

(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2002 - 330762

(P2002 - 330762A)

(43)公開日 平成14年11月19日(2002.11.19)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 31/7115	2 G 0 4 5
A 6 1 K 31/7115		39/395	D 4 B 0 2 4
39/395			N 4 B 0 5 0
		45/00	4 B 0 6 3
45/00		48/00	4 B 0 6 5

審査請求 有 請求項の数 14 O L (全 27数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 129484(P2001 - 129484)

(22)出願日 平成13年4月26日(2001.4.26)

(31)優先権主張番号 60/200040

(32)優先日 平成12年4月27日(2000.4.27)

(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

ディベロップメント

(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 - M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 - Mをコードするポリヌクレオチド、ADAMTS - Mに対する抗体、ADAMTS - Mの機能の研究のためのアッセイ、ADAMTS - M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 - M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-Mポリペプチド、あるいはそのメタロプロテイナーゼ、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・サブモチーフ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-M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、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・サブモチーフを含む、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、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・サブモチーフを含む、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-M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-M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-Mポリペプチドに免疫特異的な抗体、ADAMTS-Mポリペプチドのためのアゴニスト、ADAMTS-Mポリペプチドのためのアンタゴニスト、及びADAMTS-M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-M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、治療的有効量の請求項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-M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-M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-M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-Mポリペプチドを発現する細胞と、あるいは上記ADAMTS-Mポリペプチドを発現する細胞からの細胞膜と、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と、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-M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-M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-M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-M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-M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-M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。

【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, 289 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。

【0005】本発明の要約

本発明は、ADAMTS-M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-Mポリペプチド、あるいはそのメタロプロテイナーゼ、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)サブモチーフ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ェ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、上記ポリヌクレオチドは、配列番号1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・サブモチーフ・コーディング配列に対し少なくとも80%同一である。他の態様においては、配列番号1のADAMTS-M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)サブモチーフ・コーディング配列である。

【0008】さらなる態様においては、上記ヌクレオチド配列は、配列番号2のアミノ酸98-1156をコードする。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、本発明のポリペプチドは、配列番号2、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、又はプロドメイン、又はADAMTS-Mの少なくとも約10の連続アミノ酸をもつアミノ酸配列に少なくとも80%同一である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、又はプロドメインを含む。

【0009】他の局面においては、本発明は、本発明の単離ポリヌクレオチド分子を含む発現系に関する。1の態様においては、上記発現系は、コンパチブルな宿主細胞内に存在するとき、配列番号2のポリペプチドと少なくとも80%の同一性を有するアミノ配列を含むADAMTS-Mポリペプチドを産生することができる。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-M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-M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-M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-M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-M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-M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-M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-M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-M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-M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-Mの活性又は発現を変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-M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-M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-M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-M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-Mにアゴナイズし、アンタゴナイズし、又は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と、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と、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-M活性の阻害又は刺激、あるい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、を含む前記方法に関する。

【0015】本発明は、核酸材料を含有する生物学的サンプル中のADAMTS-M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-M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-M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。

【0016】さらなる態様においては、本発明は、ADAMTS-Mのための基質を同定する方法であって、酵素的に活性化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-M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、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。

【0017】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、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。

【0018】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、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】本発明はさらに、医薬として許容される担体とともに、ADAMTS-M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。

【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にも関する。

【0021】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にも関する。

【0022】本発明の詳細な説明

我々は、変形性関節炎の軟骨の軟骨細胞から調製したcDNA中、及びヒト肝臓由来のcDNAライブラリー中にADAMTS-Mタンパク質をコードするポリヌクレオチドを発見した。

定義

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。

【0023】“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。

【0024】“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、シスチンの形成、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)。

【0025】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する。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。

【0026】“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.Lesk,

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 Heinje, 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.Altshul 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。

【0027】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ヌクレオチド当たり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。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。

【0028】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アミノ酸当たり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、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。

【0029】ADAMTS-Mポリペプチド

1の局面においては、本発明は、ADAMTS-Mポリペプチドに関する。ADAMTS-M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。

【0030】ADAMTS-M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98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。

【0031】ADAMTS-M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-Mポリペプチドのアミノ酸配列の部分と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-M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。

【0032】好ましい断片は、例えば、ADAMTS-M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-M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247~272を含む。

【0033】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trpE融合物、マルトース結合性タンパク質融合物(pMal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(pGEXシリーズ; Pharmacia)、ポリヒスチジン融合物(pETシリーズ; Novagen Inc., Madison, WI)、及びチオレドキシシン融合物(pTrxFus; 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TSPドメイン、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TSPドメインとのインビボ又はインビ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。

【0034】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性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、Ala、Val、Leu、及びIle間; Ser及びThr間; 酸性残基Asp及びGlu間; Asn及びGln間; 塩基性残基Lys及びArg間; そして芳香族残基Phe及びTyr間にある。特に好ましいのは、数個、5~10、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。

【0035】本発明のADAMTS-M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ADAMTS-Mポリペプチドである。単離ポリペプチドは、その天然環境から實質的に取り出されたものである。単離されたADAMTS-Mポリペプチドは、例えば、その天然源から得られ、
10 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ADAMTS-Mポリペプチドは全長ADAMTS-Mポリペプチド、そのプロド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(AAGG...から始まる予想成熟形態、アミノ酸98)、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ADAMTS-Mポリペ
20 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。ADAMTS-M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列が、本明細書中に開示する天然ADAMTS-M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ADA
30 MTS-M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、0.5M NaHPO₄、7% SDS、
30 1mM EDTA中65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0.1xSSC/0.1% SDS中68での洗浄をいう(例えば、Ausubel et al. (eds.), 1989, Current Protocols in Mo
40 lecular Biology, Vol.1, Green Publishing Associates, Inc., and John Wiley & Sons, Inc., New York, at p.2.10.3を参照のこと)。ADAMTS-Mポリペプチドの同族体は、その同族体が天然ADAMTS-M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
40 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、ADAMTS-Mの1以上の生物学的活性を保持する。

【0036】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
50

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GCリッチである場合、長さ少なくとも約12~約15ヌクレオチドであり、そしてそれらがATリッチである場合、少なくとも約15~約17塩基である。本発明のADAMTS-M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20~約25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ADAMTS-Mタンパク質同族体の最小サイズは、長さ10から、より好ましくは12、さらにより好ましくは25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10を超える、又は25、好ましくは75を超える、より好ましくは100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に依存する。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-M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。

【0037】本発明のADAMTS-Mタンパク質同族体は、ADAMTS-M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-M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。

【0038】本発明は、翻訳後修飾を経験したADAMTS-M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-Mのメタロプロテアーゼ・ドメインにおける28~32%の同一性にに基づき、ADAMTS-M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(aggre canase)、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 - M 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。

【0039】ADAMTS - M ポリヌクレオチド

本発明の他の局面は、ADAMTS - M ポリヌクレオチドに関する。ADAMTS - M ポリヌクレオチドは、上記 ADAMTS - M 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 - M ポリヌクレオチドは、Fig. 2 の ADAMTS - M 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 - M ポリヌクレオチドは、さらに、Fig. 2 の ADAMTS - M 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。

【0040】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 - M ポリヌクレオチドは、増幅又は ADAMTS - M 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）。

【0041】1 の態様においては、単離核酸分子は、ADAMTS - M 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、ストリンジント条件下、本発明の ADAMTS - M タンパク質をコードする ADAMTS - M ポリペプチド遺伝子 (Fig. 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。

【0042】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 - M 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 - M タンパク質をコードし又は ADAMTS - M 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。

【0043】本発明は、上記 ADAMTS - M 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 - M の発現

1 の態様においては、本発明の単離 ADAMTS - M 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-M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。

【0044】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-M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。

【0045】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-M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-M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。

【0046】本発明の1の態様においては、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よう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。

【0047】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_p 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は配列は、ADAMTS-Mタンパク質をコードするDNAに会合する天然配列を含む。

【0048】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-M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-M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-M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。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

10

20

30

40

50

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-Mタンパク質又はポリペプチドのアミノ及び/又はカルボキシ末端に連結されることができる。融合セグメントとADAMTS-Mタンパク質の間の結合は、ADAMTS-M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-M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。

【0049】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-M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、基質から生成物への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。

【0050】本発明に従って、本発明のADAMTS-M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。

【0051】本発明の細胞は、非限定的に、バッチ、フェッド-バッチ(fed-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。

【0052】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-M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-M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、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。

【0053】さらに、本発明のADAMTS-M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-Mタンパク質を発現する細胞からADAMTS-M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。

【0054】ADAMTS-Mに対する抗体
本発明は、本発明のADAMTS-M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-M抗体のポリクローナル集団は、ADAMTS-M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。

【0055】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-M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。

【0056】ADAMTS-M基質の同定
本発明は、ADAMTS-M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-M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。

【0057】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 - M 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 Mr 72,000 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。

【0058】ADAMTS - M のアゴニスト / アンタゴニスト

本発明は、ADAMTS - M 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 - M 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 - M 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。

【0059】診断的アッセイ

本発明は、ADAMTS - M 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 - M 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 - M

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、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 (adama lysin) 活性を特徴とする他の疾患。

【0060】治療用組成物及び ADAMTS - M の使用本発明の 1 の態様においては、ADAMTS - M、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、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 (adama lysin) 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。

【0061】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、インビボ又はエクシ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もできる。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。

【0062】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）、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。

【0063】非経口投与（筋中、腹膜内、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溶液が通常調製される。ゴマ油又はピーナッ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。

【0064】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。

【0065】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ールは、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。適当なプロトコールの決定は、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をいう。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。

【0066】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。本発明を以下の実施例により例示するが、これを、本発明の範囲を限定するものと解してはならない。

実施例

ADAMTS - M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SEMBルした（アクセス番号：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、ク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）に対して行った。メタロプロテイナーゼ・ドメインを含む488 bpのコンセンサス配列を、Incyteデータベース中に同定した。この配列を、PCRプライマー（前進：5'-GAAGCTGTGCCCAATCTCATGG-3'〔配列番号3〕と後退：5'-GCTCCAATATCACAGC-3'〔配列番号4〕）をデザインするために使用し、そしてライブラリーのパネルを、さらなるクローニングのための源を決定するためにスクリーンした。PCR産物をヒト肝臓cDNAライブラリーから得、これを次に、RecA-仲介ホモロジー捕獲によりスクリーンした。上記捕獲配列にハイブリダイズするコロニーを単

離し、そしてミニプレブ・プラスミドDNAを外側プライマーを用いたPCRのために使用した。4つのポジティブ・クローンの中の3つを配列決定し、そしてI(配列番号1)が、フリン解裂部位、亜鉛結合モチーフをもつメタロプロテイナーゼ・ドメイン、ジスインテグリン・ドメイン、及び2つのトロンボスポンジン・サブモチーフを含むことが発見された。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10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。

【0067】配列表

配列番号1は、ADAMTS-Mのヌクレオチド配列である。配列番号2は、ADAMTS-Mの演繹アミノ酸配列である。配列番号3~4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。

【0068】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

```

<110> PFIZER INC.
<120> ADAMTS POLYPEPTIDES, NUCL
EIC ACIDS ENCODING THEM, AND USES THER
EOF
<130> PC10851A
<140> B015556
<141> 2001-4-26
<160> 4
<170> PatentIn Ver. 2.1
<210> 1
<211> 4248
<212> DNA
<213> Human
<400> 1
ccgggtcgac ccacgcgtcc gaaggccccc tctc
actccg ctccactcct cgggctggct 60
ctcctgagga tgcaccagcg tcacccccgg gcaa
gatgcc ctcccctctg tgtggccgga 120
atccttgctt gtggctttct cctgggctgc tggg
gaccct cccatttcca gcagagtgt 180
cttcaggctt tggagccaca ggccgtgtct tctt
acttga gccctggtgc tcccttaaaa 240
ggccgcccctc cttcccctgg cttccagagg caga
ggcaga ggcagaggcg ggctgcaggc 300
ggcatcctac acctggagct gctggtggcc gtgg
gccccg atgtcttcca ggctcaccag 360
gaggacacag agcgctatgt gctcaccaac ctca
acatcg gggcagaact gcttcgggac 420
ccgtccctgg gggctcagtt tcgggtgcac ctgg
tgaaga tggcattct gacagagcct 480
gaggggtgctc caaatatcac agccaacctc acct
cgtccc tgctgagcgt ctgtgggtgg 540
agccagacca tcaaccctga ggaagacacg gatc
ctggcc atgctgacct ggtcctctat 600
atcactaggt ttgacctgga gttgctgat ggta
accggc aggtgcgggg cgtcacccag 660
ctgggcggtg cctgctcccc aacctggagc tgcc
tcatta ccgaggacac tggcttcgac 720
ctgggagtca ccattgccca tgagattggg caca
gcttcg gcctggagca cgacggcgcg 780

```

caaggggatg ctctgtgcag acacatgtgc cggg
ccattg gcgagagctt catcatgaag 1560
cgtggagaca gcttcctcga tgggacccgg tgta
tgccaa gtggcccccg ggaggacggg 1620
accctgagcc tgtgtgtgic gggcagctgc agga
catttg gctgtgatgg taggatggac 1680
tcccagcagg tatgggacag gtgccaggtg tgtg
gtgggg acaacagcac gtgcagccca 1740
cggaagggct ctttcacagc tggcagagcg agag
aatatg tcacgtttct gacagtacc 1800
cccaacctga ccagtgtcta cattgccaac caca
ggcctc tcttcacaca ctggcggtg 1860
aggatcggag ggcgctatgt cgtggctggg aaga
tgagca tctcccctaa caccacctac 1920
ccctccctcc tggaggatgg tcgtgtcagag taca
gagtgg ccctcaccga ggaccggctg 1980
ccccgcctgg aggagatccg catctgggga cccc
tccagg aagatgtga catccaggtt 2040
tacaggcggg atggcgagga gtatggcaac ctca
cccgc cagacatcac cttcacctac 2100
ttccagccta agccacggca ggcctgggtg tggg
ccgctg tgcgtgggcc ctgctcggtg 2160
agctgtgggg cagggctgcg ctgggtaaac taca
gctgcc tggaccaggc caggaaggag 2220
ttggtggaga ctgtccagt ccaagggagc cagc
agccac cagcgtggcc agaggcctgc 2280
gtgctcgaac cctgcctcc ctactgggcg gtgg
gagact tgcgccatg cagcgcctcc 2340
tgtgggggtg gcctgcggga gcggccagtgc cgct
gcgtgg aggcccaggg cagcctcctg 2400
aagacattgc ccccagcccg gtgcagagca gggg
cccagc agccagctgt ggcgctggaa 2460
acctgcaacc cccagccctg ccctgccagg tggg
agggtg cagagcccag ctcatgcaca 2520
tcagctggtg gagcaggcct ggccttggag aacg
agacct gtgtgccagg ggcagatggc 2580
ctggaggctc cagtactga ggggcctggc tccg
tagatg agaagctgcc tgccttgag 2640
ccctgtgtcg ggatgtcatg tctccaggc tggg
gccatc tggatgccac ctctgcaggg 2700
gagaaggctc cctccccatg gggcagcatc agga
cggggg ctcaagctgc acacgtgtg 2760
acccctgcgg cagggctgtg ctccgtctcc tgcg
ggcgag gtctgatgga gctgcgtttc 2820
ctgtgcatgg actctgccct caggggtcct gtcc
aggaag agctgtgtgg cctggcaagc 2880
aagcctggga gccggcggga ggtctgccag gctg
tcccgt gccctgctcg gtggcagtac 2940
aagctggcgg cctgcagcgt gagctgtggg agag
gggtcg tgcggaggat cctgtattgt 3000
gcccggggcc atggggagga cgatggtgag gaga
tctgtg tggacacca gtgccagggg 3060
ctgcctcgcc cggaacccca ggaggcctgc agcc

<400> 2

Pro Gly Arg Pro Thr Arg Pro Lys Ala Pro
Ser His Ser Ala Pro Leu

1 5 10 15

Leu Gly Leu Ala Leu Leu Arg Met His Gln
Arg His Pro Arg Ala Arg

20 25 30

Cys Pro Pro Leu Cys Val Ala Gly Ile Leu
Ala Cys Gly Phe Leu Leu

35 40 45

Gly Cys Trp Gly Pro Ser His Phe Gln Gln
Ser Cys Leu Gln Ala Leu

50 55 60

Glu Pro Gln Ala Val Ser Ser Tyr Leu Ser
Pro Gly Ala Pro Leu Lys

65 70 75 80

Gly Arg Pro Pro Ser Pro Gly Phe Gln Arg
Gln Arg Gln Arg Gln Arg

85 90 95

Arg Ala Ala Gly Gly Ile Leu His Leu Glu
Leu Leu Val Ala Val Gly

100 105 110

Pro Asp Val Phe Gln Ala His Gln Glu Asp
Thr Glu Arg Tyr Val Leu

115 120 125

Thr Asn Leu Asn Ile Gly Ala Glu Leu Leu
Arg Asp Pro Ser Leu Gly

130 135 140

Ala Gln Phe Arg Val His Leu Val Lys Met
Val Ile Leu Thr Glu Pro

145 150 155 1

60

Glu Gly Ala Pro Asn Ile Thr Ala Asn Leu
Thr Ser Ser Leu Leu Ser

165 170 175

Val Cys Gly Trp Ser Gln Thr Ile Asn Pro
Glu Asp Asp Thr Asp Pro

180 185 190

Gly His Ala Asp Leu Val Leu Tyr Ile Thr
Arg Phe Asp Leu Glu Leu

195 200 205

Pro Asp Gly Asn Arg Gln Val Arg Gly Val
Thr Gln Leu Gly Gly Ala

210 215 220

Cys Ser Pro Thr Trp Ser Cys Leu Ile Thr
Glu Asp Thr Gly Phe Asp

225 230 235 2

40

Leu Gly Val Thr Ile Ala His Glu Ile Gly
His Ser Phe Gly Leu Glu

245 250 255

His Asp Gly Ala Pro Gly Ser Gly Cys Gly

His Leu Glu Pro Thr Gly Thr Ile Asp Met
 Arg Gly Pro Gly Gln Ala
 1185 1190 1195
 1200
 Asp Cys Ala Val Ala Ile Gly Arg Pro Leu
 Gly Glu Val Val Thr Leu
 1205 1210 1215

 Arg Val Leu Glu Ser Ser Leu Asn Cys Ser
 Ala Gly Asp Met Leu Leu
 1220 1225 1230
 Leu Trp Gly Arg Leu Thr Trp Arg Lys Met
 Cys Arg Lys Leu Leu Asp
 1235 1240 1245
 Met Thr Phe Ser Ser Lys Thr Asn Thr Leu
 Val Val Arg Gln Arg Cys
 1250 1255 1260
 Gly Arg Pro Gly Gly Gly Val Leu Leu Arg
 Tyr Gly Ser Gln Leu Ala
 1265 1270 1275
 1280
 Pro Glu Thr Phe Tyr Arg Glu Cys Asp Met
 Gln Leu Phe Gly Pro Trp
 1285 1290 1295

 Gly Glu Ile Val Ser Pro Ser Leu Ser Pro
 Ala Thr Ser Asn Ala Gly
 1300 1305 1310
 Gly Cys Arg Leu Phe Ile Asn Val Ala Pro
 His Ala Arg Ile Ala Ile
 1315 1320 1325
 His Ala Leu Ala Thr Asn Met Gly Ala Gly
 Thr Glu Gly Ala Asn Ala
 1330 1335 1340
 Ser Tyr Ile Leu Ile Arg Asp Thr His Ser
 Leu Arg Thr Thr Ala Phe
 1345 1350 1355
 1360
 His Gly Gln Gln Val Leu Tyr Trp Glu Ser
 Glu Ser Ser Gln Ala Glu
 1365 1370 1375

 30 31

【図面の簡単な説明】Met Glu Phe Ser Glu Gly Phe Leu Lys Alaのタンパク質のドメイン、及び上記A D A M T S -
 【図1】Fig. 1はA D A M T S - Mの部分ポリヌクレオ Mポリペプチド内の上記ドメインに対応する配列を示
 チド配列〔配列番号1〕を示す。1380 1385 す。 1390

【図2】Fig. 1のつづきである。Trp Thr Leu Gln Ser Trp Val P【図6】Fig. 3 (B) のつづき。

【図3】Fig. 1のつづきである。Gln Asp Pro Gln 【図7】Fig. 3 (B) のつづき。

【図4】Fig. 2は、A D A M T S - Mの部分ポリペチ 【図8】Fig. 4 (B) のつづき。

ド配列〔配列番号2〕を示す。Lys Gly Lys Glu Gly Thr 【図9】Fig. 3 (B) のつづき。

【図5】Fig. 3 (A) と4 (B) は、A D A M T S - Mの 【図10】Fig. 3 (B) のつづき。

<210> 3
 <211> 22
 <212> DNA

【図8】

図8

*1 L P T H L A Y R I G G R Y V Y A G K N S I S P F T Y
 1065 TCTTCACACA CTTGGCGGTG AGATGCGAG GACGATATCT CDTGGCTGGG AAGATGAGCA TCTCCCTTAA CACCACCTAC
 AGAGCTGTGT GAGCCGCTAC TCCGTGCTTC CCGGATGACA GACCGAGCGG TCTACTCTGT AGAGGGATTT GTCGTGAGAT

*1 P S L L E D G R V E Y R V A L T E D R L F R L E E I R
 1945 CCGTCCCTCC TGGAGATGCG TGTGTCGAG TACAGATGCG CCGTACAGGA GACCCGCTCG CCGCCCTGCG AGGATGCGG
 GAGAGCGAGG ACGTCTGTCG AGCAGAGCTG ATGCTGTCGC GGGAGTGGT CCTGGCGGAC GGGGGGAGC TCCCTATGAG

*1 I N G P L Q E D A D I Q V Y R R Y G E E Y G N L T R
 2025 CATCTGGGGA CCGCTCCGAG AAGATGCTGA CAGTCCAGCT TACAGCGGCT AFGCTGGERA GTATGGCAAG CTCACCGCCG
 GTAGACCGCT GAGGAGGCGC TCTCTGACCT GTAGCTCCAA ATGTCGCGCA TACCGCTCTT CATACCTGTC GATTCGCGCG

*1 F E I T F T Y F Q P R F R Q A K V N A A V R G P C R V
 2105 CAGATCATC CTTACCTCAC TGTACCTGCA AGCAGGCGCA GCGCTCGGTC TGGCGGCTCG TCGCTGGCGC CTCTGCGG
 GTCTGATGCG GAGTGTGATG AAGCTGGGAT TGGTGGCTCT CCGGACCGAC ACCCGCGCAC ACCGACCGCG GAGGAGCGAC

*1 S C G A G L R V V N Y S C L D Q A R K E L Y E T V Q C
 2185 AEGCTGCGAG CAGCGGCGCG CTGGATGAC TACAGCTGCG TGGACAGCG CAGGAGAGAG TTGGTGGAGA CTCTCAAGTG
 TGGACACCGC GTCCGAGCG GACCGATTTG ATGTCGAGCG ACCTGTGCGG GTCTCTCTTC TACACCTCTT GAGAGGTGAC

*1 Q G S Q Q P P A W P E A C V L E P C F P Y N A V G D
 2265 CCGAGGCGC CAGCAGCGAC CAGCTGCGCC AGAGCGCTCG GTCTCTGAC CCGCGCTCC CTACTGGCGC TGGAGAGCTT
 GGTCCCTCCG GTCTGCGTGC GTCCACCGCG TCTCGGAGCG CAGGAGCTCG GAGCGGCGCG GATGACCGCG CAGCTCTGAG

*1 F G P C S A B C G G G L R E A P V E C V E A G G S L L
 2345 TGGCCCATG CAGCGCTCC TGTGGGAGTG GCGTCCGCGA GCGCGGAGTG CCGTCCGTTG AGCCCGAGCG CAGCTCTGCG
 AGCGGGTAG GTCTGCGAGC AGACCGCGAC CCGCGCGCTT CCGCGTAC CCGAGCGCAC TCGGGCTCCG GTCTGCGAGC

*1 K T L P P A R C R A G A G Q P A V A L E T C H P Q P C
 2425 AAGAGATGAC CCGCAGCGCG GTGAGAGGCA GGGGCGCGC AGCCAGCTGT GGGCTGGERA AGCTGCAAGC CCGAGCGGCG
 TCTCTAAGCG GGGTCTGCGC CAGCTCTGCT CCGCGGCTCG TGGTCCGACA CCGGACCTTT TGGAGCTTGA GGTTCGAGC

*1 F A R H E V S E P F S E C T S A G G A G L A L E N E T
 2505 CCGTCCGAGC TGGAGAGCTT CAGGCGCGC CTAAGTGCAG TCGCTGCTG GAGGAGCTGT GCGCTGCGAG AGGAGAGCTT
 GAGAGCTGAC AGCTCTGAGC GTCTGCTGCT CAGTACCTGT ACGTACCGAC CCGTCTCGCA CCGGAGCTG TCTCTGCGA

*1 C Y S E A D D L E A P V T E R P Q S V D E K L P A P E
 2585 GTCTGCGAG GCGAGCTGCG CTGAGGCTCG CAGTGCAGCA GGGGCTGCG TCGCTAGATG AAGAGCTGCG TCGCTGCGAG
 CAGAGCTGCT CAGTGCAGCG GTCTGCTGCT CCGGAGCGC AGGATCTGAC TCTTGGAGCG AGCGGAGCTC

*1 F C V G H S C P F G W C H L D A T S A G E K A P B P W
 2665 CCGTCTGCG GAGTGTGATG TCTCTGAGCG TGGGCGCATC TGGATCGCAC CTCTGAGCG GAGAGAGCTC CCGCTCTGAG
 GAGACAGCG CTAAGTCTGAC AGCAGCTGCG ACCCGGCGAG ACGTACGCGG GAGAGCTGCG CTAAGTCTGAG GAGGCGTAC

*1 G S I R Y G A Q A A H V H T P A A G S C S V S C C R
 2745 CCGGAGCATC AGGAGCGCTT CTGAGCTGCG ACAGCTGCG AGCGTACGCG CAGGCTGCG CTGCTGCTG TCGGCGGAG
 CCGTCTGCG TCGGCGGCG GAGTGTGATG TGGGCGCATC TGGATCGCAC CTCTGAGCG GAGAGAGCTC CCGCTCTGAG

*1 G L M E L R F L O N D S A L R V P V O E E L C G L A S
 2825 CTAAGTGCAG CCGTCTGCTT CTGAGCTGCG ACTGCGCTT CAGGAGCTGT GTCCAGGAG AGCTGAGCG CCGTCTGCG
 CAGTGTGATG GAGGAGCG GAGGAGCTG TGGAGCGCG GTCTCTGCG CAGGAGCTG TGGAGCGCG GAGGAGCTG

【図9】

図9

*1 K P G S R R E V C D A V F C P A R H O Y K L A A C S V
 2905 AAGCTTGGG CCGCGCGGGA GGTCTGCGAG GCTCTGCGGT GCGCTGCTCG GTGGGAGTAC AAGCTGCGCG CCGTCAAGCT
 TCTGAGCTCT CCGCGCGCTT CAGATGCGTC CAGACAGCGA CCGGAGCGAG CAGGCTGATG TCGGAGCTCT GAGCTGCGA

*1 S C G R E V Y R R I L Y C A R A H G E D D G E E I L
 2995 GAGCTGTGCG AGAGAGGTCG TCGGAGAGAT CCGTATTTGT GCGCGCGCC ATCGGAGGGA CAGTGTGAG GAGAGCTGT
 CTGAGAGCGC TCTCCCGAGC AGCGCTGCTA GGCACATACA CCGGCGCGCG TACCGCTCTT GCTACCGCTC CTTAGAGCA

*1 L D T Q C Q E L P R F E F Q E A C S L E P C P P R N K
 3065 TGGACAGCG GTGGCGAGGG CTGGCTGCGG CCGACCTGCA CCGCGCTCG ACCCTGCGCG CCGTCCCGAC TGGCTGAGAA
 ACCCTGTGGT CAGCGTCCCG GAGCGAGCGG GCGTGGGCTT CCGCGGAGCG TGGAGCTGCG GAGGAGCGCG ACGAGCTTT

*1 V N S L G P C S A B C G L G T A R R S V A C V Q L D Q
 3145 DTGATGCGC CTGGCCATG TCGCGCGAG TGTGGCTGTC GAGTGTGAG GAGCTGCGTG CCGTGTGTC AGCTGCGCA
 CAGTACAGCG AAGCGGTCAG AAGCGGCTCG ACAGCGGAG CCGTACAGTC TGGAGCGAG CCGAGACAGC TGGAGCTGT

*1 G Q U V E V D E N A C A A L V R P E A S V P C L I A
 3225 AAGTACAGC GTGAGAGTGG ACAGGCGCG CTTGTGGCGC CTGCTGCGCG CCGAGCGCAG TGTCCCTGCT CTAATGCGG
 TCGGCTGCTG CAGCTGCGC TGTCTGCGCG GAGCGCGCG GAGCGAGCG GCGTCTGCTC AAGAGGAGA GATGAGCGC

*1 D C T Y R N H V G T E N E C S V S C C G G I O R A B D
 トロンボスポンジン・サブモチーフ
 3305 ACGTACAGTA CCGCTGCGTC GTTGGAGCTT GAGTGTGATG CTCTGATTC TGGGCGAGCG GAGTGTGCGC CCGGAGCGCG
 TGGAGCTGCTT CCGGAGCGTA CAGCGCTGCA CTAAGTGTAC GAGAGAGAG ACGCGCTGTC GATGAGCTGCG GCGCGCGCTG

*1 T C L G P O R O A P V P A D P C Q H L P K P V T V R G
 トロンボスポンジン・サブモチーフ
 3385 ACGTGTGCG GAGCGGAGC CAGCGGCTT GTGGCAGTGC ATTTGTGCA AGCTGTGCG AAGCGCGTGA CTGTCGCGCG
 TGGAGCGAGC CTGGGCTGCG GCTGCGCGCA CAGCGCTGCG TARGAGCTT GGTGTGAGCTT GGTGTGAGCTT GAGAGCTGCG

*1 C W A G P C Y G G G T P S L V P H E A A A P G R T
 トロンボスポンジン・サブモチーフ
 3465 GTCTGCGCT GCGCGCTGTC TGGAGAGCG TACGCGGAG CTGGTCCCG CAGAGAGAGC CCGCTGCTCA GAGCGGCGA
 CAGCGGCGCA CCGGAGCGC AGCGTGTGCG ATGCGGCTGCG GAGCGGCG TGTCTGTGCG GAGAGAGCTT CCGCTGCTG

*1 T A T P A G A C C R O H L E P T G T I D M K G P G Q A
 3545 CAGCCAGCC TCGTGTGCG TGTGGCAGCG AGCAGCTTGA GCGAGAGGA ACGATGAGCA TCGGAGCGCC AGGCGAGCGA
 GTCTGCGCG AAGCGGAGCG ACAGCGTGG TCGTGGAGCT CCGTGTGCTT TGGTACTGTT ACGTGTGCG TCGGCTGCG

*1 E C A V A T G R P L C E V V T I R V L E S E L N C S A
 3625 CAGTGTGAG TGGATGTCG CCGCGGCTT GGGAGGTCG TGGAGCTGCG CCGTGTGCG ACGTGTGCG ACGTGTGCG ACGTGTGCG
 GTGAGCTGCT ACGTGTGCG CCGCGGAGCG CCGTGTGCG ACGTGTGCG GAGAGAGCT TGGAGAGCT TGGAGAGCT

*1 G B N L L L H G R L T N R K M C R K L L D M T F S S
 3705 AGGAGAGCT TGTGCTGCTT GGGGCGGCTT CAGCTGCGAG AAGTGTGCA GAGAGCTGTT GAGAGTACT TACAGCTCA
 CCGCTGCTG ACAGCGGAG CCGCGGCGCA GTGGAGCTG TCTGAGCTT CCGTGTGCG CCGTGTGCG ACGTGTGCG

*1 K F N T L V V R O R C G R P G G V I L R Y G S Q L A
 3785 AAGAGAGCT GGTGTGCTG AGCGGCTT CCGCGGCGC AAGAGAGCT GTCTGCTGCG GATGAGAGC CAGAGCTGCT
 TGTGCTGCG GAGAGAGCT TCGTGTGCG CCGCGGCGC TCTGAGCTG CAGAGAGCT GATGAGAGCT GGTGTGAGC

【図10】

*1 P E T F Y R E C D H Q L F G P W G E I V S P S L S P A
 3865 CCGAAGCTT TCTACAGGA ATGTGAGCTG CAGCTCTTTG GCGCCGCGG TGAATGCTG AGCCCTGCG TGAATGCTG
 GAGCTGTGGA AGATGCTCTT TACACTGTAC GTGAGAAAC CCGGAGCGC ACGTGTGAGC TCGGAGCGC ACGTGTGAGC

*1 T S N A G G C R L F I N V A P H A R I A I H A L A T
 3945 CAGGATTAAT GCGAGGGGCT CCGGCTCTTT CATTATGTC CCGTCCGAGC CAGGATTC CATCCAGCC CTGGCGAGCA
 GTCTCTAATA CCGTCCCGCA CCGCGGAGCA GTATTACAC CAGGCGCTG GTGCGTAAAC GTAGTACCG GAGCGGCTG

*1 N M C A G T E G A N A S Y I L I R D T H S L R T F A F
 4025 ACGTGGGCG TGGAGCGGAG CAGGCAATG CAGCTACAT CTTGATCGCG CAGACCGCA CCGTGTGAGC CAGAGCTTC
 TGTACCGCG ACCCTGCGTC CCGCGGTCAT GGTGATGTA GAAGTACCG CCGTGGGCT GAGTCTGCG GTGTCGAG

*1 H G Q Q V L Y W E S E S S Q A E M E F S E G P L K A Q
 4105 CAGTGGGAGC AGTGTGCTA CTGGGAGTCA GAGAGCAGCC AGCTGAGAT GAGTTCAGC GAGGCTTCC TGAAGCTCA
 GTACCGCTCG TCGAGGAGAT GAGCTCTGAT CTTGCTGCG TCGGAGCTCA CCGTGTGCG CCGCGGAGC ACGTGTGAGT

*1 A S L R G Q Y W T L Q S W V P E M Q D P O S W K G K
 4185 GAGAGAGCT CCGGCGGAGT ACGTGGAGCT CCAATCATG GTACCGGAGA TCGAGGAGCC TCGTCTGCG AAGGAGAGCG
 CCGTGTGCG CCGCGGCTCA TCGCTGCGA GGTGTGAGC CAGGCTCTT ACGTGTGCG ACGTGTGCG TCGCTGCG

*1 E G T
 4265 AAGGAGC
 TCTCTGCG

【図11】

ADAMTS-M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

ADAMTSファミリー	ADAMTS-M	アラインメント	類似性 (%)	同一性 (%)
hADAMTS-4 (AB014588)	301	SPSPRR-----KARRASLSRF-VLIVVADDKKRAFGACRRRYVMAARA	44	32
hADAMTS-5 (AF142099)	(241)	QSALSAGGGGQPTWRRRSISRAQ-NILIMVADASVRLYR-RCGHVYVASTAN	44	28
hADAMTS-1 (AF060152)	(220)	QGVGQVICTGSI-----KRRVSSHRY-VLIVVADQSWAEFG-SCRKHVLFSSVA	47	29
hADAMTS-8 (AF060153)	(199)	ASEPPPPLGATS-----TKREVSEARF-VLIVVADASVRAEY-ADGNHIIMNSVA	46	29
hADAMTS-2 (AJ003125)	(248)	EHANSR---R-----KRRVADDDYNIIVLIVGVEDVVOHGHKEHYQKYLIMNIVN	49	32
M1-MPD	(1)	-----AAGGILH-LILVAVGPDVFOAHQ-EDTRVYNIANGA		
コンセンサス	(301)	P R KRFAS R VETLLVAD SMA FHG GLQ YLLTLMSTAA	63	48
hADAMTS-4 (AB014588)	361	KAFHHRIRNPSVAVRILVGGEEFQGP-SKQVRSNVAQRGLTPEPSDEDH		
hADAMTS-5 (AF142099)	(251)	RANSHAENHRVAVVAVVGGKDKLSLRSKQVATKKNLKQHONQLGDEPH		
hADAMTS-1 (AF060152)	(274)	KVAKHRIRNYSVAVVAVVILVHDEKQREVT-NAAIIRNFNCKOHNPSTRDAH		
hADAMTS-8 (AF060153)	(253)	RVAKHPKSNIMVAVVLEVEKWEPEVSDAGGLRANFNORRFQSRPHH		
hADAMTS-2 (AJ003125)	(300)	EIKHDELGAHNVLLRIILSYGKSMLEIGPSSQENVIRAYLOOKEDTGHDEY		
M1-MPD	(39)	EELRDPVGAQRAVHLVAVVTEPCGAVTAALTSLSLVCGSQTINPEDTDRG		
コンセンサス	(361)	RLYKHRPSI N I LVVVK VIL D GPEV NAA TLRNFC WQ N P D HPEH		
hADAMTS-4 (AB014588)	421	FVAVLLEODLGG-VSTQDRLVADYCVVDAARAVVEDDITGSANVAIVEN		
hADAMTS-5 (AF142099)	(358)	YVAVLLEEDLGG-HHSQDRLVADYCVVDSERAVVEDDITRAAVIVILIG		
hADAMTS-1 (AF060152)	(333)	YVAVLLEODLGG-SQDQDRLVADYGVVDSRVAVEDDITQAAVITLVVFN		
hADAMTS-8 (AF060153)	(312)	YVAVLLEQNFEGQEGLELVALTEIIDNKSVATEDDITQAAVITLVVLS		
hADAMTS-2 (AJ003125)	(360)	HHAVLLEODEGP-SG--MCYAPVTGMHVRVTEINHEDESSAVVITVLC		
M1-MPD	(98)	ALVLYIFDELPLDGNRQVRVIOEGGASTWLLITDITFDLSVHIIVISFG		
コンセンサス	(421)	YDTAILFTRQDLGG CDILGMADVGT CDP RSC VIEDDGLQAAFT AHELGHVIG		
hADAMTS-4 (AB014588)	540	MLNSKPEIIBNPLSTSRVAVYMAHVPEEPVPSRFIDNNGYCHVAK		
hADAMTS-5 (AF142099)	(417)	LSDSKPEEITFSTE-DKRLSSILTSIBASKPKITSATIEEDDCHGNLIL		
hADAMTS-1 (AF060152)	(392)	MPADAKQASIN-VNQDSRVA-SMLSNLHSPQPPSYMISTNCHGPVAK		
hADAMTS-8 (AF060153)	(372)	MPADSKPTREPEMG-KHVPAPLVHLNQTLPSPSAMYTELDCGGGLLVA		
hADAMTS-2 (AJ003125)	(416)	MEVGG--NRCDEVRLGSIKPLVQAAAFHRYRQQEISRYHS--YDVAID		
M1-MPD	(158)	LEAGAP--GGCGESG---HVASDGAAPRAGLAPRRQLLSLSAGRAPVWVAP		
コンセンサス	(481)	M HDDSK C SL GP HVMAS D PWSPCSAL T FLD GHG CLLD P		

図 11

【図12】

図12

```

541
hADAMTS-4 (AB014588) (429) EAP--LHLPVTFPG--KDYDADROQLTEGPDSRHCF--QLPPPCNALWCSGHLNGHAMC 600
hADAMTS-5 (AF142099) (476) RKQ--ILGEEETPG--QTYDATTQCNLTGEEYSVCF---GMDVARWCAVVRQEQMVC
hADAMTS-1 (AF060152) (451) QNP--IQTEGDTFG--TSYDANROCFTEGPESKHCF--DAASTESTLWCTGTSGVLV
hADAMTS-8 (AF060153) (431) GHA--LPEETGLPGRMALYQLDQCCRQITGEPFRHCNTSAQDVCAOLWGH-TDGAEPLE
hADAMTS-2 (AJ003125) (471) FHDWPAEP-QDPG--LHSMNEQCRFDRGLGYMMCTAFRTFDPEKQWCS-HPDNPYFC
M1-MPD (213) RP-----
コンセンサス (541) A LP LPG YDA QC TFGPD HCP D CA LWC G C

```

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 1/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 1/00		1/02	4 C 0 8 5
1/02		1/04	4 C 0 8 6
1/04		3/10	
3/10		7/02	
7/02		9/04	
9/04		9/08	
9/08		9/10	
9/10			1 0 1
11/00	1 0 1	11/00	
11/00		11/06	
11/06		11/08	
11/08		11/16	
11/16		15/08	
15/08		17/00	
17/00		17/02	
17/02		19/02	
19/02		19/10	
19/10		25/00	
25/00		25/02	
25/02		25/06	
25/06		25/08	
25/08		25/14	
25/14		25/16	
25/16		25/24	
25/24		25/28	
25/28		27/02	
27/02		29/00	1 0 1
29/00	1 0 1	35/00	
35/00		35/02	
35/02		37/02	

	37/02			37/06	
	37/06			37/08	
	37/08			43/00	1 1 1
	43/00	1 1 1		C 1 2 N	1/15
C 1 2 N	1/15				1/19
	1/19				1/21
	1/21				9/64
	5/10			C 1 2 Q	1/02
	9/64				1/37
C 1 2 Q	1/02				1/68
	1/37			G 0 1 N	33/15
	1/68				33/50
G 0 1 N	33/15				33/53
	33/50				
	33/53				
					33/566
				C 1 2 N	15/00
					5/00
	33/566				

- (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 ディベロップメント
- (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 ディベロップメント
- (72)発明者 ティモシー スコット ワクトマン
 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 ディベロップメント
- (72)発明者 ロデリック トーマス ウォルシュ
 イギリス国, シーティー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 ディベロップメント

F ターム(参考) 2G045 AA40 DA12 DA13 DA14 DA36
FB02 FB03
4B024 AA01 AA11 BA14 CA04 DA02
EA02 EA04 HA11 HA12 HA15
HA17
4B050 CC03 DD07 LL01 LL03
4B063 QA01 QA19 QA20 QQ08 QQ36
QQ44 QR08 QR42 QR48 QR56
QS02 QS25 QS34 QX02
4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X
AB01 BA02 CA33 CA44 CA46
4C084 AA02 AA03 AA07 AA13 AA17
BA44 CA53 MA13 MA17 MA22
MA23 MA31 MA35 MA37 MA41
MA43 MA52 MA59 MA60 MA66
NA14 ZA022 ZA062 ZA082
ZA122 ZA152 ZA162 ZA202
ZA222 ZA332 ZA362 ZA392
ZA402 ZA452 ZA542 ZA592
ZA602 ZA612 ZA662 ZA672
ZA682 ZA812 ZA892 ZA962
ZA972 ZB072 ZB082 ZB132
ZB152 ZB262 ZB272 ZC352
ZC412
4C085 AA14 AA16 BB11 BB41 DD62
DD88 GG02 GG03 GG04 GG08
4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01
MA04 MA13 MA17 MA22 MA23
MA31 MA35 MA37 MA41 MA43
MA52 MA59 MA60 MA66 NA14
ZA02 ZA06 ZA08 ZA12 ZA15
ZA16 ZA20 ZA22 ZA33 ZA36
ZA39 ZA40 ZA45 ZA54 ZA59
ZA60 ZA61 ZA66 ZA67 ZA68
ZA81 ZA89 ZA96 ZA97 ZB07
ZB08 ZB13 ZB15 ZB26 ZB27
ZC35 ZC41

专利名称(译)	ADAMTS多肽，编码其的核酸及其用途		
公开(公告)号	JP2002330762A	公开(公告)日	2002-11-19
申请号	JP2001129484	申请日	2001-04-26
[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 ティモシースコットワクトマン 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 ティモシー スコット ワクトマン ロデリック トーマス ウォルシュ		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/7115 A61K38/00 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P1/00 A61P1/02 A61P1/04 A61P3/10 A61P7/02 A61P9/04 A61P9/08 A61P9/10 A61P11/00 A61P11/06 A61P11/08 A61P11/16 A61P15/08 A61P17/00 A61P17/02 A61P19/02 A61P19/10 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/06 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/24 A61P25/28 A61P27/02 A61P29/00 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N9/64 C12N15/09 C12N15/57 C12Q1/02 C12Q1/37 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61K38/00 A61K48/00 A61P1/00 A61P1/02 A61P1/04 A61P3/10 A61P7/02 A61P9/04 A61P9/08 A61P9/10 A61P11/00 A61P11/06 A61P11/08 A61P11/16 A61P15/08 A61P17/00 A61P17/02 A61P19/02 A61P19/10 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/06 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/24 A61P25/28 A61P27/02 A61P29/00 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C12N9/6489		
FI分类号	A61K31/7115 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K45/00 A61K48/00 A61P1/00 A61P1/02 A61P1/04 A61P3/10 A61P7/02 A61P9/04 A61P9/08 A61P9/10 A61P9/10.101 A61P11/00 A61P11/06 A61P11/08 A61P11/16 A61P15/08 A61P17/00 A61P17/02 A61P19/02 A61P19/10 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/06 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/24 A61P25/28 A61P27/02 A61P29/00.101 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00.111 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N9/64 C12Q1/02 C12Q1/37 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N5/00.101 C12N5/10		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA14 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/EA02 4B024/EA04 4B024/HA11 4B024/HA12 4B024/HA15 4B024/HA17 4B050/CC03 4B050/DD07 4B050/LL01 4B050/LL03 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QA20 4B063/QQ08 4B063/QQ36 4B063/QQ44 4B063/QR08 4B063/QR42 4B063/QR48 4B063/QR56 4B063/QS02 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA33 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA44 4C084/CA53 4C084/MA13 4C084/MA17 4C084/MA22 4C084/MA23 4C084/MA31 4C084/MA35 4C084/MA37 4C084/MA41 4C084/MA43 4C084/MA52 4C084/MA59 4C084/MA60 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZA022 4C084/ZA062 4C084/ZA082 4C084/ZA122 4C084/ZA152 4C084/ZA162 4C084/ZA202 4C084/ZA222 4C084/ZA332 4C084/ZA362 4C084/ZA392 4C084/ZA402 4C084/ZA452 4C084/ZA542 4C084/ZA592 4C084/ZA602 4C084/ZA612 4C084/ZA662 4C084/ZA672 4C084/ZA682 4C084/ZA812 4C084/ZA892 4C084/ZA962 4C084/ZA972 4C084/ZB072 4C084/ZB082 4C084/ZB132 4C084/ZB152 4C084/ZB262 4C084/ZB272 4C084/ZC352 4C084/ZC412 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB11 4C085/BB41 4C085		

/DD62 4C085/DD88 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG08 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/AA03 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/MA13 4C086/MA17 4C086/MA22 4C086 /MA23 4C086/MA31 4C086/MA35 4C086/MA37 4C086/MA41 4C086/MA43 4C086/MA52 4C086/MA59 4C086/MA60 4C086/MA66 4C086/NA14 4C086/ZA02 4C086/ZA06 4C086/ZA08 4C086/ZA12 4C086 /ZA15 4C086/ZA16 4C086/ZA20 4C086/ZA22 4C086/ZA33 4C086/ZA36 4C086/ZA39 4C086/ZA40 4C086/ZA45 4C086/ZA54 4C086/ZA59 4C086/ZA60 4C086/ZA61 4C086/ZA66 4C086/ZA67 4C086 /ZA68 4C086/ZA81 4C086/ZA89 4C086/ZA96 4C086/ZA97 4C086/ZB07 4C086/ZB08 4C086/ZB13 4C086/ZB15 4C086/ZB26 4C086/ZB27 4C086/ZC35 4C086/ZC41

优先权 60/200040 2000-04-27 US

外部链接 [Espacenet](#)

摘要(译)

解决的问题：提供一个名为ADAMTS-M的新成员，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-M的多核苷酸，针对ADAMTS-M的抗体，用于研究ADAMTS-M的功能的测定法，用于确定ADAMTS-M的激动剂或拮抗剂的测定法，以及它还涉及ADAMTS-M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。