

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) **公開特許公報** (A) (11)特許出願公開番号

特開2001 - 327297

(P2001 - 327297A)

(43)公開日 平成13年11月27日(2001.11.27)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 15/09	ZNA		A 6 1 K 31/711	
A 6 1 K 31/711			39/395	D
		38/00	45/00	
		39/395	48/00	
		45/00	A 6 1 P 1/02	

審査請求 有 請求項の数 14 O L (全 40数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 83195(P2001 - 83195)

(22)出願日 平成13年3月22日(2001.3.22)

(31)優先権主張番号 60/191382

(32)優先日 平成12年3月22日(2000.3.22)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 397067152

ファイザー・プロダクツ・インク

アメリカ合衆国コネチカット州グロトン市

イースタン・ポイント・ロード

(72)発明者 レオナルド バクバインダー

アメリカ合衆国,コネチカット 06340,グロ

トン,イースタン ポイント ロード,ファ

イザー グローバル リサーチ アンド

ディベロプメント

(74)代理人 100077517

弁理士 石田 敬 (外4名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ADAMTSポリペプチド、それをコードする核酸、及びその使用

(57)【要約】

【課題】 ADAMTSタンパク質として知られるタンパク質ファミリーのメンバーである、ADAMTS - S 1と名付けられた新規メンバーの提供。

【解決手段】 本発明は、ADAMTS - S 1をコードするポリヌクレオチド、ADAMTS - S 1に対する抗体、ADAMTS - S 1の機能の研究のためのアッセイ、ADAMTS - S 1のアゴニスト又はアンタゴニストの決定のためのアッセイ、及び診断、バイオ療法、又は遺伝子治療方法におけるADAMTS - S 1ポリペプチド又はポリヌクレオチドの使用にも関する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 以下の：

(a) 配列番号2のADAMTS-S1ポリペプチド、あるいはそのメタロプロテイナーゼ又はジスインテグリン・ドメイン、プロドメイン、又はスロンボスポンジン(TSP)ドメインをコードするヌクレオチド配列に対し少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列；

(b) 配列番号1のポリヌクレオチド分子にストリンジエント条件下でハイブリダイズする少なくとも15の連続ヌクレオチドを有するヌクレオチド配列；及び(c) (a)又は(b)のヌクレオチド配列の相補物；から成る群から選ばれるヌクレオチド配列を含む単離ポリヌクレオチド分子。

【請求項2】 前記ポリヌクレオチド配列が、配列番号2のADAMTS-S1ポリペプチド・コーディング配列、あるいはそのメタロプロテイナーゼ又はジスインテグリン・ドメイン、プロドメイン、又はスロンボスポンジン(TSP)ドメインをコードする配列を含む、請求項1に記載の単離ポリヌクレオチド分子。

【請求項3】 請求項1に記載の単離ポリヌクレオチド分子によりコードされたポリペプチド。

【請求項4】 配列番号2であるアミノ酸配列、あるいはそのメタロプロテイナーゼ又はジスインテグリン・ドメイン、プロドメイン、又はスロンボスポンジン(TSP)ドメインを含む、請求項3に記載のポリペプチド。

【請求項5】 DNA又はRNA分子を含む発現系であって、その発現系がコンパチブルな宿主細胞内に存在するとき、請求項3に記載のADAMTS-S1ポリペプチドを産生することができる、前記発現系。

【請求項6】 請求項5に記載の発現系を含む宿主細胞。

【請求項7】 ADAMTS-S1ポリペプチドの製法であって、上記ポリペプチドの製造のために十分な条件下、請求項6に記載の宿主細胞を培養し、そして細胞培養物から上記ポリペプチドを回収する、ことを含む前記製法。

【請求項8】 ADAMTS-S1ポリペプチドに免疫特異的な抗体、ADAMTS-S1ポリペプチドのためのアゴニスト、ADAMTS-S1ポリペプチドのためのアンタゴニスト、及びADAMTS-S1ポリペプチドのための基質から成る群から選ばれる剤であって、ここで上記ポリペプチドが請求項3に記載のポリペプチドである、前記剤。

【請求項9】 ADAMTS-S1の活性又は発現を変更する必要がある患者(被験体)を治療するための医薬組成物であって、治療の有効量の請求項8に記載の剤を含む、前記医薬組成物。

【請求項10】 患者におけるADAMTS-S1の発現又は活性に関して患者における疾患を診断し又は疾患

に対する感受性を診断するためのインビトロ・アッセイ法であって、上記患者のゲノム内の、請求項3に記載のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列内での突然変異の存在又は不存在を決定し、又は上記患者から得られたサンプル中のADAMTS-S1発現の存在又は量を分析する、ことを含む前記インビトロ・アッセイ法。

【請求項11】 ADAMTS-S1にアンタゴナイズし、アゴナイズし、又はそれに結合する化合物を同定するための方法であって：

(a) 候補化合物を、請求項3に記載のADAMTS-S1ポリペプチドを発現する細胞と、あるいは上記ADAMTS-S1ポリペプチドを発現する細胞からの細胞膜、又は上記ポリペプチドを発現する細胞により馴された培地、又は上記ポリペプチドの精製された組成物と、接触させ；そして(b)ADAMTS-S1活性の阻害又は刺激、又は上記ポリペプチドへの上記候補化合物の結合を測定する、を含む前記方法。

【請求項12】 核酸材料を含有する生物学的サンプル中のADAMTS-S1をコードするポリヌクレオチドを検出する方法であって：(a)ADAMTS-S1に特異的な請求項1に記載の単離ポリヌクレオチドを、上記生物学的サンプルの上記核酸材料にハイブリダイズさせ、それによりハイブリダイゼーション複合体を形成し；そして(b)上記ハイブリダイゼーション複合体を検出する、ここで上記ハイブリダイゼーション複合体の存在は上記生物学的サンプル中のADAMTS-S1をコードするポリヌクレオチドの存在に相関する、を含む前記方法。

【請求項13】 請求項3に記載の酵素的に活性なポリペプチドを含むポリペプチドを、候補基質と接触させ、そして生成物への基質の変換又は上記基質への上記ポリペプチドの結合のいずれかを測定する、ことを含む、ADAMTS-S1のための基質を同定する方法。

【請求項14】 医薬として許容される担体とともに、ADAMTS-S1のアゴニスト又はアンタゴニスト、請求項3に記載のポリペプチド、及び請求項1に記載のポリヌクレオチドから成る群から選ばれる剤の治療的有効量を含む、関節炎(変形性関節炎及びリウマチ様関節炎)、炎症性腸疾患、クローン病、気腫、急性呼吸困難症候群、喘息、慢性閉塞性肺疾患、アルツハイマー病、臓器移植毒性及び拒絶、悪液質、アレルギー、癌(例えば、固形腫瘍癌であって、結腸、乳房、肺、前立腺、脳を含むもの、並びに白血病及びリンパ腫を含む造血性悪性腫瘍)、組織潰瘍形成、再狭窄、歯周病、表皮水疱性、骨粗しょう症、人工関節インプラントのゆるみ、アテローム性動脈硬化症(アテローム性動脈硬化斑裂開を含む)、大動脈瘤(腹部大動脈及び脳大動脈瘤を含む)、うっ血性心不全、心筋梗塞、発作、脳虚血、頭部外傷、脊髄損傷、神経変性疾患(急性及び慢性)、自己免疫疾患、ハンチントン舞踏病、パーキンソン病、片頭

痛、うつ病、末梢ニューロパシー、痛み、脳アミロイド血管障害、向知性又は認識性亢進、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、眼血管形成、角膜損傷、黄斑変性症、異常外傷治癒、熱傷、不妊症又は糖尿病ショックの治療のための医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】発明の分野

本発明は、ADAMTSとして知られるタンパク質のファミリーのメンバーに関する。

【0002】本発明の背景

ADAMTSタンパク質は、メタロプロテアーゼのADAM (A Disintegrin And Metalloprotease) の特徴を示し、そしてさらにスロンボスポンジン (thrombospondin) ドメイン (TS) を含む。プロトタイプのアダマTSは、マウスにおいて同定され、心臓及び腎臓内で発現され、そして炎症誘発性の刺激によりアップレギュレートされることが判明している (K.Kuno et al., Molecular cloning of a gene encoding a new type of metalloproteinase-disintegrin family protein with thrombospondin motifs as a inflammation associated gene, 272 Journal of Biological Chemistry 556 (January 1997))。これまで、9つのメンバーがHUGOデータベース (<http://www.gene.ucl.ac.uk/users/hester/adamts/>) により認められている。このファミリーのメンバーは、軟骨に重要な機械特性を提供し、そして関節炎の進行の間に失われる高分子量のプロテオグリカンであるアグレカン (aggrecan) を分解する能力をもつ。

【0003】アグレカナナーゼ (Aggrecanase) 活性は、いくつかのADAMTSタンパク質について証明されている (例えば、M.D.Tortorella, Purification and cloning of aggrecanase-1; a member of the ADAMTS family of proteins, 284 Science 1664 (June 1999); I.Abbaszade, Cloning and characterization of ADAMTS 11 an aggrecanase from the ADAMTS family, 274 Journal of Biological Chemistry 23443 (August 1999) を参照のこと)。アグレカナナーゼ活性に加えて、ADAMTS-4は、中枢神経系内で主に発現されることが分かっている他のプロテオグリカンであるブレビカン (brevican) を開裂することが示された (Matthews et al., Brain-enriched hyaluronan binding (BEHAB)/Brevican cleavage in a glioma cell line is mediated by a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs (ADAMTS) family member, 275 Journal of Biological Chemistry 22695 (July 2000))。この活性は、神経膠腫の浸潤性において役割を演じていると推定された。ADAMTS-4の他の活性は、ベータ-アミロイドにより処理されたラットの星状細胞においてその発現が誘導されるものとして提案されており、これは、アルツハイマー病における役割を示唆

する (Sato et al., ADAMTS-4 is transcriptionally induced in beta-amyloid treated rat astrocytes, 29 Neuroscience Letters 177 (2000))。他のADAMTSタンパク質は抗血管形成 (例えば、Vazquez et al., METH-1, A human ortholog of ADAMTS-1, and METH-2 are members of a new family of proteins with Angio-inhibitory activity, 274 Journal of Biological Chemistry 23349 (August 1999)を参照のこと) 及び/又はプロコラーゲン・プロセッシング活性 (A.Colige et al., cDNA cloning and expression of bovine procollagen I N-proteinase: a new member of the superfamily of zinc-metalloproteinase with binding sites for cells and other matrix components, 94 Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America (March 1997))を示すと報告されている。特に泌尿生殖系に関する、受精能及び臓器発達におけるADAMTS-1の他の役割は、マウスにおける遺伝子欠損と関係付けられた (Shindo et al., ADAMTS-1: a metalloproteinase-disintegrin essential for normal growth, fertility, and organ morphology and function, 105 Journal of Clinical Investigation 1345 (May 2000))。

【0004】ADAMTSタンパク質及びADAMTSタンパク質のアゴニスト及びアンタゴニストは重要な治療用途をもち、これらは、関節炎 (変形性関節炎及びリウマチ様関節炎)、炎症性腸疾患、クローン病、気腫、急性呼吸困難症候群、喘息、慢性閉塞性肺疾患、アルツハイマー病、臓器移植毒性及び拒絶、悪液質、アレルギー、癌 (例えば、固形腫瘍癌であって、結腸、乳房、肺、前立腺、脳を含むもの、並びに白血病及びリンパ腫を含む造血性悪性腫瘍)、組織潰瘍形成、再狭窄、歯周病、表皮水疱性、骨粗しょう症、人工関節インプラントのゆるみ、アテローム性動脈硬化症 (アテローム性動脈硬化斑裂開を含む)、大動脈瘤 (腹部大動脈及び脳大動脈瘤を含む)、うっ血性心不全、心筋梗塞、発作、脳虚血、頭部外傷、脊髄損傷、神経変性疾患 (急性及び慢性)、自己免疫疾患、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、片頭痛、うつ病、末梢ニューロパシー、痛み、脳アミロイド血管障害、向知性又は認識性亢進、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、眼血管形成、角膜損傷、黄斑変性症、異常外傷治癒、熱傷、糖尿病ショック、不妊症、並びにメタロプロテイナーゼ活性を特徴とし及び/又は哺乳動物のアダマリシン (adamalysin) 活性を特徴とする他の疾患の治療を含む。WO0053774は、本発明のADAMTSタンパク質に関する配列をもつADAMTSタンパク質について記載している。

【0005】本発明の要約

本発明は、ADAMTS-S1と名付けた新規ADAMTSタンパク質に、そして関連ポリヌクレオチド及びポ

リペプチドに関する。本発明は、上記タンパク質及びポリペプチドの製造に、及び関連アッセイにも関する。本発明は、さらに、上記タンパク質の基質の同定方法に、上記タンパク質の阻害剤又は活性化剤の同定方法に、そして診断、バイオ療法、及び遺伝子治療方法における本発明のポリペプチド又はポリヌクレオチドの使用に関する。

【0006】特に、本発明は、以下の：

(a) 配列番号2のADAMTS-S1ポリペプチド、あるいはそのメタロプロテイナーゼ又はジスインテグリン・ドメイン、プロドメイン、又はスロンボスポンジン(TSP)ドメインをコードするヌクレオチド配列に対し少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列；

(b) 配列番号1のポリヌクレオチド分子にストリンジент条件下でハイブリダイズする少なくとも15の連続ヌクレオチドを有するヌクレオチド配列；及び(c) (a)又は(b)のヌクレオチド配列の相補物；から成る群から選ばれるヌクレオチド配列を含む単離ポリヌクレオチド分子に関する。このような単離ヌクレオチド分子は、例えば、DNA又はRNAを含むことができる。

【0007】1の態様においては、単離されたポリヌクレオチドは、配列番号1に対し少なくとも80%同一であり、そして他の態様においては、配列番号1のADAMTS-S1ポリペプチド・コーディング配列、あるいはそのメタロプロテイナーゼ又はジスインテグリン・ドメイン、プロドメイン、又はスロンボスポンジン(TSP)ドメインをコードする配列を含む。

【0008】さらなる態様においては、本発明は、本発明の単離されたポリヌクレオチド分子によりコードされるポリペプチドに関する。例えば、本発明のADAMTS-S1ポリペプチドは、配列番号2に少なくとも80%同一であるアミノ酸配列、又はそのメタロプロテイナーゼ又はジスインテグリン・ドメイン、プロドメイン、又はスロンボスポンジン(TSP)ドメイン、又はADAMTS-S1の少なくとも約10の連続アミノ酸をもつアミノ酸配列を含むことができる。好ましい態様においては、上記ポリペプチドは、配列番号2、あるいはそのメタロプロテイナーゼ又はジスインテグリン・ドメイン、プロドメイン、又はスロンボスポンジン(TSP)ドメインを含む。

【0009】他の局面においては、本発明は、DNA又はRNA分子を含む発現系であって、その発現系がコンパチブルな宿主細胞内に存在するとき、配列番号2のポリペプチドと、あるいはそのメタロプロテイナーゼ又はジスインテグリン・ドメイン、プロドメイン、又はスロンボスポンジン(TSP)ドメイン少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含むADAMTS-S1ポリペプチドを産生することができる、前記発現系に関する。本発明の上記局面の1の態様においては、その発現

系は、本発明のポリヌクレオチドによりコードされるADAMTS-S1ポリペプチドを産生することができる。

【0010】他の局面においては、本発明は、本発明の発現系を含む宿主細胞に関する。他の局面においては、本発明は、ADAMTS-S1ポリペプチドの製法であって、上記ポリペプチドの製造のために十分な条件下、本発明の宿主細胞を培養し、そして細胞培養物から上記ポリペプチドを回収する、ことを含む前記製法に関する。

【0011】他の局面においては、本発明は、ADAMTS-S1ポリペプチドを産生する細胞の作成方法であって、適当な培養条件下、上記宿主細胞が、上記ADAMTS-S1ポリペプチドを産生するように、本発明の発現系で宿主細胞を形質転換又はトランスフェクトすることを含む、前記方法に関する。他の局面においては、本発明は、本発明のADAMTS-S1ポリペプチドに免疫特異的な抗体に関する。本発明は、本発明のポリペプチドのアンタゴニスト、アゴニスト、及び基質にも関する。

【0012】さらなる局面においては、本発明は、ADAMTS-S1のアゴニスト又はアンタゴニストの治療的有効量を患者に投与することを含む、ADAMTS-S1の活性又は発現を変更する必要がある患者を治療する方法に関する。他の局面においては、本発明は、ADAMTS-S1の活性又は発現を変更させるために、本発明のポリヌクレオチドを患者に投与することを含む、ADAMTS-S1の活性又は発現を変更する必要がある患者を治療する方法に関する。本発明は、そのリガンド、基質、又はレセプターについてADAMTS-S1と競合するポリペプチドの治療的有効量を患者に投与することを含む、ADAMTS-S1の活性又は発現を交換する必要がある患者を治療する方法にも関する。

【0013】本発明は、患者におけるADAMTS-S1の発現又は活性に関して患者における疾患を診断し又は疾患に対する感受性を診断するための方法であって、上記患者のゲノム内の、ADAMTS-S1をコードするヌクレオチド配列内での突然変異の存在又は不存在を決定することを含む前記方法にも関する。あるいは、本発明は、患者におけるADAMTS-S1の発現又は活性に関して患者における疾患を診断し又は疾患に対する感受性を診断するための方法であって、その患者から得られたサンプル中のADAMTS-S1の存在又は量を分析することを含む前記方法に関する。

【0014】他の局面においては、本発明は、ADAMTS-S1にアンタゴナイズする化合物を同定するための方法であって：

(a) 候補化合物を、本発明のADAMTS-S1ポリペプチドを発現する細胞と、あるいは上記ADAMTS-S1ポリペプチドを発現する細胞からの細胞膜、又は

上記ポリペプチドを発現する細胞により馴された培地、又は上記ポリペプチドの精製された組成物と、接触させ；そして(b) ADAMTS-S1活性を測定する、を含む前記方法に関する。

【0015】他の態様においては、本発明は、ADAMTS-S1にアゴナイズ結合する化合物を同定するための方法であって：

(a) 候補化合物を、本発明のADAMTS-S1ポリペプチドを発現する細胞と、あるいは上記ADAMTS-S1ポリペプチドを発現する細胞からの細胞膜、又は上記ポリペプチドを発現する細胞により馴された培地、又は上記ポリペプチドの精製された組成物と、接触させ；そして(b) ADAMTS-S1活性の刺激を測定する、を含む前記方法に関する。

【0016】さらなる態様においては、本発明は、ADAMTS-S1に結合する化合物を同定するための方法であって：

(a) 候補化合物を、本発明のADAMTS-S1ポリペプチドを発現する細胞と、あるいは上記ポリペプチドを発現する細胞からの細胞膜、又は上記ポリペプチドを発現する細胞により馴された培地、又は上記ポリペプチドの精製された組成物と、接触させ；そして(b) 上記ポリペプチドへの上記候補化合物の結合を測定する、を含む前記方法に関する。

【0017】本発明は、核酸材料を含有する生物学的サンプル中のADAMTS-S1をコードするポリヌクレオチドを検出する方法であって：

(a) ADAMTS-S1に特異的な本発明の単離ポリヌクレオチドを、上記生物学的サンプルの上記核酸材料にハイブリダイズさせ、それによりハイブリダイゼーション複合体を形成し；そして(b) 上記ハイブリダイゼーション複合体を検出する、ここで上記ハイブリダイゼーション複合体の存在は上記生物学的サンプル中のADAMTS-S1をコードするポリヌクレオチドの存在に相関する、を含む前記方法にも関する。

【0018】さらなる態様においては、本発明は、ADAMTS-S1のための基質を同定する方法であって、酵素的に活性な本発明のポリペプチドを含むポリペプチドを、候補基質に接触させ、そして生成物への基質の変換又は上記基質への上記ポリペプチドの結合のいずれかを測定することを含む前記方法に関する。本発明は、医薬として許容される担体とともに、ADAMTS-S1のアゴニスト又はアンタゴニストの治療的有効量を投与することを含む、関節炎(変形性関節炎及びリウマチ様関節炎)、炎症性腸疾患、クローン病、気腫、急性呼吸困難症候群、喘息、慢性閉塞性肺疾患、アルツハイマー病、臓器移植毒性及び拒絶、悪液質、アレルギー、癌(例えば、固形腫瘍癌であって、結腸、乳房、肺、前立腺、脳を含むもの、並びに白血病及びリンパ腫を含む造血性悪性腫瘍)、組織潰瘍形成、再狭窄、歯周病、表皮

水疱性、骨粗しょう症、人工関節インプラントのゆるみ、アテローム性動脈硬化症(アテローム性動脈硬化斑裂開を含む)、大動脈瘤(腹部大動脈及び脳大動脈瘤を含む)、うっ血性心不全、心筋梗塞、発作、脳虚血、頭部外傷、脊髄損傷、神経変性疾患(急性及び慢性)、自己免疫疾患、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、片頭痛、うつ病、末梢ニューロパシー、痛み、脳アミロイド血管障害、向知性又は認識性亢進、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、眼血管形成、角膜損傷、黄斑変性症、異常外傷治癒、熱傷、不妊症又は糖尿病ショックの治療のための方法にも関する。

【0019】本発明は、医薬として許容される担体とともに、本発明のポリペプチドを投与することを含む、関節炎(変形性関節炎及びリウマチ様関節炎)、炎症性腸疾患、クローン病、気腫、急性呼吸困難症候群、喘息、慢性閉塞性肺疾患、アルツハイマー病、臓器移植毒性及び拒絶、悪液質、アレルギー、癌(例えば、固形腫瘍癌であって、結腸、乳房、肺、前立腺、脳を含むもの、並びに白血病及びリンパ腫を含む造血性悪性腫瘍)、組織潰瘍形成、再狭窄、歯周病、表皮水疱性、骨粗しょう症、人工関節インプラントのゆるみ、アテローム性動脈硬化症(アテローム性動脈硬化斑裂開を含む)、大動脈瘤(腹部大動脈及び脳大動脈瘤を含む)、うっ血性心不全、心筋梗塞、発作、脳虚血、頭部外傷、脊髄損傷、神経変性疾患(急性及び慢性)、自己免疫疾患、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、片頭痛、うつ病、末梢ニューロパシー、痛み、脳アミロイド血管障害、向知性又は認識性亢進、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、眼血管形成、角膜損傷、黄斑変性症、異常外傷治癒、熱傷、不妊症又は糖尿病ショックの治療のための方法にも関する。

【0020】本発明は、医薬として許容される担体とともに、本発明のポリヌクレオチドを投与することを含む、関節炎(変形性関節炎及びリウマチ様関節炎)、炎症性腸疾患、クローン病、気腫、急性呼吸困難症候群、喘息、慢性閉塞性肺疾患、アルツハイマー病、臓器移植毒性及び拒絶、悪液質、アレルギー、癌(例えば、固形腫瘍癌であって、結腸、乳房、肺、前立腺、脳を含むもの、並びに白血病及びリンパ腫を含む造血性悪性腫瘍)、組織潰瘍形成、再狭窄、歯周病、表皮水疱性、骨粗しょう症、人工関節インプラントのゆるみ、アテローム性動脈硬化症(アテローム性動脈硬化斑裂開を含む)、大動脈瘤(腹部大動脈及び脳大動脈瘤を含む)、うっ血性心不全、心筋梗塞、発作、脳虚血、頭部外傷、脊髄損傷、神経変性疾患(急性及び慢性)、自己免疫疾患、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、片頭痛、うつ病、末梢ニューロパシー、痛み、脳アミロイド血管障害、向知性又は認識性亢進、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、眼血管形成、角膜損傷、黄斑変性症、異常外傷治癒、熱傷、不妊症又は糖尿病ショックの治療のため

の方法にも関する。

【0021】本発明はさらに、医薬として許容される担体とともに、ADAMTS-S1のアゴニスト又はアンタゴニストの治療的有効量を含む、関節炎(変形性関節炎及びリウマチ様関節炎)、炎症性腸疾患、クローン病、気腫、急性呼吸困難症候群、喘息、慢性閉塞性肺疾患、アルツハイマー病、臓器移植毒性及び拒絶、悪液質、アレルギー、癌(例えば、固形腫瘍癌であって、結腸、乳房、肺、前立腺、脳を含むもの、並びに白血病及びリンパ腫を含む造血性悪性腫瘍)、組織潰瘍形成、再狭窄、歯周病、表皮水疱性、骨粗しょう症、人工関節インプラントのゆるみ、アテローム性動脈硬化症(アテローム性動脈硬化斑裂開を含む)、大動脈瘤(腹部大動脈及び脳大動脈瘤を含む)、うっ血性心不全、心筋梗塞、発作、脳虚血、頭部外傷、脊髄損傷、神経変性疾患(急性及び慢性)、自己免疫疾患、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、片頭痛、うつ病、末梢ニューロパシー、痛み、脳アミロイド血管障害、向知性又は認識性亢進、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、眼血管形成、角膜損傷、黄斑変性症、異常外傷治癒、熱傷、不妊症又は糖尿病ショックの治療のための医薬組成物に関する。

【0022】本発明は、医薬として許容される担体とともに、本発明のポリペプチドを含む、関節炎(変形性関節炎及びリウマチ様関節炎)、炎症性腸疾患、クローン病、気腫、急性呼吸困難症候群、喘息、慢性閉塞性肺疾患、アルツハイマー病、臓器移植毒性及び拒絶、悪液質、アレルギー、癌(例えば、固形腫瘍癌であって、結腸、乳房、肺、前立腺、脳を含むもの、並びに白血病及びリンパ腫を含む造血性悪性腫瘍)、組織潰瘍形成、再狭窄、歯周病、表皮水疱性、骨粗しょう症、人工関節インプラントのゆるみ、アテローム性動脈硬化症(アテローム性動脈硬化斑裂開を含む)、大動脈瘤(腹部大動脈及び脳大動脈瘤を含む)、うっ血性心不全、心筋梗塞、発作、脳虚血、頭部外傷、脊髄損傷、神経変性疾患(急性及び慢性)、自己免疫疾患、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、片頭痛、うつ病、末梢ニューロパシー、痛み、脳アミロイド血管障害、向知性又は認識性亢進、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、眼血管形成、角膜損傷、黄斑変性症、異常外傷治癒、熱傷、不妊症又は糖尿病ショックの治療のための医薬組成物にも関する。

【0023】本発明は、医薬として許容される担体とともに、本発明のポリヌクレオチドを含む、関節炎(変形性関節炎及びリウマチ様関節炎)、炎症性腸疾患、クローン病、気腫、急性呼吸困難症候群、喘息、慢性閉塞性肺疾患、アルツハイマー病、臓器移植毒性及び拒絶、悪液質、アレルギー、癌(例えば、固形腫瘍癌であって、結腸、乳房、肺、前立腺、脳を含むもの、並びに白血病及びリンパ腫を含む造血性悪性腫瘍)、組織潰瘍形成、再狭窄、歯周病、表皮水疱性、骨粗しょう症、人工関節インプラントのゆるみ、アテローム性動脈硬化症(アテ

ローム性動脈硬化斑裂開を含む)、大動脈瘤(腹部大動脈及び脳大動脈瘤を含む)、うっ血性心不全、心筋梗塞、発作、脳虚血、頭部外傷、脊髄損傷、神経変性疾患(急性及び慢性)、自己免疫疾患、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、片頭痛、うつ病、末梢ニューロパシー、痛み、脳アミロイド血管障害、向知性又は認識性亢進、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、眼血管形成、角膜損傷、黄斑変性症、異常外傷治癒、熱傷、不妊症又は糖尿病ショックの治療のための医薬組成物にも関する。

【0024】本発明の詳細な説明

我々は、変形性関節炎の軟骨から調製したcDNAライブラリー中でADAMTS-S1タンパク質をコードするポリヌクレオチドの比較的高いレベルを、そしてヒト肺及び脳由来のcDNAライブラリー中での低いレベルを発見した。変形性関節炎の軟骨中でのADAMTS-S1の発現、及び炎症誘発剤によるその調節は、関節炎疾患の病因におけるその役割に一致する。本明細書中に使用する用語の理解を容易にするために、以下の定義を提供する。本明細書中に使用するとき"抗体"とは、ポリクローナル及びモノクローナル抗体、キメラ、単鎖、及びヒト化抗体、並びにFab断片であって、Fab又は他の免疫グロブリン発現ライブラリーの産物を含むものを含む。

【0025】"ポリヌクレオチド"は、一般に、非修飾RNA又はDNAあるいは修飾RNA又はDNAであることができる、ポリリボヌクレオチド又はポリデオキシリボヌクレオチドのいずれかをいう。"ポリヌクレオチド"は、非限定的に、1本鎖及び2本鎖DNA、1本鎖及び2本鎖領域の混合物であるDNA、1本鎖及び2本鎖RNA、及び1本鎖及び2本鎖領域の混合物であるRNA、1本鎖又は、より典型的には、2本鎖又は1本鎖及び2本鎖領域の混合物であることができるDNA及びRNAを含むハイブリッド分子を含む。さらに、"ポリヌクレオチド"とは、RNA又はDNA又はRNAとDNAの両者を含む3本鎖領域をいう。用語"ポリヌクレオチド"は、1以上の修飾塩基を含むDNAとRNA、及び安定性又は他の理由のために修飾された骨格をもつDNA又はRNAをも含む。"修飾された"塩基は、例えば、トリチル化塩基及び普通でない塩基、例えばイノシンを含む。さまざまな修飾がDNAとRNAに行われている；従って、"ポリヌクレオチド"は、典型的には天然に存在するポリヌクレオチドの化学的、酵素的又は代謝的に修飾された形態、並びにウイルス及び細胞に特徴的なDNAとRNAの化学的形態を包含する。"ポリヌクレオチド"は、しばしばオリゴヌクレオチドといわれる、比較的短いポリヌクレオチドをも包含する。

【0026】"ポリペプチド"とは、ペプチド結合又は修飾ペプチド結合、すなわち、ペプチド・アイソスターにより互いに連結される2以上のアミノ酸を含むペプチド

又はタンパク質のいずれかをいう。"ポリペプチド"とは、一般にペプチド、オリゴペプチド又はオリゴマーといわれる短鎖と、一般にタンパク質といわれる長鎖の両者をいう。"ポリペプチド"は20の遺伝子コードされたアミノ酸以外のアミノ酸を含んでもよい。"ポリペプチド"は、天然プロセス、例えば翻訳後プロセッシング、又は本分野において周知の化学的技術のいずれかにより、修飾されたアミノ酸配列を含む。このような修飾は、基礎的なテキスト、及びより詳細なモノグラフ、並びに学術論文によく記載されている。修飾は、ペプチド骨格、アミノ酸側鎖、及びアミノ又はカルボキシル末端を含む、ポリペプチドのどこでも生じうる。同じタイプの修飾は、与えられたポリペプチド内のいくつかの部位において同程度又は変更された程度において存在することができるということが理解されるであろう。また、与えられたポリペプチドは、多くのタイプの修飾を含むことができる。ポリペプチドは、ユビキネーション(ubiquitination)の結果として分枝することができ、そして分枝の有無に拘らず、環状であることができる。環状、分枝及び分枝環状ポリペプチドは、翻訳後天然プロセスから生じることができ、又は合成方法によりなされることができる。修飾は、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム成分の共有結合、ホスファチジルイノシトールの共有結合、架橋、環化、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、共有架橋の形成、システインの形成、ピログルタメートの形成、ホルミル化、ガンマ-カルボキシレーション、グリコシレーション、GPIアンカー形成、ヒドロキシレーション、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク質分解プロセッシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化、硫酸化、タンパク質へのアミノ酸の転移-RNA仲介付加、例えば、アルギニレーション、及びユビキチネーションを含む。例えば、Proteins-structure and molecular properties, 2nd Ed., T.E.Creighton, W.H.Freeman and Company, New York, 1993; F.Wood, Posttranslational protein modifications: perspectives and prospects, pgs.1-12 in Posttranslational covalent modification of proteins, B.C.Johnson, Ed., Academic Press, New York, 1983; S.Seifter and S.Englard, Analysis for protein modifications and nonprotein cofactors, 182 Methods of Enzymology 626 (1990); S.I.Rattan et al., Protein Synthesis, posttranslational modifications, and aging, 663 Ann NY Acad Sci 48 (1992)。

【0027】本明細書中に使用するとき、"変異体"は、参照ポリヌクレオチド又はポリペプチドとはそれぞれ相違するが、本質的特性を保持する、ポリヌクレオチド又はポリペプチドである。ポリヌクレオチドの典型的な変異体は、他の参照ポリヌクレオチドとはヌクレオチド配

列が相違する。上記変異体のヌクレオチド配列における変化は、上記参照ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドのアミノ酸配列を変更してもしなくてもよい。ヌクレオチドの変化は、以下に討議するように、上記参照配列によりコードされるポリペプチドにおける、アミノ酸置換、付加、欠失、融合、及び切断をもたらすことができる。ポリペプチドの典型的な変異体は、他の参照ポリペプチドとはアミノ酸配列が相違する。一般に、上記参照ポリペプチドの配列と上記変異体の配列が全体として酷似し、そして多くの領域において、同一であるように、相違は制限される。変異体と参照ポリペプチドは、いずれかの組合せにおける、1以上の置換、付加、及び/又は欠失によりアミノ酸配列が相違しうる。置換され又は挿入されたアミノ酸配列の残基は、その遺伝子コードによりコードされるものであってもなくてもよい。ポリヌクレオチド又はポリペプチドの変異体は、天然のもの、例えば、対立遺伝子変異体であることができ、又はそれは、天然に生じることが知られていない変異体であることができる。ポリヌクレオチド及びポリペプチドの非天然変異体は、突然変異誘発技術又は直接合成により作られることができる。

【0028】"同一性"は、ヌクレオチド配列又はアミノ酸配列の同一性の尺度である。一般に、最高のオーダーのマッチが得られるように、上記配列が整列される。"同一性"自体は、本分野に認知された意味をもち、そして公表された技術を用いて計算されることができる。例えば、Computational molecular biology, A.M.Leske, ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: informatics and genome projects, D.W.Smith, ed., Academic Press, New York, 1993; Computer analysis of sequence data, part 1, A.M.Griffin, and H.G.Griffin, eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence analysis in molecular biology, G.von Heijne, ed., Academic Press, 1987; 及びSequence analysis primer, M.Gribskov and J.Devereux, eds., M Stockton Press, New York, 1991を参照のこと。2つのポリヌクレオチド配列又はポリペプチド配列の間の同一性を計測するための多数の方法が存在するけれども、用語"同一性"は当業者に周知である。同一性及び類似性を決定する方法は、コンピュータ・プログラムにおいてコードされる。2つの配列の間の同一性及び類似性を決定するための好ましいコンピュータ・プログラム方法は、非限定的に、GCSプログラム・パッケージ; J.Devereux, et al., A comprehensive set of sequence analysis programs for the VAX, 12 (1) Nucleic Acids Research 387 (January 1984); BLASTP; BLASTN; FASTA; S.F.Altschul et al., Basic local alignment search tool, 215(3) Journal of Molecular Biology 403 (October 1990)を含む。同一性を決定する上記方法の中で、好ましい方法はBLASTPである。

【0029】説明として、Fig. 1の参照ヌクレオチド配列に少なくとも、例えば、95%の"同一性"を有するヌクレオチド配列をもつポリヌクレオチドにより、そのポリヌクレオチドのヌクレオチド配列は、そのポリヌクレオチド配列がFig. 1の参照ヌクレオチド配列の各100ヌクレオチド当り5までの点変異を含んでもよいということを除き、同一であるということが意図される。換言すれば、参照ヌクレオチド配列に少なくとも95%同一であるヌクレオチド配列をもつポリヌクレオチドを得るために、参照配列内のヌクレオチドの5%までが、欠失され又は他のヌクレオチドで置換されることができ、又は参照配列内の全ヌクレオチドの5%までの多数のヌクレオチドがその参照配列内に挿入されることができる。上記参照配列の上記突然変異は、上記参照ヌクレオチド配列の5又は3末端位で、又は上記末端位の間どこかで生じ、上記参照配列内のヌクレオチド間に個々にか又は上記参照配列内の1以上の連続群内に散在されることができる。

【0030】同様に、Fig. 2の参照アミノ酸配列に、少なくとも、例えば、95%の"同一性"を有するアミノ酸配列をもつポリペプチドにより、上記ポリペプチドのアミノ酸配列は、そのポリペプチド配列がFig. 2の参照アミノ酸の各100アミノ酸当り5までのアミノ酸変更を含んでもよいということを除き、同一であるということが意図される。換言すれば、参照アミノ酸配列に少なくとも95%同一であるアミノ酸配列をもつポリペプチドを得るために、参照配列内のアミノ酸残基の5%までが、欠失され又は他のアミノ酸で置換されることができ、又は参照配列内の全アミノ酸残基の5%までの多数のアミノ酸がその参照配列内に挿入されることができる。上記参照配列の上記変更は、上記参照アミノ酸配列のアミノ又はカルボキシル末端部分で、又は上記末端部分の間どこかで生じ、上記参照配列内の残基間に個々にか又は上記参照配列内の1以上の連続群内に散在されることができる。

【0031】ADAMTS-S1ポリペプチド1の局面においては、本発明は、ADAMTS-S1ポリペプチドに関する。ADAMTS-S1ポリペプチドは、Fig. 2のポリペプチド、並びにFig. 2のアミノ酸配列を含むポリペプチド、及びFig. 2の配列に少なくとも80%の同一性、好ましくは少なくとも90%の同一性、より好ましくは少なくとも95%の同一性、そして最も好ましくは少なくとも97~99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む。

【0032】ADAMTS-S1ポリペプチドは、プロセスされていない又は部分的にプロセスされた前駆体、あるいは"成熟"タンパク質の形態であることができ、これは、次に融合タンパク質の如き大きなタンパク質の一部であることができる。その成熟形は通常アミノ酸104から又はその付近から始まり、そしてそのカルボキシ

ル末端に続く。分泌又はリーダー配列、プロ配列、精製又は同定を助ける配列、例えば、多数のヒスチジン残基、又は組換え製造の間の安定性のための追加の配列を含む、追加のアミノ酸配列を含むことが、しばしば有利である。

【0033】ADAMTS-S1ポリペプチドの断片も本発明に包含される。断片は、上述のADAMTS-S1ポリペプチドのアミノ酸配列の部分とその全体が同一であるが全体とは同一でないところのアミノ酸配列を有するポリペプチドである。ADAMTS-S1ポリペプチドと同様に、断片は"独立"したものであり、又はそれらが一部又は領域を、最も好ましくは単一の連続領域として、形成するところのより大きなポリペプチド内に含まれることができる。

【0034】好ましい断片は、例えば、ADAMTS-S1ポリペプチドのアミノ酸配列をもつ切断ポリペプチドを含む。但し、アミノ末端を含む連続シリーズの残基又はカルボキシル末端を含む連続シリーズの残基の欠失、あるいは2つの連続シリーズの残基の欠失であってその中の1がアミノ末端をそして他がカルボキシル末端を含むものである。構造又は機能的特性を特徴とする断片、例えば、アルファ-ヘリックス及びアルファ-ヘリックス形成領域、ベータ-シート及びベータ-シート形成領域、ターン及びターン形成領域、コイル及びコイル形成領域、親水性領域、疎水性領域、アルファ両親媒性領域、ベータ両親媒性領域、フレキシブル領域、表面形成領域、基質結合領域、並びに高抗原性係数領域も好ましい。生物学的に活性な断片も好ましい。生物学的に活性な断片は、類似の活性又は改良された活性、又は減少された不所望の活性を有するものを含む、1以上のADAMTS-S1活性を仲介するものである。最も好ましいのは、Fig. 3に示すドメインの1以上を含む断片である。特に好ましい態様においては、上記断片は、そのメタロプロテイナーゼ・ドメイン、そのジスインテグリン・ドメイン又はそのスロンボスポンジン・ドメインを含む。他の態様においては、上記ポリペプチドは、その亜鉛結合性モチーフの延長を包含する、配列番号2のアミノ酸434~462を含む。

【0035】このような断片は、便利には、それ自体で、又は融合タンパク質の一部として使用される。例えば、本発明のタンパク質又はポリペプチドを含む融合タンパク質を発現するであろう発現ベクターが構築されることができる。このような融合タンパク質は、例えば、上記タンパク質に対する抗血清を産生するために、上記タンパク質の生化学的特性を研究するために、異なる免疫学的又は機能的特性を示すタンパク質を操作するために、同定又は精製を助けるために、組換え発現タンパク質の安定性を改良するために、又は治療剤として、使用されることができる。可能性のある融合タンパク質発現ベクターは、非限定的に、-ガラクトシダーゼ及びt

r p E 融合物、マルトース結合性タンパク質融合物 (p M a l シリーズ ; New England Biolabs)、グルタチオン - S - トランスフェラーゼ融合物 (p G E X シリーズ ; Pharmacia)、ポリヒスチジン融合物 (p E T シリーズ ; Novagen Inc., Madison, WI)、及びチオレドキシシン融合物 (p T r x F u s ; Invitrogen, Carlsbad, CA) をコードする配列を取り込んだベクターを含む。1 例としては、ジスインテグリン・ドメイン又は T S P D 10 メイン、あるいはその変異体又は断片を含むポリペプチドが、天然のジスインテグリン・ドメイン又は T S P D メインとのインビボ又はインピトロにおける相互作用を競合阻害するために、単独で又は融合タンパク質の部分として、投与されることができる。上記の及び他の融合タンパク質をコードする発現ベクターの構築方法は本分野において周知である。

【 0 0 3 6 】上記の定義された配列及び断片の変異体も本発明の部分形成する。好ましい変異体は、保存的アミノ酸置換すなわち、ある残基を同様の特徴を有する他のものにより置換するものによる上記指示物から変化したものである。典型的な保存的置換は、A l a , V a 20 l , L e u、及び I l e 間 ; S e r 及び T h r 間 ; 酸性残基 A s p 及び G l u 間 ; A s n 及び G l n 間 ; 塩基性残基 L y s 及び A r g 間 ; そして芳香族残基 P h e 及び T y r 間にある。特に好ましいのは、数個、5 ~ 1 0、1 ~ 5、又は 1 ~ 2 のアミノ酸が、いずれかの組合せにおいて、置換、欠失、又は付加されているような変異体である。

【 0 0 3 7 】本発明の A D A M T S - S 1 ポリペプチドは、いずれかの好適なやり方で調製されることができる。上記ポリペプチドは、単離天然ポリペプチド、組換え製造ポリペプチド、合成製造ポリペプチド、及び上記方法の組合せにより製造されたポリペプチドを含む。上記方法は、本分野においてよく理解されている。本発明の他の態様は、単離された A D A M T S - S 1 ポリペプチドである。単離ポリペプチドは、その天然環境から実質的に取り出されたものである。単離された A D A M T S - S 1 ポリペプチドは、例えば、その天然源から得られ、組換え技術を用いて製造され、又は化学的に合成されることができる。単離 A D A M T S - S 1 ポリペプチドは全長 A D A M T S - S 1 ポリペプチド、そのプロド 40 メインのフリン解裂によりプロセスされる予想成熟形態 (F L S Y ... から始まる予想成熟形態、アミノ酸 2 9 2)、あるいはアミノ酸が欠失、挿入、逆位、置換及び / 又は誘導体化 (例えば、グリコシル化、リン酸化、アセチル化、ミリストイル化、プレニル化、パルミトイル化、アミド化、及び / 又はグリコシルホスファチジル・イノシトールの付加) されているところの A D A M T S - S 1 ポリペプチドの如き、上記ポリペプチドのいずれかの同族体であることができる。A D A M T S - S 1 ポリペプチドの同族体は、その同族体をコードする核酸配 50

列が、本明細書中に開示する天然 A D A M T S - S 1 ポリペプチド・アミノ酸配列をコードする核酸配列にストリンジェント条件下ハイブリダイズすることができるように、天然 A D A M T S - S 1 ポリペプチド・アミノ酸配列に十分に類似するアミノ酸配列を有するポリペプチドである。本明細書中に使用するとき、"ストリンジェント・ハイブリダイズ条件"とは、5 x S S C、5 x D e n h a r d t ' s、1 % S D S、及び 1 0 0 μ g / m l 変性サケ精子 DNA 中 6 5 におけるフィルター結合 DNA へのハイブリダイゼーション、及び 0 . 1 x S S C / 0 . 1 % S D S 中 6 5 での洗浄をいう (例えば、A u s u b e l e t a l . (e d s .) , 1 9 8 9 , C u r r e n t P r o t o c o l s i n M o l e c u l a r B i o l o g y , V o l . 1 , G r e e n P u b l i s h i n g A s s o c i a t e s , I n c . , a n d J o h n W i l e y & S o n s , I n c . , N e w Y o r k , a t p . 2 . 1 0 . 3 を参照のこと) 。 A D A M T S - S 1 ポリペプチドの同族体は、その同族体が天然 A D A M T S - S 1 ポリペプチドの少なくとも 1 のエピトープに対して免疫応答を顕出する能力を有するように十分に、交差反応性であるアミノ酸配列を有するポリペプチドをも含む。好ましくは、上記同族体は、A D A M T S - S 1 の 1 以上の生物学的活性を保持する。

【 0 0 3 8 】本発明のタンパク質同族体の最小長は、対応の天然タンパク質をコードする核酸分子の相補的配列と安定したハイブリッドを形成することができる核酸分子によりコードされることができるために十分なものである。それ故、上記タンパク質同族体をコードする核酸分子のサイズは、核酸組成、上記核酸分子と相補的配列の間のパーセント・ホモロジー、並びにハイブリダイゼーション条件自体 (例えば、温度、塩濃度、及びホルムアミド濃度) に依存する。上記核酸の最小サイズは、典型的には、その核酸分子が G C リッチである場合、長さ少なくとも約 1 2 ~ 約 1 5 ヌクレオチドであり、そしてそれらが A T リッチである場合、少なくとも約 1 5 ~ 約 1 7 塩基である。本発明の A D A M T S - S 1 タンパク質同族体をコードするために使用される核酸分子の最小サイズは、長さ約 2 0 ~ 約 2 5 ヌクレオチドである。上記核酸分子は遺伝子の一部、遺伝子の全体、又は多数の遺伝子、又はその部分を含むことができる点で、上記核酸分子の最大サイズには、実施上の制約以外の、制限はない。1 の態様においては、本発明の A D A M T S - S 1 タンパク質同族体の最小サイズは、長さ 1 0 から、より好ましくは 1 2、さらにより好ましくは 2 5 アミノ酸である。他の態様においては、本発明のポリペプチドは、約 1 0 を超える、又は 2 5、好ましくは 7 5 を超える、より好ましくは 1 0 0 を超えるアミノ酸であって、配列番号 2 のアミノ酸配列に同一であるものを有するアミノ酸配列を含む。好ましいタンパク質又はポリペプチドのサイズは、全長、多価タンパク質 (すなわち、各々がある機能を有するところの 2 以上のドメインを有する融点タンパク質)、又は上記タンパク質の機能的部分が

望まれるかどうかは依存する。機能的部分は、本明細書中に記載されるドメイン、上記ドメインに関する本分野における知識及び上記ドメインのための知られたアッセイ、又はその機能活性に基づいて得られうる。有用なタンパク質断片又は他のポリペプチドは、配列番号2のADAMTS-S1タンパク質との抗原性交差反応性に基づいてスクリーニングされることもできる。

【0039】本発明のADAMTS-S1タンパク質同族体は、ADAMTS-S1タンパク質をコードする天然遺伝子の対立遺伝子変異体を含む。"天然"遺伝子は、自然に最もしばしば存在するものである。ADAMTS-S1タンパク質同族体は、非限定的に、例えば、ランダム又は標的化突然変異誘発を行うための古典的又は組換えDNA技術を用いて、あるタンパク質をコードする遺伝子を直接修飾することを含む、本分野に知られた技術を用いて製造されることができる。

【0040】他の態様においては、本発明のADAMTS-S1ポリペプチドは、本明細書中に開示するADAMTS-S1ポリペプチドの部分であって、(Tris-グリシンSDS-PAGEにより決定され、そして本分野において標準的な方法を用いて求められた)約25 kDの分子量をもつ部分を含む。

【0041】本発明は、翻訳後修飾を経験したADAMTS-S1タンパク質を包含する。このような修飾は、例えば、グリコシル化(例えば、N-結合及び/又はO結合オリゴ糖の付加を含む)又は翻訳後のコンフォメーション変化又は翻訳後欠失を含むことができる。他のADAMTSファミリー・メンバーに比較してADAMTS-S1のメタロプロテアーゼ・ドメインにおける29~36%の同一性に基づき、ADAMTS-S1は、1以上のタンパク質分解活性(例えば、コラゲナーゼ、アグレカナーゼ(aggreCANase)、プロコラーゲン・プロテアーゼ)、並びにスロンボスポンジン・ドメインの存在を要求してもしなくてもよい抗-血管形成活性を有することができる。Fig. 3及び4を参照のこと。ADAMTS-S1の上記の可能性のある活性は、当業者に知られた技術を用いてテストされることができる。例えば、P.D.Brown et al., Independent expression and cellular processing of Mr 72,000 type IV collagenase and interstitial collagenase in human tumorigenic cell lines, 50 (19) Cancer Research 6184 (October 1990); F.Vazquez et al., METH-1 a human ortholog of ADAMTS-1, and METH-2 are members of a new family of proteins with angio-inhibitory activity, 274 The Journal of Biological Chemistry 23349 (Aug. 1999); E.C.Arner et al., Generation and characterization of aggrecanase, 274 The Journal of Biological Chemistry 6594 (Mar. 1999); A.Collige et al., cDNA cloning and expression of bovine procollagen I N-proteinase: A new member of the superfamily

of zinc-metalloproteinases with binding sites for cell and other matrix components 94 Proceedings of the National Academy of Sciences (USA) 2374 (March 1997)を参照のこと。

【0042】ADAMTS-S1ポリヌクレオチド
本発明の他の局面は、ADAMTS-S1ポリヌクレオチドに関する。ADAMTS-S1ポリヌクレオチドは、上記ADAMTS-S1ポリペプチド及び断片をコードする単離されたポリヌクレオチド、並びにそれに密に関連するポリヌクレオチドを含む。より特に、本発明のADAMTS-S1ポリヌクレオチドは、Fig. 2のADAMTS-S1ポリペプチドをコードするFig. 1に示すヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、及びFig. 1の特定の配列を有するポリヌクレオチドを含む。ADAMTS-S1ポリヌクレオチドは、さらに、Fig. 2のADAMTS-S1ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列に少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、及びFig. 1のポリヌクレオチド配列に少なくとも80%同一であるポリヌクレオチドを含む。これに関しては、少なくとも90%同一であるポリヌクレオチドが特に好ましく、そして少なくとも95%をもつものが特に好ましい。さらに、少なくとも97%をもつものが高く好ましく、そして少なくとも98~99%をもつものが最も高く好ましく、少なくとも99%をもつものが最も好ましい。

【0043】1の態様においては、本発明の核酸分子は、配列番号1の配列に関して、1~50の間、より好ましくは1~25の間、そして最も好ましくは1~5の間のヌクレオチドが挿入、欠失、又は置換されているヌクレオチド配列をもつ。本発明のADAMTS-S1ポリヌクレオチドは、増幅又はADAMTS-S1のためのプローブ又はマーカーとしての使用のために用いる条件下でハイブリダイズするために十分な、Fig. 1中に含まれるヌクレオチド配列に対する同一性を有するヌクレオチド配列をも包含する。このような配列は、典型的には、50% GC含量の標的をもつ長さ15~25のヌクレオチドであり、そして当業者に周知のPCR増幅又はオリゴヌクレオチド・ハイブリダイゼーション方法において有用である(例えば、Promega Protocols and Applications Guide, Third Edition, (1996), ISBN 1-8822474-57-1を参照のこと)。

【0044】1の態様においては、単離核酸分子は、ADAMTS-S1に特異的な、すなわち、配列番号1のためのプローブとして特異的に作用する、配列番号1の断片を含む。この断片は、長さ、少なくとも、例えば15, 25, 35, 45又は75ヌクレオチドであることができる。本発明の他の態様は、ストリンジェント条件下、本発明のADAMTS-S1ポリペプチドの中の1以上をコードするADAMTS-S1ポリペプチド遺伝子(図1)と、ハイブリダイズすることができる単離核

酸分子である。

【0045】本発明の単離核酸分子は、DNA、RNA、あるいはDNA又はRNAのいずれかの誘導体を含むことができる。本発明の単離核酸分子は、全体の(すなわち、完全な)遺伝子としてか又は上記遺伝子との安定したハイブリッドを形成することができるその部分として、その天然源から得られうる。本明細書中に使用するとき、句、ある存在物の"少なくとも一部"とは、その存在物の機能的局面をもつために少なくとも十分な存在物の量をいう。例えば、本明細書中に使用するとき、核酸配列の少なくとも一部は、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下、特定の所望の遺伝子(例えば、ADAMTS遺伝子)との安定なハイブリッドを形成することができる一定量の核酸である。本発明の単離核酸分子は、組換え技術(例えば、ポリメラーゼ・チェーン・リアクション(PCR)増幅、クローニング)又は化学合成を用いても製造されうる。単離ADAMTS-S1タンパク質核酸分子は、非限定的に天然対立遺伝子変異体、及び本発明のADAMTS-S1タンパク質をコードし又はADAMTS-S1タンパク質をコードする天然核酸分子単離物とストリンジェント条件下安定したハイブリッドを形成するその核酸分子の能力を実質的に妨害しないようなやり方でヌクレオチドが挿入、欠失、置換、及び/又は逆位されているところの修飾核酸分子を含む、天然核酸分子及びその同族体を含む。

【0046】本発明は、上記ADAMTS-S1ポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチドをも提供する。ADAMTS-S1の発現

1の様態においては、本発明の単離ADAMTS-S1タンパク質は、上記タンパク質を製造するために有効な条件下で上記タンパク質を発現することができる組換え細胞を培養し、そして上記タンパク質を回収することにより製造される。好ましい細胞は、バクテリア(例えば、大腸菌(E. coli))、酵母(例えば、ピチア(Pichia))、昆虫(例えば、SF9)又は哺乳動物細胞(例えば、CHO, Cos7、及びHEK293)を含む。この組換え細胞は、ADAMTS-S1タンパク質を発現することができ、そして本発明の1以上の核酸分子で宿主細胞を形質転換させることにより製造される。このような組換え細胞は本発明の一部である。好適な形質転換技術は、非限定的に、トランスフェクション、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、リポフェクション、吸着、及びプロトプラスト融合を含む。本発明の組換え細胞は、単細胞のまま残存してもよいし又は組織臓器又は多細胞臓器に成長してもよい。慣用技術に従って細胞を形質転換させるために使用される本発明の核酸分子は染色体外に残ってもよいし又は発現されるそれらの能力が保持されるようなやり方で形質転換された(すなわち、組換え体)細胞の染色体内の1以上の部位に組み込まれることができる。

【0047】細胞を形質転換させるために好適な宿主細胞は、少なくとも1の本発明の核酸分子で形質転換された後に、本発明のADAMTS-S1タンパク質を製造することができるいずれかの細胞を含む。宿主細胞は、形質転換された細胞であるか又は少なくとも1の本発明の核酸分子で既に形質転換されている細胞のいずれかであることができる。好適な宿主細胞は、バクテリア、真菌(酵母を含む)、昆虫、動物、及び植物の細胞を含む。

【0048】本発明は、本発明のポリヌクレオチドを宿主細胞内に届けることができるベクター内に挿入された上記ポリヌクレオチドを含む組換えベクターをも包含する。このようなベクターは、通常、異種核酸配列、例えば、本発明のADAMTS-S1タンパク質の核酸分子に隣接して天然には存在しない核酸配列を含む。上記ベクターは、DNA又はRNAのいずれか、そして原核又は真核のいずれかであることができ、そして典型的には、ウイルス又はプラスミドである。組換えベクターは、本発明のADAMTS-S1ポリヌクレオチドのクローニング、配列決定、及び/又は他の操作又は発現において使用されることができる。

【0049】本発明の1の様態においては、組換え細胞は、1以上の転写制御配列を含有する発現ベクターに作用可能な状態で連結された1以上の本発明のポリヌクレオチド分子を各々含む、1以上の組換え分子で宿主細胞を形質転換させることにより製造される。句"作用可能な状態で連結された"とは、宿主細胞内に形質転換されるときにその分子が発現されることができるとようなやり方で発現ベクター内に挿入された核酸分子をいう。本明細書中に使用するとき、句"発現ベクター"とは、宿主細胞を形質転換させ、そして特定の核酸分子の発現をもたらすことができるDNA又はRNAベクターをいう。

【0050】好ましくは、上記発現ベクターは、上記宿主細胞内で複製することもできる。発現ベクターは、原核又は真核のいずれかであることができ、そして典型的にはウイルス又はプラスミドである。本発明の発現ベクターは、バクテリア、真菌(fungal)、昆虫、動物、及び/又は植物細胞内で直接的遺伝子発現をもたらすベクターを含む。本発明の核酸分子は、調節配列、例えば、プロモーター、オペレーター、レプレッサー、エンハンサー、終止配列、複製起点、及び他の調節配列であってその組換え細胞と適合性であり、かつ、核酸分子の発現を制御するものを含む発現ベクターに作用可能な状態で連結されることができる。本発明において使用されることができる転写制御配列は、転写の開始、伸長、及び終結を制御することができるものを含む。特に重要な転写制御配列は、転写開始を制御するもの、例えば、プロモーター、エンハンサー、オペレーター、及びレプレッサー配列である。好適な転写制御配列は、本発明の組換え細胞の中の1内で機能するものを含む。さまざま

なこのような転写制御配列が当業者に知られている。好ましい転写制御配列は、バクテリア、酵母、及び哺乳動物細胞内で機能するものを、例えば、非限定的に、tac, lac, trp, trc, oxy-pro, omp/lpp, rmB、バクテリオファージ・ラムダ() (例えば、 P_L と P_R 及びこれらプロモーターを含む融合物)、バクテリオファージT7、T7lac、バクテリオファージT3、バクテリオファージSP6、バクテリオファージSPO1、メタロチオネイン、アルファ接合因子、バキュロウイルス、ワクシニア・ウイルス、ヘルペス・ウイルス、ポックスウイルス、アデノウイルス、シミアン・ウイルス40、レトロウイルス作用、レトロウイルス・ロング・ターミナル・リピート、ラウス(Rous)サルコーマ・ウイルス、熱ショック、リン酸及び硝酸転写制御配列、並びに原核又は真核細胞内の遺伝子発現を制御することができる他の配列を、含む。追加の好適な転写制御配列は、組織特異的プロモーター及びエンハンサー並びにリンフォカイン誘導性プロモーター(例えば、インターフェロン又はインターロイキンにより誘導されるプロモーター)を含む。本発明の実施において有用な転写制御配列は、ADAMTS-S1タンパク質をコードするDNAに会合する天然配列を含む。

【0051】発現ベクター内への挿入のために好ましい核酸分子は、ADAMTS-S1タンパク質の少なくとも1部をコードする核酸分子、又はその同族体を含む。本発明の発現ベクターは、例えば、先に討議したような、融合タンパク質としての本発明の核酸分子の発現を許容する融合配列を含むこともできる。本発明のADAMTS-S1核酸分子内に融合配列を含ませることは、上記核酸分子によりコードされるタンパク質の製造、保存、又は使用の間の安定性を高めることができる。さらに、融合セグメントは、ADAMTS-S1タンパク質の検出及び精製を単純化して、アフィニティー・クロマトグラフィーによる精製を可能にする(例えば、Fig. 6を参照のこと)。融合セグメントは、望ましい機能(例えば、高められた安定性及び/又は容易な精製)を与えるいずれかのサイズを有することができる。1以上の融合セグメントを使用することは本発明の範囲内にある。融合セグメントは、本発明のADAMTS-S1タンパク質又はポリペプチドのアミノ及び/又はカルボキシル末端に連結されることができる。融合セグメントとADAMTS-S1タンパク質の間の結合は、ADAMTS-S1タンパク質の簡単な回収を可能にするように、開裂を受け易いように構築されることができる。融合タンパク質は、好ましくは、本発明のADAMTS-S1ポリペプチドのカルボキシル及び/又はアミノ末端に付着された融合セグメントをコードするアミノ酸配列で形質転換された組換え細胞を培養することにより製造される。

【0052】本発明は、本発明の核酸分子による形質転

換から生じた組換え細胞を含む。好ましい組換え細胞は、ADAMTS-S1タンパク質の少なくとも一部をコードする核酸分子、又はその同族体により形質転換される。本発明の核酸配列のコピー数の増幅は、その細胞のゲノム内の上記核酸配列のコピー数を増加させることにより又は形質転換により上記核酸配列の追加のコピーを導入することにより達成されることができる。コピー数の増加は、より多量の酵素が作られ、基質から生成物へ的高められた変換を導くようなやり方で行われる。形質転換は、酵素合成を高めるために細胞内に核酸が形質転換されるようないずれかの方法を用いて達成されることができる。形質転換前に、所望により、上記核酸配列は、より高い比活性をもつ酵素をコードするように操作されることができる。

【0053】本発明に従って、本発明のADAMTS-S1タンパク質を製造するために有効な条件下で組換え細胞を培養することにより上記タンパク質を製造し、そして上記タンパク質を回収するために、組換えタンパク質が使用される。有効な条件は、非限定的に、タンパク質製造を許容する適当な培地、バイオリアクター、温度、pH、及び酸素条件を含む。好適な培地は、典型的には水性であり、そして同化性炭水化物、窒素及びリン酸源、並びに適当な塩、ミネラル、金属その他の栄養素、例えばビタミン類を含む。上記培地は複合栄養素を含み、又は最小であることができる。

【0054】本発明の細胞は、非限定的に、バッチ、フェッド・バッチ(feed-batch)、細胞リサイクル、及び連続発酵槽を含む、慣用の発酵バイオリアクター内で培養されることができる。培養は、振とうフラスコ、試験管、マイクロタイター・ディッシュ、及びペトリ・プレート内で行われることもできる。培養は、組換え細胞のために適当な温度、pH、及び酸素含量において行われる。このような培養は当業者の専門的技術内にある。

【0055】製造のために使用されるベクター及び宿主系に依存して、得られたADAMTS-S1タンパク質は、組換え細胞内に残ることも又はその発酵培地中に分泌されることもできる。本発明に従って"タンパク質を回収する"ことは、上記タンパク質を含有する発酵培地又は細胞を単に集めることを含むことができ、そして分離又は精製の追加のステップを含む必要はない。本発明のADAMTS-S1タンパク質は、例えば、非限定的に、アフィニティー・クロマトグラフィー(Fig. 6)、イオン交換クロマトグラフィー、濾過、電気泳動、疎水相互作用クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、クロマトフォーカシング及び示差的可溶化を含む、さまざまな標準的タンパク質精製技術を用いて精製されることができる。

【0056】さらに、本発明のADAMTS-S1タンパク質は、トランスジェニック動物、又は上記動物から

回収された液体、例えば乳から回収されたADAMTS-S1タンパク質を発現する細胞からADAMTS-S1タンパク質を単離することにより製造されることができる。本発明の単離タンパク質又はポリペプチドは、以下さらに討議するように、治療用組成物を配合するために使用されることができる。

【0057】ADAMTS-S1に対する抗体

本発明は、本発明のADAMTS-S1タンパク質又はポリペプチドに選択的に結合することができる抗体をも含む。抗-ADAMTS-S1抗体のポリクローナル集団は、ADAMTS-S1抗血清中に含まれることができる。免疫プロット・アッセイ、免疫沈降アッセイ、酵素イムノアッセイ（例えば、ELISA）、ラジオイムノアッセイ、免疫蛍光抗体アッセイ、及び免疫電子顕微鏡を含む当業者に知られたさまざまな方法を用いて、結合は計測されることができる；例えば、Sambrook et al., Molecular cloning: a laboratory manual, Cold Spring Harbor Lab Press, 1989 を参照のこと。

【0058】本発明の抗体は、モノクローナル又はポリクローナル抗体のいずれかであることができ、そして本分野において標準的な技術を用いて調製されることができる。本発明の抗体は、抗体を得るために使用される上記タンパク質のエピトープの中の少なくとも1に選択的に結合することができる1本鎖抗体を含む、機能的等価物、例えば、抗体断片及び遺伝子操作された抗体を含む。好ましくは、抗体は、少なくとも一部、ADAMTS-S1核酸分子によりコードされるタンパク質に応答して、産生される。

【0059】ADAMTS-S1基質の同定

本発明は、ADAMTS-S1基質を同定するための方法をも包含する。上記方法は、候補基質を酵素的に活性化本発明のADAMTS-S1ポリペプチドを含むポリペプチドと接触させ、そして基質から生成物への変換が、又は上記候補基質へのポリペプチドの結合が測定されるようなものを含む。本発明は、候補化合物と本発明のポリペプチド又はポリヌクレオチドの間の相互作用を計算するコンピュータ・ソフトウェアを用いて行われる論理的(rational)ドラッグ・デザインをも包含する。

【0060】基質は、候補タンパク質又は合成基質アプローチにより同定されることができる。例えば、候補タンパク質は、アガロース・ゲル・マトリックス内に投げられ(cast)ることができ、そして上記タンパク質を消化するADAMTS-S1タンパク質の能力が電気泳動法(zymography)を用いて決定される。P.D.Brown et al., Independent expression and cellular processing of Mr72,000 type IV collagenase and interstitial collagenase in human tumorigenic cell lines, 50 (19) Cancer Research 6184 (October 1990) を参照のこと。あるいは、ファージ・ディスプレイ

又は蛍光計測ペプチド・ライブラリーが上記タンパク質の基質を同定するためにスクリーニングされることができる。D.R. O'Boyle et al., Identification of a novel peptide substrate of HSV-1 protease using substrate phage display, 236 (2) Virology 338 (September 1997) を参照のこと。

【0061】ADAMTS-S1のアゴニスト/アンタゴニスト

本発明は、ADAMTS-S1のアゴニスト及び/又はアンタゴニストを決定するためのアッセイも含む。アグレカナーゼ、コラゲナーゼ、プロコラーゲン・プロテアーゼ及び/又は血管形成の活性を測定するためのアッセイが、好ましくは700ダルトン未満の低分子量化合物である、アゴニスト又はアンタゴニストを同定するために使用されることができる。上記化合物は、ヒドロキサム酸成分又は場合により置換された複素環式核、あるいはアリール又は複素アリール・スルホンアミド成分を含むことができ、これらの化合物は、内因性又は組換えのADAMTS-S1の活性を阻害又は刺激する。E.C.Arner et al., Generation and characterization of aggrecanase. A soluble, cartilage-derived aggrecan-degrading activity, 274 Journal of Biological Chemistry 6594 (March 1999); M.D.Tortorella et al., 前掲; A.Colige et al., 前掲; K.Kuno et al., 前掲。ELISA又は蛍光基質アッセイは、ADAMTS-S1タンパク質の、アゴニスト又はアンタゴニストを決定するために、又は、その比タンパク質分解活性を測定するために、行われることができる。

【0062】診断的アッセイ

本発明は、ADAMTS-S1の発現及び/又は活性に関する病気を診断し又はその病気に対する感受性を診断するための方法をも含む。このような病気は、患者のゲノムにおける上記ADAMTS-S1ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列における突然変異の存在又は不存在を決定することにより同定されることができる。あるいは、患者から得られたサンプル中のADAMTS-S1ポリペプチドの存在又は量は、病気又は病気に対する感受性の指標として、測定されることができる。このような診断は、以下を含む病気に関して行われることができる：関節炎（変形性関節炎及びリウマチ様関節炎）、炎症性腸疾患、クローン病、気腫、急性呼吸困難症候群、喘息、慢性閉塞性肺疾患、アルツハイマー病、臓器移植毒性及び拒絶、悪液質、アレルギー、癌（例えば、固形腫瘍癌であって、結腸、乳房、肺、前立腺、脳を含むもの、並びに白血病及びリンパ腫を含む造血性悪性腫瘍）、組織潰瘍形成、再狭窄、歯周病、表皮水疱性、骨粗しょう症、人工関節インプラントのゆるみ、アテローム性動脈硬化症（アテローム性動脈硬化斑裂開を含む）、大動脈瘤（腹部大動脈及び脳大動脈瘤を含む）、うっ血性心不全、心筋梗塞、発作、脳虚血、頭部

外傷、脊髄損傷、神経変性疾患（急性及び慢性）、自己免疫疾患、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、片頭痛、うつ病、末梢ニューロパシー、痛み、脳アミロイド血管障害、向知性又は認識性亢進、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、眼血管形成、角膜損傷、黄斑変性症、異常外傷治癒、熱傷、糖尿病ショック、不妊症、並びにメタロプロテイナーゼ活性を特徴とし及び/又は哺乳動物のアダマリシン (adamalysin) 活性を特徴とする他の疾患。

【0063】治療用組成物及びADAMTS-S1の使 10 用

本発明の1の態様においては、ADAMTS-S1、又は本発明のポリペプチド又はポリヌクレオチドの、抗体、アゴニスト、アンタゴニスト、基質及び/又は変異体は、関節炎（変形性関節炎及びリウマチ様関節炎）、炎症性腸疾患、クローン病、気腫、急性呼吸困難症候群、喘息、慢性閉塞性肺疾患、アルツハイマー病、臓器移植毒性及び拒絶、悪液質、アレルギー、癌（例えば、固形腫瘍癌であって、結腸、乳房、肺、前立腺、脳を含むもの、並びに白血病及びリンパ腫を含む造血性悪性腫瘍）、組織潰瘍形成、再狭窄、歯周病、表皮水疱性、骨粗しょう症、人工関節インプラントのゆるみ、アテローム性動脈硬化症（アテローム性動脈硬化斑裂開を含む）、大動脈瘤（腹部大動脈及び脳大動脈瘤を含む）、うっ血性心不全、心筋梗塞、発作、脳虚血、頭部外傷、脊髄損傷、神経変性疾患（急性及び慢性）、自己免疫疾患、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、片頭痛、うつ病、末梢ニューロパシー、痛み、脳アミロイド血管障害、向知性又は認識性亢進、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、眼血管形成、角膜損傷、黄斑変性症、異常外傷治癒、熱傷、糖尿病ショック、不妊症、並びにメタロプロテイナーゼ活性を特徴とし及び/又は哺乳動物のアダマリシン (adamalysin) 活性を特徴とする他の疾患の治療のための治療用組成物中に使用される。

【0064】1の態様においては、例えば、本発明のポリヌクレオチドは、例えば、インピボ又はエクスピボ遺伝子治療の一部として、遺伝子治療の適用において細胞を形質転換させるために使用されることができる。ポリヌクレオチドは、アンチセンス療法において、そしてリボザイムの構築において使用されることができる。上記方法におけるポリヌクレオチドの使用は、当業者に知られている。

【0065】ヒトを含む哺乳動物への投与のためには、経口、非経口（例えば、静脈内、筋中又は皮下）、バツカル、肛門、及び局所を含むさまざまな慣用経路が使用されうる。経口投与のためには、さまざまな賦形剤、例えば微晶性セルロース、クエン酸ナトリウム、炭酸カルシウム、リン酸2カルシウム、及びグリシンを含有する錠剤が、さまざまな崩壊剤、例えば、デンプン（及び好ましくは、コーン、ポテト、又はタピオカ・デンプン 50

ン）、アルギン酸、及び特定の複雑なシリケートとともに、そしてポリビニルピロリドン、スクロース、ゼラチン及びアカシアの如き顆粒バインダーとともに、使用されることができる。類似のタイプの固体組成物も、ゼラチン・カプセル内の増量剤として使用される；この点で好ましい材料は、ラクトース又は乳糖並びに高分子量ポリエチレン・グリコールをも含む。水性懸濁液及び/又はエリキシルが経口投与のために望ましいとき、上記活性成分は、各種甘味料又は芳香剤、着色料又は染料、及び所望により、乳化及び/又は懸濁剤と、水、エタノール、プロピレン・グリコール、グリセリン及びその各種組合せの如き希釈剤とともに、併合されることができる。動物の場合には、それらは、有利には、5~5000 ppm、好ましくは、25~500 ppm の濃度で、動物飼料又は飲料水中に含有される。

【0066】非経口投与（筋中、腹腔内、皮下、及び静脈内使用）のためには、上記活性成分の滅菌注射液が通常調製される。ゴマ油又はピーナツ油又は水性プロピレン・グリコール中の上記治療用化合物の溶液が使用される。上記水性溶液は、必要により、好ましくは8より高いpHに好適に調整され、かつ、緩衝化され、そして上記液体希釈剤はまず等張性にされなければならない。上記水性溶液は、静脈内注射目的に好適である。上記油状溶液は、関節内、筋中、及び皮下注射目的のために好適である。無菌条件下での上記全溶液の調製は、当業者に周知の標準的な医薬技術により容易に達成される。動物の場合、化合物は、単一投与又は3回までの分割投与において与えられた、約0.1~50 mg/kg/日、有利には0.2~10 mg/kg/日の投与レベルにおいて筋中又は皮下投与されることができる。

【0067】活性化合物は、直腸組成物、例えば、坐剤又は保持浣腸中に、例えば、慣用の坐剤ベース、例えば、ココア・バター又は他のグリセリドを含んで、配合されることもできる。鼻腔内投与又は吸入による投与のためには、活性化合物は、便利には、患者により圧迫され又はポンピングされるポンプ・スプレー容器からの溶液又は懸濁液の形態で、又は好適な駆出剤、例えば、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、2酸化炭素又は他の好適な気体の使用により、加圧容器又は噴霧器からのエアロゾル・スプレーの提供として、デリバリーされる。加圧エアロゾルの場合、投与量単位は、計量された量をデリバリーするためのバルブを提供することにより測定されることができる。加圧された容器又は噴霧器は、上記活性化合物の溶液又は懸濁液を含有することができる。吸入器又はガス注入器内での使用のための（例えば、ゼラチンから作られた）カプセル及びカートリッジは、本発明の化合物と好適な粉末ベース、例えばラクトース又はデンプンの粉末ミックスを含有して、配合されることができる。

【0068】本発明の治療用組成物は、本明細書中に記載するような医学的失調をもついずれかの患者 (subject) に投与されることができる。有効なやり方で本発明の治療用化合物を投与するために用いられる許容されるプロトコルは、個々の投与量サイズ、投与数、投与の頻度及び投与モードに従って変化する。適当なプロトコルの決定は、過度の実験を伴わずに当業者により達成される。有効投与量は、本明細書中に記載する医学的失調に関して患者を治療することができる投与量という。有効投与量は、例えば、使用される治療用組成物、治療されている医学的失調並びに受容動物のサイズ及びタイプに依存して変化する。

【0069】投与量及び治療期間は、治療されている病的症状に依存する。治療期間は、1日、1週間以上であることができ、そして患者の寿命にわたって続くことができる。

ADAMTS - S1の同定

新規ADAMTS遺伝子ファミリー・メンバーの同定のために、公に入手可能なタンパク質配列の非凡長セットをアセンブルした (受託番号: D67076, AJ003125, AB002364, AB014588)。低ストリンジェンシーBLASTサーチのシリーズを、次に、7エリーとして上記タンパク質配列の各々を使用してLife Seq Gold (商標) データベース (Incyte) に対して行い、そしてRecA-仲介ホモロジー捕獲を対応cDNAクローンを単離するために使用した。上記捕獲配列にハイブリダイズするコロニーを単離し、そして最大のクローン (S3-2.6 kb) を配列決定した。上記配列は、シグナル・ペプチド、プロドメイン、フリン開裂部位、及び部分メタロプロテナーゼ・ドメインをコードしていた。しかしながら、Zinc結合性モチーフ、ジスインテグリン、及びスロンボスポンジン・モチーフは存在しなかった。次に、ADAMTSファミリー・メンバーをクローン化するための試みが、クローンの同定を導いた (IIA)。このクローンの配列決定は、ADAMTS - S1に対して重複した配列同一性をもつ55のアミノ酸を表し、そして残りのメタロプロテナーゼ・ドメインをコードしていた。従って、2つの独立したESTのクローニングの追跡により、上記複数の配列は、ADAMTS - S1といわれる1つの新規ADAMTSにまとまった (Fig. 1のヌクレオチド1~1385 [配列番号1])。公表された非注釈配列 (Gen Bankアクセス番号AB037733) が、我々の複合体ADAMTS - S1クローンと重なることが分かり、そしてADAMTS - S1のための全長配列 [配列番号1] の同定を完成させた。RT-PCRを使用して、ADAMTS - S1のための全長配列をクローン化し、そして一連の重複断片として配列決定した。ADAMTS - S1の完全ポリペプチド配列をFig. 2 [配列番号2] に示す。配列番号1のヌクレオチド1544

~4480を含む断片を、変形性関節炎軟骨RNAから以下のプライマー・セットを用いて増幅した:

配列番号1のヌクレオチド1544~2516 (センス 5'GGTGAATCCATCATGATACTGCTG3' [配列番号3]); アンチセンス 5'GAAGCTGATAGTAGGCTGTGTTCCC3' [配列番号4])

配列番号1のヌクレオチド2171-4480 (センス 5'ACAGATGGATCCTGGGGAAGTTGGA3' [配列番号5]); アンチセンス 5'CTGACATACAACAACACGCCGCTGG3' [配列番号6])

また、配列番号1のヌクレオチド3596~5470を含む3'末端を、以下のプライマー・セットを用いてA549 (ヒト肺セルライン) RNAからRT-PCRによりクローン化した: (センス 5'TCAGAGTGCTTGGTACCTGT3' [配列番号7]); アンチセンス5'CCCGCTTGCATACAAAGAA3' [配列番号8])。上記重複断片を作製するために行ったRT-PCRは、製造者の指示に従って、エロンガーゼ (Elongase) ポリメラーゼ (Roche, Indianapolis, IN) の添加をもって、One-Step-System (GIBCO, Gaithersburg) を使用した。簡単に言えば、1µlのElongaseポリメラーゼを添加して、200nMのセンス及びアンチセンス遺伝子特異的プライマーを含む各反応において、1µgの全RNAを使用した。熱サイクリング・パラメーターは: 30分間50、2分間94で1サイクル、その後94 15秒、55 30秒、及び72 6分間の35サイクルであった。

変形性関節炎(OA)軟骨由来軟骨細胞内でのADAMTS - S1の発現及び炎症誘発性サイトカインによる誘導

ADAMTS - S1に対するプライマーはLife Technologiesにより合成された (センス・プライマー 5'-GAGAGCCTCAACAGGAGGC-3' [配列番号9]) 及びアンチセンス・プライマー 5'-GCACTGAGTGGAAAACCCATCC-3' [配列番号10])。軟骨細胞を、変形性関節炎に罹った2患者の軟骨から単離し、そして組織培養基中で培養した。軟骨細胞を模擬処理 (Fig. 5中、レーン1 = 患者1、レーン3 = 患者2) し、又はレチノイン酸で処理 (Fig. 5中、レーン2、患者1) し、又はIL-1で処理 (Fig. 5中、レーン4、患者2) した。RNAを標準的な方法で単離し、そして5µgの各サンプルを、(Superscript逆転写酵素及び製造者により推奨される条件を用いて) オリゴTプライミングを使用した第1ストランドcDNA合成反応において使用した。4%のcDNA反応生成物を、製造者により推奨される条件を用いてPCR Supermix (LI1) 及び150ngの上記プライマーを使用したPCR反応において鋳型として使用した。PCRサイクリング条件95 60秒、その後94 30秒、54 30秒、72 45秒の30サイクル。反応生成物 (10µl) をア

ガロス・ゲル電気泳動(4% Nusieve, FMC)により分画し、そして臭化エチジウム染色ゲルをUVにより可視化した。PCR対照(Fig. 5中、水、レーン5)及びDNA分子量マーカー(図示せず、HaeIII, L T1で消化されたPhi XファージDNA)を含めた。矢印により示され、かつ、予想サイズに対応する(〜400ヌクレオチド)生成物は、両患者において観察され、そして炎症誘発性の剤による処理によりアップレギュレートされた。

切断されたADAMTS - S1融合タンパク質の発現及び精製

そのプロ、メタロプロテアーゼ、ジスインテグリン及び第1スロンボスポンジン・ドメインを含んでいたADAMTS - S1の切断バージョン(配列番号2のアミノ酸19〜698)を、(ヒト・キチナーゼ様タンパク質からの)異種アミノ末端分泌シグナル及びカルボキシ末端6ヒスチジン・タグとの融合タンパク質として、パキウウイルス発現ベクター(pFastBac誘導体、GIBCO BRL, Gaithersburg, MD)内にクローン化し、そしてニックル・アフィニティー・クロマトグラフィーにより精製し、そしてヒスチジン・タグ・エピトープ(Qiagen Inc., Valencia, CA)に対して生じた抗体を用いてウェスタン・プロットにより検出した。Fig. 6。発現された生成物のサイズ(45kD)は、上記プロドメインのフリン開裂による上記タンパク質の適当な成熟に一致した。特に、約100mlの馴らされた昆虫細胞培地を、20mMイミダゾールを含有するPBSに対して透析し、そしてバッチ・アフィニティー・クロマトグラフィーにより4*

* 一夜、精製した。この樹脂を、20mMイミダゾールを含有するホスフェート・バッファーで洗浄し、そして50mM, 100mM, そして最終的に250mMのイミダゾールを含有するホスフェート・バッファーでステップ・ワイズに溶出した。サンプルを、2分間煮沸により変性された5%B-メルカプトエタノールを含有するサンプル・バッファー(Novex, Carlsbad, CA)で2倍に希釈した。20µlの各サンプルを4〜20%グラジエントのSDS-PAGEミニ-ゲル上で分離し、そしてNitrocellulose(Novex, Carlsbad)に移した。BLASTP2.0.9分析は、Fig. 4中のアラインメントに示すように、多数のADAMTSファミリー・メンバーに対する高いホモロジーを示した。これまでの本発明の説明を、説明及び記述の目的のために提示してきた。さらに、上記説明は、本発明を、本明細書中に開示する形態に限定することを意図されない。従って、上記教示、及び関連分野における技術又は知識に相応する変更及び修正は、本発明の範囲内にある。添付クレームは、従来技術により許される程度で他の態様を含むと解釈されるべきであると意図される。

【0070】配列表

配列番号1は、ADAMTS - S1のヌクレオチド配列である。配列番号2は、ADAMTS - S1の演繹アミノ酸配列である。配列番号3〜10は、実施例中に記載するプライマーのヌクレオチド配列である。

【0071】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

```

<110> PFIZER INC.
<120> ADAMTS POLYPEPTIDES, NUCL
EIC ACIDS ENCODING THEM, AND USES THE
EOF
<130> PC10850A
<140> B015527
<141> 2001-3-22
<160> 10
<170> PatentIn Ver. 2.1
<210> 1
<211> 5949
<212> DNA
<213> Human
<400> 1
ccggaattcc cgggtcgacc cacgcgtccg gcc
cccatt caagaagccg ctcagctatc 60
cggccagca cagggcgccc ggcgcgcctc ggag
cgcaag ttctcgcct tctcctgccc 120
gctcgctggg cattatgagg ccaagcagcc gagg
cccagt cctcctcctc ctctgctcc 180
tccggtcct cctgcgccc gagcggctca gctc
tcggca ggcggcgcg ttgctcagcc 240
gagcgcagac gggaccctcg cagcgagacc tcag
cgactc ctaaagtcaa aagttggcgg 300

```

gacctgagc gaatacgaac tcgtgtctcc catc
cgagtg aacgctctcg gagaaccctt 600
tcccacgaac gtccacttca aaagaacgcg acgg
agcatt aactctgcca ctgaccctg 660
gcctgccttc gcctcctcct cttcctcctc tacc
tcctcc caggcgcat accgcctctc 720
tgcttctggc cagcagtttc tatttaactc cacc
gccaat gccggattta tcgctccact 780
gttactgtc accctcctcg ggacgcccgg ggtg
aatcag accaagtttt attccgaaga 840
ggaagcggaa ctcaagcact gtttctacaa aggc
tatgtc aataccaact ccgagcacac 900
ggccgtcatc agcctctgct caggaatgct gggc
acattc cggctctcatg atggggatta 960
ttttattgaa ccactacagt ctatggatga acaa
gaagat gaagaggaac aaaacaaacc 1020
ccacatcatt tataggcgca gcgccccca gaga
gagccc tcaacaggaa ggcattgcatg 1080
tgacacctca gaacacaaaa ataggcacag taaa
gacaag aagaaaacca gagcaagaaa 1140
atggggagaa aggattaacc tggctggtga cgta
gcagca ttaaacagcg gcttagcaac 1200
agaggcattt tctgcttatg gtaataagac ggac
aacaca agagaaaaga ggaccacag 1260
aaggacaaaa cgttttttat cctatccacg gttt
gtagaa gtcttgggtg tggcagacaa 1320
cagaatggtt tcataccatg gagaaaacct tcaa
cactat attttaactt taatgtcaat 1380
tgtagcctct atctataaag acccaagtat tgga
aattta attaatattg ttattgtgaa 1440
cttaattgtg attcataatg aacaggatgg gcct
tccata tcttttaatg ctgagacaac 1500
attaaaaaac ttttgccagt ggcagcattc gaag
aacagt ccaggtggaa tccatcatga 1560
tactgctgtt ctcttaacaa gacaggatat ctgc
agagct cagacaaaat gtgatacctt 1620
aggcctggct gaactgggaa ccatttgtga tccc
tataga agctgttcta ttagtgaaga 1680
tagtggattg agtacagctt ttacgatcgc ccat
gagctg ggccatgtgt ttaacatgcc 1740
tcatgatgac aacaacaaat gtaaagaaga agga
gttaag agtccccagc atgtcatggc 1800
tccaacactg aacttctaca ccaaccctg gatg
tggta aagtgtagtc gaaaatata 1860
cactgagttt ttagacactg gttatggcga gtgt
ttgctt aacgaacctg aatccagacc 1920
ctaccctttg cctgtccaac tgccaggcat cctt
tacaac gtgaataaac aatgtgaatt 1980
gatttttggc ccaggttctc aggtgtgccc atat
atgatg cagtgcagac ggctctggtg 2040
caataacgtc aatggagtac acaaaggctg ccgg
actcag cacacacctt gggccgatgg 2100
gacggagtgc gagcctggaa agcactgcaa gtat

taccattcag aggtgcagtg agttcccttg tcca
cagtgag aatctggag actggtcaga 3600
gtgcttggtc acctgtgaa aaggcataa gcac
cgccag gtctggtgic agtttggta 3660
agatcgatta aatgatagaa tgtgtgacct tgag
accaag ccaacatcta tgcagacttg 3720
tcagcagccg gaatgtgcat cctggcaggc ggg
ccctgg ggacagtgca gtgtcacttg 3780
tggacagga taccagctaa gagcagtga atgc
atcatt gggacttata tgtcagtgt 3840
agatgacaat gactgtaat cagcaactag acca
actgat acccaggact gtgaattacc 3900
atcatgtcat cctccccag ctgccccga aacg
aggaga agcacataca gtgcaccaag 3960
aaccagtg cgaattgggt ctggacccc atgc
tcagcc acttgtggga aaggtaccg 4020
gatgagatac gtcagctgcc gagatgagaa tggc
tctgtg gctgacgaga gtgcctgtgc 4080
taccctgcct agaccagtgg caaaggaaga atgt
tctgtg acaccctgtg ggcaatgaa 4140
ggccttggac tggagctctt gctctgtgac ctgt
gggcaa ggtagggcaa cccggcaagt 4200
gatgtgtg aactacagt acccagtgat cgat
cggagt gagtgtgacc aggattatat 4260
cccagaaact gaccaggact gttccatg acca
tgccct caaaggacc cagacagtgg 4320
cttagctcag cacccttcc aaaatgagga ctat
cgtccc cggagcgcca gccccagcc 4380
cacccatgtg ctgggtgaa accagtggag aact
ggcccc tggggagcat gttccagtac 4440
ctgtgctggc ggatcccagc ggcgtgtgt tgta
tgtcag gatgaaaatg gataaccgc 4500
aaacgactgt gtggagagaa taaaacctga tgag
caaaga gcctgtgaat ccggcccttg 4560
tcctcagtgg gcttatggca actggggaga gtgc
actaag ctgtgtggtg gaggcataag 4620
aacaagactg gtggtctgtc agcgggtcaa cgg
gaacgg tttccagatt tgagctgtga 4680
aattcttgat aaacctccg atcgtgagca gtgt
aacaca catgcttgc cacacgacgc 4740
tgcattgagt actggccctt ggagctcgtg ttct
gtctct tgtggtcgag gcataaaca 4800
acgaaatgt tactgcatgg caaagatgg aagc
cattta gaaagtgatt actgtaagca 4860
cctggctaag ccacatggc acagaaagt ccga
ggagga agatgcccc aatgaaagc 4920
tggcgcttgg agtcagtgt ctgtgtcctg tggc
cgaggc gtacagcaga ggcattggtg 4980
ctgtcagatc ggaacacaca aatagccag agag
accgag tgcaacccat acaccagacc 5040
ggagtggaa cgcgactgcc aaggcccacg gtgt
cccctc tacacttga gggcagagga 5100
atggcaagaa tgcaccaaga cctgcggcga aggc

Arg Leu His Pro Arg Gln Val Lys Leu Leu
 Glu Thr Leu Ser Glu Tyr
 35 40 45
 Glu Ile Val Ser Pro Ile Arg Val Asn Ala
 Leu Gly Glu Pro Phe Pro
 50 55 60
 Thr Asn Val His Phe Lys Arg Thr Arg Arg
 Ser Ile Asn Ser Ala Thr
 65 70 75 80
 Asp Pro Trp Pro Ala Phe Ala Ser Ser Ser
 Ser Ser Ser Thr Ser Ser
 85 90 95
 Gln Ala His Tyr Arg Leu Ser Ala Phe Gly
 Gln Gln Phe Leu Phe Asn
 100 105 110
 Leu Thr Ala Asn Ala Gly Phe Ile Ala Pro
 Leu Phe Thr Val Thr Leu
 115 120 125
 Leu Gly Thr Pro Gly Val Asn Gln Thr Lys
 Phe Tyr Ser Glu Glu Glu
 130 135 140
 Ala Glu Leu Lys His Cys Phe Tyr Lys Gly
 Tyr Val Asn Thr Asn Ser
 145 150 155 1
 60
 Glu His Thr Ala Val Ile Ser Leu Cys Ser
 Gly Met Leu Gly Thr Phe
 165 170 175
 Arg Ser His Asp Gly Asp Tyr Phe Ile Glu
 Pro Leu Gln Ser Met Asp
 180 185 190
 Glu Gln Glu Asp Glu Glu Gln Asn Lys
 Pro His Ile Ile Tyr Arg
 195 200 205
 Arg Ser Ala Pro Gln Arg Glu Pro Ser Thr
 Gly Arg His Ala Cys Asp
 210 215 220
 Thr Ser Glu His Lys Asn Arg His Ser Lys
 Asp Lys Lys Lys Thr Arg
 225 230 235 2
 40
 Ala Arg Lys Trp Gly Glu Arg Ile Asn Leu
 Ala Gly Asp Val Ala Ala
 245 250 255
 Leu Asn Ser Gly Leu Ala Thr Glu Ala Phe
 Ser Ala Tyr Gly Asn Lys
 260 265 270
 Thr Asp Asn Thr Arg Glu Lys Arg Thr His
 Arg Arg Thr Lys Arg Phe
 275 280 285
 Leu Ser Tyr Pro Arg Phe Val Glu Val Leu
 Val Val Ala Asp Asn Arg

Ala His Glu Leu Gly His Val Phe Asn Met
 Pro His Asp Asp Asn Asn
 435 440 445
 Lys Cys Lys Glu Glu Gly Val Lys Ser Pro
 Gln His Val Met Ala Pro
 450 455 460
 Thr Leu Asn Phe Tyr Thr Asn Pro Trp Met
 Trp Ser Lys Cys Ser Arg
 465 470 475 4
 80
 Lys Tyr Ile Thr Glu Phe Leu Asp Thr Gly
 Tyr Gly Glu Cys Leu Leu
 485 490 495
 Asn Glu Pro Glu Ser Arg Pro Tyr Pro Leu
 Pro Val Gln Leu Pro Gly
 500 505 510
 Ile Leu Tyr Asn Val Asn Lys Gln Cys Glu
 Leu Ile Phe Gly Pro Gly
 515 520 525
 Ser Gln Val Cys Pro Tyr Met Met Gln Cys
 Arg Arg Leu Trp Cys Asn
 530 535 540
 Asn Val Asn Gly Val His Lys Gly Cys Arg
 Thr Gln His Thr Pro Trp
 545 550 555 5
 60
 Ala Asp Gly Thr Glu Cys Glu Pro Gly Lys
 His Cys Lys Tyr Gly Phe
 565 570 575
 Cys Val Pro Lys Glu Met Asp Val Pro Val
 Thr Asp Gly Ser Trp Gly
 580 585 590
 Ser Trp Ser Pro Phe Gly Thr Cys Ser Arg
 Thr Cys Gly Gly Gly Ile
 595 600 605
 Lys Thr Ala Ile Arg Glu Cys Asn Arg Pro
 Glu Pro Lys Asn Gly Gly
 610 615 620
 Lys Tyr Cys Val Gly Arg Arg Met Lys Phe
 Lys Ser Cys Asn Thr Glu
 625 630 635 6
 40
 Pro Cys Leu Lys Gln Lys Arg Asp Phe Arg
 Asp Glu Gln Cys Ala His
 645 650 655
 Phe Asp Gly Lys His Phe Asn Ile Asn Gly
 Leu Leu Pro Asn Val Arg
 660 665 670
 Trp Val Pro Lys Tyr Ser Gly Ile Leu Met
 Lys Asp Arg Cys Lys Leu
 675 680 685
 Phe Cys Arg Val Ala Gly Asn Thr Ala Tyr
 Tyr Gln Leu Arg Asp Arg

Glu Thr Ala Val Glu Arg Ile Asn Ser Thr
 Asp Arg Ile Glu Gln Glu
 835 840 845
 Leu Leu Leu Gln Val Leu Ser Val Gly Lys
 Leu Tyr Asn Pro Asp Val
 850 855 860
 Arg Tyr Ser Phe Asn Ile Pro Ile Glu Asp
 Lys Pro Gln Gln Phe Tyr
 865 870 875 8
 80
 Trp Asn Ser His Gly Pro Trp Gln Ala Cys
 Ser Lys Pro Cys Gln Gly
 885 890 895
 Glu Arg Lys Arg Lys Leu Val Cys Thr Arg
 Glu Ser Asp Gln Leu Thr
 900 905 910
 Val Ser Asp Gln Arg Cys Asp Arg Leu Pro
 Gln Pro Gly His Ile Thr
 915 920 925
 Glu Pro Cys Gly Thr Asp Cys Asp Leu Arg
 Trp His Val Ala Ser Arg
 930 935 940
 Ser Glu Cys Ser Ala Gln Cys Gly Leu Gly
 Tyr Arg Thr Leu Asp Ile
 945 950 955 9
 60
 Tyr Cys Ala Lys Tyr Ser Arg Leu Asp Gly
 Lys Thr Glu Lys Val Asp
 965 970 975
 Asp Gly Phe Cys Ser Ser His Pro Lys Pro
 Ser Asn Arg Glu Lys Cys
 980 985 990
 Ser Gly Glu Cys Asn Thr Gly Gly Trp Arg
 Tyr Ser Ala Trp Thr Glu
 995 1000 1005
 Cys Ser Lys Ser Cys Asp Gly Gly Thr Gln
 Arg Arg Arg Ala Ile Cys
 1010 1015 1020
 Val Asn Thr Arg Asn Asp Val Leu Asp Asp
 Ser Lys Cys Thr His Gln
 1025 1030 1035
 1040
 Glu Lys Val Thr Ile Gln Arg Cys Ser Glu
 Phe Pro Cys Pro Gln Trp
 1045 1050 1055

 Lys Ser Gly Asp Trp Ser Glu Cys Leu Val
 Thr Cys Gly Lys Gly His
 1060 1065 1070
 Lys His Arg Gln Val Trp Cys Gln Phe Gly
 Glu Asp Arg Leu Asn Asp
 1075 1080 1085
 Arg Met Cys Asp Pro Glu Thr Lys Pro Thr

Glu Cys Ser Val Thr Pro Cys Gly Gln Trp Lys Ala Leu Asp Trp Ser	1235	1240	1245
Ser Cys Ser Val Thr Cys Gly Gln Gly Arg Ala Thr Arg Gln Val Met	1250	1255	1260
Cys Val Asn Tyr Ser Asp His Val Ile Asp Arg Ser Glu Cys Asp Gln	1265	1270	1275
1280			
Asp Tyr Ile Pro Glu Thr Asp Gln Asp Cys Ser Met Ser Pro Cys Pro	1285	1290	1295
Gln Arg Thr Pro Asp Ser Gly Leu Ala Gln His Pro Phe Gln Asn Glu	1300	1305	1310
Asp Tyr Arg Pro Arg Ser Ala Ser Pro Ser Arg Thr His Val Leu Gly	1315	1320	1325
Gly Asn Gln Trp Arg Thr Gly Pro Trp Gly Ala Cys Ser Ser Thr Cys	1330	1335	1340
Ala Gly Gly Ser Gln Arg Arg Val Val Val Cys Gln Asp Glu Asn Gly	1345	1350	1355
1360			
Tyr Thr Ala Asn Asp Cys Val Glu Arg Ile Lys Pro Asp Glu Gln Arg	1365	1370	1375
Ala Cys Glu Ser Gly Pro Cys Pro Gln Trp Ala Tyr Gly Asn Trp Gly	1380	1385	1390
Glu Cys Thr Lys Leu Cys Gly Gly Gly Ile Arg Thr Arg Leu Val Val	1395	1400	1405
Cys Gln Arg Ser Asn Gly Glu Arg Phe Pro Asp Leu Ser Cys Glu Ile	1410	1415	1420
Leu Asp Lys Pro Pro Asp Arg Glu Gln Cys Asn Thr His Ala Cys Pro	1425	1430	1435
1440			
His Asp Ala Ala Trp Ser Thr Gly Pro Trp Ser Ser Cys Ser Val Ser	1445	1450	1455
Cys Gly Arg Gly His Lys Gln Arg Asn Val Tyr Cys Met Ala Lys Asp	1460	1465	1470
Gly Ser His Leu Glu Ser Asp Tyr Cys Lys His Leu Ala Lys Pro His			

<210> 3
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Human
 <400> 3
 ggtggaatcc atcatgatac tgctg
 25

<210> 4
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Human
 <400> 4
 gaagctgata gtaggctgtg ttccc
 25

<210> 5
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Human
 <400> 5
 acagatggat cctggggaag ttgga
 25

<210> 6
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Human
 <400> 6
 ctgacataca acaacacgcc gctgg
 25

<210> 7
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Human
 <400> 7
 tcagagtgtc tggcacctg t
 21

<210> 8
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Human
 <400> 8
 cccgctttgc atacaaggaa
 20

<210> 9
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Human
 <400> 9
 gagagcctc acaggaggc
 32

【図面の簡単な説明】

19

【図1】 Fig. 1はA ~~210M~~ TOS - S 1の全長ポリヌクレ

<211> 23
 <212> DNA
 <213> Human

オチド配列〔配列番号1〕を示す。

【図2】 Fig. 1のつづきである。

【図3】Fig. 2は、ADAMTS - S1の実質的に完全なポリペプチド配列〔配列番号2〕を示す。

【図4】Fig. 3 (A)と(B)は、ADAMTSファミリーのタンパク質のドメイン、上記ADAMTS - S1ポリペプチド内の上記ドメインに対応する配列、及び核酸シグナチャー配列を示す。

【図5】Fig. 3 (B) のつづき。

【図6】Fig. 3 (B) のつづき。

【図7】Fig. 3 (B) のつづき。

【図8】Fig. 3 (B) のつづき。

【図9】Fig. 3 (B) のつづき。

【図10】Fig. 3 (B) のつづき。

【図11】Fig. 3 (B) のつづき。

【図12】Fig. 3 (B) のつづき。

* 【図13】Fig. 3 (B) のつづき。

【図14】Fig. 3 (B) のつづき。

【図15】Fig. 3 (B) のつづき。

【図16】Fig. 4は、他のADAMTSタンパク質の配列にアラインメントされたメタロプロテアーゼ・ドメインのADAMTS - S1ポリペプチド配列のホモロジーを示す。

【図17】Fig. 5は、変形性関節炎軟骨から調製された軟骨細胞における炎症誘発処理によるADAMTS - S1発現及び調節の半定量的PCR分析の結果を示す。

10

【図18】Fig. 6は、昆虫細胞内で発現された精製組換えADAMTS - S1 (アミノ酸19~698) のウェスタン・プロット分析を示す。

*

【図2】

図1のつづき

tgagaccaagccaacatctatgcagacttgtcagcagccggaatgtgcatcctggcagggcgggtccctggggacagtgcaagtgtca
cttgtggacagggataccagctaagagcagtgaaatgcatcattgggacttatatgtcagtggtagatgacaatgactgtaagtca
gcaactagaccaactgataccaggactgtgaattaccatcatgtcatcctccccagctgccccggaaacgaggagaagcacatc
cagtgaccaagaaccagtgccgatttgggtcttggaccctatgctcaqccacttggggaaaggtaccggatgagatcagtc
gctgcccagatgagaatggctctgtggtgacgagagtgccctgtgctaccctgacctagaccagtgccaaaggaagaatgtctgtc
acaccctgtggcaatggaagcccttggactggagctcttctctgtgacctgtggcaaggtagggcaaccggcaagtgatgtc
tgtcaactacagtgaccacgtgatcgatcggagtgagtggtgaccaggattatgccagaaactgaccaggactgttccatgtcac
catgcccctcaaaggacccccagacagtgcccttagctcagcacccttccaaaatgaggactatcgtccccggagcggcagccccagc
cgcaccatgtgctcggtggaaaccagtgaggaaactggccctggggagcatgttccagtaacctgtgctggcggatccccagcggc
tgttgtgtatgtcaggtgaaaatggatacaccgcaaacgactgtgtggagagaataaaacctgatgagcaaaagagcctgtgaa
ccggccctgtcctcagtgcccttatggcaactggggagagtgcactaagctgtgtggaggagcataagaacaagactgggtgtc
tgtcagcggtecaacggtgaaacgggttccagatttgagctgtgaaattcttgataaacctcccgatcgtgagcagtgtaacacac
tgcttgtccacacgacgctgcatggagtagtggcccttggagctcgtgttctgtctcttgggtcgagggcataaacaacgaaatc
ttactgcatggcaaaagatggaagccatttagaaagtgtactgtaaqcacctggctaagccacatgggcacagaaagtggcga
ggaggaagatgccccaaatggaagctggccttggagtcagtgctctgtgtcctgtggccgagcgtacagcagaggcatgtggg
ctgtcagatcggaacacacaaaatagccagagagaccgagtgcaaccatacaccagaccggagtcggaacgcgactgccaagcc
cacggtgtcccctctacacttggagggcagaggaatggcaagaatgcaccaagacctgcccgaaggctccaggtaccgcaaggtg
gtgtgtgtggatgacaacaaaaacgaggtgcatggggcacgctgtgacgtgagcaagcggccgggtggaccgtgaaagctgtagt
gcaaccctgagatgtctggatcacaggagaatggtcagaggtaccgtcctgggaactgtaaccatcgtcagctcagccatggc
ctgagagtgccagaggatgagtgagggtgagtgaggaaatgtgggagacttgaggctaccgcccgatgtgcaactgtgaaact
gtgtgtttctgacaagctcctcagcttccccagctagaattccttctatgcaaaagcgggagagatgtaagagatgggtctctaagt
cccttcaggtctacattctgtgattcacttgatgtcctattggcataaagaagaaatatttacaggggctgcaaaactcataggat
gctgtgaggtgctgaaagacagtttaagtataagaaaaatattgtagtccagggatacaacaaggagagatggcaactgtgacaac
tagcacatgctgtgtgaaagggagcagaatctcttcaactccagctgtggccatgcagaaatgtggtctagcgttaccagacctgat
ttttcaagagaggctaaaaatctggactagtatgtgagatttctaaactgaaaaatgggggctgaaatttttggtttaaaacatt
gtaaggggcaaaacaaacccttccatgaaccagatgtgtgtgctgtttcaaaacagcttcagaggaagaaaaataattttctat
aatatccgaagtatctcaagtac

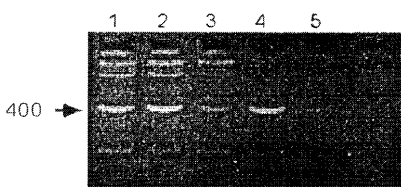
図
2

【図1】

図 1 ccggaattcccgggtcgaccacggtccggccccccattcaagaagccgctcagctatcccggccagcacagggcgc
 ccggcgcgcctcggagcgcgaagtctctcgccttctctgcccgcctcgcctgggcattatgcggccaagcagcccgagccccagtcctc
 ctctctctctcctcctccggctcctcctcgcccccggagcgcctcagctctcggcagggcggcgcttgcctcagccgagcgcagac
 gggaccctcgcagcgaacactcagcgaactcctaaagtcaaaagttggcggcggcggcggcctccgcgcgctctccaccggcgcctg
 cctcgcctcgcggccgcacccaaggaggcggcaggaggaggggggtgggggagcggaggagggggtgggaagcaccatgcagttg
 tatcctgggceactgctaacctcctgggtgcgggacctggccgagatggggaccagacgcccggcggcggcctgcgcaaggac
 agcctgcaccgagcgaagtgaatlatagagaccctgagcgaatacgaatacgtgtctccatccgagtgaaacgctctcggaga
 acccttcccacgaacgctcacttcaaaagaacgcgacggagcattaacctcgcactgaecctggcctgccttcgcctcctcct
 ctctctctctactcctcccaggcgcattaccgctctctgccttcggccagcagtttctattaatctcaccgccaatgcccga
 ttatcctcctcactgtcactgtcacctcctcgggacgcccggggtgaatcagaccaagttttatccgaaggyaagcggaaact
 caagcactgttctcaaaaggctatgtcaataccaactccgagcacacggccgtcatcagcctctgctcaggaatgctgggacat
 tccggctctcatgatggggtattttttatgaaacctacagctctatggatgaaccaagaagtgaagaggaaacaaacacccccac
 atctttataggcgcagcggccccagagagagcctcaacaggaaaggcatgcatgtgacacctcagaacacaaaaataggcacag
 taaagacaagaagaaaaccagagcaagaaaatgggggaaaggattaacctggctggtgacgtagcagcattaaacagcggcttag
 caacagagggcattttctgcttatggtataagacggacaacacagaagaaaaggaggcccacagaaggacaaaacgttttttatcc
 tatccacgggtttagaagctcttgggtggggcagacaacagaatggtttcataccatgggaaaccttcaacactatattttaa
 ttaagtgtcaattgtagcctctatctataaagaccaagtattggaatftaattaataattgtattgtgaacttaattgtgatc
 ataataaacaggatgggcttccatctcttttaagtctcagcaaacatttaaaacctttgcccagtygcagcattcgaagaacagt
 ccaggtgaaatccatcatgatactgctgtctcttaacaagacaggatctctgcagagctcagcaaaatgtgatccttaggcct
 ggctgaactgggaaccatttggatccctatagaagctgttctattagtgaagatagtggttagtgatcagcttttacgatcgcc
 atgagctggccatgtgttaacatgcctcatgatgacaacaacaaatgtaagaagaaggagtttagagtcctccagcagatgcatg
 gctccaacactgaactctacaccaaccctggatgtggtcaaggtgtagtcgaaataatcactgagtttttagacactggtta
 tggcgagtgttgccttaacgaacctgaatccagacctacccttgcctgtccaactgccaggcatcctttacaacgtgaataaac
 aatgtgaattgattttggaccaggttctcaggtgtgcccataatgatgcagtcagacggctctggtgcaataacgtcaatgga
 gtacacaaaggctgccggactcagcacacacctgggcccagtgggacggagtgcgagcctggaaagcactgcaagatggaatttg
 tgtcccaagaagaatggatgtcccctgacagatggatcctggggaagtggagctcccttggaaacctgctccagaacatgtagg
 gggcatcaaaacagccatcagaggtgcaacagaccagaacaaaaaatggtggaataactgttaggacgtagaatgaaat
 aagctctgcaaacggagccatgtctcaagcagaagcgcgactccgagatgaacagtgctcactttgacgggaaagcatttta
 catcaacggctgcttcccaatgtgcctgggtccctaaatacagtggaattctgatgaaggaccgggtgcaagttgttctgcagag
 tggcagggaaacacagcctactatcagctcagagacagagtgatagatggaactccttggccaggacacaaatgatctgtgct
 cagggcctttgcccggcaagctggatgcgatcatgtttaaactcaaaagccccggagagataaatgtggggtttgtggtggcgata
 ttcttcatgcaaaaacagtgccaggaacatttaatacagtacattatggttacaatactgtggtccgaatccagctggtgtacca
 atatgtagtgccggcagcacagtttctcaggggaaacagacgatgacaactacttagctttatcaagcagtaaaaggatctctg
 ctaaatggaacctttgtgtcacaatggccaaagggaatcgcattgggaatgctgtggtagagtacagtggtccgagactgc
 cgtagaagaatatactcaacagatgcgatlgagcaagaactttgctcaggttttgcgggtgggaaagtgtacaaccccgatg
 tacgctattcttcaatattccaattgaaagataaacctcagcagtttactggaacagctcatggccatggcaagcatgcatgaa
 ccctgccaaaggggaacggaaacgaaaacttgttgcaccaggaatctgatcagcttactgtttctgatcaagatgcgatcgct
 gcccagcctggacacattactgaacctgtggtacagactgtgacctgaggtggcatgtgccagcaggagtgaaatgtagtgcct
 agtgtgcttgggttaccgcacattggacatctactgtgcaaaatagcaggctggatgggaagactgaaaggttgatgatggt
 tttgtagcagccatcccaaaccaagcaaccgtgaaaaatgctcaggggaatgtaacacgggtgctggcctatctgctggac
 tgaatgttcaaaaagctgtgacggtgggaccagaggagaagggtatattgtgtcaatacccgaatgatgtactggatgacagcc
 aatccacacatcaagagaagttaccattcagaggtgacgtgagttcccttgtccacagtggaatctggagactggtcagagtg
 ttggtcacctgtggaaaagggcataagcaccgcccaggtctgggtcagtttgggtgaagatcgattaatgatgaatggtgaccc

【図17】

図 17



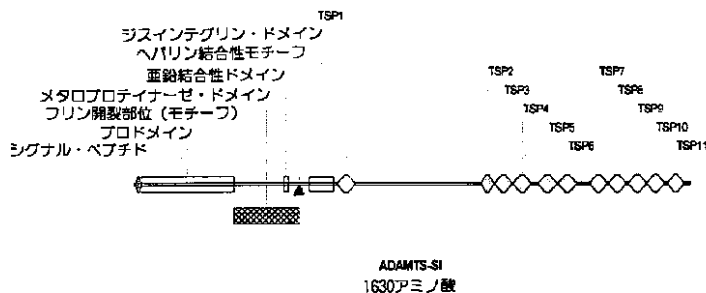


mqfvswatlltllvrldlaemgspdaaaavrkrhlprqvkllletlseivspirvnaigeftntvhrtrrsins
atdpwpafeesssestssqahyrlsafaqqflnltanegfiaplftvtllgtppgvnqtkyseeeaelkncfykygvvntnsehta
vislcsqmlqtfrshdqdyfieplqsmdeqedeegknkphillyrsapqrepsstgrhacdtsehknrnskdkktrarkwgerini
agdvaalnsqleteafsaaygnktontrekrhrrtkrflsyprfvevlvvdnrmvsvyngenlqhyiltimsivasiykdpsigni
inivivnli.vihneqgppsisiinaqtllknfcqwhsknspggihhdtavlltrqdicrahdkcdtlqlaelqticdpyrscsise
dsglstaftiehelghvinmphdnnkckeegvksqhvmaplfnfytnpwmwskcsrkyitefldtgyaecllinepesfpylpv
qlpgillynvnkqcelifpggsqvcpymmqrllwcnvngvhhqcrthtqwadgtecepgkckkygfcvupkemavpvtcdgswgsw
spfgtcsrtc9ggiktairecnrpepkngkyvgrmrkfkscntepclkgkrdfredeqcahfdgkhhfningllpnvrwvypkysg:
lmdrckli crvaqntayyqlrdrvldgtpcgqdtndicvqqlcrqagcdhvlnskarrdkcgvcggnssckttvaqgtfntvhyg:
ntvripagetnidvrqhsifsgetdddnylalsskgeflingnfvvtmakreirignavveysgsetaverinstdrieqellc
vlsvgllynppdvrvsfinipiedkppqfiymshgppwqacs kpcqgerkrklvtresdqltvsdqrcdrilppqghi tepcgtcdcl:
whvasrsecsaqcglgyrtldiyca kysrldgktekvddgfcs shpkpsnre kcsgecntggwrysa wtecskscdgggtqrrraic
vntrndvldds kcthcekvtiqrcseifpcpqqwksgdwseclvtcgkghkhrqvwcfgedrindrmcdpetkptsmqtccqpeccas
wqgppwgqcsvtcgggyqlravkciigtymsvvddndcnaatrptdtqdeelpschppaapetrrstysaprtqwrfgswtppsã
tcgkqtrmryvsvcrdenqsvadesacatlprpvakeecsvpcgqkwkalqws scsvtcgggratigvmc vnyshdvidrsecdddy
ipetdqacsmpcpqrtpsdglaghpifqnedyrprsa spsrthvl ggnqwrtpgwacsstcaggsqrrvvvcqdengytandcve
rikpdeeqracesgpcpqqwaygnwqectklcgggi rtilvvcqrsngerfpdl sceilldkppdireqcnthacphdaawstgppwsscs
vscgrghkqrnvycmakdgshiesdycxhllakphghrkcrrgrcpkxkaagawsqcsvsccgrgvqqrhvqcqigtghkxiaretecnpy
trpeserdcqgprcplytwraeeqectktcgegsryrkvvcvddnknevnhqarcdvskrpvdrescslqpceyvwiitgewsevpv
we1*

【図4】

ADAMTS-SIのドメイン構造

シグナルペプチド(1-18)、プロドメイン(19-287)、フリン断裂部(288)、
 メタロプロテイナーゼ・ドメイン(289-478)、亜鉛結合モチーフ(434-448)、
 ヘパリン結合性モチーフ(478-482)、ジスインテグリン・ドメイン(509-578)、
 スロンボスポンジン・モチーフ(589-642)、スパーザー領域(643-1014)、
 スロンボスポンジン・サブモチーフ(1001-1053、1056-1108、1111-1165、
 1186-1238、1240-1295、1332-1383、1386-1439、1445-1500、1501-1554、
 1559-1612)



【図15】

図15

```

5521 TCACCTTGAT GTCCTATGG CATAAAGAAG AAATTATTAC AGGGGCTGCA AACTCATAGC
AGTGGAACTA CAGGATAACC GTATTTCTTC TTTAATAATG TCCCCGACGT TTGAGTATCC

5581 ATGCTGTGAG GTGCCTGAAG ACAGTTAAGT ATAAGAAAAT ATTGTAGTGC CAGGGATACA
TAGGACACTC CACGGACTTC IGTCAAITCA TATTCITTTA TAACATCAGG GTCCCTATGT

5641 ACAAGGAGAG ATGGCAAATG TGACAAACTA GCACATGCTG TGIGAAGGGA GCAGAATCTC
TGTTCCCTIC TACCGTTGAC ACTGTTTIGT CGGTGACGAC ACACCTCCCT CGTCTTAGAG

5701 TTCACTCCA GCTGTGGCCA TGCAGAAATG TGGTCTAGCG TTACCAGACC TGATTTTTCA
AAAGTGAGGT CGACACCGGT ACGTCTTTAC ACCAGATCGC AATGGTCTGG ACTAAAAAGT

5761 AGAGAGGCTA AAAATCTGGA CTAGTATGTG AGATTTCTCA ACTTGAAAAT GGGGGCTGAA
TCTCTCCGAT TTTTAGACCT GATCATACAC TCTAAAGGAT TGAACITTTA CCCCCGACTC

5821 ATTTTTGGTT TTA AACATT GTAAGGGGCA AACAAACCCC TTTCATGAAC CAGATGTGT
TAAAAACCAA AATTTTGTAA CATTCCTCCGTTGTTGGG AAAGTACTTG GTCTACACAA

5881 GTGCCTGTTT AACAAACAGC TTCAGAGGAA GAAAATAATT TTCTATAATA TCCGAAGTAT
CACGGACAAA TTGTTTGTCG AAGTCTCCCT CTTTTATTAA AAGATATTAT AGGCTTCATA

5941 CTC AAGTACC ATTTTTTCAT ATATCTTCTT GTGCACAATG CTTATCTAGA CCTTTTTTAA
GAGTTCAITG TAAAAAAGTA TATAGAAGGA CACGTGTTAC GAATGATCT GGGAAAAAT

```

ポリA部位

```

6001 TGGTAATAAA CCAAGTAGTAA TCAI
ACCATTATTT GGTCAATCATT AGTA

```

【図5】

```

5 1  CCGGAATTCC CGGGTCGACC CACGCGTCCG GCCCCCATT CAAGAAGCCG CTCAGCTATC
    GGCCTTAAGG GCCCAGCTGG GTGCGCAGGC CGGGGGTAA GTTCTTCGGC GAGTCGATAG

61  CCGGGCCAGCA CAGGGCGCCC GCGCGCCTC GGAGCGCAAG TTCTCGCCT ICTCTGCC
    GGCCGGTCTG STCCCGCGG CCGCGCGGAG CCTCGCGTTC AAGGAGCGGA AGAGGACGGG

121 GTCGCTGGG CATTATGCG CCAAGCAGCC GAGCCCCAGT CCTCCTCCTC CTCTGTCTCC
    CGAGCGACCC GTAATACGCC GGTTCGTCTG CTCGGGTCA GGAGGAGGAG GAGGACGAGG

181 TCCGGCTCCT CCTGCGGCC GAGCGGCTCA GCTCTCGGCA GCGGCGGGG TTGCTCAGCC
    AGCCCGAGGA GGACCCCGG CTCGCCGAGT CGAGAGCCGT CCGCCGCCG AACGAGTCGG

241 GAGCGCAGAC GGGACCCTCG CAGCGAGACC TCAGCGACTC CTAAAGTCAA AAGTTGGCGG
    CTCGCGTCTG CCTCGGAGC GTCGCTCTGG AGTCGCTGAG GATTTCAATT TCAACCACC

301 CCGGGCGCCG GCTCCGCGC CTCTCCACGG CCGCTGCCCT GCGTCGCCGC CGCAGCCAAG
    GCCCCGGCC CGAGGCGCG GAGAGGTGCC GCGCAGCGG CCGCAGCGGG GCGTCGGTTC

+2                                     M Q F
                                     開始 met
                                     ***
                                     Kozak コンセンサス
                                     *****
                                     シグナル・ペプチド
                                     -----
361 GAGGGCAGGA GGGAGGGGGG TGGGGCAGC GGAGGGAGGG GTGGGAAGCA CCATGCAGTT
    CTCCTGCTCT CCTCCCCC ACCCCCGTCT CCTCCCTCCC CACCCTTCTG GGTACGTCAA

+2  V S W A T L L T L L V R D L A E M G S P
                                     シグナル・ペプチド開裂部位
                                     .
                                     シグナル・ペプチド          プロドメイン
                                     -----
421 TGTATCCTGG GCCACACTGC TAACGCTCCT GGTGCGGGAC CTGGCCGAGA TGGGAGGCC
    ACATAGGACC CGGTGTGACG ATTGCGAGGA CCACGCCCTG GACCGGCTCT ACCCTCGGG

+2  D A A A A V R K D R L H P R Q V K L L E
                                     プロドメイン
                                     -----
481 AGACGCGCG GCGGCGTGC GCAAGGACAG GCTGCACCCG AGGCAAGTGA AATTATTAGA
    TCTGCGGCGC CGCCGGCACG CGTTCCTGTC CGACGTGGGC TCCGTTCCTT TAAATAATCT

+2  T L S E Y E I V S P I R V N A L G E P F
                                     プロドメイン
                                     -----
541 GACCTGAGC GAATACGAAA TCGTGTCTCC CATCCGAGTG AACGCTCTCG GAGAACCCTT
    CTGGGACTCG CTIATGCTTT AGCACAGAGG GTAGGCTCAC TIGCGAGAGC CTCTTGGGAA

+2  P T N V H F K R T R R S I N S A T D P W
                                     プロドメイン
                                     -----
601 TCCACGAAAC GTCCACTTCA AAAGAACGCG ACGGAGCATT AACTCTGCCA CTGACCCCTG

```

【図6】

図 6 +2 P A F A S S S S S S E T S S Q A H Y R L E
 プロドメイン

 661 GCCTGCCTTC GCCTCCTCT CTTCCTCTC TACCTCTCC CAGGCGCATT ACCGCTCTC
 CGGACGGAAG CCGAGGAGGA GAAGGAGGAG ATGGAGGAGG GTCCCGTAA TGGCGGAGAG

 +2 A F G Q Q F L F N L T A N A G F I A P I
 プロドメイン

 721 TGCCTTCGGC CAGCAGTTTC TATTTAATCT CACCGCCAAT GCCGGATTTA TCGTCCACT
 ACCGAAGCCG GTCGTCAAAG ATAAATTAGA GTGGCGGITA CGGCCTAAAT AGCGAGGTGA

 +2 F T V T L L G T P G V N Q T K F Y S E E
 プロドメイン

 781 GTTCACTGTC ACCCTCCTCG GGACGCCCGG GGTGAATCAG ACCAAGTTTT ATTCGGAAGA
 CAAGTGACAG TGGGAGGAGC CCTGCGGGCC CCACTTAGTC TGCTCAAAA TAAGGCTTCT

 +2 E A E L K H C F Y K G Y V N T N S E H T
 プロドメイン

 841 GGAAGCGGAA CTCAGCACT GTTCTACAA AGGCTATGTC AATACCAACT CCGAGCACAC
 CCTTCGCCTT GAGTTCGTGA CAAAGATGTT TCCGATACAG TTATGGTTGA GGCTCGTGTG

 +2 A V I S L C S G M L G T F R S H D G D Y
 プロドメイン

 901 GGCCGTCATC AGCCTCTGCT CAGGAATGCT GGGCACCATC CGTCTCATG ATGGGGATTA
 CCGGCAGTAG TCGGAGACGA GTCCTTACGA CCGGTGTAAG GCCAGAGTAC TACCCCTAAT

 +2 F I E P L Q S M D E Q E D E E E Q N K P
 プロドメイン

 961 TTTTATTGAA CCACTACAGT CTATGGATGA ACAAGAAGAT GAAGAGGAAC AAAACAAACC
 AAAATAACTT GGTGATGTCA GATACCTACT TGTTCITCTA CTTCTCCTTG TTTTGTGTTG

 +2 H I I Y R R S A P Q R E P S T G R H A C
 プロドメイン

 1021 CCACATCATT TATAGGCGCA GCGCCCCCA GAGAGAGCCC TCAACAGGAA GGCATGCATG
 GGTGTAGTAA ATATCCCGGT CCGGGGGGT CTCTCTCGGG AGTTGTCTTT CCGTACGTAC

 +2 D T S E H K N R H S K D K K K I R A R K
 プロドメイン

 1081 TGACACCTCA GAACACAAAA ATAGGCACAG TAAAGACAAG AAGAAAACCA GAGCAAGAAA
 ACTGTGGAGT CTTGTGTTTT TATCCGTGTC ATTTCTGTTC TTCCTTGGT CTCGTTCTTI

 +2 W G E R I N L A G D V A A L N S G L A T
 プロドメイン

 1141 ATGGGGAGAA AGGATTAACC TGGCTGGTGA CGTAGCAGCA ITAACAGCG GCITAGCAAC
 TACCCCTCTT TCCTAATGG ACCGACCACT GCATCGTCTG AATTGTCTCG CGAAICGTTG

【図9】

図 9 +2 V P V T D G S W G S W S F F G T C S R T
 シスインテグリン・ドメイン TSP1

 2161 TGTCCCGTG ACAGATGGAT CCTGGGGAAG TTGGAGTCCC TTGGAACTT GCTCCAGAAC
 ACAGGGGCAC TGTCTACCTA GGACCCCTTC AACCTCAGGG AAACCTTGA CGAGGTCTTG

 +2 C G G G I K T A I R E C N R P E F K N G
 TSP1

 2221 ATGTGGAGGG GGCATCAAAA CAGCCATTCC AGAGTGCAAC AGACCAGAAC CAAAAAATGG
 TACACCTCCC CCGTAGTTTT GTCGGTAAGC TCTCAGTIG TCTGGICTTG GTTTTTTACC

 +2 G K Y C V G R R M K F K S C N T E P C L
 TSP1 スペーサー領域

 2281 TGGAAAATAC TGTGTAGGAC GTAGAATGAA ATTTAAGTCC TGCAACACGG AGCCATGTCT
 ACCTTTTATG ACACATCCTG CRTCTTACTT TAAATTCAGG ACCTTGTGCC TCGGTACAGA

 +2 K O K R D F R D E Q C A H F D G K H F N
 スペーサー領域

 2341 CAAGCAGAAG CGAGACTTCC GAGATGAACA GTGTGCTCAC TTGACGGGA AGCATTTTAA
 GTTCGTCTTC GCTCTGAAGG CTCTACTTGT CACACGAGTG AAACCTGCCCT TCGTAAAAAT

 +2 I N G L L P N V R W V P K Y S G I L M K
 スペーサー領域

 2401 CATCAACGGT CTGCTTCCCA ATGTGCGCTG GGTCCCTAAA TACAGTGGAA TTCTGATGAA
 GTAGTTGCCA GAGGAAGGGT TACACGGAC CCAGGGATTT ATGTCACCTT AAGACTACTT

 +2 D R C K L F C R V A G N T A Y Y Q L R D
 スペーサー領域

 2461 GGACCGGTGC AAGTGTCTT GCAGAGTGGC AGGGAACACA GCCTACTATC AGCTTCGAGA
 CCTGGCCAG TTCAACAAGA CGTTCACCG TCCCTTGTGT CGGATGATAG TCGAAGCTCT

 +2 R V I D G T P C G Q D T N D I C V Q G L
 スペーサー領域

 2521 CAGAGTGATA GATGGAATC CTJGIGGCCA GGACACAAAT GATATCTGTG TCCAGGGCCT
 GTCTCACTAT CTACCTTGAG GAACACCGGT CCTGTGTTTA CTATAGACAC AGGTCCCGGA

 +2 C R Q A G C D H V L N S K A R R D K C G
 スペーサー領域

 2581 TTGCCGGCAA GCTGGATGCG ATCATGTTTT AAACCTCAAAA GCCCGGAGAG ATAAATGTGG
 AACGGCCGTT CGACCTACGC TAGTACAAAA TTTGAGTTTT CGGGCCTCTC TATTTACCC

 +2 V C G G D N S S C K T V A G T F N T V H
 スペーサー領域

 2641 GGTITGTGGT GGCATAAAT CTTCATGCAA AACAGTGGCA GGAACATTTA ATACAGTACA
 CCAAACACCA CCGCTATTAA GAAGTACGTT TTGTACCCGT CCTGTAAAT TATGTCATGT

【図10】

図10 +2 Y G Y N T V V R I P A G A T N I D V R C
 スペーサー領域
 2701 TTATGGTTAC AATACTGTGG TCCGAATTCC AGCTGGTGCT ACCAATATTG ATGTGGGGCA
 AATACCAATG TTATGACACC AGGCTTAAGG TCGACCACGA TGGTTATAAC TACACGCCGT

 +2 H S F S G E T D D E N Y L A L S S S K G
 スペーサー領域
 2761 GCACAGTTTC TCAGGGGAAA CAGACGATGA CAACTACTTA GCTTTATCAA GCAGTAAAGG
 CGTGTCAAAG AGTCCCTTTT GTCTGCTACT GTTCATGAAT CGAAATAGTI CGTCATTTCT

 +2 E F L L N G N F V V T M A K R E I R I G
 スペーサー領域
 2821 TGAATTCCTG CTAATCGAA ACTTTGTTGT CACAATGGCC AAAAGGGAAA TTCGCATTGG
 ACTTAACAAC GATTACCTT TGAACAACA GIGTTACCGG TTTTCCCTTT AAGCGTAAAC

 +2 N A V V E Y S G S E T A V E R I N S T E
 スペーサー領域
 2881 GAATGCTGTG GTAGAGTACA GTGGGTCCGA GACTGCCGTA GAAAGAATTA ACTCAACAGA
 CTTACGACAC CATCTCATGT CACCCAGGCT CTGACGGCAT CTTTCTTAAT TGAGTTGTCT

 +2 R I E Q E L L L Q V L S V G K L Y N P E
 スペーサー領域
 2941 TCGCATTGAG CAAGAACITT TGCTTCAGGT TITGTCGGTG GAAAGTGTG ACAACCCCGA
 AGCGTAACTC GTTCTTGAAA ACGAAGTCCA AAACAGCCAC CCTTCAACA TGTGGGGGT

 +2 V R Y S F N I P I E D K P Q Q F Y W N S
 スペーサー領域
 3001 TGTACGCTAT TCTTCAATA TCCCAATTGA AGATAAACCT CAGCAGITTT ACTGGAACAG
 ACATCCGATA AGAAAGTTAT AAGGTTAACT TCTATTGGA GTCGTCAAAA TGACCTTGT

 +2 H G P W Q A C S K P C Q G E R K R K L V
 スペーサー領域
 3061 TCATGGGCCA TGGCAAGCAT GCAGTAAACC CTGCCAAGGG GAACGAAAC GAAACTTGT
 AGTACCCGGT ACCGTTGTA CGTCATTGG GACGGTCCC CTGCGCTTG CTTTGAACA

 +2 C T R E S D Q L T V S D Q R C D R L P G
 スペーサー領域
 3121 TTGCACCAGG GAATCTGATC AGCTTACTGT TCTGATCAA AGATGCGATC GGCTGCCCCA
 AACGTGGTCC CTTAGACTAG TCGAATGACA AAGACTAGTI TCTACGCTAG CCGACGGGGT

 +2 P G H I T E P C G T D C D L R W H V A S
 スペーサー領域
 3181 GCCTGGACAC ATTACTGAAC CCTGTGGTAC AGACTGTGAC CTGAGGTGGC ATGTTGCCAG
 CGGACCTGTG TAATGACTTG GGACACCATG TCTGACACTG GACTCCACCG TACAACGGTC

【図11】

図11 +2 R S E C S A Q C G L G Y R T L D I Y C A
 スペーサー領域

 3241 CAGGAGTGAA TGTAGTGCCC AGTGTGGCTT GGGTTACCGC ACATTGGACA TCTACTGTGC
 GTCCTCACTT ACATCACGGG TCACACCGAA CCCAATGGCG TGTAACCTGT AGATGACACG

 +2 K Y E R L D G K T E K V D D G F C S S H
 スペーサー領域

 3301 CAAATATAGC AGGCTGGATG GGAAGACTGA GAAGGTGAT GATGGTTTTT GCAGCAGCCA
 GTTTATATCG TCCGACCTAC CCTTCTGACT CTTCCAATA CTACCAAAAA CGTCGTGGG

 +2 P K F S N R E K C E G E C N T G G W R Y
 スペーサー領域

 3361 TCCCAAACCA AGCAACCGTG AAAAATGCTC AGGGGAATGT AACACGGGTG GCTGGCGCTA
 AGGGTTTGGT TCGTTGGCAC TTTTACGAG TCCCCTTACA TTGTGCCAC CGACCCGGAT

 +2 S A W T E C S K S C D G G T O R R R A I
 スペーサー領域 TSP2

 3421 TTCTGCCTGG ACTGAATGTT CAAAAGCTG TGACGGTGGG ACCCAGAGGA GAAGGGCTAT
 AAGACGGACC TGACTTACAA GTTTTTCGAC ACTGCCACCC TGGGTCTCCT CTTCCTGATA

 +2 C V N T R N D V L D D S K C T H Q E K V
 TSP2

 3481 TTGTGTCAT ACCCGAAATG ATGTACTGGA TGACAGCAA TGCACACATC AAGAGAAAT
 AACACAGTTA TGGGCTTTAC TACATGACCT ACTGTCGTTT ACGTGTGTAG TTCTCTTTCA

 +2 T I Q R C S E F P C P Q W K S G D W S E
 TSP2 TSP3

 3541 TACCATTGAG AGGTGCAATG AGTTCCTTGG TCCACAGTGG AAATCTGGAG ACTGGTCAGA
 ATGGTAAGTC TCCACGTCAC TCAAGGGAAC AGGTGTCACC TTTAGACCTC TGACCACTC

 +2 C L V T C G K G H K H R O V W C Q F G E
 TSP3

 3601 GTGCTTGGTC ACCTGTGGAA AAGGGCATAA GCACCGCCAG GTCTGGTGTG AGTTTGGTGA
 CACGAACCAG TGGACACCTT TTCCCGTATT CGTGGCGGTC CAGACCACAG TCAAACCACT

 +2 D R L N D R M C D F E T K P T S M Q T C
 TSP3

 3661 AGATCGATTA AATGATAGAA TGITGACCC TGAGACCAAG CCAACATCTA TGACAGACTTG
 TCTAGCTAAT TTAATATCTT ACACACTGGG ACTCTGGTTC GGTGTGTAGAT ACGTCTGAAC

 +2 Q Q F E C A S W Q A G P W G Q C S V T C
 TSP3 TSP4

 3721 TCAGCAGCCG GAATGTGCAT CCTGGCAGGC GGGTCCCTGG GGACAGTGCA GTGTCACTTG
 AGTGTCTGGC CTTACACGTA GGACCGTCCG CCCAGGGACC CCTGTACGCT CACAGTGAAC

【図12】

図12 +2 G O G Y Q L R A V Y C I : G T Y M S V V
 TSP4

 3781 TGGACAGGGA TACCAGCTAA GAGCAGTGAA ATGCATCATT GGGACTTATA TGTCAGTGGT
 ACCGTGCCCT ATGGTCGATT CTCGTCACCT TACGTAGTAA CCCTGAATAT ACAGTCACCA

 +2 D D N D C N A A T R P T E T Q D C E L F
 TSP4

 3841 AGATGACAAT GACTGTAATG CAGCAACTAG ACCAACTGAT ACCCAGGACT GTGAATTACC
 TCTACTGITA CTCACATTAC GTCGTTGATC TGGTTGACTA TGGGTCCTGA CACTTAATGG

 +2 S C H P P P A A P E T R R S T Y S A P R
 TSP4

 3901 ATCATGTCAT CCTCCCCAG CTGCCCCGA AACGAGGAGA AGCACATACA GTGCACCAAG
 TAGTACAGTA GGAGGGGTC GACGGGGCT TTGCTCCTCT TCGTGTATGT CACGTGGTTC

 +2 T Q W R F G S W T P C S A T C G K G T R
 TSP5

 3961 AACCCAGTGG CGATTGGGT CTGGACCCC ATGCTCAGCC ACTTGTGGGA AAGGTACCCG
 TTGGGTCAAC GCTAAACCA GAACCTGGGG TACGAGTCGG TGAACACCTT TCCATGGGC

 +2 M R Y V S C R D E N G S V A D E S A C A
 TSP5

 4021 GATGAGATAC GTCAGCTGCC GAGATGAGAA TGGCTCTGTG GCTGACGAGA GTGCCTGTGC
 CTACTCTATG CAGTCGACGG CTCTACTCTT ACCGAGACAC CGACTGCTCT CACGGACACG

 +2 T L P R P V A K E E C S V T P C G Q W K
 TSP5 TSP6

 4081 TACCCTGCCT AGACCAGTGG CAAAGGAAGA ATGTTCTGTG ACACCCTGTG GGCAATGGAA
 ATGGGACGGA TCTGGTCACC GTTTCCTTCT TACAAGACAC TGTGGGACAC CCGTTACCT

 +2 A L D W S S C S V T C G Q G R A T R Q V
 TSP6

 4141 GGCCTTGGAC TGGAGCTCTT GCTCTGTGAC CTGTGGGCAA GGTAGGGCAA CCCGGCAAGT
 CCGGAACCTG ACCTCGAGAA CGAGACACTG GACACCCGTT CCATCCCGTT GGGCCGTTCA

 +2 M C V N Y S D H V I D R S E C D Q D Y I
 TSP6

 4201 GATGTGTGTC AACTACAGIG ACCACGTGAT CGATCGGAGT GAGTGTGACC AGGATTATAT
 CTACACACAG TTGATGTACG TGGTGCACCTA GCTAGCCTCA CTCACACTGG TCCTAATATA

 +2 P E T D Q D C S M S P C P Q R T P D S G
 TSP6

 4261 CCCAGAACT GACCAGGACT GTTCCATGTC ACCATGCCCT CAAAGGACCC CAGACAGTGG
 GGGTCTTGA CTGGTCCTGA CAAGGTACAG TGGTACGGGA GTTTCCTGGG GTCGTGCACC

【図13】

図13

```

+2 L A G H P F Q N E D Y R F R S A S P S F
4321 CTTAGCTCAG CACCCCTTCC AAAATGAGGA CTATCGTCCC CGGAGCGCCA GCCCCAGCCG
GAATCGAGTC GTGGGGAAGG TTTTACTCCT GATAGCAGGG GCTCGCGGT CGGGGTGGG

+2 T H V L G G N O W R T G F W G A C S E T
TSP7
*****
4361 CACCCATGTG CTCGGTGGAA ACCAGTGGAG AACTGGCCCC TGGGGAGCAT GTTCCAGTAC
GTGGGTACAC GAGCCACCTT TGGTCACCTC TTGACEGGGG ACCCCTCGTA CAAGGTCAAT

+2 C A G G S O F R V V V C Q D E N G Y T A
TSP7
*****
4441 CTGTGCTGGC GGATCCCAGC GCGGTGTTGT TGTATGTCAG GATGAAAATG GATACACCGC
GACACGACCG CCTAGGGTCCG CCGCACAACA ACATACAGTC CTACTTITAC CTAIGTGGCC

+2 N D C V E R I K P D E Q R A C E S G P C
TSP7
*****
4501 AAACGACTGT GTGGAGAGAA TAAACCTGA TCAGCAAAGA GCCTGTGAAT CCGGCCCTTG
TTTGCTGACA CACCCTCTT ATTTTGGACT ACTCGTTTCT CGGACACTTA GGCCGGGAA

+2 P Q W A Y G N W G E C T K L C G G G I R
TSP7 TSP8
*****
4561 TCCTCAGTGG GCTTATGGCA ACTGGGGAGA GTGCACTAAG CTGTGTGGTG GAGGCATAAG
AGGAGTCACC CGAATACCGT TGACCCCTCT CACGTGATTC GACACACCAC CTCGGTATTC

+2 T R L V V C G R S N G E R F P D L S C E
TSP8
*****
4621 AACAAAGACTG GTGGTCTGTC AGCGGTCCAA CGGTGAACGG TTTCCAGATT TGAGCTGTGA
TTGTTCTGAC CACCAGACAG TCGCCAGGTT GCCACTTGCC AAAGGTCTAA ACTCGACACT

+2 I L D K P P D R E Q C N T H A C P H D A
TSP8
*****
4681 AATTCTTGAT AAACCTCCCG ATCGTGAGCA GTGTAACACA CATGCTTGTC CACACGACGC
TTAAGAACTA TTGGAGGGC TAGCACTCGT CACATTGTGT GTACGACAG GTGTGCTCGC

+2 A W S T G P W S S C S V S C G R G H K Q
TSP9
*****
4741 TGCATGGAGT ACTGGCCCTT GGAGCTCGTG TTCTGTCTCT TGTGGTCGAG GGCATAAACA
ACGTACCTCA TGACCGGGAA CCTCGAGCAC AAGACAGAGA ACACCAGTTC CCGTATTTGT

+2 R N V Y C M A K D G S H L E S D Y C K H
TSP9
*****
4801 ACGAAATGTT TACTGCATGG CAAAAGATGG AAGCCATTTA GAAAGTGATT ACTGTAAGCA
IGCITTACAA ATGACGTIACC GTTTTCTACC TTCGGTAAAT CTTCACTAA TGACATTCTG

+2 L A K P H G H R K C R G G R C P K W K A
TSP9 TSP10

```

【図14】

図14

```

*****
4861 CCTGGCTAAG CCACATGGGC ACAGAAAGTG CCGAGGAGGA AGATGCCCCA AATGGAAAGC
GGACCGATTC GGTGTACCCG TGTCTTTCAC GGCTCTCTCT TCTACGGGGT TTACCTTTCG

+2 G A W S Q C S V S C G R G V O Q R H Y G
TSP1G

*****
4921 TGGCGCTTGG AGTCAGTGCT CTGTGTCTG TGGCCGAGGC GTACAGCAGA GGCATGTGGG
ACCCCGAACC TCAGTCACGA GACACAGGAC ACCGGTCCG CATGTCTGCT CCGTACACCC

+2 C Q I G T H K I A R E T E C N P Y T R F
TSP1G

*****
4981 CTGTGAGATC GGAACACACA AAATAGCCAG AGAGACCGAG TGCAACCCAT ACACCAGACC
GACAGTCTAG CCTTGTGTGT TTTATCGGTC TCTCTGGCTC ACGTTGGGTA TGTGGTCTGG

+2 E S E R D C Q G P R C P L Y T W R A E E
TSP1G TSP11

*****
5041 GGAGTCGGAA CGCGACTGCC AAGGCCACG GTGTCCCTC TACACTTGGG GGGCAGAGGA
CCTCAGCCTT GCGTGAACGG TTCCGGGTGC CACAGGGAG ATGTGAACCT CCGTCTCTCT

+2 W Q E C T K T C G E G S R Y R K V V C V
TSP11

*****
5101 ATGGCAAGAA TGCACCAAGA CCTGCGGGGA AGGCTCCAGG TACCGCAAGG TGGTGTGTGT
TACCGTCTT ACBTGGTCTT GGACGCCGCT TCCGAGGTCC ATGGCGTCC ACCACACACA

+2 D D N K N E V H G A R C D V S K R P V D
TSP11

*****
5161 GGATGACAAC AAAAACCAGG TGCATGGGGC ACGCTGTGAC GTGAGCAAGC GGCCGGTGGG
CCTACTGTTG TTTTGTCTCC ACGTACCCCG TGCAGACTG CACTCGTTCG CCGGCCACTT

+2 R E S C S L Q P C E Y V W I T G E W S E
TSP11

*****
5221 CCGTGAAAGC TGTAGTTTGC AACCTGCCA GTATGTCTGG ATCACAGGAG AATGGTCAGA
GGCACTTTC ACATCAAACG TTGGGACGCT CATACAGACC TAGTGTCTCT ITACCAGTCT

+2 V P S W E L *

```

終結コンド

```

5281 GGTACCGTCC TGGGAACGTG AACCATCGTC AGCTCAGCCA TGGCCTGAGA GTGGCAGAGG
CCATGGCAGG ACCCTTGACA TTGGTAGCAG TCGAGTCGGT ACCGGACTCT CACCGTCTCC

5341 GATGAGTGGG GGGATGAGTG CAGGAATGTG GGAGACTTGA GGCTACCCGC CCGATTTGCC
CTACTCACCT CCTACTCAC GTCCTTACAC CCTCTGAACT CCGATGGGGC GGCTAAACGG

5401 ACTGTGAACT GTGTGTTTC TGACAAGTCC TCAGCTTCC CAAGCTAGAA TTCCTTGTAT
TGACACTTGA CACACAAAAG ACTGTTCCAG AGTCGAAAGG GTTCGATCTT AAGGAACATA

5461 GCAAGCCGGG AGAGATGTA GAGATGGTCT CTAAGTCCCT TCAGGTCTAC ATTCTGTGAT
CGTTCCGCC TCCTACATT CTCTACCAGA GATTCAGGGA AGTCCAGATG TAAGACACTA

```

図 16
パレント・ホモロジー (S I 対)

TS-SI 対. ADAMTSファミリーの
メタプロテイナーゼ・ドメイン・アラインメント

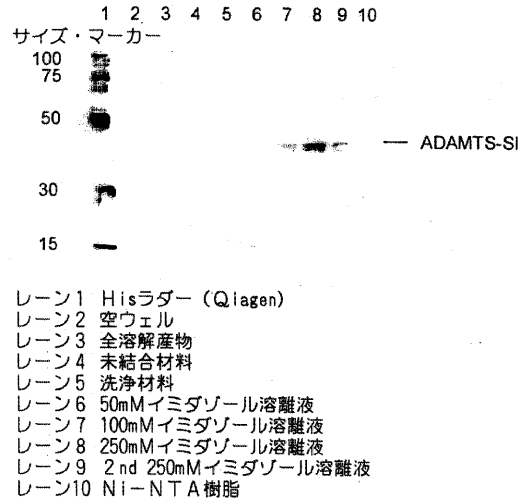
類似性	同一性
62	46
58	44
63	50
62	49
52	33

301			
HADAMTS-4	(AB014588)	(212)	REASLSREVEITLVAADUKMAAFK - AGLKRYLLTMAAAAARKKHPRIKRNPLSLVVTLV
HADAMTS-5	(AF142099)	(261)	RSISRAROVLLLVAVASMARLNG - AGLQHYLTHASIANRYSHSLENIHRIAVKVV
HADAMTS-1	(AF060152)	(235)	REVSSHRVETLVAVOSMAEEL - SGKHYLDFHPSAARVYKHPIRNSLEVVYKIL
HADAMTS-8	(AF060153)	(214)	REVSEARFVETLVAVDASMAAFK - ADLQNHMLMASAARIYKHPRIKNSINLVKVL
HADAMTS-2	(AJ003125)	(260)	HAADDYNNVILGVDSVQFVSKHEH - SKVLELNNVNEIYHDESGAHINLVVYII
HADAMTS-S1		(287)	RELSYPREVIVAVNRVSMK - ENQRYDDELMASIVASIKKDPFIGNLINVVNI
コンセンサス		(301)	RF S REVELLVAD SMA FHK GLQHYLLTMSIARIYKHPSI N INLVVK
		361	
HADAMTS-4	(AB014588)	(271)	EGSGEGEQVGP - SAAQTERSEFAKORGLNTEPDSPPHSTHLLFQDLQGVSTCD
HADAMTS-5	(AF142099)	(320)	VIGDKDKSLVSK - NKAATVNTKQHOHQLGDDHEHYVTLFEDCGHH - SD
HADAMTS-1	(AF060152)	(294)	VHDEKQGPVTS - NRAALYRNFNKKOKHNPSPSDAERYTLLFQDLQGVSTCD
HADAMTS-8	(AF060153)	(273)	WDEKQWGEVSD - NGLNLRNENRORFNOSDRHPHYTLLMNFQNGQELCD
HADAMTS-2	(AJ003125)	(320)	LSYKSMSL E ION P OSENV P RAYLQ KEDTCHDEYVTFYKQDFPFGSG---
HADAMTS-S1		(346)	VHNEQDGPST - NAQTNTKQHGKNSGG---IHHITMLLQLQDGRANDKOD
コンセンサス		(361)	VL DE GREVS GNA TLRNFC WQ N P D H EHYDTALLTRQDLG C CD
		421	
HADAMTS-4	(AB014588)	(329)	TLSMADVGVGDEBARSGAEDDQLQAF - TAAHQLGHVFNMLN - SKPISINGPLSTS
HADAMTS-5	(AF142099)	(378)	TLSMADVGTLS - ERSQAVTEDDGHAETVAPFQSHGCSHSD - SKFEEFGSTEDK
HADAMTS-1	(AF060152)	(352)	TLSMADVGVGDSRSQVIEDQLQAF - TAAHQLGHVFNMPHD - SKQASLNGVQDS
HADAMTS-8	(AF060153)	(332)	TLSMADVGTGICDANKSGVIEDQLQAF - TAAHQLGHVSNMHPHD - SKPTRLFGPMKRH
HADAMTS-2	(AJ003125)	(376)	MQYVYTCGHVAVSNNHNFVFS - EVVAETSHV - GMEHGQGNRGDEVRLGS---
HADAMTS-S1		(402)	TLSMADVGTGICDHYRSVSEDSGSDT - TAAHQLGHVFNMPHD - NNKKEE - GVKSPQ
コンセンサス		(421)	TLSMADVGTICDP RSCSVIEDQLQAF - TAAHQLGHVFNMPHD - NNKKEE - GVKSPQ
		481	
HADAMTS-4	(AB014588)	(388)	RHYAEVVAHVDEPEKPSAFAFIF - FQGGHGLDKSEA - PLHLEVVFPS--KDMV
HADAMTS-5	(AF142099)	(437)	-RMSVLSITSDASKPKSKATAVTEFDDGNGNMLDK - ERK - QILGPEELK - QTFD
HADAMTS-1	(AF060152)	(411)	-HVAASMLNLSQKPSPSAWYKSFUNGGEKDAEON - FIOLEGDLEK - -TSD
HADAMTS-8	(AF060153)	(391)	-HVVAELFVHLNQLPSPSAWYKSELGGHGLDKDAE - ALPELGLPRMALVQ
HADAMTS-2	(AJ003125)	(434)	- -MAPLQQAAREHREHRSRQOENRSHS - -YDMLD - FHDWALPOLK - -LHS
HADAMTS-S1		(460)	-HVVAETNYTPMVAKSRKYTEFTGTGEGALNPE - EAPYELPVQLDQ - -ILN
コンセンサス		(481)	RHVMAP L D FMSPCSA ITEFLD GNG CLLD P ARP ELP LPCR M YD
		541	

【図 16】

【図18】

図18



フロントページの続き

(51) Int.Cl.⁷

識別記号

F I

テ-マコード (参考)

A 6 1 K 48/00
A 6 1 P 1/02
1/04
3/10
9/04
9/08
9/10
9/14
11/00
11/06
15/08
17/00
19/00
19/02
19/10
25/00
25/02
25/04
25/06
25/14
25/16
25/24
29/00
35/00
35/02
37/02

A 6 1 P 1/04
3/10
9/04
9/08
9/10
9/14
11/00
11/06
15/08
17/00
19/00
19/02
19/10
25/00
25/02
25/04
25/06
25/14
25/16
25/24
29/00
35/00
35/02
37/02
37/06
37/08

1 0 1

1 0 1

	37/06			39/02	
	37/08			43/00	1 0 5
	39/02				1 1 1
	43/00	1 0 5		C 0 7 K	14/47
		1 1 1			16/18
C 0 7 K	14/47			C 1 2 N	1/15
	16/18				1/19
C 1 2 N	1/15				1/21
	1/19				9/50
	1/21			C 1 2 P	21/02
	5/10				21/08
	9/50			C 1 2 Q	1/37
C 1 2 P	21/02				1/68
	21/08			G 0 1 N	33/15
C 1 2 Q	1/37				33/50
	1/68				33/53
G 0 1 N	33/15				33/566
	33/50			C 1 2 N	15/00
	33/53			A 6 1 K	37/02
	33/566			C 1 2 N	5/00

(72)発明者 ピーター ジェフリー ミッチェル
 アメリカ合衆国，コネチカット 06340，
 グロトン，イースタン ポイント ロード，
 ファイザー グローバル リサーチ
 アンド ディベロプメント

(72)発明者 ジーン フランセス シャーファー
 アメリカ合衆国，コネチカット 06340，
 グロトン，イースタン ポイント ロード，
 ファイザー グローバル リサーチ
 アンド ディベロプメント

(72)発明者 ロデリック トーマス ウォルシュ
 イギリス国，シーティ-13 9エヌジェ
 イ，ケント，サンドウィッチ，ラムスゲート
 ロード，ファイザー グローバル リ
 サーチ アンド ディベロプメント

专利名称(译)	ADAMTS多肽，编码其的核酸及其用途		
公开(公告)号	JP2001327297A	公开(公告)日	2001-11-27
申请号	JP2001083195	申请日	2001-03-22
[标]申请(专利权)人(译)	美国辉瑞有限公司		
申请(专利权)人(译)	辉瑞产品公司		
[标]发明人	レオナルドバクバインダー ピータージェフリーミッチェル ジーンフランセスシャーファー ロデリックトーマスウォルシュ		
发明人	レオナルド バクバインダー ピーター ジェフリー ミッチェル ジーン フランセス シャーファー ロデリック トーマス ウォルシュ		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/711 A61K38/00 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P1/02 A61P1/04 A61P3/10 A61P9/04 A61P9/08 A61P9/10 A61P9/14 A61P11/00 A61P11/06 A61P15/08 A61P17/00 A61P19/00 A61P19/02 A61P19/10 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/04 A61P25/06 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/24 A61P29/00 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P39/02 A61P43/00 C07K14/47 C07K16/18 C07K16/40 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N9/50 C12N9/64 C12N15/09 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1/37 C12Q1/68 C12Q1/6883 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61K38/00 A61K48/00 A61P1/02 A61P1/04 A61P3/10 A61P9/04 A61P9/08 A61P9/10 A61P9/14 A61P11/00 A61P11/06 A61P15/08 A61P17/00 A61P19/00 A61P19/02 A61P19/10 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/04 A61P25/06 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/24 A61P29/00 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P39/02 A61P43/00 C12N9/6489 C12Q1/6883 C12Q2600/158		
FI分类号	A61K31/711 A61K39/395.D A61K45/00 A61K48/00 A61P1/02 A61P1/04 A61P3/10 A61P9/04 A61P9/08 A61P9/10 A61P9/14 A61P11/00 A61P11/06 A61P15/08 A61P17/00 A61P19/00 A61P19/02 A61P19/10 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/04 A61P25/06 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/24 A61P29/00.101 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P39/02 A61P43/00.105 A61P43/00.111 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N9/50 C12P21/02.C C12P21/08 C12Q1/37 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/566 C12N15/00.ZNA.A A61K37/02 C12N5/00.A A61K38/00 A61K38/16 C07K16/40 C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N5/00.101 C12N5/12 C12N9/64 C12Q1/6883.C C12Q1/6883.Z		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA26 2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/AA40 2G045/CB01 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/DA77 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA14 4B024/BA44 4B024/CA04 4B024/CA07 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA11 4B024/EA04 4B024/GA03 4B024/GA11 4B024/HA01 4B024/HA03 4B024/HA12 4B050/CC01 4B050/CC03 4B050/DD11 4B050/FF14E 4B050/LL01 4B050/LL03 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ01 4B063/QQ36 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QR58 4B063/QR59 4B063/QR62 4B063/QR74 4B063/QR80 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX02 4B064/AG01 4B064/AG27 4B064/CA01 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/CE12 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA87X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AB02 4B065/BA02 4B065/BA08 4B065/CA25 4B065/CA33 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/DC01 4C084/NA14 4C084/ZA012 4C084/ZA022 4C084/ZA082 4C084/ZA122 4C084/ZA152 4C084/ZA162 4C084/ZA202 4C084/ZA332 4C084/ZA362 4C084/ZA392 4C084/ZA402 4C084/ZA452 4C084/ZA592 4C084/ZA612 4C084/ZA662 4C084/ZA672 4C084/ZA812 4C084/ZA892		

4C084/ZA962 4C084/ZA972 4C084/ZB072 4C084/ZB082 4C084/ZB132 4C084/ZB152 4C084/ZB212
4C084/ZB262 4C084/ZB272 4C084/ZC192 4C084/ZC352 4C084/ZC372 4C085/AA13 4C085/BB11
4C085/EE01 4C086/AA01 4C086/AA03 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086
/ZA01 4C086/ZA02 4C086/ZA08 4C086/ZA12 4C086/ZA15 4C086/ZA16 4C086/ZA20 4C086/ZA33
4C086/ZA36 4C086/ZA39 4C086/ZA40 4C086/ZA45 4C086/ZA59 4C086/ZA61 4C086/ZA66 4C086
/ZA67 4C086/ZA81 4C086/ZA89 4C086/ZA96 4C086/ZA97 4C086/ZB07 4C086/ZB08 4C086/ZB13
4C086/ZB15 4C086/ZB21 4C086/ZB26 4C086/ZB27 4C086/ZC19 4C086/ZC35 4C086/ZC37 4H045
/AA10 4H045/AA11 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/DA89 4H045/EA20 4H045/EA50
4H045/FA72 4H045/FA74 4H045/GA26

优先权	60/191382 2000-03-22 US
-----	-------------------------

其他公开文献	JP3600540B2
--------	-------------

外部链接	Espacenet
------	---------------------------

摘要(译)

要解决的问题：提供一个名为ADAMTS-S1的新型成员，该成员是称为ADAMTS蛋白质的蛋白质家族的成员。本发明提供了编码ADAMTS-S1的多核苷酸，针对ADAMTS-S1的抗体，用于研究ADAMTS-S1的功能的测定，用于确定ADAMTS-S1的激动剂或拮抗剂的测定，以及它还涉及ADAMTS-S1多肽或多核苷酸在诊断，生物治疗或基因治疗方法中的用途。