、精巣に限って発現される約3.3 kbの転写物が判明した。免疫細胞化学試験から、PYPAF3タンパク質が細胞質全体に存在することが判明した。PYPAF3の低分子干渉RNA (siRNA) の導入は、PYPAF3のmRNAの発現を阻害して、精巣生殖細胞腫瘍細胞の細胞増殖を阻害した。これらの知見は、PYPAF3が、精巣精上皮腫の腫瘍発生に関与する可能性があること、そして精巣生殖細胞腫瘍の標的化治療を開発するための有望な候補物質となることを示唆している。

【 0 1 5 6 】

細胞株および組織標本

COS-7細胞およびTera-2細胞は、アメリカンタイプカルチャーコレクション (ATCC、ロックビル、メリーランド州) から得た。細胞株は全て、10% ウシ胎児血清および1% 抗生物質/抗真菌剤溶液 (Sigma、セントルイス、ミズーリ州) を添加した適当な培地において、COS-7 McCoy's5A (Invitrogen、カールスバッド、カリフォルニア州) に関してはダルベッコ改良イーグル培地 (Sigma) において単層で増殖させ、5% CO₂ を含む湿潤大気中、37 °C で維持した。

【 0 1 5 7 】

半定量的RT-PCR

正常なヒト精巣、心臓、肺、腎臓、肝臓、脳、および骨髄のポリ(A)⁺RNAをClontech (

パロアルト、カリフォルニア州)から得た。各試料からの増幅RNAのアリコート3 µgをランダムプライマー (Roche) およびスーパースクリプトII逆転写酵素 (Invitrogen) を用いて一本鎖cDNAに逆転写した。各一本鎖cDNAをその後のPCR増幅のために希釈した。20 ml容積のPCR緩衝液 (タカラ、京都、日本) において標準的なRT-PCR技法を行い、変性用に94 で5分間、続けて94 で30秒間、55 で30秒間、および72 で30秒間を22サイクル (TUBA3に関して) または31サイクル (PYPAF3に関して) 行うことによって増幅した。プライマー配列は以下の通りであった: TUBA3に関しては、フォワード5'-CTTGGGTCTGTAACAAAGCA TTC-3' (配列番号: 59)、およびリバース5'-AAGGATTATGAGGAGGTTGGTGT-3' (配列番号: 60); PYPAF3に関しては、フォワード5'-TGGGGTTCTAAGACAAAGAAGACTG-3' (配列番号: 19) およびリバース5'-GTGAGAAAACAGTGTCAAATCC-3' (配列番号: 20)。

10

【0158】

ノーザンブロット分析

ヒトの多組織ブロット (Clontech) を、プローブとして³²P標識PYPAF3 cDNA断片にハイブリダイズさせた。cDNAは、上記のようにRT-PCRによって調製した。プレハイブリダイゼーション、ハイブリダイゼーションおよび洗浄は、製造元の推奨に従って行った。ブロットについては、-80 にて7日間増感スクリーンを用いてオートラジオグラフィーを行った。

【0159】

免疫細胞化学染色

PYPAF3の全コード領域は、RT-PCRによってフォワードプライマー5'-CGCGGATCCCACTATGACATCGCCCCAGC-3' (配列番号: 63) およびリバースプライマー5'-CCGCTCGAGGCCAAAAAAGTCA CAGCACGG-3' (配列番号: 64) を用いて増幅した。PCR産物をBamHIおよびXhoIによって消化した後、これを、プラスミドベクターpcDNA3.1-myc/His (Invitrogen) の適当なクローニング部位にクローニングした。COS7細胞に、FuGENE6トランスフェクション試薬 (Roche、バーゼル、スイス) と混合したpcDNA3.1(+)-PYPAF3-myc/His (Invitrogen) を導入した。COS7に由来する一過性のトランスフェクタントをPBS (-) で2回洗浄して、4%パラホルムアルデヒド溶液によって4 で15分間固定して、0.1%トライトンX-100を含むPBS (-) によって2.5分間透過性にした。細胞を3% BSAのPBS (-) 溶液で60分間覆って、一次抗体による反応の前に非特異的抗体結合部位をブロックした。PYPAF3タンパク質は、一次抗体としてマウス抗ヒトc-Myc 9E10抗体 (Santa Cruz Biotechnology、サンタクルズ、カリフォルニア州) を用いて、二次抗体としてヤギ抗マウスFITC (Jackson ImmunoResearch、ウェストグロブ、ペンシルバニア州) を用いて検出した。核は、4',6'-ジアミジン-2'-フェニルインドールジヒドロクロリド (Vector Laboratories、バーリングラム、カリフォルニア州) によって対比染色した。蛍光像は、エクリプスE800顕微鏡 (ニコン、東京、日本) によって得た。

20

30

【0160】

低分子干渉RNA (siRNA) による精巣生殖細胞腫瘍細胞の処置

RNAポリメラーゼIIIによるU6RNA遺伝子の転写によって、3'末端でウリジンを有する短い転写物が生成される。本発明者らは、プライマー5'-TGGTAGCCAAGTGCAGGTTATA-3' (配列番号: 65) および5'-CCAAAGGGTTTCTGCAGTTTCA-3' (配列番号: 66)、ならびに鋳型としてヒト胎盤DNAを用いて、U6RNAのプロモーター領域を含むゲノム断片をPCRによって増幅した。産物を精製して、TAクローニングキットを用いて製造元のプロトコール (Invitrogen) に従ってpCR2.1プラスミドベクターにクローニングした。U6RNAを含むBamHI、XhoI断片を精製して、pcDNA(+)のヌクレオチド1257位と56位の間にクローニングして、プライマー5'-TGCGGATCCAGAGCAGATTGTAAGTACTGAGAGT-3' (配列番号: 67) および5'-CTCTATCTCGAGTGAGGCG GAAAGAACCA-3' (配列番号: 68) を用いて、断片をPCRによって増幅した。ライゲーションしたDNAは、プライマー5'-TTTAAGCTTGAAGACATTTTTGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAACA-3' (配列番号: 69) および5'-TTTAAGCTTGAAGACATGGGAAAGAGTGGTCTCA-3' (配列番号: 70) を用いたPCR増幅のための鋳型となった。産物をHindIIIによって消化し、その後自己ライゲーションさせてpsiU6BXベクタープラスミドを生成した。PYPAF3に対するsiRNA発現ベクター (

40

50

psiU6BX-PYPAF3) および対照プラスミド (psiU6BX-EGFP、psiU6BX-ルシフェラーゼ) は、以下の表6のような二本鎖オリゴヌクレオチドを、psiU6BXベクターのBbsI部位にクローニングすることによって調製した。各siRNA発現ベクターを、内因性にPYPAF3を発現する精巢生殖細胞腫瘍細胞株Tera-2にFuGENE6 (Roche) と共に導入した。ジェネテシ (Invitrogen) によって選択した後、細胞の増殖を、ギムザ染色を用いるコロニー形成アッセイによって2週間後に評価し、そして細胞計数キット8 (同仁化学研究所、熊本、日本) によって1週間後に評価した (39)。PYPAF3 mRNAのノックダウン効果を半定量的RT-PCRによって同定した。

【0161】

半定量的RT-PCRによる精巢精上皮腫におけるPYPAF3発現の確認

10

本発明者らは、患者13人からの精巢精上皮腫における遺伝子23,040個の遺伝子発現を分析するためにcDNAマイクロアレイを用いている (12)。上方制御された遺伝子の中で、本発明者らは、その遺伝子のシグナル強度が精巢精上皮腫を有する患者においてカットオフ値より高かった有益な症例8例中7例において過剰発現されたPYPAF3を重点的に調べた。さらに、本発明者らは、半定量的RT-PCR分析を行って、正常なヒト精巢、心臓、肺、肝臓、腎臓、脳、および骨髄と比較して精巢精上皮腫8例中7例においてPYPAF3の発現が上昇していることを確認した (図2A)。

【0162】

多組織ノーザンプロット分析とPYPAF3タンパク質の細胞下局在

20

PYPAF3 cDNA断片をプローブとして用いたノーザンプロット分析 (材料および方法を参照されたい) から、精巢に限って発現される約3.3 kbの転写物が明らかとなった (図2B)。さらに、哺乳動物細胞におけるPYPAF3タンパク質の役割を調べるために、本発明者らは、myc標識PYPAF3タンパク質の発現を目的としたプラスミドを構築した (材料および方法を参照されたい)。プラスミドDNAをCOS-7細胞に一過性に導入した場合、標識PYPAF3タンパク質は導入した細胞の細胞質全体に存在していた (図3)。

【0163】

PYPAF3の発現を減少させるように設計された低分子干渉RNA (siRNA) の増殖阻害効果

30

PYPAF3の増殖促進的な役割を評価するために、本発明者らは、哺乳動物ベクターに基づくRNA干渉 (RNAi) 技術により、精巢生殖細胞腫瘍株Tera-2細胞における内因性のPYPAF3の発現をノックダウンして、細胞増殖に及ぼす影響を調べた (材料および方法を参照されたい)。図4aに示すように、psiU6BX-PYPAF3 (Si4) の導入は、Tera-2細胞株におけるPYPAF3転写物の発現を明らかに減少させたが、対照プラスミド (psiU6BX-EGFPおよびpsiU6BX-ルシフェラーゼsiRNA発現ベクター) を導入した細胞では作用が認められなかった。psiU6BX-PYPAF3による遺伝子特異的増殖抑制を確認するために、本発明者らは、同じ二つの細胞株のコロニー形成アッセイを行った; 図4bおよび4cに示すように、psiU6BX-PYPAF3 (Si4) の導入は、Tera-2細胞の増殖を有意に抑制し、上記の発現の減少結果と一致した。一方、Si3の導入は、PYPAF3転写物レベルのノックダウンでは減少がほとんど示されなかったものの、Tera-2の増殖を顕著に抑制した。その上、MTTアッセイではまた、PYPAF3発現をpsiU6BX-PYPAF3を用いて抑制した場合にTera-2細胞の有意な増殖阻害を示した (Si3およびSi4) (図4a、b)。それぞれの結果は、独立した三回の実験によって確認した。

40

【0164】

(表6) PYPAF3の低分子干渉RNAのオリゴヌクレオチド配列

			配列 番号	
Si1	センス	5'-CACCGAGGCTGATGGCAAGAACT TCAAGAGAGTTTCTTGCCATCAGCCTC-3'	71	
	アンチセンス	5'-AAAAGAGGCTGATGGCAAGAACT CTCTTGAAGTTTCTTGCCATCAGCCTC-3'	72	
Si2	センス	5'-CACCGAGATGAATCTCACGGAATT CAAGAGAATTCCGTGAGATTCATCTC-3'	73	
	アンチセンス	5'-AAAAGAGATGAATCTCACGGAATTC TCTTGAATTCCTGTGAGATTCATCTC-3'	74	10
Si3	センス	5'-CACCGTAGGACACTTCTTATTCGTT CAAGAGACGAATAAGAAGTGTCCTAC-3'	75	
	アンチセンス	5'-AAAAGTAGGACACTTCTTATTCGTT CTCTTGAACGAATAAGAAGTGTCCTAC-3'	76	
Si4	センス	5'-CACCGTGATGCATTGTTCCCTTCATT CAAGAGATGAAGGAACAATGCATCAC-3'	77	
	アンチセンス	5'-AAAAGTGATGCATTGTTCCCTTCATC TCTTGAATGAAGGAACAATGCATCAC-3'	78	
Si5	センス	5'-CACCGCTTGGCTGTAGATATCTCTT CAAGAGAGAGATATCTACAGCCAAGC-3'	79	20
	アンチセンス	5'-AAAAGCTTGGCTGTAGATATCTCTC TCTTGAAGAGATATCTACAGCCAAGC-3'	80	
SiEGFP	センス	5'-CACCGAAGCAGCACGACTTCTTCT TCAAGAGAGAAGAAGTCGTGCTGCTTC-3'	81	
	アンチセンス	5'-AAAAGAAGCAGCACGACTTCTTCTCT CTTGAAGAAGAAGTCGTGCTGCTTC-3'	82	
Siルシ フェラ ーゼ	センス	5'-CACCGTGCGCTGCTGGTGCCA CTCTTGAAGTTGGCACCAGCAGCGCAC-3'	83	
	アンチセンス	5'-AAAAGTGCGCTGCTGGTGCCA CAAGAGAGTTGGCACCAGCAGCGCAC-3'	84	30

【0165】

産業上の利用可能性

レーザー捕獲顕微解剖とゲノム全体のcDNAマイクロアレイとの併用によって得られた本明細書に記載のTSにおける遺伝子発現分析によって、癌の予防および治療のための標的としての特異的遺伝子が同定された。これらの発現に差のある遺伝子サブセットの発現に基づいて、本発明者らは、TSを同定または検出するための分子診断マーカーを提供する。

【0166】

本明細書に記載の方法はまた、TSの予防、診断、および治療のためのさらなる分子標的を同定するために有用である。本明細書において報告したデータは、TSの包括的な理解を補足し、新規診断戦略の開発を促進させ、治療薬および予防薬のための分子標的を同定する手がかりを提供する。そのような情報は、精巣腫瘍形成のより深い理解に貢献して、TSの診断、治療、および最終的には予防における新規戦略を開発するための指標を提供する。

【0167】

本明細書において引用した全ての特許、特許出願、および出版物は、その全文が参照として本明細書に組み入れられる。さらに、本発明は、詳細にその特定の態様に関して記述してきたが、本発明には様々な変更および改変が施されてもよく、それらも本発明の趣旨および範囲に含まれることは、当業者に明らかであると考えられる。

【 0 1 6 8 】

参考文献

1. Chaganti, R.S.K. and Houldsworth, J. Genetics and Biology of Adult Human male germ Cell Tumors. *Cancer Res.*, 60: 1475-1482, 2000.
2. Bergstorm, R., Adami, H.O., Mohner, M., Zatonski, W., Storm, H., Ekblom, A., Tretli, S., Teppo, L., Akre, O., and Hakulinen, T. Increase in testicular cancer in six European countries : a birth cohort phenomenon. *J Natl. Cancer Inst.*, 88 : 727-733, 1996.
3. Zheng, T., Holford, T.R., Ma, Z., Ward, B.A., Flannery, J., and Boyle, P. Continuing increase in incidence in germ cell testis cancer in young adults: experience from Connecticut, USA, 1935-1992. *Int. J. Cancer*, 65: 723-729, 1996. 10
4. Dieckmann KP and Pichlmeier U. The prevalence of familial testicular cancer: an analysis of two patient populations and a review of the literature. *Cancer* 80: 1954-1960, 1997.
5. United Kingdom Testicular Cancer Study Group. Aetiology of testicular cancer : association with congenital abnormalities, age at puberty, infertility, and exercise. *Br Med J* 308: 1393-1399, 1994.
6. Dong C, Lonnstedt I, and Hemminki K. Familial testicular cancer and second primary cancers in testicular cancer patients by histological type. *Eur J Cancer* 37: 1878-1885, 2001. 20
7. Smiraglia, D.J., Szymanska, J., Kraggerud S.M.K., Lothe, R.A., Peltomaki, P., and Plass, C. Distinct epigenetic phenotypes in seminomatous and nonseminomatous testicular germ cell tumors. *Oncogene*, 21: 3909-3916, 2002.
8. Richie, J.P. Neoplasms of the testis. In: Walsh, P.C., Retik, A.B., Vaughan E.D.Jr., and Wein, A.J. *Cambell 's Urology Seventh Edition*, pp2411-2452. Philadelphia: W.B Saunders Co., 1998
9. Van Brussel, J.P. and Mikisch, G.H.J. Prognostic factors in prostate and testis cancer. *BJU International*, 83: 910-917, 1999
10. Ottesen AM, Kirchoff M, De-Meyts ER, Maahr J, Gerdes T, Rose H, Lundsteen C, Petersen PM, Philip J, and Skakkebaek NE. Detection of chromosomal aberrations in seminomatous germ cell tumours using comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 20: 412-418, 1997. 30
11. Takayama, H., Takakuwa, T., Tsujimoto, Y., Tani, Y., Nonomura, N., Okuyama, A., Nagata, S., and Aozasa K. Frequent Fas gene mutations in testicular germ cell tumors. *Am J Pathol.*, 161: 635-641, 2002
12. Strohmeyer, T., Reese, D., Press, M., Ackermann, R., Hartmann, M., and Slamon, D. Expression of the c-kit proto-oncogene and its ligand stem cell factor (SCF) in normal and malignant human testicular tissue. *J Urol.*, 153: 511-515, 1995
13. Skotheim, R.I., Monni, O., Mousses, S., Fossa, S.D., Kallioniemi, O.P., Lothe, R.A., and Kallioniemi, A. New insights into testicular germ cell tumorigenesis from gene expression profiling. *Cancer Res.*, 62: 2359-2364, 2002 40
14. Shuin T, Misaki H, Kubota Y, Yao M, Hosaka M. Differential expression of protooncogenes in human germ cell tumors of the testis. *Cancer* 73: 1721-1727, 1994
15. Van Brussel JP and Mikisch GHJ. Prognostic factors in prostate and testis cancer. *BJU International* 83: 910-917, 1999.
16. Alizadeh, A.A., Eisen, M.B., Davis, R.E., Ma, C., Lossos, I.S., Rosenwald, A., Boldrick, J.C., Sabet, H., Tran, T., Yu, X., Powell, J.I., Yang, L., Marti, G.E., Moore, T., Hudson, J. Jr., Lu, L., Lewis, D.B., Tibshirani, R., Sherlock, G., Chan, W.C., Greiner, T.C., Weisenburger, D.D., Armitage, J.O., Warnke, R., a 50

- nd Staudt, L.M. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*, 403: 503-511, 2000
17. Kihara, C., Tsunoda, T., Tanaka, T., Yamana, H., Furukawa, Y., Ono, K., Kitahara, O., Zembutsu, H., Yanagawa, R., Hirata, K., Takagi, T., and Nakamura, Y. Prediction of sensitivity of esophageal tumors to adjuvant chemotherapy by cDNA microarray analysis of gene-expression profiles. *Cancer Res.*, 61: 6474-6479, 2001
18. Kaneta, Y., Kagami, Y., Katagiri, T., Tsunoda, T., Jin-nai, I., Taguchi, H., Hirai, H., Ohnishi, K., Ueda, T., Emi, N., Tomida, A., Tsuruo, T., Nakamura, Y., and Ohno, R. Prediction of sensitivity to STI571 among chronic myeloid leukemia patients by genome-wide cDNA microarray analysis. *Jpn. J. Cancer Res.*, 93: 849-856, 2002
19. Yagyū, R., Hamamoto, R., Furukawa, Y., Okabe, H., Yamamura T., and Nakamura, Y. Isolation and characterization of a novel human gene, VANGL1, as a therapeutic target for hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol.*, 20: 1173-1178, 2002
20. Ishiguro H, Shimokawa T, Tsunoda T, Tanaka T, Fujii Y, Nakamura Y, Furukawa Y. Isolation of HELAD1, a novel human helicase gene up-regulated in colorectal carcinomas. *Oncogene*, 21: 6387-6394, 2002
21. Kitahara, O., Furukawa, Y., Tanaka, T., Kihara, C., Ono, K., Yanagawa, R., Nita, M.E., Takagi, T., Nakamura, Y., and Tsunoda, T. Alterations of gene expression during colorectal carcinogenesis revealed by cDNA microarrays after laser-capture microdissection of tumor tissues and normal epithelia. *Cancer Res.*, 61: 3544-3549, 2001
22. Ono K, Tanaka, T., Tsunoda, T., Kitahara, O., Kihara, C., Okamoto, A., Ochiai, K., Takagi, T., and Nakamura, Y. Identification by cDNA microarray of genes involved in ovarian carcinogenesis. *Cancer Res.*, 60: 5007-11, 2000
23. Saito-Hisaminato, A., Katagiri, T., Kakiuchi, S., Nakamura T., Tsunoda, T., and Nakamura, Y. Genome-wide profiling of gene expression in 29 normal human tissues with a cDNA microarray. *DNA Res.*, 9: 35-45, 2002
24. Chuaqui RF, Englert CR, Strup SE, Vocke CD, Zhuang Z, Duray PH, Bostwick DG, Linehan WM, Liotta LA, and Emmert-Buck MR. Identification of a novel transcript up-regulated in a clinically aggressive prostate carcinoma. *Urology* 50: 302-307, 1997.
25. Baytel, D.; Shalom, S.; Madgar, I.; Weissenberg, R.; and Don, J. The human Pim-2 proto-oncogene and its testicular expression. *Biochim. Biophys. Acta*, 1442: 274-285, 1998.
26. Kolligs, F.T., Kolligs, B., Hajra, K.M., Hu, G., Tani, M., Cho, K.R., and Fearon, E.R. Gamma-catenin is regulated by the APC tumor suppressor and its oncogenic activity is distinct from that of beta-catenin. *Genes Dev* 14: 1319-1331, 2000.
27. Stuart, R.O., Pavlova, A., Beier, D., Li, Z., Krijanovski, Y., and Nigam, S.K. EEG1, a putative transporter expressed during epithelial organogenesis: comparison with embryonic transporter expression during nephrogenesis. *Am. J. Physiol. Renal Physiol* 281: 1148-1156, 2001.
28. Dhanasekaran SM, Barrette TR, Ghosh D, Shah R, Varambally S, Kurachi K, Pienta KJ, Rubin MA, and Chinnaiyan AM, Delineation of prognostic biomarkers in prostate cancer. *Nature* 412: 822-826, 2001.
29. Jhiang SM. The RET proto-oncogene in human cancers. *Oncogene* 19: 5590-5597, 2000.
30. Bustelo XR. Regulatory and signaling properties of the Vav family. *Mol Cell*

Biol 20: 1461-1477, 2000.

31. Davies R, Moore A, Schedl A, Bratt E, Miyahara K, Ladomery M, Miles C, Menke A, van Heyningen V, and Hastie N. Multiple roles for the Wilms' tumor suppressor, WT1. *Cancer Res* 59 (7 supp) 1747s-1750s, 1999.
32. Kraggerud SM, Skotheim RI, Szymanska J, Eknaes M, Fossa SD, Stenwig AE, Peltomaki P, and Lothe RA. Genome profiles of familial/bilateral and sporadic testicular germ cell tumors. *Genes Chromosomes Cancer* 34: 168-174, 2002.
33. Morina MA, Codony-Servat J, Albanell J, Rojo F, Arribas J and Baselga J Trastuzumab (herceptin), a humanized anti-Her2 receptor monoclonal antibody, inhibits basal and activated Her2 ectodomain cleavage in breast cancer cells. *Cancer Res* 61: 4744-4749, 2001.
34. O'Dwyer ME and Druker BJ. Status of bcr-abl tyrosine kinase inhibitors in chronic myelogenous leukemia. *Curr Opin Oncol* 12: 594-597, 2000.
35. Raben D, Helfrich BA, Chan D, Johnson G, and Bunn PA Jr. ZD1839, a selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, alone and in combination with radiation and chemotherapy as a new therapeutic strategy in non-small cell lung cancer. *Semin. Oncol* 20: 37-46, 2002.
36. Reiser M. and Diehl V. Current treatment of follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Cancer* 38: 1167-1172, 2002.
37. Tschopp J, Martinon F and Burns K. NALPs: a novel protein family involved in inflammation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 4: 95-104, 2002
38. Manji GA, Wang L, Geddes BJ, Brown M, Merriam S, Al-Garawi A, Mak S, Lora JM, Briskin M, Jurman M, Cao J, DiStefano PS and Bertin J. PYPAF1, a PYRIN-containing Apaf1-like protein that assembles with ASC and regulates activation of NF-kappa B. *J Biol Chem* 277: 11570-11575, 2002
39. M. Ishiyama, Y. Miyazono, K. Sasamoto, Y. Ohkura and K. Ueno, A Highly Water-Soluble Disulfonated Tetrazolium Salt as Achromogenic Indicator for NADH as Well as Cell Viability. *Talanta* 44: 1299-1305, 1997

【図面の簡単な説明】

【0169】

【図1】増幅されたRNAから調製したcDNAを用い、半定量的RT-PCRによって調べた代表的な遺伝子28個およびTUBAの発現を示すDNAアゲロースゲルの写真を示す。最初の11個のレーンは、異なるTS患者における遺伝子の発現レベルを示す。最後のレーンは、正常な個体からの精巣における各遺伝子の発現レベルを示す。遺伝子に関して遺伝子の記号を示す。

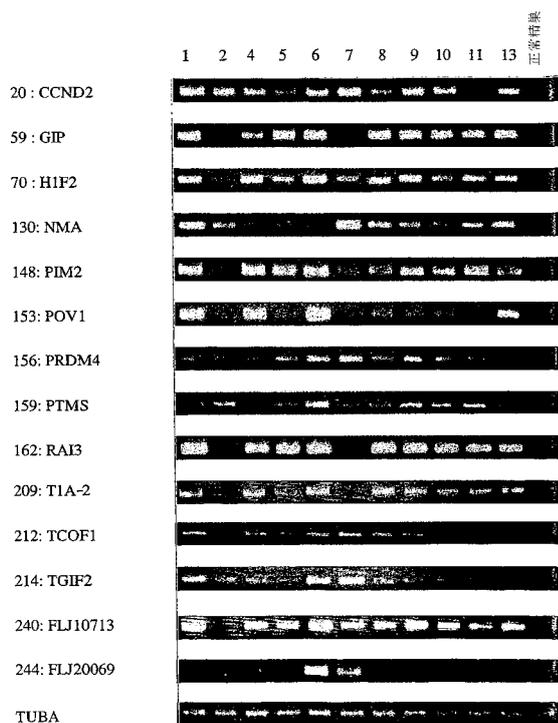
【図2】図2Aは、精巣精上皮腫臨床試料(1、2、7、8、9、10、11および13)、正常ヒト精巣(TES)、心臓(HER)、肺(LUN)、肝臓(LIV)、腎臓(KID)、脳(BRA)、および骨髄(BM)における半定量的RT-PCRによって調べたPYPAF3の発現を示す。TUBA3の発現を内部対照とした。図2Bは、プローブとしてPYPAFs cDNA断片を用いた多組織プロットによるノーザン分析を示す。

【図3】myc標識PYPAF3タンパク質の細胞下局在を示す。pcDNA3.1-myc/His-PYPAF3プラスミドを導入したCOS-7細胞。導入した細胞を、マウス抗mycモノクローナル抗体によって染色し、FITC結合抗マウスIgG二次抗体によって可視化した。核は、DAPIによって対比染色した。

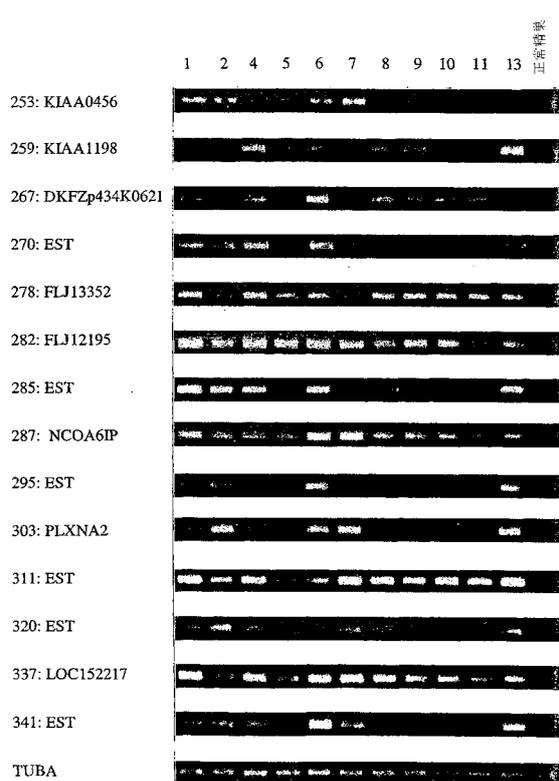
【図4】精巣生殖細胞腫瘍株Tera-2におけるPYPAF3の発現を減少させるように設計された低分子干渉RNA(siRNA)の増殖阻害作用を示す。(A)2週目での精巣生殖細胞腫瘍株Tera-2におけるPYPAF3の内因性発現の抑制を示す半定量的RT-PCR(精巣生殖細胞腫瘍株Tera-2細胞へのsiRNAの導入後、ネオマイシンを含む選択培地において培養)。2-ミクログロブリン(2MG)を内部対照として用いた。(B)対照としてのpsiU6BX-EGFP(siEGFP)、psiU6BX-ルシフェラーゼ(siLuc)と比較して、2週間での精巣生殖細胞腫瘍株Tera-2細胞におけるPYPAF3のノックダウン(Si1、Si2、Si3、Si4、およびSi5)によるコロニー数の

減少を示すコロニー形成アッセイ。(C) psiU6BX-PYPAF3 (Si1、Si2、Si3、Si4、およびSi5)、psiU6BX-EGFP (siEGFP)、psiU6BX-ルシフェラーゼ (siLuc) のいずれかを処置した精巢生殖細胞腫瘍株Tera-2細胞の、細胞計数キット8を用いた1週間でのMTTアッセイ。これらの実験も同様に3回実施した。

【 図 1 - 1 】



【 図 1 - 2 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/JP 03/11711

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12Q1/68		
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) IPC 7 C12Q		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SKOTHEIM ROLF I ET AL: "New insights into testicular germ cell tumorigenesis from gene expression profiling" CANCER RESEARCH, vol. 62, no. 8, 15 April 2002 (2002-04-15), pages 2359-2364, XP002266690 ISSN: 0008-5472	1,3,6-12
A	the whole document	2,13,14, 16-24, 26,27, 29,31, 33,34
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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	
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"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	
"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)	"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.	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"Z" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 13 January 2004	Date of mailing of the international search report 19. 04. 2004	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Bort, S	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/JP 03/11711

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	RUKSTALIS D B: "Molecular mechanisms of testicular carcinogenesis" WORLD JOURNAL OF UROLOGY, vol. 14, no. 5, 1996, pages 347-352, XP002266691 ISSN: 0724-4983	1,3,6-12
A	the whole document	2,13,14, 16-24, 26,27, 29,31, 33,34
A	----- DATABASE GENBANK [Online] Clone IMAGE: 1691709 XP002266692 Database accession no. AI141839 abstract -----	2,13,14, 16-24, 26,27, 29,31, 33,34

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP 03/11711**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 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.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 23-30 are directed to methods of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound
2. Claims Nos.: **34**
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:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
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 2 of first sheet)

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

see additional sheet

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.:
1-3, 6-14, 16-24, 26, 27, 29, 31, 33, 34 (all partially)

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ JP 03/ 11711

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 34

Claim 34 does not meet the requirements of Article 6 PCT in that the matter for which protection is sought is not defined. Said claim relates to a composition for treating or preventing TS, comprising a pharmaceutically effective amount of a compound, which compound has been defined by the method used to screen it, without providing any technical features defining such compound. Independent of the above reasoning, the claim lacks support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT. The claim covers all compounds having this desirable characteristic whereas the application does not provide support for them. In the present case, the lack of disclosure of the present application and the lack of clarity and support has rendered a meaningful search over the whole of the claimed scope impossible.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.5), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

International Application No. PCT/ JP 03/11711

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-3, 6-14, 16-24, 26, 27, 29, 31, 33, 34 (all partially)

Invention 1

Reference expression profile, kit and array comprising (a pattern of gene expression) of two or more genetic markers, wherein one is TS 1 genetic marker, or the polynucleotide corresponding to Accession No. AI141839; compositions comprising TS 1 genetic marker (or derivatives); and methods using TS 1 genetic marker

Inventions 2-170

Ibidem for inventions 2-170, wherein the genetic markers are TS 2 to TS 170, or the polynucleotides corresponding to the Accession Nos. X02994 to X12949, respectively (as listed in Table 3)

2. claims: 1-3, 6-14, 16-24, 26, 27, 29, 31, 33, 34 (all partially), 25, 32, 35 (all completely)

Invention 171

Reference expression profile, kit and array comprising (a pattern of gene expression) of two or more genetic markers, wherein one is TS 171 genetic marker, or the polynucleotide corresponding to Accession No. NM 139176; compositions comprising TS 171 genetic marker (or derivatives); and methods using TS 171 genetic marker

3. claims: 1-3, 6-14, 16-24, 26, 27, 29, 31, 33, 34 (all partially)

International Application No. PCT/JP 03 11711

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Invention 172

Reference expression profile, kit and array comprising (a pattern of gene expression) of two or more genetic markers, wherein one is TS 172 genetic marker, or the polynucleotide corresponding to Accession No. AA921313; compositions comprising TS 172 genetic marker (or derivatives); and methods using TS 172 genetic marker

Inventions 173-346

Ibidem for inventions 173-346, wherein the genetic markers are TS 173 to TS 346, or the polynucleotides corresponding to the Accession Nos. L11566 to N34387, respectively (as listed in Table 3)

4. claims: 1, 4-13, 15-22, 28, 29, 30, 34 (all partially)

Inventions 347

Reference expression profile, kit and array comprising (a pattern of gene expression) of two or more genetic markers, wherein one is TS 347 genetic marker, or the polynucleotide corresponding to Accession No. U57961; compositions comprising TS 347 genetic marker (or derivatives); and methods using TS 347 genetic marker

Inventions 348-939

Ibidem for inventions 348-939, wherein the genetic markers are TS 348 to TS 939, or the polynucleotides corresponding to the Accession Nos. M35296 to A1024879, respectively (as listed in Table 4)

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	4 C 0 8 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 6
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	4 H 0 4 5
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	C 1 2 M 1/00	A
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 37/00 (2006.01)	G 0 1 N 33/50	Z
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	M
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	G 0 1 N 37/00	1 0 2
	C 1 2 N 15/00	A
	C 1 2 N 15/00	F
	C 0 7 K 16/18	

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

(72)発明者 片桐 豊雅

東京都品川区東五反田 2 - 1 0 - 1 1 - 3 0 5

Fターム(参考) 2G045 AA35 CB01 FB02 FB03
 4B024 AA01 AA12 CA01 CA04 CA11 HA14
 4B029 AA07 AA21 AA23 BB20 CC03 CC08 FA15
 4B063 QA01 QA05 QA18 QA19 QQ03 QQ08 QQ13 QQ43 QQ52 QR08
 QR32 QR56 QR62 QR69 QR77 QR80 QR84 QS25 QS34 QX02
 4C084 AA02 AA03 AA07 AA13 AA17 BA01 BA02 BA35 BA44 CA27
 MA17 MA24 MA35 MA37 MA41 MA43 MA52 MA59 MA66 NA14
 ZB262
 4C085 AA03 AA13 AA14 AA34 BB01 BB11 BB41 BB43 BB44 CC02
 CC21 DD62 DD63 DD88 EE01 GG02 GG04 GG06 GG08
 4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA04 MA07 NA14 ZB26
 4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA41 DA76 EA28 EA51 FA72