

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) **公表特許公報** (A) (11)特許出願公表番号

特表2002 - 540791

(P2002 - 540791A)

(43)公表日 平成14年12月3日(2002.12.3)

(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 0 1 K 67/027	2 G 0 4 5
A 0 1 K 67/027		A 6 1 K 39/00	H 4 B 0 2 4
A 6 1 K 38/00		45/00	4 B 0 6 3
39/00		A 6 1 P 1/04	4 B 0 6 4
45/00		1/16	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全129数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 609571(P2000 - 609571)

(86)(22)出願日 平成12年4月4日(2000.4.4)

(85)翻訳文提出日 平成13年10月2日(2001.10.2)

(86)国際出願番号 PCT/US00/09072

(87)国際公開番号 W000/60080

(87)国際公開日 平成12年10月12日(2000.10.12)

(31)優先権主張番号 60/127,852

(32)優先日 平成11年4月5日(1999.4.5)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/132,647

(32)優先日 平成11年5月5日(1999.5.5)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 インサイト・ファーマスーティカルズ・インコーポレイテッド

INCYTE PHARMACEUTICALS INC.

アメリカ合衆国カリフォルニア州94304・パロアルト・ポータードライブ 3160

(72)発明者 ユエ、ヘンリー

アメリカ合衆国カリフォルニア州94087・サニーベイル・ルイスアベニュー 826

(72)発明者 ラル、ブリーティ

アメリカ合衆国カリフォルニア州95054・サンタクララ・ラスドライブ 2382

(74)代理人 弁理士 大島 陽一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 免疫系の分子

(57)【要約】

本発明は、ヒト免疫系分子 (IMOL) と、IMOLを
同定及びコードするポリヌクレオチドとを提供する。本
発明はまた、発現ベクター及び宿主細胞、抗体、アゴニ
スト、アンタゴニストを提供する。更に、本発明は、I
MOLの発現に関連する疾患の診断または治療方法、予
防方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 単離されたポリペプチドであって、

a) SEQ ID NO:1乃至SEQ ID NO:15 (SEQ ID NO:1 - 15) からなる一群から選択されたアミノ酸配列と、

b) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列と少なくとも90%の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列と、

c) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片と、

d) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片とで構成される一群から選択されたアミノ酸配列を含むことを特徴とする単離されたポリペプチド。

【請求項2】 SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択された請求項1の単離されたポリペプチド。

【請求項3】 請求項1のポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチド。

【請求項4】 SEQ ID NO:16 - 30からなる一群から選択された請求項3の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項5】 請求項3のポリヌクレオチドに機能的に結合されたプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチド。

【請求項6】 請求項5の組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞。

【請求項7】 請求項5の組換えポリヌクレオチドを含む遺伝子組換え生物。

【請求項8】 請求項1のポリペプチドを作製する方法であって、

a) 前記ポリペプチドの発現に好適な条件の下で、請求項1のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに機能的に結合されたプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞を培養するステップと、

b) そのように発現したポリペプチドを回収するステップとを含むことを特徴とする請求項1のポリペプチドの作製方法。

【請求項9】 請求項1のポリペプチドに特異的に結合する単離された抗体。

【請求項10】 単離されたポリヌクレオチドであって、

- a) SEQ ID NO:16 - 30からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と、
- b) SEQ ID NO:16 - 30からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と少なくとも90%の配列同一性を有する自然発生のポリヌクレオチド配列と、
- c) 前記a)に相補的なポリヌクレオチド配列と、
- d) 前記b)に相補的なポリヌクレオチド配列と、
- e) 前記a) - d)のRNA等価物とで構成される一群から選択されたポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド。

【請求項11】 請求項10のポリヌクレオチドの少なくとも60個の連続するヌクレオチドを含む単離されたポリヌクレオチド。

【請求項12】 請求項10のポリヌクレオチド配列を有するサンプル内の標的ポリヌクレオチドを検出する方法であって、

a) 前記サンプル内の前記標的ポリヌクレオチドと相補的な配列を含む少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含むプローブと前記サンプルとをハイブリダイズするステップであって、前記プローブと前記標的ポリヌクレオチドとによってハイブリダイゼーション複合体が形成される条件の下で、前記プローブが前記標的ポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズする、該ステップと、

b) 前記ハイブリダイゼーション複合体の存在の有無を検出し、存在する場合には随意選択でその量を測定するステップとを含むことを特徴とする標的ポリヌクレオチドの検出方法。

【請求項13】 前記プローブが少なくとも30個の連続するヌクレオチドを含むことを特徴とする請求項12に記載の方法。

【請求項14】 前記プローブが少なくとも60個の連続するヌクレオチドを含むことを特徴とする請求項12に記載の方法。

【請求項15】 有効量の請求項1のポリペプチド及び医薬的に容認できる賦形剤を含む医薬品組成物。

【請求項16】 機能的IMOL(ヒト免疫系分子である精製されたポリペプ

チド)の発現の低下に関連する疾患やその症状の治療方法であって、請求項15の医薬品組成物をそのような治療が必要な患者に投与することを含むことを特徴とする治療方法。

【請求項17】 請求項1のポリペプチドのアゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、

- a) 請求項1のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、
- b) 前記サンプルのアゴニスト活性を検出するステップとを含むことを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項18】 請求項17のスクリーニング方法によって同定されたアゴニスト化合物及び医薬的に容認できる賦形剤を含む医薬品組成物。

【請求項19】 機能的IMOLの発現の低下に関連する疾患やその症状の治療方法であって、請求項18の医薬品組成物をそのような治療が必要な患者に投与することを含むことを特徴とする治療方法。

【請求項20】 請求項1のポリペプチドのアンタゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、

- a) 請求項1のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、
- b) 前記サンプルのアンタゴニスト活性を検出するステップとを含むことを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項21】 請求項20のスクリーニング方法によって同定されたアンタゴニスト化合物及び医薬的に容認できる賦形剤を含む医薬品組成物。

【請求項22】 機能的IMOLの過剰な発現に関連する疾患やその症状の治療方法であって、請求項21の医薬品組成物をそのような治療が必要な患者に投与することを含むことを特徴とする治療方法。

【請求項23】 請求項4の配列を含む標的ポリヌクレオチドの発現を効果的に変える化合物をスクリーニングする方法であって、

- a) 前記標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、
- b) 前記標的ポリヌクレオチドの発現の変化を検出するステップとを含むことを特徴とするスクリーニング方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****(発明の技術分野)**

本発明は、ヒト免疫系分子の核酸配列及びアミノ酸配列、並びにこれらの配列を用いた免疫異常症及び感染症、癌を含む細胞増殖異常症の診断及び治療、予防に関連する。

【0002】**(発明の背景)**

全ての脊椎動物は、ウイルス感染及び細菌感染、真菌感染、また癌などから生体を守るための極めて複雑な免疫系を発達させた。この免疫系の中には、体液免疫及び補体カスケード、免疫応答のプロセスが含まれる(Paul, W.E. (1993) Fundamental Immunology, Raven Press. Ltd., New York NY pp.1-20を参照)。

【0003】

免疫系は、抗体の産生及び細胞性反応の2つの主な方法で微生物の進入に反応する。病原体を認識して破壊する細胞には、単球及びリンパ球、好中球、好酸球、好塩基球などの様々な種類の白血球が含まれる。好中球及び単球は、進入してくる細菌及びウイルスまたは他の病原体を攻撃し、食細胞活動によってそれらを破壊する。単球は組織に入ってから旺盛な貪食性を有するマクロファージに分化する。リンパ球及び形質細胞は、進入物を攻撃するように他の細胞にシグナル伝達をするだけでなく、特定の外来分子や生物を認識してそれらを不活化させる免疫系の一部である。白血球は、骨髄の2つの幹細胞系からなる。骨髄幹細胞系が顆粒球及び単球を産生し、リンパ球系の幹細胞がリンパ球を産生する。リンパ系細胞は、胸腺及び脾臓、リンパ節に運ばれ、そこで成熟してリンパ球に分化する。リンパ球には、それぞれT細胞及びB細胞とも呼ぶTリンパ球及びBリンパ球の2つのクラスがある。リンパ球の成熟は、インターロイキンを含む様々な因子によって制御される。

【0004】

細胞性免疫反応には、感染細胞或いは形質転換された(癌化)細胞の表面の外来抗原と反応するT細胞が関与する。T細胞には主な2種類のT細胞あり、一方

の細胞障害性T細胞は抗原を有する細胞を破壊し、他方のヘルパーT細胞はインターロイキンなどの化学信号によって他の白血球細胞を活性化させる。ヘルパー細胞 T_H1 は、マクロファージを活性化させて取り込んだ微生物を破壊し、別のクラスの T_H2 は、B細胞による抗体の産生を促す。

【0005】

抗体はBリンパ球によって産生される免疫グロブリンタンパク質であって、特定の抗原と結合して他の細胞による抗原の不活化或いは破壊に導く。原型となる抗体は、2つの同一の長いポリペプチド鎖(H鎖)と2つの同一の短いポリペプチド鎖(L鎖)とが互いにジスルフィド結合した4量体である。この構造によって、抗体分子は特徴的なY字型となる。抗体はそのH鎖の構造に基づいて分類される。IgA及びIgD、IgE、IgG、IgMの5つの抗体のクラスは、 γ 及び μ 、 δ 、 ϵ 及び μ のH鎖のタイプによって定義される。L鎖には κ 及び λ の2種類があり、いずれも任意のH鎖と結合して組を形成する。血清に見られる最も一般的な抗体のクラスIgGは4量体であるが、他のクラスの抗体は通常この基本構造の変異体或いは多量体である。

【0006】

H鎖及びL鎖はそれぞれ、C末端定常領域及びN末端可変領域を有する。この定常領域は、L鎖の約110個のアミノ酸及びH鎖の約330個或いは440個のアミノ酸から構成される。定常領域のアミノ酸配列は、特定のクラスのH鎖或いはL鎖においてほとんど同一である。可変領域は、H鎖及びL鎖の約110個のアミノ酸から構成される。しかしながら、可変領域のアミノ酸配列は、特定のクラスのH鎖或いはL鎖の間に相違がある。H鎖或いはL鎖のそれぞれの可変領域内には、それぞれが約5個から10個のアミノ酸からなる著しい配列多様性を有する3つの超可変領域がある。抗体分子では、H鎖及びL鎖の超可変領域が1つになって抗原認識部位を形成する(Alberts, B. et al. (1994) *Molecular Biology of the Cell*, Garland Publishing, New York, NY, pp.1206-1213 and 1216-1217を参照)。

【0007】

H鎖及びL鎖はそれぞれ、反復免疫グロブリンドメインを有する。例えば、典

型的なH鎖は4つのIgドメインを含み、その内3つは定常領域内にあり、1つが可変領域内にあり、抗原認識部位の構造の一部を成している。同様に、典型的なL鎖は2つのIgドメインを含み、1つが定常領域内にあり、もう1つが可変領域内にある。更に、 μ などのH鎖は、B細胞の分化中に他のポリペプチドと結合することが分かっている。

【0008】

宿主防御は更に補体系によって増強される。この補体系はエフェクター系 (effector system) として作用し、感染物質の認識に関与する。また、独立した免疫ネットワークとして或いは他の体液免疫反応と共に機能し得る。補体系は、一連の反応のカスケードに作用する多数の血漿タンパク質及び膜タンパク質から成る。このカスケードでは、1つの要素が別の要素を活性化して、炎症反応或いは増強された食細胞活動のいずれかによる感染に対する急速かつ増幅された反応が起こる。このカスケードの最初の要素C1は、C1q及びC1r、C1sのサブユニットから成る。C1qが欠損した患者は感染症に感染し易く、また自己免疫疾患に非常に罹患し易いということから、C1q誘発性細胞反応が、宿主防御及び自己免疫症に対する防御に関与すると考えられている (Nicholson-Weller, A. and Klickstein, LB. (1999) *Curr. Opin. Immunol.* 11:42-46)。

【0009】

古典経路には、感染因子抗原に結合する抗体が必要である。抗体は標的を定義して補体系のカスケードを開始し、最後には感染因子を破壊する。この経路では、抗体がプロセスを開始させるため、補体を体液免疫系のエフェクターアーム (effector arm) と見なすことができる。

【0010】

補体系の別の経路には、標的感染因子の破壊のための先在する抗体が必要ではない。むしろ、低レベルの活性化された要素によるこの経路は、常に初回抗原刺激を受けた状態に維持し、非免疫宿主を監視し、感染因子を標的にして破壊ができるようにする。この場合、外来物質によってカスケードが開始され、食細胞活動や細胞溶解が促進される (Paul, W. (1993) *Fundamental Immunology* Raven Press Ltd., New York NY pp.918-919)。

【0011】

抗原認識

免疫系の重要な特徴は、自己分子と外来分子即ち抗原とを区別できることである。この能力は主に、リンパ球及び顆粒球、単球などの白血球によって発現される分泌タンパク質及び膜貫通タンパク質によって仲介される。これらのタンパク質の多くが免疫グロブリン(Ig)スーパーファミリーに属し、メンバーの中には1つ或いは複数の保存された構造ドメインの反復を有するものもある。このIgドメインは、Igフォールド(Ig fold)と呼ばれる構造にジスルフィド結合した逆平行シートから成る。Igスーパーファミリーのメンバーには、T細胞受容体、主要組織適合抗原複合体(MHC)タンパク質、抗体、及びCD4やCD8、CD28などの免疫細胞特異的表面マーカーが含まれる。

【0012】

MHCタンパク質は、外来抗原に結合してT細胞に提示する細胞表面マーカーである。MHC分子は、クラスI或いはクラスIIの何れかに分類される。MHCクラスI分子(MHC I)は、ほとんど全ての細胞の表面に存在し、抗原の細胞障害性T細胞への提示に関与する。例えば、ウイルスに感染した細胞は、細胞内のウイルスタンパク質を分解し、細胞表面のMHC I分子と結合したタンパク質断片を提示する。MHC I/抗原複合体は、感染した細胞及びその中のウイルスを破壊する細胞障害性T細胞によって認識される。MHCクラスII分子は、B細胞やマクロファージなどの免疫系の特定の抗原提示細胞に主に存在する。これらの細胞は、細胞外液から外来タンパク質を取り込んで、細胞表面にMHC II/抗原複合体を提示する。ヘルパーT細胞がこの複合体によって活性化され、免疫反応を刺激するサイトカインや他の分子を分泌する。MHC分子はまた、移植を受けた後に器官を拒否する拒絶反応に重要な役割を果たす。この拒絶は、被移植者のT細胞が、自己のMHC分子が外来抗原に結合した時と同じように、移植された器官の外来MHC分子に応答することによって起こる(Alberts, B. et al. (1994) *Molecular Biology of the Cell*, Garland Publishing, New York, NY. pp. 1229-1246を参照)。

【0013】

抗体即ち免疫グロブリンは、血液及び他の細胞外液で抗原に結合して中和する

。抗体のクラスには、IgG及びIgA、IgM、IgD、IgEが含まれる。IgAは主に分泌物の中に見られ、粘膜免疫に重要な役割を果たす。IgAは上皮細胞シートを通過して経細胞輸送し、ルーメン空間の粘膜に沿って分泌される。経細胞輸送及び分泌は、IgAに結合して輸送する重合体Ig受容体によって仲介される。重合体Ig受容体は、その細胞外ドメインに約2～5のIgドメインを有する膜貫通タンパク質である。(Alberts, 前出, pp. 1210-1211; Kulseth, M. A. et al. (1995) DNA Cell Biol. (1995) 14:251-256を参照)。

【0014】

T細胞受容体は、構造的及び機能的に抗体に関連する。T細胞受容体は、外来抗原に結合して免疫応答の多様なプロセスを仲介する細胞表面タンパク質である。典型的なT細胞受容体は、α及びβと呼ぶジスルフィド結合した2つのポリペプチド鎖から成る4量体である。それぞれの鎖の長さはアミノ酸約280個であり、1つの可変領域と1つの定常領域を有する。それぞれの可変領域或いは定常領域はIgドメインの中に折り畳まれている。α鎖及びβ鎖の可変領域が4量体となり、抗原認識部位を形成する。T細胞受容体の多様性は、α鎖及びβ鎖をコードする遺伝子部分の体細胞再編成によって生み出される。T細胞受容体は、抗原提示細胞及び病原体感染細胞の表面に現れる小ペプチド抗原を認識する。これらのペプチド抗原は、抗原認識の正しい経路に導くMHCタンパク質と結合して細胞表面に提示される(Alberts, supra, pp. 1228-1229を参照)。

【0015】

免疫細胞シグナル伝達

サイトカインは、免疫系及び炎症反応を調節するシグナル伝達分子のファミリーから構成される。サイトカインは通常、障害や感染に反応して白血球から分泌される。しかしながら、他の組織にも、疾患や外傷に反応してサイトカインを分泌する能力がある。サイトカインは、Bリンパ球やTリンパ球、単球、マクロファージ、顆粒球、及びこれらの祖先である骨髄幹細胞や免疫幹細胞を含む免疫系の細胞に主に作用する成長因子及び分化因子として機能する。他のシグナル伝達分子と同様に、サイトカインは特定の細胞膜受容体に結合して、遺伝子発現のパターンを変える細胞内シグナル伝達経路を開始させる。炎症や免疫系の疾患の治

療にサイトカインを使える可能性が極めて高い。

【0016】

サイトカインの構造及び機能は、in vitroで十分に調べられた。ほとんどのサイトカインは、約30キロダルトン或いはそれ以下の小さなポリペプチドである。50種以上のサイトカインがヒトや歯類で同定された。サイトカインのサブファミリーには、インターフェロン(IFN- α 、及びIFN- β 、IFN- γ)及びインターロイキン(IL-1~IL-18)、腫瘍壊死因子(TNF- α 及びTNF- β)、ケモカインが含まれる。多くのサイトカインは、DNA組み換え技術によって作製することができる。また、白血球の増殖及び分化、運動性の調節を含む各サイトカインの活性は、in vitroで決定することができる(Callard, R. E. and Gearing, A. J. H. (1994) The Cytokine Facts Book, Academic Press, San Diego, CA, pp. 2-6, 12-17; Fossiez, F. et al. (1998) Int. Rev. Immunol. 16:541-551を参照)。

【0017】

in vitroでの各サイトカインの活性は、in vivoでの全ての活性を反映しないかもしれない。サイトカインはin vivoで単独に発現されるのではなく、生物が刺激を受けた時に多数の他のサイトカインと共に発現される。これらのサイトカインと共に、その刺激に対して適当な方法で免疫反応を集合的に調節する。従って、サイトカインの生理的活性は、刺激自体によって及び相乗関係と拮抗関係の双方を示し得る同時発現したサイトカイン間の複合相互作用ネットワークによって決定される。

【0018】

ケモカインは、30を超えるメンバーを有するサイトカインサブファミリーを含む(Wells, T. N. C. and Peitsch, M. C. (1997)J. Leukoc. Biol. 61:545-550を参照)。ケモカインは初め、炎症部位に単球やマクロファージを動員させる走化性タンパク質として同定された。近年の研究によって、ケモカインは、造血及びHIV-1の感染に重要な役割を果たし得ることが分かった。ケモカインは、分子量が約6~15キロダルトンの小さなタンパク質である。ケモカインは更に、重要なシステイン残基の数及び位置に基づいてC或いはCC、CXC、CX₃Cに分類される。例えば、CXCケモカインは、1つの残基が間に入った2つのシステイン残基

と、それに続く約23残基下流及び約12残基下流の2つのシステイン残基から成る保存されたモチーフを含む(ExpASY PROSITEデータベース、文献PS00471及びPDOC00434)。これら4つのシステイン残基の存在及びその間隔は高度に保存され、介在するその他の残基にはかなりの多様性がある。

【0019】

免疫系の器官

免疫系の主な器官は、1次リンパ器官と2次リンパ器官に分類される。1次リンパ器官には、B細胞を産生する骨髄及びT細胞(胸腺細胞)を産生する胸腺が含まれる。骨髄には、血管及び神経、脂肪組織、ストロマ細胞が含まれる。ストロマ細胞は、B細胞及び他の造血細胞の成長及び分化の促進に重要な膠原繊維の支持網及び他の細胞外マトリックス成分を生産する。成熟すると、B細胞及びT細胞はリンパ系を通過して、リンパ節及びアデノイド、扁桃腺、脾臓、腸管パイエル板などの体中の二次リンパ器官に運ばれそこに留まる。

【0020】

免疫系の異常

免疫系の異常には、免疫系が自己分子と非自己分子との区別の失敗によって起こる様々な自己免疫疾患や炎症の疾患が含まれる。他の免疫系の疾患は、多発性骨髄腫などの白血病及びホジキン病などのリンパ腫を含む細胞増殖の抑制が不能になって起こる。様々な疾患やHIVを含む病原体によってもたらされる免疫疾患は、時には死に至る重度の細菌感染症及びウイルス感染症にかかり易くする(例えば、Golub, E. S. et al. (1987) Immunology: A Synthesis, Sinauer Associates, Sunderland, MA, pages 481 and 509-530を参照)。

【0021】

ある1種類の白血球の欠損や過剰による疾患は、全免疫防御系が関与することになる。最も良く知られている自己免疫疾患は、AIDS(後天性免疫不全症候群)である。この疾患は、ヘルパーT細胞を枯渇させ、微生物や寄生虫が感染し易くなる。免疫無防備状態の患者はまた、癌にかかる可能性も高くなる。

【0022】

白血球の減少或いは無顆粒球症は、骨髄が白血球の生産を停止すると起こる。

これらの疾患に罹患すると、通常は皮膚や粘膜及び胃腸間に寄生する微生物を含む外来微生物から人体を防御できなくなる。単球白血病及び全身性狼瘡、肉芽腫性疾患を含む幾つかの疾患では、食細胞活動に異常が起こる。

【0023】

白血病は、身体の代謝資源の主要な部分が白血球の増殖のみに利用され、他の組織が餓死するまで白血球が過剰に生産される。骨髄性白血病では、癌性の若い骨髄性細胞が骨髄から他の器官、特に脾臓や肝臓、リンパ節、及び他の高度に血管新生された領域に広がる。放出される余分の白血病細胞は通常、未成熟であって正しく機能しないし分化もしない。白血病は、放射線や有毒化学物質などの環境因子にさらされることによって、或いは遺伝子の異常によって起こりうる。

【0024】

移植による拒絶反応やアレルギーは、免疫反応を抑制するのが理想的な例である。インターロイキンの活性は、特定の免疫反応において重要な役割を果たし得る。心臓組織の移植にIL-17のアンタゴニストを用いると、生存率が高められることが分かっている(Antonysamy, M.A. et al. (1999) Transplant. Proc. 31:93)。

【0025】

新規の免疫系分子及びそれらをコードするポリヌクレオチドの発見により、免疫異常症及び感染症、癌を含む細胞増殖異常症の診断及び治療、予防に有用な新規の組成物を提供することで当分野のニーズに答えることができる。

【0026】

(発明の要約)

本発明は、総称して「IMOL」、個別にはそれぞれ「IMOL-1」及び「IMOL-2」、「IMOL-3」、「IMOL-4」、「IMOL-5」、「IMOL-6」、「IMOL-7」、「IMOL-8」、「IMOL-9」、「IMOL-10」、「IMOL-11」、「IMOL-12」、「IMOL-13」、「IMOL-14」、「IMOL-15」と呼ぶ免疫系分子である精製されたポリペプチドを提供する。本発明の一実施態様では、a) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 15から

なる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含む単離されたポリペプチドを提供する。別法では、SEQ ID NO:1 - 15のアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドを提供する。

【0027】

更に本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片をポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチドを提供する。別法では、このポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:16 - 30からなる一群から選択される。

【0028】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと機能的に結合されたプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドを提供する。別法では、本発明は、この組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞を提供する。更なる別法では、本発明は、この組換えポリヌクレオチドを含む遺伝子組換え生物を提供する。

【0029】

また、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチドの製造方法を提供する。この方法は、a) このポリペプチドの発現に好適な条

件の下で、このポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと機能的に結合されたプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞を培養するステップと、b) このように発現したポリペプチドを回収するステップとを含む。

【0030】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチドに特異的に結合する単離された抗体を提供する。

【0031】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:16 - 30からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列、b) SEQ ID NO:16 - 30からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のポリヌクレオチド配列、c) 前記a) に相補的なポリヌクレオチド配列、またはd) 前記b) に相補的なポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドを提供する。別法では、このポリヌクレオチドは、少なくとも60個の連続するヌクレオチドを含む。

【0032】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:16 - 30からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列、b) SEQ ID NO:16 - 30からなる一群から選択されたポリヌクレオチドと90%以上の配列同一性を有する自然発生のポリヌクレオチド配列、c) 前記a) に相補的なポリヌクレオチド配列、またはd) 前記b) に相補的なポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド配列を有するサンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出する方法を提供する。この方法は、a) 前記サンプル内の標的ポリヌクレオチドと相補的な配列を含む少なくとも16個の連続するヌクレオチドを含むプローブと前記サンプルをハイブリダイズさせるステップであって、前記プローブと前記標的ポリヌクレオチドとでハイブリダイゼーション複合体が形成される条件下、前記プローブが前記標的ポリヌクレオチドに特異的にハイブリ

ダイズする、該ステップと、b) 前記ハイブリダイゼーション複合体の存在の有無を検出し、存在する場合には随意選択でその量を測定するステップとを含む。別法では、前記プローブは、少なくとも30個の連続するヌクレオチドを含む。更なる別法では、前記プローブは、少なくとも60個の連続するヌクレオチドを含む。

【0033】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチド有効量と好適な医薬用賦形剤とを含む医薬品組成物を提供する。更に、本発明は、患者にこの医薬品組成物を投与することを含む、機能的IMOLの発現の低下に関連した疾患やその症状の治療方法を提供する。

【0034】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチドのアゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法を提供する。この方法は、a) 前記ポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、b) 前記サンプルのアゴニスト活性を検出するステップとを含む。別法では、本発明は、前記方法によって同定されたアゴニスト化合物と好適な医薬用賦形剤とを含む医薬品組成物を提供する。更なる別法では、本発明は、この医薬品組成物の患者への投与を含む、機能的IMOLの発現の低下に関連した疾患やその症状の治療方法を提供する。

【0035】

更に、本発明は、a) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配

列、b) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列と90%以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd) SEQ ID NO:1 - 15からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片含むポリペプチドのアンタゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法を提供する。この方法は、a) 前記ポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、b) 前記サンプルのアンタゴニスト活性を検出するステップとを含む。別法では、本発明は、前記方法によって同定されたアンタゴニスト化合物と好適な医薬用賦形剤とを含む医薬品組成物を提供する。更なる別法では、本発明は、この医薬品組成物の患者への投与を含む、機能的IMOLの過剰な発現に関連した疾患やその症状の治療方法を提供する。

【0036】

更に本発明は、SEQ ID NO:16 - 30からなる一群から選択された配列を含む標的ポリヌクレオチドの発現を変えるのに効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、a) 前記標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、b) 前記標的ポリヌクレオチドの発現の変化を検出するステップとを含む、該スクリーニング方法を提供する。

【0037】

(本発明の記載について)

本発明のタンパク質及び核酸配列、方法について説明する前に、本発明は、ここに開示した特定の装置及び材料、方法に限定されず、その実施形態を変更できることを理解されたい。また、ここで用いられる用語は、特定の実施例のみを説明する目的で用いられたものであり、後述の請求の範囲によってのみ限定され、本発明の範囲を限定することを意図したものではないということも理解されたい。

【0038】

本明細書及び請求の範囲において単数形を表す「或る」、「その(この等)」は、文脈で明確に示していない場合は複数形を含むことに注意されたい。従って、例えば「或る宿主細胞」は複数の宿主細胞を含み、その「抗体」は複数の抗体

は含まれ、当業者には周知の等価物なども含まれる。

【0039】

本明細書で用いた全ての科学技術用語は、別の方法で定義されていない限り、本発明の属する技術分野の一般的な技術者が普通に解釈する意味と同じである。本明細書で記述したものと類似、或いは同等の全ての装置及び材料、方法は本発明の実施及びテストに使用できるが、好適な装置及び材料、方法をここに記す。本明細書に記載の全ての文献は、本発明に関連して使用する可能性のある文献に記載された細胞系、プロトコル、試薬、ベクターを記述し開示するために引用した。従来の特許を引用したからと言って、本発明の新規性が損なわれると解釈されるものではない。

【0040】

(定義)

用語「IMOL」は、天然、合成、半合成或いは組換え体など全ての種(特にウシ、ヒツジ、ブタ、マウス、ウマ及びヒトを含む哺乳動物)から得られる実質的に精製されたIMOLのアミノ酸配列を指す。

【0041】

用語「アゴニスト」は、IMOLの生物学的活性を強化したり、模倣する分子を指す。このアゴニストは、IMOLに直接相互作用するか、或いはIMOLが関与する生物学的経路の成分と作用して、IMOLの活性を調節するタンパク質、核酸、糖質、小分子、任意の他の化合物や組成物を含み得る。

【0042】

用語「アレル変異配列」は、IMOLをコードする遺伝子の別の形を指す。アレル変異配列は、核酸配列における少なくとも1つの変異によって生じ、変異mRNA若しくは変異ポリペプチドになり、これらの構造や機能は変わる場合もあれば変わらない場合もある。ある遺伝子は、自然発生型のアレル変異配列が存在しないもの、1つ或いは多数存在するものがある。一般にアレル変異配列を生じる変異は、ヌクレオチドの自然な欠失、付加、或いは置換による。これらの各変異は、単独或いは他の変異と同時に起こり、所定の配列内で一回或いはそれ以上生じる。

【0043】

IMOLをコードする「変異」核酸配列は、様々なヌクレオチドの欠失、挿入、或いは置換が起こっても、IMOLと同じポリペプチド或いはIMOLの機能特性の少なくとも1つを備えるポリペプチドを指す。この定義には、IMOLをコードするポリヌクレオチド配列の正常な染色体の遺伝子座ではない位置でのアレル変異配列との不適當或いは予期しないハイブリダイゼーション、並びにIMOLをコードするポリヌクレオチドの特定のオリゴヌクレオチドプローブを用いて容易に検出可能な或いは検出困難な多形性を含む。コードされたタンパク質も変異され得り、サイレント変化を生じIMOLと機能的に等価となるアミノ酸残基の欠失、挿入、或いは置換を含み得る。意図的なアミノ酸置換は、生物学的或いは免疫学的にIMOLの活性が保持される範囲で、残基の極性、電荷、溶解度、疎水性、親水性、及び/または両親媒性についての類似性に基づいて成され得る。例えば、負に荷電したアミノ酸にはアスパラギン酸及びグルタミン酸が含まれ、正に荷電したアミノ酸にはリシン及びアルギニンが含まれ得る。類似の親水性の値をもち極性非荷電側鎖を有するアミノ酸には、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニンが含まれ得る。類似の親水性の値をもち非荷電側鎖を有するアミノ酸には、ロイシン、イソロイシン、バリン、グリシン、アラニン、フェニルアラニン及びチロシンが含まれ得る。

【0044】

用語「アミノ酸」及び「アミノ酸配列」は、オリゴペプチド、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質配列、或いはそれらの任意の断片を指し、天然の分子及び合成分子を含む。「アミノ酸配列」が自然発生のタンパク質分子である場合、「アミノ酸配列」及び類似の用語は、アミノ酸配列を、記載したタンパク質分子に関連する完全で元のままのアミノ酸配列に限定するものではない。

【0045】

用語「増幅」は、核酸配列の複製物を作製することに関連する。一般に増幅は、この技術分野で周知のポリメラーゼ連鎖反応(PCR)技術によって行われる。

【0046】

用語「アンタゴニスト」は、IMOLの生物学的活性を阻害或いは減弱する分子である。アンタゴニストは、IMOLに直接相互作用するか、或いはIMOLが関与する生

物学的経路の成分と作用して、IMOLの活性を調節する抗体、核酸、糖質、小分子、任意の他の化合物や組成物などのタンパク質を含み得る。

【0047】

用語「抗体」は、抗原決定基と結合可能なFab及びF(ab')₂、及びそれらの断片、Fv断片などの無傷の分子を指す。IMOLポリペプチドと結合する抗体は、抗体を免疫する小ペプチドを含む無傷の分子またはその断片を用いて産生可能である。動物（例えば、マウス、ラット、若しくはウサギ）を免疫化するのに使用されるポリペプチド或いはオリゴペプチドは、RNAの翻訳から、或いは化学的に合成可能であり、必要に応じて担体タンパク質と結合させることも可能である。ペプチドと化学的に結合した一般に用いられる担体は、ウシ血清アルブミン、チログロブリン、及びキーホールリンペットヘモニアン（KLH）を含む。次ぎに、この結合したペプチドを用いて動物を免疫化する。

【0048】

用語「抗原決定基」は、特定の抗体と接触する分子の領域（即ちエピトープ）を指す。タンパク質或いはタンパク質の断片が、宿主動物を免疫化するのに用いられるとき、このタンパク質の種々の領域は、抗原決定基（タンパク質上の特定の領域或いは三次元構造体）に特異的に結合する抗体の産生を誘発し得る。抗原決定基は、抗体と結合するために無傷の抗原（即ち、免疫応答を引き出すために用いられる免疫原）と競合し得る。

【0049】

本明細書において「アンチセンス」は、特定の核酸配列のセンス鎖と塩基対を形成し得る任意の組成物を指す。アンチセンス成分には、DNAと、RNAと、ペプチド核酸（PNA）と、ホスホロチオネートやメチルホスホネート、ベンジルホスホネート（benzylphosphonate）などの変更された背骨連結（backbone linkage）を有するオリゴヌクレオチドと、2'-メトキシエチル糖または2'-メトキシエトキシ糖などの変更された糖を有するオリゴヌクレオチドと、5-メチルシトシンまたは2'-deoxyuracil、7-deaza-2'-deoxyguanosineなどの変更された塩基を有するオリゴヌクレオチドを含み得る。アンチセンス分子は、化学合成や転写を含む任意の方法で作製することができる。相補的アンチセンス分子は、一度細胞に導入

されると、細胞によって作られた自然発生の核酸配列と塩基対となって二重鎖を形成し、転写や翻訳を阻害する。「負」または「マイナス」という表現はアンチセンス鎖であり、「正」または「プラス」という表現はセンス鎖である。

【0050】

用語「生物学的に活性」は、自然発生分子の構造的、調節的、或いは生化学的な機能を有するタンパク質を指す。同様に、用語「免疫学的に活性」は、天然或いは組換え体のIMOL、合成のIMOLまたはそれらの任意のオリゴペプチドが、適当な動物或いは細胞の特定の免疫応答を誘発して特定の抗体と結合する能力を指す。

【0051】

用語「相補的」及び「相補性」は、ポリヌクレオチド同士が自然に結合して塩基対を形成することを指す。例えば、配列「5' A - G - T 3'」が相補的な配列「3' T - C - A 5'」と結合する。2つの一本鎖分子間の相補性は、幾つかの核酸のみが結合する部分的な場合、或いは一本鎖間に完全な相補性が存在して完全な相補性となる場合もあり得る。核酸鎖間の相補性の程度は、核酸鎖間のハイブリダイゼーションの効率及び強度に大きな影響を与える。このことは、核酸鎖間の結合に左右される増幅反応、並びにペプチド核酸(PNA)分子の設計若しくは使用において特に重要である。

【0052】

「所定のポリヌクレオチド配列を含む組成物」または「所定のアミノ酸配列を含む組成物」は広い意味で、所定のヌクレオチド配列若しくはアミノ酸配列を含む任意の組成物を指す。この組成物は、乾燥した製剤或いは水溶液を含み得る。IMOL若しくはIMOLの断片をコードするポリヌクレオチド配列を含む組成物は、ハイブリダイゼーションプローブとして使用され得る。このプローブは、凍結乾燥状態で保存可能であり、糖質などの安定化剤と結合させることが可能である。ハイブリダイゼーションにおいて、プローブは、塩(例えば、NaCl)及び界面活性剤(例えば、SDS:ドデシル硫酸ナトリウム)、その他の物質(例えば、デンハート液、乾燥ミルク、サケ精子DNAなど)を含む水溶液に展開され得る。

【0053】

「コンセンサス配列」は、不要な塩基を分離するためにシーケンシングされた核酸配列であって、XL-PCR™ (Perkin Elmer, Norwalk, CT) を用いて 5' 及び / または 3' の方向に伸長されてシーケンシングされた核酸配列、或いは GELVIEW 断片構築システム (GCG, Madison, WI) などのフラグメントの構築のためのコンピュータプログラムを用いて 1 つ或いはそれ以上のインサイト社クローン、及び場合によっては、1 つ以上のパブリックのドメイン EST の重複によって構築された核酸配列を指す。伸長及び重複の両方によって構築されるコンセンサス配列もある。

【0054】

用語「保存的なアミノ酸置換」は、元のタンパク質の特性を殆ど変えない置換を指す。即ち、置換によってそのタンパク質の構造や機能が大きくは変わらず、そのタンパク質の構造、特にその機能が保存される。以下に、あるタンパク質の元のアミノ酸が別のアミノ酸に置換される保存的なアミノ酸置換を示す。

元の残基	保存的な置換
Ala	Gly, Ser
Arg	His, Lys
Asn	Asp, Gln, His
Asp	Asn, Glu
Cys	Ala, Ser
Gln	Asn, Glu, His
Glu	Asp, Gln, His
Gly	Ala
His	Asn, Arg, Gln, Glu
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu
Met	Leu, Ile
Phe	His, Met, Leu, Trp, Tyr
Ser	Cys, Thr

Thr	Ser, Val
Trp	Phe, Tyr
Tyr	His, Phe, Trp
Val	Ile, Leu, Thr

一般に、保存されたアミノ酸置換の場合は、a) 置換された領域のポリペプチドの骨格構造、例えば、シートやヘリックス高次構造、b) 置換された部位の分子の電荷または疎水性、及び/または、c) 側鎖の大半が維持される。

【0055】

用語「欠失」は、1個以上のアミノ酸残基が欠如するアミノ酸配列の変化、或いは1個以上のヌクレオチドが欠如する核酸配列の変化を指す。

【0056】

用語「誘導体」は、化学修飾されたポリヌクレオチドまたはポリペプチドを指す。ポリヌクレオチド配列の化学修飾には、例えば、アルキル基、アシル基、ヒドロキシル基、或いはアミノ基による水素の置換がある。誘導体ポリヌクレオチドは、自然分子（未修飾の分子）の生物学的或いは免疫学的機能の少なくとも1つを維持するポリペプチドをコードする。誘導体ポリペプチドとは、もとのポリペプチドの生物学的機能、或いは免疫学的機能の少なくとも1つを維持する、グリコシル化、ポリエチレングリコール化、或いは任意の同様のプロセスによって修飾されたポリペプチドのことである。

【0057】

用語「断片」は、IMOLまたはIMOLをコードするポリヌクレオチドの固有の部分であって、その親配列（parent sequence）と同一であるがその配列より長さが短いものを指す。「断片」の最大の長さは、親配列から1つのヌクレオチド/アミノ酸残基を差し引いた長さである。例えば、ある断片は、5～1000個の連続するヌクレオチド或いはアミノ酸残基を含む。プローブ、プライマー、抗原、治療用分子、またはその他の目的に用いる断片は、少なくとも5、10、15、16、20、25、30、40、50、60、75、100、150、250若しくは500個の連続するヌクレオチド或いはアミノ酸残基の長さである。断片は、優先的に分子の特定の領域から選択される場合もある。例えば、ポリペプチ

ド断片は、所定の配列に示された最初の250若しくは500のアミノ酸（或いは、ポリペプチドの最初の25%または50%）から選択された連続するアミノ酸の所定の長さを含み得る。これらの長さは一例であり、配列表及び表、図面を含む明細書に記載の任意の長さが、本発明の実施例に含まれ得る。

【0058】

SEQ ID NO:16 - 30のある断片は、例えば、同じゲノム内の他の配列とは異なる、SEQ ID NO:16 - 30を明確に同定する固有のポリヌクレオチド配列の領域を含む。SEQ ID NO:16 - 30のある断片は、例えば、ハイブリダイゼーションや増幅技術、またはSEQ ID NO:16 - 30を関連ポリヌクレオチド配列から区別する類似の方法に有用である。ある断片と一致するSEQ ID NO:16 - 30の正確な断片の長さや領域は、その断片の目的に基づいて当分野で一般的な技術によって日常的に測定できる。

【0059】

SEQ ID NO:1 - 15のある断片は、SEQ ID NO:16 - 30のある断片によってコードされる。SEQ ID NO:1 - 15のある断片は、特異的にSEQ ID NO:1 - 15を同定する固有のアミノ酸配列の領域を含む。例えば、SEQ ID NO:1 - 15のある断片は、特異的にSEQ ID NO:1 - 15を認識する抗体の作製用の免疫原性ペプチドとして有用である。ある断片と一致するSEQ ID NO:1 - 15の正確な断片の長さや領域は、その断片の目的に基づいて当分野で一般的な技術によって日常的に測定できる。

【0060】

用語「類似性」は相補性の程度を表す。これには、部分的類似性と完全な類似性とがある。用語「同一性」を「類似性」とも言える。同一の配列と標的の核酸とのハイブリダイゼーションが少なくとも部分的に阻止される部分的に相補的な配列は、「実質的に類似」と呼ばれる。完全に相補的な配列と標的の配列とのハイブリダイゼーションの阻止は、緩いストリンジェントな条件の下、ハイブリダイゼーションアッセイ（サザンブロットニング或いはノーザンブロットニング法、溶液ハイブリダイゼーション等）を用いて検査される。実質的に類似の配列或いはハイブリダイゼーションプローブは、緩いストリンジェントな条件の下、完全に類似（同一）の配列と標的の配列との結合に対して競合して抑制する。これ

は、緩いストリンジェントな条件の下では非特異的な結合が許容されるということではなく、緩いストリンジェントな条件では、2つの配列の互いへの結合が特異的（即ち、選択的）に相互作用しなければならない。部分的な相補性ともいえない（例えば、30%未満の類似性或いは同一性）第2の標的配列を用いて、非特異的結合が存在しないことの検査が可能である。非特異的結合が存在しない場合は、実質的に類似配列或いはプローブが第2の非相補的標的配列とハイブリダイズしない。

【0061】

ポリヌクレオチド配列についての用語「パーセントの同一性」又は「%の同一性」とは、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされる、2つ以上のポリヌクレオチド配列間の一致する残基の百分率のことである。このようなアルゴリズムは、標準化され再現できる方法で、2つの配列間のアラインメントを最適化するべく、配列にギャップを挿入して、より意味をもつ2つの配列間の比較を行うことができる。

【0062】

ポリヌクレオチド配列間の同一性のパーセントは、MEGALIGN version 3.12e配列アラインメントプログラムに組込まれるCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトパラメータを用いて決定可能である。このプログラムはLASERGENEソフトウェアパッケージの一部であり、分子生物学分析プログラム一式（DNASTAR, Madison WI）である。このCLUSTAL Vは、Higgins, D.G. 及び P.M. Sharp (1989) CABIOS 5:151-153、Higgins, D.G. 他 (1992) CABIOS 8:189-191に記載されている。ポリヌクレオチド配列の対のアライメントの場合、デフォルトパラメーターは、Kt uple=2、gap penalty=5、window=4、「diagonals saved」=4と設定する。「重み付けされた」残基重み付け表が、デフォルトとして選択された。同一性のパーセントは、アラインメントされたポリヌクレオチド配列の対の「類似性のパーセント」としてCLUSTAL Vによって報告される。

【0063】

別法では、一般に用いられ、無料で入手可能な配列比較アルゴリズム一式が、NCBI、Bethesda、MD、及びインターネット（<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAS>

T/) などから入手できるNational Center for Biotechnology Information (NCBI) Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Altschul, S.F. 他 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410)によって得られる。このBLASTソフトウェア一式には、既知のポリヌクレオチド配列と様々なデータベースの別のポリヌクレオチド配列とのアラインメントに用いられる「blastn」を含む、様々な配列分析プログラムが含まれる。「BLAST 2 Sequences」と呼ばれるツールが入手可能であり、2つのヌクレオチド配列の対を直接比較するために用いられる。「BLAST 2 Sequences」は、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/b12.html>にアクセスして、対話形式で利用ができる。「BLAST 2 Sequences」ツールは、blastn 及び blastp (以下に記載)の両方に用いることができる。BLASTプログラムは、一般的には、デフォルトを設定するギャップ及び他のパラメーターと共に用いられる。例えば、2つのヌクレオチド配列を比較する場合、ある者は、デフォルトパラメータに設定された「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12 (April-21-2000)でblastnを使用するであろう。そのようなデフォルトパラメータは、例えば、以下のようになる。

Matrix: BLOSUM62

Reward for match: 1

Penalty for mismatch: -2

Open Gap: 5 及び Extension Gap: 2 penalties

Gap x drop-off: 50

Expect: 10

Word Size: 11

Filter: on

同一性のパーセントは、例えば、特定の配列番号で決められた、所定の配列の全長に対して測定してもよいし、それより短い長さに対して、例えば、ある大きな所定の配列から得られた断片、例えば、連続する少なくとも、20または30、40、50、70、100、200のヌクレオチドの断片の長さに対して測定してもよい。このような長さは単なる例であり、配列表及び表、図面を含む明細書に記載の配列の任意の長さの断片を用いて、同一性のパーセントが測定される

長さを示すことができる。

【0064】

高い同一性を示さない核酸配列でも、遺伝子コードの縮重によって類似のアミノ酸配列をコードし得る。縮重を利用して核酸配列を変え、それぞれが実質的に同じタンパク質をコードする様々な核酸配列を作製できることを理解されたい。

【0065】

ポリペプチド配列に用いられる用語「パーセントの同一性」又は「%の同一性」とは、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされる2つ以上のポリペプチド配列間の一致する残基の百分率のことである。ポリペプチド配列アラインメントの方法は周知である。アラインメント方法の中には、保存的なアミノ酸置換を考慮したものもある。詳細に上述したこのような保存的な置換は、一般に、置換部位の電荷や疎水性が保存され、ポリペプチドの構造（従って機能も）が保存される。

【0066】

ポリペプチド配列間の同一性のパーセントは、MEGALIGN バージョン3.12e配列アラインメントプログラム（上記）に組込まれるCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトパラメータを用いて決定可能である。CLUSTAL Vを用いる対方式のポリペプチド配列のアライメントの場合、デフォルトパラメーターは、Ktuple=1、gap penalty=3、window=5、及び「diagonals saved」=5と設定する。PAM250マトリクスが、デフォルトの残基重み付け表として選択される。ポリヌクレオチドアラインメントと同様に、アラインメントされたポリペプチド配列の対の同一性のパーセントは、「類似性のパーセント」としてCLUSTAL Vによって報告される。

【0067】

別法では、NCBI BLASTソフトウェア一式が用いられる。例えば、2つのポリペプチド配列を対で比較をする場合、ある者は、デフォルトパラメータで設定された「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12 (April-21-2000)でblastpを使用するであろう。そのようなデフォルトパラメータは、例えば、以下のようにする。

Matrix: BLOSUM62

Open Gap: 11 及び Extension Gap: 1 penalties

Gap x drop-off: 50

Expect: 10

Word Size: 3

Filter: on

同一性のパーセントは、例えば、特定の配列番号で決められた、所定のポリペプチド配列の全長に対して測定してもよいし、それより短い長さに対して、例えば、ある大きな所定のポリペプチド配列から得られた断片、例えば、連続する少なくとも15、20または30、40、50、70、150の残基の断片の長さに対して測定してもよい。このような長さは単なる例であり、配列表及び表、図面を含む明細書に記載の配列の任意の長さの断片を用いて、同一性のパーセントが測定される長さを示すことができる。

【0068】

「ヒト人工染色体 (HAC)」は、約6 kb (キロベース) ~ 10 MbのサイズのDNA配列を含み得り、安定した有糸分裂染色体の分離及び維持に必要な全ての要素を含む直鎖状の小染色体である。

【0069】

用語「ヒト化抗体」は、もとの結合能力を保持しつつよりヒトの抗体に似せるために、非抗原結合領域のアミノ酸配列が変えられた抗体分子を指す。

【0070】

「ハイブリダイゼーション」とは、所定のハイブリダイゼーション条件の下で、ある一本鎖ポリヌクレオチドがある相補的な一本鎖と塩基対を形成するアニーリングのプロセスである。特異的なハイブリダイゼーションとは、2つの核酸配列が高い同一性を有することを意味する。アニーリングが許容される条件の下で、特異的なハイブリダイゼーション複合体が形成され、洗浄過程の後もハイブリダイズしたままである。洗浄過程は、ハイブリダイゼーションプロセスの厳密性即ちストリンジェント (stringency) の決定において特に重要であり、よりストリンジェントな条件では、非特異的な結合、即ち完全には一致しない核酸鎖間の対の結合が減少する。核酸配列間のアニーリングが許容される条件は、当業者に

よって日常的に決定され、ハイブリダイゼーションの間は一定であるが、洗浄過程は、目的のストリンジェントにするためにその最中に条件の変更が可能であり、ハイブリダイゼーション特異性が得られる。アニーリングが許容される条件は、例えば、温度が68℃で、約6×SSC、約1% (w/v) のSDS、並びに約100 μg/mlのせん断して変性したサケ精子DNAが含まれる。

【0071】

一般に、ハイブリダイゼーションのストリンジェントは、洗浄過程を行う際の温度によっても左右される。この洗浄温度は通常、所定のイオン強度とpHにおける特定の配列の熱融点(T_m)より約5~20℃低く選択される。このT_mは、(所定のイオン強度とpHの下)標的の配列の50%が完全に一致するプローブとハイブリダイズする温度である。T_mを計算する式及び核酸のハイブリダイゼーションの条件は、周知であり、Sambrook, J. 他による, 1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第2版の1-3巻, Cold Spring Harbor Press, Plainview NY; 特に2巻の9章に記載されている。

【0072】

本発明のポリヌクレオチド間の高いストリンジェントなハイブリダイゼーションでは、約0.2×SSC及び約1%のSDSの存在の下、約68℃で1時間の洗浄過程を含む。別法では、65℃、60℃、55℃、42℃の温度で行う。SSCの濃度は、約0.1%のSDSが存在の下、約0.1~2×SSCの範囲である。通常は、遮断剤を用いて非特異的なハイブリダイゼーションを阻止する。このような遮断剤には、例えば、約100~200 μg/mlの変性したサケ精子DNAが含まれる。約35~50%v/vの濃度のホルムアミドなどの有機溶剤が、例えば、RNAとDNAのハイブリダイゼーションなどの特定の場合に用いることができる。これらの洗浄条件の有用な改変は、当業者には周知である。特に高いストリンジェントな条件でのハイブリダイゼーションは、ヌクレオチド間の進化における類似性を示唆し得る。このような類似性は、それらのヌクレオチド及びコードされたポリペプチドが類似の役割を果たしていることを強く示唆する。

【0073】

用語「ハイブリダイゼーション複合体」は、相補的な塩基間の水素結合によっ

て、形成された2つの核酸配列の複合体を指す。ハイブリダイゼーション複合体は溶液中（例えば、 C_0t または R_0t 分析）で形成されるか、或いは溶液中の1つの核酸配列と固体の支持物（例えば、紙、膜、フィルター、チップ、ピン、或いはスライドガラス、または細胞及びその核酸を固定する任意の適当な基板）に固定されたもう一つの核酸配列とで形成され得る。

【0074】

用語「挿入」或いは「付加」は、1個以上のアミノ酸残基或いはヌクレオチドがそれぞれ追加されるアミノ酸配列或いは核酸配列の変化を指す。

【0075】

「免疫応答」は、炎症性疾患及び外傷、免疫異常、感染症、遺伝病などに関連する症状を指す。これらの症状は、細胞系及び全身防衛系に影響を及ぼすサイトカイン及びケモカイン、別の情報伝達分子などの様々な因子の発現という特徴をもつ。

【0076】

用語「マイクロアレイ」は、基板上に配列されたそれぞれ異なったポリヌクレオチドの配列を指す。

【0077】

マイクロアレイの文脈に用いられる用語「要素」或いは「アレイ要素」は、基板の表面に配列されたハイブリダイズ可能なポリヌクレオチドを指す。

【0078】

用語「変調」は、IMOLの活性の変化を指す。例えば、変調によって、IMOLのタンパク質活性、或いは結合特性、またはその他の生物学的特性、機能的特性或いは免疫学的特性の変化が起こる。

【0079】

用語「核酸」及び「核酸配列」は、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、或いはそれらの断片を指す。また、一本鎖若しくは二本鎖であって、センス鎖或いはアンチセンス鎖であるゲノム起源若しくは合成起源のDNA或いはRNA、ペプチド核酸（PNA）、任意のDNA様物質、及びRNA様物質を指す。

。

【0080】

「機能的に結合した」は、第1の核酸配列と第2の核酸配列が機能的な関係にある状態を指す。例えば、プロモーターがコード配列の転写または発現に影響を与える場合、そのプロモーターはそのコード配列に機能的に結合している。一般に、機能的に結合したDNA配列は、同じ読み枠内で2つのタンパク質をコードする領域が結合する必要がある場合は、非常に近接或いは連続する。

【0081】

「ペプチド核酸(PNA)」は、末端がリシンで終わるアミノ酸残基のペプチド骨格に結合した、少なくとも約5ヌクレオチドの長さのオリゴヌクレオチドを含む、アンチセンス分子又は抗遺伝子剤を指す。この末端のリシンにより、この組成物が溶解性となる。PNAは、相補的な一本鎖DNAやRNAに優先的に結合して転写物の伸長を止め、ポリエチレングリコール化して細胞における寿命を延ばし得る。

【0082】

「プローブ」とは、同一配列或いはアレル核酸配列、関連する核酸配列の検出に用いる、IMOLやそれらの相補配列、またはそれらの断片をコードする核酸配列のことである。プローブは、検出可能な標識またはレポーター分子が結合され単離されたオリゴヌクレオチドやポリヌクレオチドである。典型的な標識には、放射性アイソトープ及びリガンド、化学発光試薬、酵素がある。「プライマー」とは、相補的な塩基対を形成して標的のポリヌクレオチドにアニーリング可能な、通常はDNAオリゴヌクレオチドである短い核酸である。プライマーがポリヌクレオチドにアニーリングした後、あるDNAポリメラーゼ酵素によって、標的のDNA一本鎖に沿って伸長される。プライマーの組は、例えば、PCR法における核酸配列の増幅(及び同定)に用いることができる。

【0083】

本発明に用いられるプローブ及びプライマーは、既知の配列の少なくとも15の連続するヌクレオチドを含む。特異性を高めるために、より長いプローブ及びプライマーが用いることも可能である。例えば、開示した核酸配列の連続する少なくとも20または25、30、40、50、60、70、80、90、100

、150のヌクレオチドを含む。プローブ及びプライマーは、上記した例より相当長いものも用いることができ、本明細書の表及び図面、配列表に示された任意の長さのヌクレオチドも用いることができることを理解されたい。

【0084】

プローブ及びプライマーの準備及び使用方法については、例えば、Sambrook, J.他による、1989年、名称「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」、第2版の1-3巻(Cold Spring Harbor Press, Plainview NY)、またはAusubel, F.M.他による、1987年、名称「Current Protocols in Molecular Biology」(Greene Pubi. Assoc. & Wiley-Intersciences, New York NY)、並びに Innis他による、1990年、名称「PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications」(Academic Press, San Diego CA.)を参照されたい。PCR用のプライマーの組は、例えば、Primer (Version 0.5, 1991, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge MA)などのそのような目的のためのコンピュータプログラムを用いて、ある既知の配列から引き出すことができる。

【0085】

プライマーとして用いるオリゴヌクレオチドは、当分野で周知のプライマー選択用のコンピュータプログラムで選択される。例えば、OLIGO 4.06ソフトウェアは、それぞれが最大100ヌクレオチドまでのPCR用のプライマーの対の選択、及び32,000塩基までの入力ポリヌクレオチド配列から最大5,000ヌクレオチドまでの大きなポリヌクレオチド及びオリゴヌクレオチドの分析に有用である。類似のプライマー選択プログラムには、能力を拡大する追加の機能が含まれている。例えば、PrimOUプライマー選択プログラム(Genome Center at University of Texas South West Medical Center, Dallas TXより入手可能)は、メガベース配列から特定のプライマーを選択できるため、ゲノムワイドスコープ(genome-wide scope)におけるプライマーの設計に有用である。Primer3プライマー選択プログラム(Whitehead Institute/MIT Center for Genome Research, Cambridge MAより入手可能)によって、ユーザーは、プライマー結合部位として避けたい配列を指定できる「非プライミングライブラリ(mispriming library)」を入力できる。また、Primer3は、特にマイクロアレイのオリゴヌクレオチ

ドの選択に有用である（後の方の2つのプライマー選択プログラムのソースコードは、それぞれのソースから得ることができ、ユーザーのニーズを満たすように変更することもできる）。PrimerGenプログラム（UK Human Genome Mapping Project Resource Centre, Cambridge UK より入手可能）は、多数の配列アラインメントに基づいてプライマーを設計するため、アラインメントされた核酸配列の最も保存された領域或いは最も保存されていない領域のどちらかとハイブリダイズするプライマーを選択することができる。従って、このプログラムは、固有及び保存されたオリゴヌクレオチドやポリヌクレオチドの断片の同定に有用である。上記した任意の選択方法で同定されたオリゴヌクレオチドやポリヌクレオチドの断片は、例えば、PCR法やシーケンシングプライマー、マイクロアレイ要素、或いはサンプルの核酸の完全或いは部分的に相補的なポリヌクレオチドを同定する特定のプローブなどの、ハイブリダイゼーション技術に有用である。オリゴヌクレオチドの選択方法は、上記した方法に制限されるものではない。

【0086】

本明細書における「組換え核酸」は天然の配列ではなく、2つ以上の配列の離れたセグメントを人工的に組み合わせた配列である。この人工の組み合わせは、化学合成によって作られる場合も多いが、前出のSambrook に記載されたような遺伝子工学の技術を用いて核酸の離れたセグメントを人工的に操作する方がより一般的である。この「組換え核酸」には、単に核酸の一部の追加または置換、欠失によって変更された核酸も含む。組換え核酸は、あるプロモーター配列に機能的に結合した核酸配列を含む場合もある。このような組換え核酸は、例えば、ある細胞を形質転換するのに用いられるベクターの一部であり得る。

【0087】

別法では、このような組換え核酸は、この組換え核酸を発現する哺乳動物のワクチン接種に用いると、その哺乳動物の防衛的な免疫応答を誘発する、ワクチンウイルスに基づいたウイルスベクターの一部であり得る。

【0088】

本明細書において、DNA配列に対する「RNA等価物」とは、基準となるDNA配列と同じ直鎖の核酸配列から構成されるが、窒素性塩基のチミンがウラシルに置換

され、糖鎖の背骨がデオキシリボースではなくリボースからなる。

【0089】

用語「サンプル」は、その最も広い意味で用いられている。IMOLをコードする核酸若しくはその断片、IMOL自体を含むと推定されるサンプルには、体液と、細胞からの抽出物や細胞から単離された染色体や細胞内小器官、膜と、細胞と、溶液中に存在する又は基板に固定されたゲノムDNA、RNA、cDNAと、組織又は組織プリント等も含まれ得る。

【0090】

用語「特異的結合」及び「特異的に結合する」は、タンパク質若しくはペプチドと、アゴニスト、抗体、アンタゴニスト、小分子、若しくは任意の天然若しくは合成の結合組成物との間の相互作用を指す。この相互作用は、結合する分子によって認識される、例えば、抗原決定基つまりエピトープなどのタンパク質の特定の構造の存在によって左右される。例えば、抗体がエピトープ「A」に対して特異的である場合、結合していない標識した「A」及び抗体を含む反応液に、エピトープAを含むポリペプチド或いは結合していない無標識の「A」が存在すると、抗体と結合する標識Aの量が減少する。

【0091】

用語「実質的に精製された」は、自然の環境から取り除かれてから、単離或いは分離された核酸配列或いはアミノ酸配列であって、自然に結合している組成物が少なくとも約60%以上除去されたものであり、好ましくは約75%以上の除去、最も好ましくは90%以上除去されたものを指す。

【0092】

「置換」とは、一つ以上のアミノ酸またはヌクレオチドをそれぞれ別のアミノ酸またはヌクレオチドに置き換えることである。

【0093】

用語「基板」は、任意の好適な固体或いは半固体の支持物を指し、膜及びフィルター、チップ、スライド、ウエハ、ファイバー、磁気または非磁気ビード、ゲル、チューブ、プレート、ポリマー、微小粒子、毛細管が含まれる。この基板には、壁または塹壕、ピン、チャンネル、細孔などの様々な表面形態があり、そこ

にポリヌクレオチドやポリペプチドが結合する。

【0094】

「形質転換」とは、外来DNAが入り込み受容体細胞を変化させるプロセスのことである。形質転換は、当分野で周知の種々の方法により、自然或いは人工の条件の下で起こり得り、原核宿主細胞若しくは真核宿主細胞の中に外来核酸配列を挿入する任意の周知の方法によって行うことができる。この形質転換の方法は、形質転換される宿主細胞のタイプによって選択される。この方法には、ウイルス感染、電気穿孔法（エレクトロポレーション）、リポフェクション、及び微粒子照射が含まれるが、これらに限定されるものではない。「形質転換された」細胞には、導入されたDNAが自律的に複製するプラスミドとして或いは宿主染色体の一部として複製可能である安定的に形質転換された細胞が含まれる。さらに、限られた時間に一時的に導入DNA若しくは導入RNAを発現する細胞も含まれる。

【0095】

本明細書における「遺伝子組換え生物」とは、当分野で周知の遺伝子組換え技術などを用いて、人間が生物の1つ以上の細胞に異種の核酸を導入した任意の生物であり、動物及び植物を含むが、それらに限定されるものではない。微量注入や組換えウイルスに感染させるなどの慎重な遺伝子操作によって、細胞の前駆体に直接或いは間接的に異種核酸を細胞に導入する。「遺伝子操作」とは、典型的な交雑育種や*in vitro*での受精ではなく、組換えDNA分子を導入することである。本発明に従った遺伝子組換え生物には、細菌及びラン藻類、菌類、植物、動物が含まれる。本発明の単離されたDNAは、当分野で周知の、例えば、感染、形質移入、形質転換、トランス接合（transconjugation）などの方法によって、宿主に導入することができる。本発明のDNAをそのような生物に導入する技術は周知であり、前出のSambrook他（1989）に記載されている。

【0096】

特定の核酸配列の「変異配列」とは、デフォルトパラメーター設定の「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9 (May-07-1999)を用いるblastnによって、ある核酸配列のある長さに対する該特定の核酸配列の同一性が、少なくとも40%と決定された核酸配列のことである。このような核酸の対は、ある長さにおいて

、例えば、少なくとも50%または60%、70%、80%、85%、90%、95%、98%、或いはそれ以上の同一性を示し得る。ある変異配列は、例えば、「アレル」変異配列(上述)または「スプライス」変異配列、「種」変異配列、「多型」変異配列と表すことができる。スプライス変異配列は基準分子と同一性が極めて高い可能性があるが、mRNAプロセッシング中のエキソンの択一的スプライシングによってポリヌクレオチドの数が多くなったり、少なくなったりする。対応するポリペプチドは、基準分子に存在する追加の機能ドメインを有したり、基準分子に存在するドメインが欠落したりし得る。種変異配列は、種によって異なるポリヌクレオチド配列である。得られるポリペプチドは、互いに高いアミノ酸同一性を有する。多型変異配列は、所定の種と種における特定の遺伝子のポリヌクレオチド配列が異なる。多型変異配列はまた、ポリヌクレオチド配列の1つのヌクレオチドが異なる「1ヌクレオチド多型」(SNP)も含み得る。SNPの存在は、例えば、或る集団(population)、病態、病態の特徴を表し得る。

【0097】

特定のポリペプチド配列の「変異体」とは、デフォルトパラメーター設定の「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9 (May-07-1999)を用いるblastpによって、ある核酸配列のある長さに対する該特定のポリペプチド配列の同一性が、少なくとも40%と決定されたポリペプチド配列のことである。このようなポリペプチドの対は、ある長さにおいて、例えば、少なくとも50%または60%、70%、80%、85%、90%、95%、98%、或いはそれ以上の同一性を示し得る。

【0098】

(発明)

本発明は、新規のヒト免疫系分子(IMOL)及びIMOLをコードするポリヌクレオチドの発見に基づいた、免疫異常症及び感染症、癌を含む細胞増殖異常症の診断、治療、及び予防におけるそれらの組成物の使用に関する。

【0099】

表1は、IMOLをコードする完全長のヌクレオチド配列の構築に用いたインサイト社クローンを示す。列1及び列2はそれぞれ、ポリペプチド配列及びヌクレオ

チド配列の配列番号 (SEQ ID NO) を示す。列3は、各IMOLをコードする核酸が
同定されたIncyteクローンのクローンIDを示し、列4は、それらのクローンが単
離されたcDNAライブラリを示す。列5は、Incyteクローン及びそれらに対応する
cDNAライブラリを示す。cDNAライブラリが示されていないインサイト社クロー
ンは、プールされたcDNAライブラリに由来する。列5のインサイト社クローンは、
各IMOLのコンセンサヌクレオチド配列の構築に用いられ、ハイブリダイゼーシ
ョン技術における断片として有用である。

【0100】

表2の各列は、本発明の各ポリペプチドの様々な特性を示す。列1は配列番号
(SEQ ID NO)、列2は各ポリペプチドにおけるアミノ酸残基の数、列3は潜在
的なリン酸化部位、列4は潜在的なグリコシル化部位、列5はシグネチャ (sign
ature) 配列及びモチーフを有するアミノ酸残基、列6は、BLAST分析によって同
定された相同配列を示す。列7は、分析方法、場合によってはその分析方法が適
用できる検索可能なデータベースを示す。列7の分析方法は、配列相同性及びタン
パク質モチーフによって各ポリペプチドを特長つけるために用いられた。

【0101】

表3の列は、IMOLをコードするヌクレオチド配列に関連した組織特異性及び疾
患、異常症、症状を示している。表3の列1は、ヌクレオチドの配列番号 (SEQ
ID NO) を示している。列2は、列1のヌクレオチド配列の断片を示している。
これらの断片は、例えば、SEQ ID NO:16 - 30を同定し、SEQ ID NO:16 - 30と関連
するポリヌクレオチド配列とを区別する、ハイブリダイゼーション若しくは増幅
の技術において有用である。これらの断片によってコードされるポリペプチドは
、例えば、免疫原性ペプチドとして有用である。列3は、IMOLを発現する組織名
、及びIMOLを発現する全組織におけるその割合を示す。列4は、IMOLを発現する
組織に関連する疾患若しくは異常症、症状、並びにIMOLを発現する全組織におけ
るそれらの割合を示す。列5は、各cDNAライブラリのサブクローニングに用いた
ベクターを示す。

【0102】

表4の各列は、IMOLをコードするcDNAのクローンが単離されたcDNAライブラリ

の作製に用いられた組織についての説明である。列1は、ヌクレオチドのSEQ ID NOを示し、列2はそれらのクローンが単離されたcDNAライブラリを示し、列3は列2のcDNAライブラリに関連する組織の由来及び詳細を示す。

【0103】

SEQ ID NO:26は、第16染色体の19.70~33.30センチモルガンの区間内にマップされる。この区間内には、B細胞の成熟及びMHCクラスIIトランス活性化に関連する遺伝子及びESTが含まれる。SEQ ID NO:29は、第11染色体の104.80~123.50センチモルガンの区間内にマップされる。この区間内には、ヒトリンパ腫に関連する遺伝子及びESTが含まれる。

【0104】

本発明はまた、IMOLの変異体も含む。好適なIMOLの変異体は、IMOLの機能的或いは構造的特徴の少なくともどちらか一方を有し、かつIMOLアミノ酸配列に対して少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性、或いは少なくとも約90%のアミノ酸配列同一性、更には少なくとも約95%のアミノ酸配列同一性を有する。

【0105】

本発明はまた、IMOLをコードするポリヌクレオチドを提供する。特定の実施例において、本発明は、IMOLをコードするSEQ ID NO:16-30からなる一群から選択された配列を含むポリヌクレオチド配列を提供する。配列表に示したSEQ ID NO:16-30のポリヌクレオチド配列は、窒素系塩基のチミンがウラシルに置換され、糖鎖の背骨がデオキシリボースではなくリボースからなるRNA配列等価物を含む。

【0106】

本発明はまた、IMOLをコードするポリヌクレオチド配列の変異配列を含む。詳細には、このようなポリヌクレオチド配列の変異配列は、IMOLをコードするポリヌクレオチド配列と少なくとも80%のポリヌクレオチド配列同一性、或いは少なくとも90%のポリヌクレオチド配列同一性、更には少なくとも95%のポリヌクレオチド配列同一性を有する。本発明の特定の実施形態は、SEQ ID NO:16-30からなる一群から選択された核酸配列と少なくとも80%のポリヌクレオチド配列同一性、或いは少なくとも90%のポリヌクレオチド配列同一性、更には

少なくとも95%ものポリヌクレオチド配列同一性を有するSEQ ID NO:16-30からなる一群から選択された配列を含むポリヌクレオチド配列の変異配列を提供する。上記したポリヌクレオチド変異配列は何れも、IMOLの機能的或いは構造的特徴の少なくとも1つを有するアミノ酸配列をコードする。

【0107】

遺伝暗号の縮重により作り出され得るIMOLをコードする種々のポリヌクレオチド配列には、既知の自然発生する任意の遺伝子のポリヌクレオチド配列と最小の類似性しか有しないものも含まれることを、当業者は理解するであろう。したがって本発明には、可能なコドン選択に基づいた組み合わせの選択によって作り出され得る可能なポリヌクレオチド配列の変異の全てが含まれ得る。これらの組み合わせは、自然発生のIMOLのポリヌクレオチド配列に適用される標準的なトリプレット遺伝暗号を基に作られ、全ての変異が明確に開示されていると考慮する。

【0108】

IMOLをコードするヌクレオチド配列及びその変異配列は一般に、好適に選択されたストリンジェントな条件の下で、自然発生のIMOLのヌクレオチド配列とハイブリダイズ可能であるが、非自然発生のコドンを含めるなどの実質的に異なった使い方のコドンを有するIMOL或いはその誘導体をコードするヌクレオチド配列を作ることは有利となり得る。特定のコドンが宿主によって利用される頻度に基づいてコドンを選択して、ペプチドの発現が特定の真核細胞又は原核宿主に発生する割合を高めることが可能である。コードされたアミノ酸配列を変えないで、IMOL及びその誘導体をコードするヌクレオチド配列を実質的に変更する別の理由は、自然発生の配列から作られる転写物より例えば長い半減期など好ましい特性を備えるRNA転写物を作ることにある。

【0109】

本発明はまた、IMOL及びその誘導体をコードするDNA配列又はそれらの断片を完全に合成化学によって作り出すことも含む。作製後にこの合成配列を、当分野で良く知られた試薬を用いて、種々の入手可能な発現ベクター及び細胞系の何れの中にも挿入可能である。更に、合成化学を用いて、IMOLまたはその任意の断片をコードする配列の中に突然変異を導入することも可能である。

【0110】

更に本発明には、種々のストリンジェント条件の下で、請求項に記載されたポリヌクレオチド配列、特に、SEQ ID NO:16 - 30及びそれらの断片とハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド配列が含まれる(例えば、Wahl, G.M.及びS.L. Berger (1987) *Methods Enzymol.* 152:399-407; and Kimmel, A.R. (1987) *Methods Enzymol.* 152:507-511.を参照)。アニーリング及び洗浄条件を含むハイブリダイゼーションの条件は、「定義」に記載されている。

【0111】

当分野で周知のDNAのシーケンシング方法を用いて、本発明の何れの実施例も実行可能である。この方法には、例えばDNAポリメラーゼIのクレノウ断片、SEQUENASE (US Biochemical, Cleveland OH)、Taqポリメラーゼ (Perkin Elmer)、熱安定性T7ポリメラーゼ (Amersham, Pharmacia Biotech Piscataway NJ)、或いはELONGASE増幅システム(Life Technologies, Gaithersburg MD)にみられるような校正エキソヌクレアーゼとポリメラーゼとの組み合わせなどの酵素が用いられる。好ましくは、MICROLAB2200液体転移システム (Hamilton, Reno, NV)、PTC200 Thermal Cycler200 (MJ Research, Watertown MA) 及びABI CATALYST 800 (Perkin-Elmer) などの装置を用いて配列の準備を自動化する。次に、ABI 373或いは377 DNAシーケンシングシステム(Perkin-Elmer)、MEGABACE 1000 DNAシーケンシングシステム(Molecular Dynamics, Sunnyvale CA)または当分野で周知の他の方法を用いてシーケンシングを行う。得られた配列を当分野で周知の様々なアルゴリズムを用いて分析する(例えば、Ausubel, F.M. (1997) *Short Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York NY, unit 7.7; Meyers, R.A. (1995) *Molecular Biology and Biotechnology*, Wiley VCH, New York NY, pp. 856-853.を参照)。

【0112】

当分野で周知のPCR法をベースにした種々の方法で、部分的なヌクレオチド配列を利用して、IMOLをコードする核酸配列を伸長し、プロモーターや調節要素などの上流にある配列を検出する。例えば制限部位PCR法を利用する1つの方法では、一般的なプライマー及びネスト化プライマーを用いてクローニングベクター

内のゲノムDNAから未知の配列を増幅する(例えば、Sarkar, G. (1993) PCR Methods Applic 2:318-322を参照)。逆PCR法を用いる別法では、広範な方向に伸長して環状化した鋳型から未知の配列を増幅するプライマーを用いる。この鋳型は、既知のゲノム遺伝子座及びその周辺の配列を含む制限断片に由来する(例えば、Triglia, T.等(1988) Nucleic Acids Res 16:8186を参照)。キャプチャPCR法を用いる第3の方法は、ヒト及び酵母菌人工染色体DNAの既知の配列に隣接するDNA断片のPCR増幅を含む(例えば、Lagerstrom, M.他(1991) PCR Methods Applic 1:111-119を参照)。この方法では、多数の制限酵素による消化及びライゲーションを用いて、PCRを行う前に未知の配列の領域の中に組換え二本鎖配列を挿入することが可能である。また、当分野で周知の別の方法を用いて未知の配列を得ることも可能である。(例えば、Parker, J.D. 他(1991) Nucleic Acids Res. 19:3055-3060を参照)。更に、PCR、ネスト化プライマー、PROMOTERFINDERライブラリ(Clontech, Palo Alto CA)を用いれば、ゲノムDNA内の歩行が可能である。この方法ではライブラリをスクリーニングする必要がなく、イントロン/エキソン接合部を探すのに有用である。全てのPCR法をベースにした方法では、プライマーは、市販のOLIGO 4.06 Primer Analysis software(National Biosciences, Plymouth MN) 或いは別の好適なプログラムなどを用いて、長さが22~30ヌクレオチド、GC含有率が50%以上、約68~72の温度で鋳型に対してアニーリングするよう設計される。

【0113】

完全長のcDNAをスクリーニングする場合は、大きなcDNAを含むようにサイズが選択されたライブラリを用いるのが好ましい。更に、オリゴd(T)ライブラリが完全な長さのcDNAを産生できない場合は、遺伝子の5'領域を有する配列を含むものが多いランダムに初回抗原刺激を受けたライブラリが有用である。ゲノムライブラリは、5'非転写調節領域への配列の伸長に有用であろう。

【0114】

市販のキャピラリー電気泳動システムを用いて、シーケンシングまたはPCR産物のヌクレオチド配列のサイズの分析、または確認が可能である。詳しくは、キャピラリーシーケンシングには、電気泳動による分離のための流動性ポリマ

一、及び4つの異なったヌクレオチドに特異的なレーザーで活性化される蛍光色素、放出された波長の検出に利用するCCDカメラを使用することが可能である。出力/光強度は、適切なソフトウェア（例えば、GENOTYPER及びSEQUENCE NAVIGATOR、Perkin-Elmer）を用いて電気信号に変換され、サンプルのローディングからコンピュータ分析までのプロセス及び電子データ表示がコンピュータ制御可能である。キャピラリー電気泳動法は、特定のサンプルに少量しか存在しない場合もあるDNAの小片のシーケンシングに特に適している。

【0115】

本発明の別の実施例では、IMOLをコードするポリヌクレオチド配列またはその断片を組換えDNA分子にクローニングして、適切な宿主細胞内にIMOL、その断片または機能的等価物を発現させることが可能である。遺伝暗号固有の縮重により、実質的に同じ或いは機能的に等価のアミノ酸配列をコードする別のDNA配列が作られ得り、これらの配列をIMOLのクローン化及び発現に利用可能である。

【0116】

種々の目的でIMOLをコードする配列を変えるために、当分野で一般的に知られている方法を用いて、本発明のヌクレオチド配列を組換えることができる。この目的には、遺伝子産物のクローン化、プロセッシング及び/または発現の調節が含まれるが、これらに限定されるものではない。ランダムな断片によるDNAの混合や遺伝子断片と合成オリゴヌクレオチドのPCR再組み立てを用いて、ヌクレオチド配列の組換えが可能である。例えば、オリゴヌクレオチド媒介性定方向突然変異誘発を利用して、新しい制限部位を生成する突然変異の導入、グリコシル化パターンの変更、コドン優先の変更、スプライスバリエーションの作製等が可能である。

【0117】

本発明のヌクレオチドを、MOLECULARBREEDING (Maxygen Inc., Santa Clara CA; 米国特許第5,837,458号; Chang, C.-C. 他 (1999) Nat. Biotechnol. 17:793-797; Christians, F.C. 他 (1999) Nat. Biotechnol. 17:259-264; Cramer, A. 他 (1996) Nat. Biotechnol. 14:315-319)などのDNAシャフリング技術を用いてシャフリングして、IMOLの生物学的または酵素的な活性、或いは他の分子や化

合物と結合する能力などのIMOLの生物学的特性を変更或いは改良することができる。DNAシャフリングは、PCR法による遺伝子断片の組換えで遺伝子変異体のライブラリを作製するプロセスである。次に、このライブラリを、目的の特性を有する遺伝子変異体を同定するために選択或いはスクリーニングする。これらの好ましい変異体をプールし、DNAシャフリング及び選択/スクリーニングを繰り返す。従って、人工的な育種及び急速な分子の進化によって多様な遺伝子が作られる。例えば、ランダムな位置に変異がある1つの遺伝子の断片を、目的の特性が最適化するまで、組換え及びスクリーニング、シャフリングを実施することもできる。別法では、所定の遺伝子の断片を、同じ或いは異なった種の同じ遺伝子ファミリーの相同な遺伝子の断片で組換え、それによってプロトコルに従った調節可能な方法で、多数の自然発生遺伝子の遺伝子多様性を最大にすることができる。

【0118】

別の実施例によれば、IMOLをコードする配列は、当分野で周知の化学的方法を用いて、全体或いは一部が合成可能である(例えば、Caruthers, M.H.等(1980) Nucl. Acids Res. Symp. Ser 7:215-223; 及びHorn, T.他(1980) Nucl. Acid s Res. Symp. Ser.225-232を参照)。別法として、化学的方法を用いてIMOL自体またはその断片を合成することが可能である。例えば、ペプチド合成は種々の固相技術を用いて実行可能である(例えば、Roberge, J.Y.等(1995) Science 269:202-204を参照)。また、合成の自動化は例えばABI 431Aペプチドシンセサイザ(Perkin Elmer)を用いて達成し得る。更にIMOLのアミノ酸配列または任意のその一部は、直接的な合成の際の変更、及び/または化学的方法を用いた他のタンパク質または任意のその一部からの配列との組み合わせにより、変異体ポリペプチドを作ることが可能である。

【0119】

このペプチドは、分離用高速液体クロマトグラフィー(例えば、Chiez, R.M. 及び F.Z. Regnier (1990)Methods Enzymol. 182:392-421を参照)を用いて実質的に精製可能である。合成されたペプチドの組成は、アミノ酸分析或いはシーケンシングにより確認することができる(例えば、Creighton, T. (1983) Protei ns, Structures and Molecular Properties, WH Freeman, New York, NYを参照)

。

【0120】

生物学的に活性なIMOLを発現させるために、IMOLをコードするヌクレオチド配列またはその誘導体を好適な発現ベクターに挿入する。この発現ベクターは、好適な宿主に挿入されたコーディング配列の転写及び翻訳の調節に必要な要素を含む。これらの要素には、ベクター及びIMOLをコードするポリヌクレオチド配列におけるエンハンサー、構成型及び発現誘導型のプロモーター、5'及び3'の非翻訳領域などの調節配列が含まれる。このような要素は、その長さ及び特異性が様々である。特定の開始シグナルによって、IMOLをコードする配列のより効果的な翻訳を達成することが可能である。このようなシグナルには、ATG開始コドン及びコザック配列などの近傍の配列が含まれる。IMOLをコードする配列及びその開始コドン、上流の調節配列が好適な発現ベクターに挿入された場合は、更なる転写調節シグナルや翻訳調節シグナルは必要なくなるであろう。しかしながら、コーディング配列或いはその断片のみが挿入された場合は、インフレームのATG開始コドンを含む外来性の翻訳調節シグナルが発現ベクターに含まれなければならない。外来性の翻訳要素及び開始コドンは、自然及び合成の様々なものから得ることが可能である。用いられる特定の宿主細胞系に好適なエンハンサーを含めることで発現の効率を高めることが可能である。(例えば、Scharf, D. 他 (1994) Results Probl. Cell Differ. 201 - 18-162.を参照)。

【0121】

当業者に周知の方法を用いて、IMOLをコードする配列、好適な転写及び翻訳調節要素を含む発現ベクターを作製することが可能である。これらの方法には、in vitro組換えDNA技術、合成技術、及びin vivo遺伝子組換え技術が含まれる。(例えば、Sambrook, J. 他. (1989) Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Plainview NY, 4章及び8章, 及び16-17章; 及び Ausubel, F.M. 他. (1995) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York NY, ch. 9章及び13章1 - 4章を参照)。

【0122】

種々の発現ベクター/宿主系を利用して、IMOLをコードする配列の保持及び発

現が可能である。これらには、限定するものではないが、組換えバクテリオファージ、プラスミド、またはコスミドDNA発現ベクターで形質転換された細菌などの微生物や、酵母菌発現ベクターで形質転換された酵母菌や、ウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）に感染した昆虫細胞系や、ウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス、CaMV；タバコモザイクウイルス、TMV）または細菌発現ベクター（例えば、TiまたはpBR 3 2 2 プラスミド）で形質転換された植物細胞系や、動物細胞系などが含まれる。本発明は使用される宿主細胞によって限定されるものではない。

【0123】

細菌系では、多数のクローニングベクター及び発現ベクターが、IMOLをコードするポリヌクレオチド配列の使用目的に応じて選択可能である。例えば、IMOLをコードするポリヌクレオチド配列の日常的なクローニング、サブクローニング、増殖には、PBLUESCRIPT(Stratagene, La Jolla CA)またはpSPORT 1 プラスミド(GIBCO BRL)などの多機能の大腸菌ベクターを用いることができる。ベクターの多数のクローニング部位にIMOLをコードする配列をライゲーションするとlacZ遺伝子が破壊され、組換え分子を含む形質転換された細菌の同定のための比色スクリーニング法が可能となる。更に、これらのベクターを用いて、クローニングされた配列の*in vitro*での転写、ジデオキシンスクリーニング、ヘルパーファージによる一本鎖の救出、入れ子状態の欠失を作り出すことが可能である。(例えば、Van Heeke, G.及びS.M. Schuster (1989) J. Biol. Chem. 264:5503-5509.を参照)。例えば、抗体の産生のためなどに多量のIMOLが必要な場合は、IMOLの発現をハイレベルで誘導するベクターが使用できる。例えば、強力に発現を誘発するT5またはT7バクテリオファージプロモーターを含むベクターを使用できる。

【0124】

IMOLの発現に酵母の発現系の使用が可能である。因子やアルコールオキシダーゼやPGHプロモーターなどの構成型或いは誘導型のプロモーターを含む多種のベクターが、酵母菌サッカロミセス - セレビジエまたは*Pichia pastoris*に使用可能である。更に、このようなベクターは、発現したタンパク質の分泌か細胞内への保持のどちらかを誘導し、安定した増殖のために宿主ゲノムの中に外来配列

を組み込む。(例えば、上記のAusubel.; 及びBitter, G.A. 他 (1987) *Methods Enzymol.* 153:51-794; Scorer, C. A. 他 (1994) *Bio/Technology* 121 - 181-184. を参照)

植物系もIMOLの発現に使用可能である。IMOLをコードする配列の転写は、例えば、CaMV由来の35S及び19Sプロモーターなどのウイルスプロモーターが単独で、或いはTMV (Takamatsu, N.等 (1987) *EMBO J* 6:307-311) 由来のオメガリーダー配列と組み合わせて促進される。これらの作製物は、直接のDNA形質転換或いは病原体を介したトランスフェクションによって、植物細胞の中に導入可能である。(例えば、*The McGraw Hill Yearbook of Science and Technology* (1992) McGraw Hill NY, pp.191-196を参照)。

【0125】

哺乳動物細胞では、多種のウイルスベースの発現系が利用され得る。アデノウイルスが発現ベクターとして用いられる場合、後発プロモーター及び3連リーダー配列からなるアデノウイルス転写物/翻訳複合体にIMOLをコードする配列を結合し得る。ウイルスのゲノムの非必須のE 1またはE 3領域への挿入により、感染した宿主細胞にIMOLを発現する生ウイルスを得ることが可能である(Logan, J.及びShenk, T. (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81:3655-3659を参照)。さらに、ラウス肉腫ウイルス(RSV)エンハンサーなどの転写エンハンサーを用いて、哺乳動物宿主細胞における発現を増大させることが可能である。タンパク質を高レベルで発現させるために、SV40またはEBVを基にしたベクターを用いることが可能である。

【0126】

ヒト人工染色体(HAC)を用いて、プラスミドで発現しそれに含まれているものより大きなDNAの断片を供給可能である。治療のために約6 kb ~ 10 MbのHACsを作製し、従来の輸送方法(リポソーム、ポリカチオンアミノポリマー、またはベシクル)で供給する。(例えば、Harrington, J.J. 他 (1997) *Nat Genet.* 15:345-355. を参照)。

【0127】

哺乳動物系の組換えタンパク質の長期にわたる産生のためには、株化細胞にお

けるIMOLの安定した発現が望ましい。例えば、発現ベクターを用いて、IMOLをコードする配列を株化細胞に形質転換することが可能である。このような発現ベクターは、ウイルス起源の複製及び/または内在性の発現要素や、同じ或いは別のベクターの上の選択マーカー遺伝子を含む。ベクターの導入の後、細胞を選択培地に移す前に、強化培地で約1～2日の間増殖させる。選択マーカーの目的は選択的な媒介物に対する抵抗性を与えるとともに、その存在により導入された配列をうまく発現する細胞の増殖及び回収が可能となる。安定的に形質転換された細胞の耐性クローンは、その細胞型に好適な組織培養技術を用いて増殖可能である。

【0128】

任意の数の選択系を用いて、形質転換された細胞系を回収することが可能である。選択系には、以下のものに限定はしないが、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子及びアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ遺伝子が含まれ、それぞれ tk^{-} 又は apr^{-} 細胞において使用される。(例えば、Wigler, M. 他 (1977) *Cell* 11:223-232; 及びLowy, I. 他(1980) *Cell* 22:817-823を参照)。また代謝拮抗物質、抗生物質或いは除草剤への耐性を選択のベースとして用いることができる。例えば $dhfr$ はメトトレキセートに対する耐性を与え、 neo はアミノグリコシッドネオマイシン及びG-418に対する耐性を与え、 als 或いは pat はクロルスルフロン (cIMOLsulfuron)、ホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ (phosphinotricin acetyltransferase) に対する耐性を与える(例えば、Wigler, M. 他. (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 77:3567-3570; Colbere-Garapin, F. 他(1981) *J. Mol. Biol.* 150:1-14を参照)。さらに選択に利用できる遺伝子、例えば、代謝のために細胞が必要なものを変える $trpB$ 及び $hisD$ が文献に記載されている(例えば、Hartman, S.C.及びR.C. Mulligan (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85:8047-51を参照)。アノトシアニン、緑色蛍光タンパク質 (GFP; Clontech)、グルクロニダーゼ及びその基質GUS, ルシフェラーゼ及びその基質ルシフェリンなどの可視マーカーが用いられる。緑色蛍光タンパク質 (GFP) (Clontech, Palo Alto, CA)も使用できる。これらのマーカーを用いて、トランスフォーマントを特定するだけでなく、特定のベクター系に起因する一過性或いは安定

したタンパク質発現を定量することが可能である（例えば、Rhodes, C.A.他（1995）Methods Mol. Biol. 55:121-131を参照）。

【0129】

マーカー遺伝子の発現の存在/不在によって目的の遺伝子の存在が示されても、その遺伝子の存在及び発現の確認が必要な場合もある。例えば、IMOLをコードする配列がマーカー遺伝子配列の中に挿入された場合、IMOLをコードする配列を含む形質転換された細胞は、マーカー遺伝子機能の欠落により特定可能である。または、1つのプロモーターの制御下でマーカー遺伝子がIMOLをコードする配列と一列に配置することも可能である。誘導または選択に応答したマーカー遺伝子の発現は、通常タンデム遺伝子の発現も示す。

【0130】

一般に、IMOLをコードする核酸配列を含み、IMOLを発現する宿主細胞は、当業者に周知の種々の方法を用いて特定することが可能である。これらの方法には、DNA - DNA或いはDNA - RNAハイブリダイゼーションや、PCR法、核酸或いはタンパク質の検出及び/または数量化のための膜系、溶液ベース、或いはチップベースの技術を含むタンパク質生物学的試験法または免疫学的アッセイが含まれるが、これらに限定されるものではない。

【0131】

特異的なポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体のどちらかを用いるIMOLの発現の検出及び計測のための免疫学的な方法は、当分野で周知である。このような技法には、酵素に結合したイムノソルベントアッセイ（ELISA）、ラジオイムノアッセイ（RIA）、蛍光標示式細胞分取器（FACS）などがある。IMOL上の2つの非干渉エピトープに反応するモノクローナル抗体を用いた、2部位のモノクローナルベースイムノアッセイ（two-site, monoclonal-based immunoassay）が好ましいが、競合の結合アッセイも用いることもできる。これらのアッセイ及びその他のアッセイは、当分野では十分に知られている。（例えば、Hampton, R. 他.(1990) Serological Methods, a Laboratory Manual. APS Press. St Paul. MN, Sect. IV; Coligan, J. E. 他Current Protocols in Immunology, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience, New York. NY; 及びPound, J.D. (

1990) Immunochemical Protocols, Humana Press, Totowa NJ)。

【0132】

種々の標識技術及び結合技術が当業者には周知であり、様々な核酸アッセイおよびアミノ酸アッセイに用いられ得る。IMOLをコードするポリヌクレオチドに関連する配列を検出するための、標識されたハイブリダイゼーションプローブ或いはPCRプローブを生成する方法には、オリゴ標識化、ニックトランスレーション、末端標識化、または標識されたヌクレオチドを用いるPCR増幅が含まれる。別法として、IMOLをコードする配列、またはその任意の断片をmRNAプローブを生成するためのベクターにクローニングすることも可能である。当分野では周知であり市販されているこのようなベクターを、T7, T3, またはSP6などの好適なRNAポリメラーゼ及び標識されたヌクレオチドの追加によって、in vitroでのRNAプローブの合成に用いることができる。これらの方法は、例えば、Amersham Pharmacia Biotech及びPromega (Madison WI)、U.S. Biochemical Corp (Cleveland OH) が市販する種々のキットを用いて行うことができる。容易な検出のために用い得る好適なレポーター分子或いは標識には、基質、コファクター、インヒビター、磁気粒子、及び放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、色素産生剤などが含まれる。

【0133】

IMOLをコードするヌクレオチド配列で形質転換された宿主細胞は、細胞培地でのこのタンパク質の発現及び回収に好適な条件の下で培養される。形質転換された細胞から産生されたタンパク質が分泌されるか細胞内に留まるかは、使用されるその配列及び/またはそのベクターによる。IMOLをコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクターは、原核細胞膜及び真核細胞膜を透過するIMOLの分泌を誘導するシグナル配列を含むように設計できることは、当業者には理解されよう。

【0134】

更に、挿入した配列の発現調節能力または発現したタンパク質を所望の形にプロセッシングする能力によって宿主細胞株が選択される。このようなポリペプチドの修飾には、アセチル化、カルボキシル化、グリコシル化、リン酸化、脂質化 (lipidation)、及びアシル化が含まれるが、これらに限定されるものではない。

タンパク質の「prepro」または「pro」形を切断する翻訳後のプロセッシングを利用して、標的タンパク質、折りたたみ及び/または活性を特定することが可能である。翻訳後の活性のための特定の細胞装置及び特徴のある機構をもつ種類の宿主細胞（例えば、CHO、HeLa、MDCK、MEK293、WI38）がAmerican Type Culture Collection (ATCC; Bethesda, MD) より入手可能であり、外来のタンパク質の正しい修飾及びプロセッシングを確実にするために選択される。

【0135】

本発明の別の実施例では、IMOLをコードする自然或いは変更された、または組換えの核酸配列を上記した任意の宿主系の融合タンパク質の翻訳となる異種配列に結合させる。例えば、市販の抗体によって認識できる異種部分を含むキメラIMOLタンパク質が、IMOLの活性のインヒビターに対するペプチドライブラリのスクリーニングを促進し得る。また、異種タンパク質部分及び異種ペプチド部分が、市販の親和性基質を用いて融合タンパク質の精製を促進し得る。このような部分には、グルタチオンSトランスフェラーゼ (GST)、マルトース結合タンパク質 (MBP)、チオレドキシン (Trx)、カルモジュリン結合ペプチド (CBP)、6-His、FLAG、c-mc、赤血球凝集素 (HA) が含まれるが、これらに限定されるものではない。GST及びMBP、Trx、CBP、6-Hisによって、固定されたグルタチオン、マルトース、フェニルアルシン酸化物 (phenylarsine oxide)、カルモジュリン、金属キレート樹脂のそれぞれで同族の融合タンパク質の精製が可能となる。FLAG、c-mc、及び赤血球凝集素 (HA) によって、これらのエピトープ標識を特異的に認識する市販のモノクローナル抗体及びポリクローナル抗体を用いた融合タンパク質の免疫親和性の精製ができる。また、IMOLをコードする配列と異種タンパク質配列との間にあるタンパク質分解切断部位を融合タンパク質が含むように遺伝子操作すると、IMOLが精製の後に異種部分から切断され得る。融合タンパク質の発現と精製の方法は、Ausubel. (1995、前出 ch 10). に記載されている。市販されている様々なキットを用いて、融合タンパク質の発現及び精製を促進できる。

【0136】

本発明の別の実施例では、TNTウサギ網状赤血球可溶化液またはコムギ胚芽抽

出系(Promega)を用いてin vitroで放射能標識したIMOLの合成が可能である。これらの系は、T7またはT3、SP6プロモーターと機能的に結合したタンパク質をコードする配列の転写と翻訳をつなげる。翻訳は、例えば、³⁵Sメチオニンである放射能標識されたアミノ酸前駆体の存在の下で起こる。

【0137】

IMOLの断片は、組換え生成物だけでなく固相技術を用いて直接的なペプチド合成によって作製され得る(例えば、前出のCreighton, pp. 55-60.を参照)。タンパク質の合成は、手動或いは自動で行われ得る。自動合成は、例えばABI 431Aペプチドシンセサイザ(Perkin Elmer)を用いて行うことが可能である。IMOLの種々の断片は別々に合成して、次ぎに結合させて完全長分子を作製する。

【0138】

(治療)

IMOLのある領域と免疫系分子のある領域との間に、例えば配列及びモチーフの文脈における化学的及び構造的類似性が存在する。更に、IMOLの発現は、免疫異常症及び感染症、癌を含む細胞増殖症密接に関連する。SEQ ID NO:26は、B細胞の成熟及びMHCクラスIIトランス活性化に関連する遺伝子及びESTが含まれる染色体区間内にマップされる。SEQ ID NO:29は、ヒトリンパ腫に関連する遺伝子及びESTが含まれる染色体区間内にマップされる。従って、IMOLは、免疫異常症及び感染症、癌を含む細胞増殖異常症においてある役割を果たすと考えられる。IMOLの発現若しくは活性の増大に関連する疾患の治療においては、IMOLの発現または活性を低下させることが望ましい。また、IMOLの発現または活性の低下に関連する疾患の治療においては、IMOLの発現または活性を増大させることが望ましい。

【0139】

従って、一実施例において、IMOLの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、患者にIMOLまたはその断片や誘導体を投与することが可能である。限定するものではないが、このような疾患の例には、免疫異常症も含まれ、その中には炎症及び日光性角化症、後天性免疫不全症候群(AIDS)及び副腎機能不全、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強直性脊椎炎、アミロイド症、貧血、動脈硬化、喘息、アテローム性動脈硬化症、自己免疫性溶血性貧血、自己

免疫性甲状腺炎、自己免疫性多腺性内分泌カンジダ性外胚葉ジストロフィ（APEC ED）、気管支炎、滑液包炎、胆嚢炎、硬変、接触皮膚炎、クローン病、アトピー性皮膚炎、皮膚筋炎、糖尿病、肺気腫、赤芽球症、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、発作性夜間血色素尿症、肝炎、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、混合型結合織病（MCTD）、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋又は心膜炎症、骨髄線維症、骨関節炎、骨粗しょう症、腓炎、真性多血症、多発性筋炎、乾癬、ライター症候群、リウマチ様関節炎、強皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性エリテマトーデス、全身性硬化症、原発性血小板血症、血小板減少症、潰瘍性大腸炎、ウェルナー症候群、癌合併症、血液透析、体外循環、外傷と、リンパ腫及び白血病、骨髄腫を含む造血性の癌が含まれ、また、感染症が含まれ、その中には、アデノウイルス及びアレナウイルス、ブニヤウイルス、カリチウイルス、コロナウイルス、フィロウイルス、ヘパドナウイルス、ヘルペスウイルス、フラビウイルス、オルソミクソウイルス、パルボウイルス、パポバウイルス、パラミキソウイルス、ピコルナウイルス、ポックスウイルス、レオウイルス、レトロウイルス、ラブドウイルス、トガウイルスに分類されるウイルス病原体による感染と、肺炎球菌及びブドウ球菌、連鎖球菌、桿菌、コリネバクテリウム、クロストリジウム属、髄膜炎菌、淋菌、リステリア、モラクセラ属、キングラ、ヘモフィルス属、レジオネラ、ボルデテラ、グラム陰性腸内細菌（赤痢菌属及びサルモネラ、カンピロバクターを含む）、シュードモナス、ビブリオ属、ブルセラ、フランシセラ、エルシニア、バルトネラ、nocardium、アクチノミセス、ミコバクテリア、スピロヘターレス、リケッチア、クラミジア、マイコプラズマに分類される細菌病原体による感染症と、コウジカビ及びブラストマイセス、皮膚糸状菌、クリプトコッカス、コクシジオイデス、malassezia、ヒストプラズマ、及び真菌症を引き起こすその他の真菌病原体に分類される真菌病原体による感染症と、プラスモディウムまたはマラリアを引き起こす体内寄生性アメーバ及びレーシュマニア、トリパノソーマ属、トキソプラズマ、ニューモシスチス カリニ、ジアルジア属などの腸内原生動物、トリコモナス、旋毛虫などの組織線形動物、回虫属などの腸内線形動物、リンパのフィ

ラリア性線形動物、住血吸虫及び糸虫（サナダムシ）などの線形動物に分類される寄生虫による感染症が含まれ、また、細胞増殖異常症も含まれ、その中には日光性角化症及びアテローム性動脈硬化、滑液包炎、硬変、肝炎、混合型結合組織病（MCTD）、骨髓線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症、並びに腺癌及び白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髓腫、肉腫、及び奇形癌、具体的には、副腎、膀胱、骨、骨髓、脳、乳房、頸部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、子宮の癌などが含まれる。

【0140】

別の実施例では、限定するものではないが上に列記した疾患を含むIMOLの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、IMOLまたはその断片や誘導体を発現し得るベクターを患者に投与することも可能である。

【0141】

更に別の実施例では、限定するものではないが上に列記した疾患を含むIMOLの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、実質的に精製されたIMOLを含む医薬品組成物を好適な医薬用担体と共に患者に投与することも可能である。

【0142】

更に別の実施例では、限定するものではないが上に列記した疾患を含むIMOLの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、IMOLの活性を調節するアゴニストを患者に投与することも可能である。

【0143】

更なる実施例では、IMOLの発現または活性の増大に関連した疾患の治療または予防のために、患者にIMOLのアンタゴニストを投与することが可能である。限定するものではないが、このような疾患の例には、上記した免疫異常症及び感染症、癌を含む細胞増殖異常症が含まれる。一実施態様では、IMOLと特異的に結合する抗体が直接アンタゴニストとして、或いはIMOLを発現する細胞または組織に薬剤を運ぶターゲティング或いは運搬機構として間接的に用いられ得る。

【0144】

別の実施例では、限定するものではないが上に列記した疾患を含むIMOLの発現または活性の増大に関連した疾患の治療または予防のために、IMOLをコードするポリヌクレオチドの相補配列を発現するベクターを患者に投与することも可能である。

【0145】

別の実施例では、本発明の任意のタンパク質、アンタゴニスト、抗体、アゴニスト、相補的な配列、ベクターを別の好適な治療薬と組み合わせて投与することもできる。当業者は、従来の医薬原理にしたがって併用療法で用いる好適な治療薬を選択可能である。治療薬との組み合わせにより、上に列記した種々の疾患の治療または予防に相乗効果をもたらす得る。この方法を用いて少ない量の各薬剤で医薬効果をあげることが可能であり、広範囲な副作用の可能性を低減し得る。

【0146】

IMOLのアンタゴニストは、当分野で一般的な方法を用いて製造することが可能である。詳しくは、精製されたIMOLを用いて抗体を作ったり、治療薬のライブラリをスクリーニングしてIMOLと特異的に結合するものを同定が可能である。IMOLの抗体も、当分野で一般的な方法を用いて製造することが可能である。このような抗体には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖、Fabフラグメント、及びFab発現ライブラリによって作られたフラグメントが含まれる。但し、これらに限定されるものではない。治療用には、中和抗体（即ち、二量体の形成を阻害するもの）が特に好ましい。

【0147】

抗体の産生のためには、ヤギ、ウサギ、ラット、マウス、ヒト及びその他のものを含む種々の宿主が、IMOLまたは任意の断片、または免疫原性の特性を備えるそのオリゴペプチドの注入によって免疫化され得る。宿主の種に応じて、種々のアジュバントを用いて免疫応答を高めることもできる。このようなアジュバントにはフロイントアジュバント、水酸化アルミニウムなどのミネラルゲルアジュバント、リゾレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油性乳剤、キーホールリンペットヘモシニアン、及びジニトロフェノールなどの界面活性剤が含まれるが、これらに限定されるものではない。ヒトに用いられるアジュ

バントの中では、BCG (bacilli Calmette-Guerin) 及びCorynebacterium parvum が特に好ましい。

【0148】

IMOLに対する抗体を誘発するために用いられるオリゴペプチド、ペプチド、または断片は、少なくとも約5個のアミノ酸からなり、一般的には約10個以上のアミノ酸からなるものが好ましい。これらのオリゴペプチド或いはペプチド、またはそれらの断片は、天然のタンパク質のアミノ酸配列の一部と同一であることが望ましく、小さな自然発生の分子の全アミノ酸配列も含む。IMOLアミノ酸の短いストレッチは、KLHなどの別のタンパク質の配列と融合し、キメラ分子に対する抗体が産生され得る。

【0149】

IMOLに対するモノクローナル抗体は、培地内の連続した細胞株によって、抗体分子を産生する任意の技術を用いて作製することが可能である。これらの技術には、ハイブリドーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術、及びEBV-ハイブリドーマ技術が含まれるが、これらに限定されるものではない(例えば、Kohler, G. 等. (1975) Nature 256:495-497; Kozbor, D. 等. (1985) .J. Immunol. Methods 81 - 8-42; Cote, R.J. 等. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. 80:2026-2030; Cole, S.P. 等. (1984) Mol. Cell Biol. 62:109-120を参照)。

【0150】

更に、「キメラ抗体」作製のために発達したヒト抗体遺伝子にマウス抗体遺伝子をスプライシングするなどの技術が、好適な抗原特異性及び生物学的活性を備える分子を得るために用いられる(例えば、Morrison, S.L.他. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. 81 - 4851 - 4855; Neuberger, M.S.他. (1984) Nature 312:604-608; Takeda, S.等. (1985) Nature 314:452,454を参照)。別法では、当分野で周知の方法を用いて、一本鎖抗体の産生のための記載された技術を適用して、IMOL特異性一本鎖抗体を生成する。関連する特異性を備えるが別のイディオタイプの組成の抗体は、ランダムな組み合わせの免疫グロブリンライブラリから鎖混合によって生成することもできる(例えば、Burton D.R. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. 88:11120-3を参照)。

【0151】

抗体は、リンパ球集団の中の *in vivo* 産生を誘発することによって、または免疫グロブリンライブラリのスクリーニング又は文献に示されているような、高度に特異的な結合試薬のパネルをスクリーニングすることによって、産生することもできる（例えば、Orlandi, R. 他. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. 86: 3833-3837; Winter, G. 他. (1991) Nature 349:293-299を参照）。

【0152】

IMOLに対する特異的な結合部位を含む抗体も産生することができる。例えば、このような断片には、抗体分子のペプシン消化によって生成されるF(ab')に断片と、F(ab')に断片のジスルフィド架橋を減じることによって生成されるFab断片が含まれるが、これらに限定されるものではない。別法では、Fab発現ライブラリを作製することによって、所望の特異性とモノクローナルFab断片の迅速且つ容易な同定が可能となる（例えば、Huse, W.D. 等. (1989) Science 254:1275-1281を参照）。

【0153】

種々のイムノアッセイを用いてスクリーニングし、所望の特異性を有する抗体を同定する。隔離された特異性を有するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体の何れかを用いる競合的な結合、または免疫放射線活性のための数々のプロトコルが、当分野では周知である。通常このようなイムノアッセイには、IMOLとその特異性抗体との間の複合体調整の計測が含まれる。二つの非干渉性IMOLエピトープに対して反応性のモノクローナル抗体を用いる、2部位モノクローナルベースのイムノアッセイが一般に利用されるが、競合的結合アッセイも利用することができる(Pound、前出)。

【0154】

ラジオイムノアッセイ技術と共にScatchard分析などの様々な方法を用いて、IMOLに対する抗体の親和性を評価する。親和性を結合定数 K_a で表すが、この K_a は、平衡状態の下でIMOL抗体複合体のモル濃度を遊離抗体と遊離抗原のモル濃度で除して得られる値である。多数のIMOLエピトープに対して親和性が不均一なポリクローナル抗体医薬の K_a は、IMOLに対する抗体の平均親和性または結合活性を

表す。特定のIMOLエピトープに単一特異的なモノクローナル抗体医薬の K_a は、親和性の真の測定値を表す。 K_a 値が $10^9 \sim 10^{12} \text{ L/mol}$ の高親和性抗体医薬は、IMOL抗体複合体が激しい操作に耐えなければならないイムノアッセイに用いるのが好ましい。 K_a 値が $10^6 \sim 10^7 \text{ L/mol}$ の低親和性抗体医薬は、IMOLが抗体から最終的に活性化状態で解離する必要がある免疫精製 (immunopurification) 及び類似の処理に用いるのが好ましい。(Catty, D. (1988) *Antibodies, Volume 1: A Practical Approach*. IRL Press, Washington, DC; Liddell, J. E. and Cryer, A. (1991) *A Practical Guide to Monoclonal Antibodies*, John Wiley & Sons, New York NY)。

【0155】

ある下流での適用におけるこのような医薬品の品質及び適性を調べるために、ポリクローナル抗体医薬の抗体価及び結合活性を更に評価する。例えば、少なくとも $1 \sim 2 \text{ mg/ml}$ の特異的な抗体、好ましくは $5 \sim 10 \text{ mg/ml}$ の特異的な抗体を含むポリクローナル抗体医薬は一般に、IMOL抗体複合体を沈殿させなければならない処理に用いられる。様々な適用例における抗体の特異性及び抗体価、結合活性、抗体の品質や使用法の指針は一般に入手可能である。(例えば、Catty, 前出, 及びColigan 他、前出を参照)。

【0156】

本発明の別の実施例では、IMOLをコードするポリヌクレオチド、またはその任意の断片または相補配列が、治療目的で使用することができる。ある実施形態では、IMOLをコードするポリヌクレオチドの相補配列がmRNAの転写を阻止するのに好適である場合、これを使用することができる。特に細胞は、IMOLをコードするポリヌクレオチドと相補的な配列で形質転換することもできる。したがって、相補的分子または断片は、IMOLの活性の調節、または遺伝子機能の調節のために使用することができる。このような技術は当分野では周知であり、センスまたはアンチセンスオリゴヌクレオチドまたは大きな断片が、IMOLをコードする配列の制御領域から、またはコード領域に沿ったさまざまな位置から設計可能である。

【0157】

レトロウイルス、アデノウイルス、ヘルペス又はワクシニア、又は様々な細菌

性プラスミド由来の発現ベクターを用いて、ヌクレオチド配列を標的の器官、組織又は細胞集団に運ぶこともできる。当業者に周知の方法を用いてIMOLをコードポリヌクレオチドと相補的な核酸配列を発現するベクターを作製することができる(例えば、前出のSambrook 他、及び前出のAusubel 他によるものを参照)。

【0158】

IMOLをコードする遺伝子は、IMOLをコードするポリヌクレオチド又はその断片を高いレベルで発現する発現ベクターで、細胞又は組織を形質転換することによって止めることができる。このような作製物を用いて翻訳できないセンス又はアンチセンス配列を細胞の中に導入することができる。DNAの中に組み入れられない場合でも、このようなベクターは内在性のヌクレアーゼによって機能が損なわれるまでmRNA分子を転写し続ける。非複製ベクターでも一過性の発現を一ヶ月以上に亘って続け、好適な複製要素がベクター系の一部である場合はさらに長く持続し得る。

【0159】

上記した通り、遺伝子の発現は、IMOLをコードする遺伝子の制御5'または調節領域に対する相補的な配列またはアンチセンス分子(DNA或いはRNA、PNA)を設計することによって調節することができる。例えば開始部位から約-10から約+10までの転写開始部位に由来するオリゴヌクレオチドを用いることが可能である。同様に、「三重らせん」と塩基対合法を用いて阻止することができる。三重らせん構造は、二重らせんがポリメラーゼ、転写因子、または調節分子の結合のために十分に広がるのを阻止するため有用である。三重式DNAを用いる最近の治療の進歩は文献に記載されている(例えば、Gee, J.E. 等. (1994) In: Huber, B.E. 及び B.I. Carr, Molecular and Immunological Approaches, Futura Publishing Co., Mt. Kisco, NYを参照)。相補的な配列またはアンチセンス分子もまた、転写物がリボソームに結合するのを阻止することによってmRNAの翻訳を阻止するように設計できる。

【0160】

酵素性RNA分子であるリボザイムは、RNAの特異的切断を触媒するために用いることができる。リボザイム作用の機構には、相補的な標的RNAへのリボザイム分

子の配列特異性ハイブリダイゼーションが含まれ、ヌクレオチド鎖切断が続く。例えば、IMOLをコードする配列のヌクレオチド鎖切断を、特異的且つ効果的に触媒する組換え型のハンマーヘッド型リボザイム分子が含まれる。

【0161】

任意の潜在的RNA標的内の特異的なリボザイム切断部位が、後続の配列GUA、GUU、及びGUCを含むリボザイム切断部位に対して、標的分子をスキャンニングすることによって初めに同定される。一度同定されると、切断部位を含む標的遺伝子の領域に対応する15個から20個のリボヌクレオチドの短いRNA配列を、オリゴヌクレオチドの機能を不全にする二次的な構造の特徴について評価することが可能である。候補標的の適合性も、リボヌクレアーゼ保護アッセイを用いて、相補的なオリゴヌクレオチドとのハイブリダイゼーションの容易性をテストすることによって評価することが可能である。

【0162】

本発明の相補的なリボ核酸分子及びリボザイムは、当分野で周知の方法を用いて、核酸分子の合成のために作製することができる。これらの方法には、固相ホスホラミダイト化合物などのオリゴヌクレオチドを化学的に合成する方法が含まれる。別法では、RNA分子がin vitro及びin vivoでIMOLをコードするDNA配列の転写によって生成され得る、このようなDNA配列はT7またはSP6等の好適なRNAポリメラーゼプロモータを用いて、種々のベクターの中に組み入れることが可能である。別法では、相補的なRNAを構成的または誘導的に合成するこれらのcDNA作製物は、細胞株、細胞、または組織の中に導入することができる。

【0163】

RNA分子を修飾することによって、細胞内の安定性を高め、半減期を長くすることができる。可能な修飾には、分子の5'及び/または3'端部でのフランキング配列の追加、または分子のバックボーン内でのホスホジエステラーゼ結合よりむしろホスホチオネート又は2' Oメチルの使用が含まれる、がこれらに限定されるものではない。PNAの生成に固有のこの概念は、内在性のエンドヌクレアーゼによって容易には認識されないアデニン、シチジン、グアニン、チミン、及びウリジンのアセチル -、メチル -、チオ -、及び同様の修飾形態だけでなく

、イノシン、キューエオシン (queosine)、及びワイプトシン (wybutosine) などの従来のものでない塩基を含めることによって、これらの分子の全体に拡大することができる。

【0164】

ベクターを細胞又は組織に導入する多数の方法が利用でき、in vivo、in vitro、及びex vivoでの使用に等しく適している。ex vivoでの治療の場合、患者から採取された肝細胞の中にベクターを導入して、自家移植で同じ患者に戻すためにクローニング増殖される。トランスフェクション、リボソーム注入またはポリカチオンアミノポリマーによる運搬は、当分野で周知の方法を用いて実行することができる (例えば、Goldman, C.K. 他. (1997) Nature Biotechnology 15:462-66:を参照)。

【0165】

上記したいかなる治療方法も、例えば、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ウサギ及びサルなどの哺乳動物を含む、治療が必要な全ての被験者に適用できる。

【0166】

本発明の別の実施例は、上記した全ての治療効果のために、医学上認められる担体と共に医薬品或いは無菌組成物の投与に関連する。このような医薬品組成物は、IMOL、IMOLの抗体、擬態、アゴニスト、アンタゴニスト、又はIMOLのインヒビターなどからなる。この組成物は、単体で、或いは安定剤などの1種類以上の別の薬剤と共に、無菌の生体適合性医薬品担体に投与することができる。このような医薬品担体には、生理食塩水、緩衝食塩水、ブドウ糖、及び水などが含まれるがこれらに限定されるものではない。この組成物は、単独或いは薬物又はホルモンなどの別の薬剤と共に投与することができる。

【0167】

本発明に用いられる医薬品組成物は、様々な経路を用いて投与するが可能である。この経路には、経口、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、クモ膜下、心室内、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸内、局所、舌下、または直腸が含まれるがこれらに限定されるものではない。

【0168】

活性処方成分に加えて、これらの医薬品組成物には、活性化合物を医薬的に使用可能な薬剤にするのを容易にする、医薬品添加物及び補助剤を含む好適な薬学的に認められる担体が含まれ得る。製剤及び投与についての詳しい技術については、最新版のRemington's Pharmaceutical Sciences (Maack Publishing, PA)に記載されている。

【0169】

経口投与用の医薬品組成物が、経口投与に好適な投与量において当分野で周知の薬学的に許容される担体を用いて、製剤することができる。このような担体により、医薬品組成物が患者が摂取するために、錠剤、丸薬、糖衣剤、カプセル、液体、ゲル状、シロップ剤、泥状物、懸濁液として製剤される。

【0170】

経口用に用いられる医薬品は、活性化合物と固体の薬品添加物とを混合し、得られた顆粒の混合物を処理して、(所望に応じてすりつぶした後)タブレット或いは糖衣錠コア(dragee cores)にする。好適な医薬品添加物とは、ラクトース、スクロース、マンニトール、又はソルビトールを含む糖類、トウモロコシ、小麦、米、ジャガイモ、又はその他の植物からのでんぷん、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、又はカルボキシメチルセルロースナトリウムなどのセルロース、アラビアゴム及びトラガカントゴムを含むゴム、ゼラチン及びコラーゲンなどのタンパク質などの炭水化物又はタンパク質賦形剤である。必要に応じて、例えば、架橋結合したポリビニルピロリドン、かんてん、アルギン酸、またはその塩であるアルギン酸ナトリウムなどの崩壊剤または可溶化剤が加えられる。

【0171】

糖衣錠コアは、濃縮糖溶剤などの好適なコーティングと共に用いられる。このような濃縮糖溶剤には、アラビアゴム、タルク、ポリビニルピロリドン、カーボポルゲル(carbopol gel)、ポリエチレングリコール、及び/または二酸化チタン、ラッカー溶剤、及び好適な有機溶媒または混合溶剤などが含まれ得る。染料または色素が、製品の識別又は活性化合物の量、即ち薬用量を示すため、錠剤または糖衣錠に加えられる。

【0172】

経口用に用いられる医薬品製剤には、ゼラチンから作られたプッシュ-フィット型のカプセル、グリセロールまたはソルビトールなどのコーティングとゼラチンからなる封入されたカプセルが含まれる。プッシュ-フィット型のカプセルには、ラクトース又はスターチなどの賦形剤や結合材、タルク又はステアリン酸マグネシウムなどの潤滑剤、所望に応じて安定剤と混合された活性処方成分が含まれる。ソフトカプセルでは、活性化合物が、安定剤と共に或いは安定剤なしで、脂肪油、溶液、またはポリエチレングリコール溶液などの好適な溶液に溶解或いは懸濁され得る。

【0173】

非経口投与用に好適な医薬品剤が、水溶液で製剤されるが、ハンス液、リンガー液、生理緩衝食塩水などの生理学的に適合性のある緩衝剤が好ましい。水性懸濁注射液は、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、又はデキストランなどの懸濁液の粘性を高める物質を含み得る。更に、活性化合物の懸濁液は、好適な油性注入懸濁液として製剤され得る。好適な親水性溶液または媒体には、ごま油などの脂肪油、オレイン酸エチル、トリグリセリド又はリボソームなどの合成脂肪酸が含まれる。非脂質ポリカチオンアミノポリマーが、運搬目的で使用される。随意選択により、懸濁液は高濃度の溶液が可能となるよう化合物の溶解性を高める好適な安定剤または薬剤を含み得る。

【0174】

局部または鼻腔投与のために、特定の障壁に浸透する好適な浸透剤が製剤に用いられる。このような浸透剤は当業者には周知である。

【0175】

本発明の医薬品組成物は、当分野で周知の方法、例えば従来混合、溶解、顆粒化、糖衣化、溶離(levigating)、乳化、カプセル化、封入、または凍結乾燥処理を用いて製造され得る。

【0176】

医薬品組成物は塩類として製剤され、限定されないが、塩酸、硫酸、酢酸、乳酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸等の多くの酸と共に形成可能である。塩分は対

応する遊離塩基系よりも、水溶剤または他のプロトン溶剤に溶けやすい。別の薬剤の形態には、1 mM~50 mMヒスチジン、0.1%~2%スクロース、及び2%~7%マンニトールの幾つか或いは全てを含み、pHの範囲が4.5~5.5であり、使用前に緩衝剤と結合する凍結乾燥粉末を用いることができる。

【0177】

医薬品組成物が調合された後、それらは適当な箱に詰められ、指定した症状の薬としてラベルが貼られる。IMOLの投与のため、このようなラベルには、量、頻度、及び投与の方法が含まれるであろう。

【0178】

本発明に用いる好適な医薬品組成物には、目的を達成するため、効果的な量の活性処方成分を含む組成物が含まれる。当業者は、自身の能力で十分に効果的な服用量を決めることができる。

【0179】

どのような組成物であっても、治療に効果的な薬用量は、初めは、例えば腫瘍細胞の腫瘍細胞アッセイで、或いは動物モデルのどちらかで推定することができる。通常、動物モデルには、マウス、ウサギ、イヌ、又はブタなどが用いられる。動物モデルはまた、好適な濃縮範囲及び投与の経路を決めるのに用いることができる。このような治療をもとに、ヒトへの有益な薬用量及び投与経路を決定することができる。

【0180】

医学的に効果的な薬用量は、症状や容態を回復させる、たとえばIMOL又はその断片、IMOLの抗体、IMOLのアゴニストまたはアンタゴニスト、インヒビターなどの活性処方成分の量に関連する。薬用有効度及び毒性は、たとえば、ED₅₀（服用に対して集団の50%に医薬的效果がある）またはLD₅₀（服用に対して集団の50%に致命的である）統計を計算するなど、細胞培養または動物実験における標準的な薬剤手法によって決定することができる。毒性効果と治療効果との薬用量比は治療指数であり、LD₅₀/ED₅₀と示すことができる。高い治療指数を示す医薬品組成物が望ましい。細胞培養アッセイ及び動物実験から得られたデータが、ヒトへの適用のために、薬用量の範囲を調剤するのに用いられる。このよ

うな組成物が含まれる薬用量は、毒性を殆ど或いは全く含まず、ED₅₀を含む血中濃度の範囲であることが望ましい。薬用量は、用いられる投与形態及び患者の感受性、投与の経路によって、この範囲内で様々である。

【0181】

正確な薬用量は、治療が必要な患者に関する要素を考慮して、実務者によって決められるであろう。薬用量及び投与は、効果的なレベルの活性成分を与えるため或いは所望の効果を維持するために調節される。薬用量の要素として考慮されるものには、疾患の重症度、患者の一般的な健康状態、年齢、体重、及び患者の性別、投与の時間及び頻度、併用する薬剤、反応感受性、及び治療に対する応答が含まれる。作用器官が長い医薬品組成物は、三日か四日に一度、一週間に一度、二週間に一度、特定の製剤の半減期及びクリアランス率によって左右され、投与され得る。

【0182】

通常の薬用量は投与の経路によって異なるが、約0.1~100,000 µgまでの最大約1グラムまでである。特定の薬用量及び運搬の方法に関するガイダンスは文献に記載されており、一般に当分野の実務者はそれを利用することができる。当業者は、タンパク質またはインヒビターとは異なったヌクレオチドの製剤を利用するであろう。同様に、ポリヌクレオチド又はポリペプチドの運搬は、特定の細胞、状態、位置などに対して特異的であろう。

【0183】

(診断)

別の実施例では、IMOLに特異的に結合する抗体が、IMOLの発現によって特徴付けられる疾患の診断、またはIMOLやIMOLのアゴニストまたはアンタゴニスト、インヒビターで治療を受けている患者をモニターするためのアッセイに用いられる。診断に有用な抗体は、治療のところで記載した方法と同じ方法で製剤される。IMOLの診断アッセイには、抗体及び標識を用いてヒトの体液或いは細胞や組織から採取されたものからIMOLを検出する方法が含まれる。これらの抗体は、修飾をして或いはしないで使用され、レポーター分子の共有結合性或いは非共有結合性の接着によって標識化され得る。当分野で周知の種々のレポーター分子が用いら

れるが、その内の幾つかは上記した。

【0184】

IMOLを測定するためのELISA, RIA, 及びFACSを含む種々のプロトコルは、当分野では周知であり、変わった或いは異常なレベルのIMOLの発現を診断する元となるものを提供する。正常或いは標準的なIMOLの発現の値は、複合体の形成に適した条件の下、正常な哺乳動物、例えばヒトなどの被験者から採取した体液または細胞とIMOLに対する抗体とを結合させることによって決定する。標準的な複合体形成の量は、測光法 (photometric) などの種々の方法で定量され得る。被験者のIMOLの発現の量、制御及び疾患、生検組織からのサンプルが基準値と比較される。基準値と被験者との間の偏差が、診断の指標となる。

【0185】

別の実施例によれば、IMOLをコードするポリヌクレオチドを診断のために用いることもできる。用いられるポリヌクレオチドには、オリゴヌクレオチド配列、相補的なRNA及びDNA分子、及びPNAが含まれる。このポリヌクレオチドを用いて、疾患と相関し得るIMOLを発現する生検組織における遺伝子の発現を検出し定量する。この診断アッセイを用いて、IMOLの存在の有無、更に過剰な発現を調べ、治療中のIMOL値の調節を監視する。

【0186】

ある実施形態では、IMOLまたは近縁の分子をコードする遺伝子配列を含むポリヌクレオチド配列を検出可能なPCRプローブを用いたハイブリダイゼーションによって、IMOLをコードする核酸配列を同定することが可能である。例えば5'調節領域である高度に特異的な領域か、例えば保存されたモチーフであるやや特異性の低い領域から作られているかのプローブの特異性と、ハイブリダイゼーション或いは増幅のストリンジェントは、プローブがIMOLをコードする自然界の配列のみを同定するかどうか、或いはアレルや関連配列コードする自然界の配列のみを同定するかどうかによって決まるであろう。

【0187】

プローブはまた、関連する配列の検出に利用され、IMOLをコードする任意の配列と少なくとも50%の配列同一性を有し得る。目的の本発明のハイブリダイゼ

ーションプローブには、DNAあるいはRNAが可能であり、SEQ ID NO:16 - 30の配列、或いはIMOL遺伝子のプロモーター、エンハンサー、イントロンを含むゲノム配列に由来し得る。

【0188】

IMOLをコードするDNAに対して特異的なハイブリダイゼーションプローブの作製方法には、IMOL及びIMOL誘導体をコードするポリヌクレオチド配列をmRNAプローブの作製のためのベクターにクローニングする方法がある。このようなベクターは市販されており、当業者には周知であり、好適なRNAポリメラーゼ及び好適な標識されたヌクレオチドを加えることによって、*in vitro*でRNAプローブを合成するために用いられる。ハイブリダイゼーションプローブは、例えば³²P或いは³⁵Sなどの放射性核種、或いはアビジン/ビオチン (biotin) 結合系によってプローブに結合されたアルカリホスファターゼなどの酵素標識等の種々のレポーターの集団によって標識され得る。

【0189】

IMOLをコードするポリヌクレオチド配列を用いて、IMOLの発現に関連する疾患を診断することが可能である。限定するものではないが、このような疾患の例には、免疫異常症も含まれ、その中には炎症及び日光性角化症、後天性免疫不全症候群 (AIDS) 及び副腎機能不全、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強直性脊椎炎、アミロイド症、貧血、動脈硬化、喘息、アテローム性動脈硬化症、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫性多腺性内分泌カンジダ性外胚葉ジストロフィ (APECED)、気管支炎、滑液包炎、胆嚢炎、硬変、接触皮膚炎、クローン病、アトピー性皮膚炎、皮膚筋炎、糖尿病、肺気腫、赤芽球症、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、発作性夜間血色素尿症、肝炎、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、混合型結合織病 (MCTD)、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋又は心膜炎症、骨髓線維症、骨関節炎、骨粗しょう症、瘧疾、真性多血症、多発性筋炎、乾癬、ライター症候群、リウマチ様関節炎、強皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性エリテマトーデス、全身性硬化症、原発性血小板血症、血小板減少症、潰瘍性大腸炎、ウェルナ

一症候群、癌合併症、血液透析、体外循環、外傷と、リンパ腫及び白血病、骨髓腫を含む造血性の癌が含まれ、また、感染症が含まれ、その中には、アデノウイルス及びアレナウイルス、ブニヤウイルス、カリチウイルス、コロナウイルス、フィロウイルス、ヘパドナウイルス、ヘルペスウイルス、フラビウイルス、オルソミクソウイルス、パルボウイルス、パポバウイルス、パラミキソウイルス、ピコルナウイルス、ポックスウイルス、レオウイルス、レトロウイルス、ラブドウイルス、トガウイルスに分類されるウイルス病原体による感染と、肺炎球菌及びブドウ球菌、連鎖球菌、桿菌、コリネバクテリウム、クロストリジウム属、髄膜炎菌、淋菌、リステリア、モラクセラ属、キングセラ、ヘモフィルス属、レジオネラ、ボルデテラ、グラム陰性腸内細菌（赤痢菌属及びサルモネラ、カンピロバクターを含む）、シュードモナス、ビブリオ属、ブルセラ、フランシセラ、エルシニア、バルトネラ、nocardium、アクチノミセス、ミコバクテリア、スピロヘターレス、リケッチア、クラミジア、マイコプラズマに分類される細菌病原体による感染症と、コウジカビ及びブラストマイセス、皮膚糸状菌、クリプトコッカス、コクシジオイデス、malassezia、ヒストプラズマ、及び真菌症を引き起こすその他の真菌病原体に分類される真菌病原体による感染症と、プラスモディウムまたはマラリアを引き起こす体内寄生性アメーバ及びレーシュマニア、トリパノソーマ属、トキソプラズマ、ニューモシスチス カリニ、ジアルジア属などの腸内原生動物、トリコモナス、旋毛虫などの組織線形動物、回虫属などの腸内線形動物、リンパのフィラリア性線形動物、住血吸虫及び糸虫（サナダムシ）などの線形動物に分類される寄生虫による感染症が含まれ、また、細胞増殖異常症も含まれ、その中には日光性角化症及びアテローム性動脈硬化、滑液包炎、硬変、肝炎、混合型結合組織病（MCTD）、骨髓線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症、並びに腺癌及び白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髓腫、肉腫、及び奇形癌、具体的には、副腎、膀胱、骨、骨髓、脳、乳房、頸部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、子宮の癌などが含まれる。IMOLをコードするポリヌクレオチド配列は、サザーン法やノーザン法、ドットプロット法、或いはその他の膜系の技術、PCR法、ディップスティック（dipst

ick)、ピン(pin)、ELISA式アッセイ、及び変異IMOLの発現を検出するために患者から採取した体液或いは組織を利用するマイクロアレイに使用することが可能である。このような質的或いは量的方法は、当分野では周知である。

【0190】

ある実施態様では、IMOLをコードするヌクレオチド配列は、関連する疾患、特に上記した疾患を検出するアッセイにおいて有用であろう。IMOLをコードするヌクレオチド配列は、標準的な方法で標識化され、ハイブリダイゼーション複合体の形成に好適な条件の下、患者から採取した体液或いは組織のサンプルに加えることができるであろう。好適な培養期間の後、サンプルを洗浄し、シグナルを定量して基準値と比較する。患者のサンプルのシグナルの量が、制御サンプルと比べて著しく変わっている場合は、サンプル内のIMOLをコードするヌクレオチド配列の変異レベルにより、関連する疾患の存在が明らかになる。このようなアッセイを用いて、動物実験、臨床試験、或いは個人の患者の治療を監視における、特定の治療効果を推定することが可能である。

【0191】

IMOLの発現に関連する疾患の診断の基準となるものを提供するために、正常あるいは標準的な発現の概要が確立される。これは、ハイブリダイゼーション或いは増幅に好適な条件の下、動物或いはヒトの何れかの正常な被験者から抽出された体液或いは細胞と、IMOLをコードする配列或いはその断片とを結合させることにより達成され得る。標準的なハイブリダイゼーションは、正常な被験者から得た値と周知の量の実質的に精製されたポリヌクレオチドが用いられる実験からの値とを比較することによって定量可能である。正常なサンプルから得た標準的な値を、疾患の症状を示す被験者から得た値と比較可能である。基準値と被験者の値との偏差を用いて罹患しているかどうかを決定する。

【0192】

疾患の存在が確定され、治療プロトコルが開始されると、ハイブリダイゼーションアッセイを通常ベースで繰り返して、被験者における発現のレベルが正常な患者に示される値に近づき始めたかどうかを推定することが可能である。繰り返したアッセイの結果を、数日から数ヶ月の期間の治療の効果を見るのに用い

ることができる。

【0193】

癌では、個体からの生体組織における異常な量の転写物が、疾患の発生の素因を示し、また実際に臨床的症状が出る前に疾患を検出する方法を提供することが可能である。この種により明確な診断により、医療の専門家が予防方法或いは積極的な治療法を早くから利用して、癌の発生または進行を防ぐことが可能となる。

。

【0194】

IMOLをコードする配列から設計されたオリゴヌクレオチドのさらなる診断への利用には、PCRの利用が含まれ得る。このようなオリゴマーは、化学的な合成、酵素を用いた生成、或いは*in vitro*で生成され得る。オリゴマーは、好ましくはIMOLをコードするポリヌクレオチドの断片、或いはIMOLをコードするポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドの断片を含み、最適な条件の下、特定の遺伝子や条件を識別するために利用される。また、オリゴマーは、やや緩いストリンジェントな条件の下、近縁のDNA或いはRNA配列の検出及び/または定量のため用いることが可能である。

【0195】

IMOLの発現を定量するために用いられ得る方法には、ヌクレオチドの放射標識或いはビオチン標識、調節核酸の相互増幅 (coamplification)、及び標準的な曲線に結果が加えられたものが含まれる (例えば、Melby, P.C.等(1993) J. Immunol. Methods, 159:235-44 ; Duplaa, C.等(1993) Anal. Biochem. 229-236を参照)。多数のサンプルの定量速度は、目的のオリゴマーが種々の希釈液に含まれ、分光光度法或いは非色応答によって定量が迅速なハイスループット型のアッセイを用いることで加速された。

【0196】

別の実施例では、本明細書に記載した任意のポリヌクレオチド配列由来のオリゴヌクレオチドまたはそれより長い断片を、マイクロアレイにおける標的として用いる。マイクロアレイを用いて、同時に極めて多くの遺伝子の発現レベルを監視し、遺伝子の変異、突然変異及び多形性を識別する。この情報は、遺伝子機能

の決定、疾患の遺伝的根拠の解釈、疾患の診断、及び治療薬剤の活性の監視及び開発に有用である。

【0197】

当分野で周知の方法でマイクロアレイを準備して使用し、分析する。(例えば、Brennan, T.M. 他 (1995) 米国特許第5,474,796号; Schena, M. 他 (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. 93:10614-10619; Baldeschweiler 他(1995) PCT出願番号W095/251116; Shalon, D.他 (1995) PCT出願番号W095/35505; Heller, R.A. 他(1997) Proc. Natl. Acad. Sci. 94:2150-2155; 及び Heller, M.J. 他 (1997) 米国特許第5,605,662号を参照)

本発明の別の実施例ではまた、IMOLをコードする核酸配列を用いて、自然発生のゲノム配列をマッピングするのに有用なハイブリダイゼーションプローブを生成することが可能である。この配列は、以下のものに対してマッピングされる。特定の染色体、染色体の特定領域または人工生成の染色体、例えば、ヒト人工染色体(HAC)、酵母人工染色体(YAC)、細菌人工染色体(BAC)、細菌P1生成物或いは単一染色体cDNAライブラリである。(例えば、Harrington, 1.3. 他 (1997) Nat Genet. 15:345-355; Price, C.M. (1993) Blood Rev. 5 - 87-134, 及びTrask, B.J. (1991) Trends Genet. 7:149-154を参照)

in situ蛍光ハイブリダイゼーション(FISH)は、他の物理的染色体マッピング技術及び遺伝マップデータと相関するであろう(例えば、Heinz-Ulrich, 他による(1995) in Meyers, 前出, pp. 965-968.を参照)。遺伝子マップデータの例は、種々の科学誌あるいはOnline Mendelian Inheritance in Man(OMIM)のワールドワイドウェブのサイトで見付けることができる。物理的な染色体マップ上のIMOLをコードする遺伝子の位置と特定の疾患との相関性、或いは特定の疾患に対する素因が、このような疾患と関係するDNAの領域を決定するのに役立つ。本発明のヌクレオチド配列を用いて、正常者と、保有者、及び感染した者との遺伝子配列における違いを検出することもある。

【0198】

染色体標本のin situハイブリダイゼーション、及び確定した染色体マーカーを用いた結合分析などの物理的マッピング技術を用いて、遺伝子マップを拡張する

こともできる。マウスなどの別の哺乳動物の染色体上での遺伝子の配置により、たとえ特定のヒト染色体の数或いはアームが分かっているなくても、関連するマーカーが明らかになることが多い。新規の配列を、物理的なマッピングによって、染色体アームに割り付けることもできる。このことは、位置クローニング或いは別の遺伝子発見技術を用いて遺伝的疾患の研究をしている研究者にとって、価値ある情報である。疾患或いは症候群の位置が、例えば血管拡張性失調症の11q22-23などの特定の遺伝子領域に遺伝子結合によって大まかに決定されると、その領域に対するどの配列マッピングも、さらなる調査のための関連する遺伝子或いは調節遺伝子を表す（例えば、Gatti, R.A.他による(1988) Nature 336:577-580を参照）。また、目的の本発明のヌクレオチド配列を用いて、正常者、保有者、即ち感染者の間の、転位置、反転などによる染色体位置の違いを検出することもある。

【0199】

本発明の別の実施例では、IMOL、その触媒作用断片或いは免疫原断片またはそのオリゴペプチドを、種々の任意の薬剤スクリーニング技術における化合物のライブラリのスクリーニングに用いることができる。このようなスクリーニングに用いる断片は、溶液に遊離、固体支持物に固定、細胞の表面上に保持、或いは細胞内に存在する。IMOLと検査する薬剤との結合による複合体の形成を測定してもよい。

【0200】

薬剤スクリーニングに用いる別の方法は、目的のタンパク質に対して、好適な結合親和性を有する化合物のスクリーニング処理能力を高めるために用いられる（例えば、Geysen,他による(1984) PCT出願番号 W084/03564を参照）。この方法では、相当な数の異なる小さな試験用化合物が、プラスチックピン或いは他の基板の上に合成される。試験用化合物は、IMOL、或いはその断片と反応してから洗浄される。次に、結合されたIMOLが、当分野で周知の方法で検出される。精製されたIMOLはまた、前記した薬剤をスクリーニングする技術に用いられるプレート上で直接被覆することもできる。別法では、非中和抗体を用いて、ペプチドを捕らえ、固体支持物に固定することもできる。

【0201】

別の実施例では、IMOLと結合可能な中和抗体がIMOLと結合するため試験用化合物と特に競合する、競合的薬剤スクリーニングアッセイを用いることができる。この方法では、抗体が、IMOLと1つ以上の抗原決定因子を共有するどのペプチドの存在も検出する。

【0202】

別の実施例では、発展途上の分子生物学技術にIMOLをコードするヌクレオチド配列を用いて、限定はされないが、現在知られているトリプレット暗号及び特異的な塩基対相互作用などのヌクレオチド配列の特性に依存する新しい技術を提供することができる。

【0203】

当分野の技術者であれば、更なる説明がなくても前述の説明だけで最大限に本発明を利用できるであろう。したがって、以下に記載する特定の好適な実施例は、例示目的であって本発明を限定するものではない。

【0204】

前述した及び以下に記載した全ての特許出願、特許、刊行物、特に米国特許出願通し番号60/127,852及び60/132,647に言及することをもって本明細書の一部とする。

【0205】

(実施例)

1 cDNAライブラリの作製

RNAは、Clontech社から購入、或いは表4に列記した組織から単離した。まず、この組織の一部をホモジナイズしてグアニジニウムイソチオシアネート溶液に溶解する一方、この組織の別の一部をホモジナイズしてフェノールに溶解するか、或いはTRIZOL (Life Technologies)、グアニジニウムイソチオシアネート及びフェノールの単相溶液などの好適な変性剤の混合液に溶解した。この溶解物を塩化セシウムにおいて遠心分離またはクロロホルムで抽出した。イソプロパノール或いは酢酸ナトリウムのどちらかとエタノール、或いは別の方法でこの溶解物からRNAを沈殿させた。

【0206】

RNAの純度を高めるためにRNAのフェノールによる抽出及び沈殿を必要な回数繰り返した。場合によっては、DNA分解酵素でRNAを処理する。殆どのライブラリでは、オリゴd(T)連結常磁性粒子(Promega)またはOLIGOTEXラテックス粒子(QIAGEN, Valencia CA)、OLIGOTEX mRNA精製キット(QIAGEN)を用いてポリ(A+) RNAを単離した。別法では、POLY(A)PURE mRNA精製キット(Ambion, Austin TX)などの別のRNA単離キットを用いて組織溶解物から直接単離した。

【0207】

ある場合には、Stratagene社にRNAを提供し、Stratagene社が対応するcDNAライブラリを作製した。そうでない場合は、UNIZAPベクターシステム(Stratagene)またはSUPERSCRIP T プラスミドシステム(Life Technologies)を用いて当分野で周知の推奨方法または類似の方法でcDNAを合成してcDNAライブラリを作製した。(例えば、Ausubel, 1997, 前出, ユニット5.1-6.6を参照)。逆転写は、オリゴd(T)またはランダムプライマーを用いて開始した。合成オリゴヌクレオチドアダプターを二本鎖cDNAに結合させてから、好適な1つの制限酵素或いは複数の制限酵素でcDNAを消化した。殆どのライブラリでは、SEPHACRYL S 1000または SEPHAROSE CL2B、SEPHAROSE CL4Bカラムクロマトグラフィー(Amersham Pharmacia Biotech)、アガロースゲル電気泳動法によってcDNAの大きさ(300~1000bp)を選択した。PBLUESCRIP Tプラスミド(Stratagene)またはpSPORT1プラスミド(Life Technologies)、pcDNA2.1プラスミド(Invitrogen Carlsbad CA)、pINCYプラスミド(Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto CA)などの好適なプラスミドのポリリンカーの適合性制限酵素部位にcDNAを結合させた。この組換えプラスミドを、Stratagene社のXL1-Blue, XL1-BlueMRF、SOLR、またはLife Technologies社のDH5 またはDH10B、ELECTROMAX DH 10Bを含むコンピテント大腸菌細胞に導入し組み込んだ。

【0208】

2 cDNAクローンの単離

UNIZAPベクターシステム(Stratagene)或いは細胞溶解を利用して、in vivo切除によって宿主細胞からプラスミドを回収した。MagicまたはWIZARD Minipreps DNA精製システム(Promega)、及びAGTC Miniprep精製キット(Edge Biosystems, G

aitersburg MD)、QIAGEN社のQIAWELL 8 Plasmid、QIAWELL 8 Plus Plasmid、QIAWELL 8 Ultra Plasmid 精製システム、REAL Prep 96プラスミドキットの内の少なくとも1つを用いてプラスミドを精製した。沈殿させた後、0.1mlの蒸留水に再懸濁して、凍結乾燥して或いは凍結乾燥しないで4℃で保管した。

【0209】

別法では、ハイスループットの直接結合PCR法によって宿主細胞溶解物からプラスミドDNAを増幅した。(Rao, V.B. (1994) Anal. Biochem. 216:1-14)。宿主細胞の溶解及び熱サイクリング過程を単一反応混合液で行った。サンプルを処理してから384-ウェルプレートに移して保管し、増幅したプラスミドDNAの濃度をPICOGREEN色素(Molecular Probes, Eugene OR)及びFluoroskan II蛍光スキャナー(Labsystems Oy, Helsinki, Finland)を用いて蛍光定量的に測定した。

【0210】

3 シークエンシング及び分析

cDNAのシークエンシング反応は、標準的な方法で、或いはABI CATALYST 800 (Perkin-Elmer) thermal cyclerまたはPTC-200 thermal cycler (MJ Research)とHYDRAマイクロディスペンサー(Robbins Scientific) またはMICROLAB 2200 (Hamilton) 液体転移システムとの組み合わせなどのハイスループット装置で行った。cDNAのシークエンシング反応の準備には、Amersham Pharmacia Biotech社の試薬、またはABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reactionキット(Perkin-Elmer)などのABIシークエンシングキットに含まれる試薬を用いた。cDNAのシークエンシング反応の電気泳動的な分離及び標識したポリヌクレオチドの検出には、MEGABACE 1000 DNAシークエンシングシステム(Molecular Dynamics)、標準ABIプロトコル及び塩基対呼び出しソフトウェアを用いるABI PRISM 373または377シークエンシングシステム(Perkin-Elmer)、当分野で周知のその他の配列解析システムを用いた。cDNA配列の読み枠は、標準的な方法(Ausubel, 1997, 前出, unit 7.7)を用いて決定した。cDNA配列の幾つかを選択して、本実施例の6に記載した方法で配列を伸長した。

【0211】

cDNAのシークエンシングから得たポリヌクレオチド配列の構築及び解析は、当

分野の技術者に周知のアルゴリズムを利用したソフトウェアを組合せて行った。表5は、利用したツール、ソフトウェア、アルゴリズム、それらの説明、引用文献、閾値パラメーターの概要を示す。表5の列1は用いたツール及びプログラム、アルゴリズム、列2はそれらの簡単な説明、列3は引用することで本明細書の一部とした引用文献、列4の記載部分は2つの配列の一致度の評価に用いたスコア及び確率値、他のパラメータを示す(確率値が高ければ高いほど配列間の相同性が高くなる)。配列の解析には、MACDNASIS PROソフトウェア(Hitachi Software Engineering, S. San Francisco CA)及びLASERGENEソフトウェア(DNASTAR)を用いた。

【0212】

ポリヌクレオチド配列の確証は、BLAST及び動的計画法、ジヌクレオチド最近接分析に基づいたプログラム及びアルゴリズムを用いて、ベクター及びリンカー、ポリA配列を取り除き、あいまいな塩基対をマスクすることで行った。次に、BLAST及びFASTA、BLIMPSに基づいたプログラムを用いて、公共のデータベースであるGenBankの霊長類及びげっ歯類、哺乳類、脊椎動物、真核生物のデータベースやBLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM及びPFAMなどのデータベースから選択した配列に対してこれらの配列を問合わせて注釈を得た。Phred及びPhrap、Consedに基づいたプログラムを用いて完全長のポリヌクレオチド配列の中にこれらの配列を構築して、BLAST及びFASTA、BLIMPSに基づいたプログラムでオープンリーディングフレームのためにスクリーニングした。完全長のポリヌクレオチド配列を翻訳して対応する完全長のアミノ酸配列を引き出し、GenBankデータベース(上記)及びSwissProt、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM及びPrositeなどのデータベース、またはPFAMなどの隠れマルコフモデル(HMM)に基づいたタンパク質ファミリーデータベースに対して問い合わせてこれらの完全長の配列を分析した。HMMは、確率を利用して遺伝子ファミリーのコンセンサス一次構造を解析する(例えば、Eddy, S.R. (1996) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 6:361-365を参照)。

【0213】

完全長のポリヌクレオチド配列及びアミノ酸配列の構築及び分析に用いる上記のプログラムは、SEQ ID NO:16 - 30からのポリヌクレオチド配列の断片の同定に

も使用できる。約20～4000個までのヌクレオチドの断片はハイブリダイゼーション及び増幅に有用であり、上記の発明で説明した。

【0214】

4 ノーザン分析

ノーザン分析は、遺伝子の転写物の存在を検出するために用いられる実験用技術であり、特定の細胞種或いは組織からのRNAが結合されている膜への標識されたヌクレオチド配列のハイブリダイゼーションを伴う(例えば、Sambrook, 前出, 7章; 及び Ausubel, F.M. 他、前出, 4章及び16章を参照)。

【0215】

BLASTに用いる類似のコンピュータ技術を用いて、GenBank或いはLIFESEQ (Incyte Pharmaceuticals) のようなヌクレオチドデータベース内の同一或いは関連する分子を検索する。この分析は多くの膜系ハイブリダイゼーションより非常に速度が速い。さらにコンピュータ検索の感度を変更して、任意の特定の一致が、厳密な一致或いは相同的一致の何れかとして分類されるかを確定することができる。検索の基準は、

$$(\% \text{配列同一性} \times \% \text{最大BLASTスコア}) / 100$$

として定義される積スコアである。積スコアは、2つの配列間の類似度及び配列一致の長さの両方を考慮する。例えば、積スコア40の場合、その一致は1～2%誤差の範囲内で正確であり、70ではその一致は正確であろう。類似分子は通常、15～40の範囲の積スコアを示す分子を選択することにより同定されるが、それより低いスコアでも関連した分子が同定される場合もある。

【0216】

ノーザン分析の結果は、IMOLをコードする転写物が発生したライブラリの分布割合として報告される。分析には、器官/組織及び疾患によるcDNAライブラリの分類も含まれる。器官/組織のカテゴリーには、心血管、皮膚、発生、内分泌、胃腸、造血/免疫、筋骨格、神経、生殖、泌尿器が含まれる。疾患のカテゴリーには、癌、炎症、外傷、細胞増殖、神経、貯留(pool ed)が含まれる。カテゴリー別に、目的の配列を発現するライブラリの数を数えて、それを全ての範囲のライブラリの数で除した。各組織に特異的に発現する割合(パーセント)と各疾患で

発現する割合を表3に示した。

【0217】

5 IMOLをコードするポリヌクレオチドの染色体マッピング

SEQ ID NO:16 - 30を構築するために用いたcDNA配列を、BLAST及びSmith-Watermanアルゴリズムのインプリテーションを使って、インサイト社LIFESEQデータベース及び公共のドメインデータベースの配列と比較した。SEQ ID NO:16 - 30と一致するこれらのデータベースの配列を、Phrap (表5)などの構築アルゴリズムを使用して、連続及び重複した配列のクラスターに組み入れた。Stanford Human Genome Center (SHGC)、Whitehead Institute for Genome Research (WIGR)及びGenethonなどの公共の情報源から入手できる放射線ハイブリッド (radiation hybrid) 及び遺伝子マッピングのデータを用いて、クラスター化した配列がすでにマッピングされているかを調べる。クラスターにマッピングされた配列が含まれている場合は、そのクラスターの全ての配列 (特定のSEQ ID NOを含む) をそのマップ位置に割り当てた。

【0218】

SEQ ID NO:26及びSEQ ID NO:29の遺伝子マップ位置は、特定のヒト染色体の区間即ち範囲として本明細書の (発明) の部分に記載した。センチモルガンで示したマップ位置の範囲は、染色体のp腕 (p-arm) の末端から測定した (センチモルガン (cM) は、同一染色体上の遺伝子間の乗換え率に基づいた距離を表す単位である。平均すると、1 cMはヒトの染色体の1メガベースに概ね等しいが、組換え率の高い部分と低い部分があるため、大きく変化し得る)。距離cMは、配列がそれぞれのクラスターに含まれている放射線ハイブリッドマーカの境界を検出できるGenethonによってマッピングされた遺伝子マーカーに基づいている。前述した区間内に位置する公共及びインサイト社の配列に関連する疾患も、本明細書 (発明の部分) に記載した。

【0219】

6 IMOLをコードするポリヌクレオチドの伸長

SEQ ID NO:16 - 30の完全長の核酸配列は、完全長分子の好適な断片から設計したオリゴヌクレオチドプライマーを用いてその完全長分子の好適な断片を伸長し

て作製した。一方のプライマーは既知の断片の5'の伸長を開始するために合成し、他方のプライマーは既知の断片の3'の伸長を開始するために合成した。開始プライマーは、OLIGO 4.06ソフトウェア(National Biosciences) 或いは他の適切なプログラムを用いて、約22個から約30個のヌクレオチドの長さで約50%以上のGC含量を有し、かつ約68~72の温度で標的配列にアニールするように設計した。ヘアピン構造及びプライマー-プライマー二量体が生じないようにヌクレオチドを伸長した。

【0220】

選択されたヒトcDNAライブラリを用いてこの配列を伸長した。2段階以上の伸長が必要な場合、若しくは望ましい場合は、追加或いはネスト化プライマーの組を設計する。

【0221】

当分野で既知の方法を利用したPCR法で高い忠実度で増幅した。PCRはPTC-200 thermal cycler (MJ Research, Inc.)用いて96ウェルブロックプレートで行った。反応混合液は、鋳型DNA及び200 nmolの各プライマー、 Mg^{2+} と $(NH_4)_2SO_4$ とメルカプトエタノールを含むバッファー、Taq DNAポリメラーゼ(Amersham Pharmacia Biotech)、ELONGASE酵素(Life Technologies)、Pfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)を含む。プライマーの組、PCI AとPCI Bに対して以下のパラメーターで増幅を行った。

ステップ1	94	で3分間
ステップ2	94	で15秒
ステップ3	60	で1分間
ステップ4	68	で2分間
ステップ5	ステップ2、3、及び4を20回繰り返す	
ステップ6	68	で5分間
ステップ7	4	で保管

別法では、プライマーの組、T7とSK+に対して以下のパラメーターで増幅を行った。

ステップ1	94	で3分間
-------	----	------

- ステップ2 94 で15秒
ステップ3 57 で1分間
ステップ4 68 で2分間
ステップ5 ステップ2、3、及び4を20回繰り返す
ステップ6 68 で5分間
ステップ7 4 で保管。

【0222】

各ウェルのDNA濃度は、1X TE及び0.5 µlの希釈していないPCR産物に溶解した100 µlのPICOGREEN定量試薬(0.25% (v/v) PICOGREEN; Molecular Probes, Eugene OR)を不透明な蛍光光度計プレート(Coming Costar, Acton MA)の各ウェルに分配してDNAが試薬と結合できるようにして測定する。このプレートをFluoroskan II (Labsystems Oy, Helsinki, Finland)でスキャンして、サンプルの蛍光を計測してDNAの濃度を定量化する。反応混合物の5~10 µlのアリコットを1%のアガロースミニゲル上での電気泳動によって解析し、何れの反応物が配列を伸長することに成功したかを決定する。

【0223】

伸長したヌクレオチドを脱塩及び濃縮してから384ウェルプレートに移し、CviJIコレラウィルスエンドヌクレアーゼ(Molecular Biology Research, Madison WI)で消化し、pUC 18ベクター(Amersham Pharmacia Biotech)に再連結する前に音波処理またはせん断を行った。ショットガンシーケンシングのために、消化したヌクレオチドを低濃度(0.6~0.8%)のアガロースゲル上に分離して断片を切断し、寒天をAgar ACE (Promega)で消化した。T4リガーゼ(New England Biolabs, Beverly MA)を用いて伸長したクローンをpUC 18ベクター(Amersham Pharmacia Biotech)に再連結し、Pfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)で制限部位の延び出しを処理してコンピテント大腸菌細胞に形質移入した。形質移入した細胞を選択して抗生物質を含む培地に移し、それぞれのコロニーを切りとってLB/2Xカルベニシリン培養液の384ウェルプレートに37 で一晩培養した。

【0224】

細胞を溶解して、Taq DNAポリメラーゼ(Amersham Pharmacia Biotech)及びPfu

DNAポリメラーゼ(Stratagene)を用いて以下の手順でDNAをPCR増幅した。

- ステップ1 94 で3分間
 ステップ2 94 で15秒
 ステップ3 60 で1分間
 ステップ4 72 で2分間
 ステップ5 ステップ2、3、及び4を29回繰り返す
 ステップ6 72 で5分間
 ステップ7 4 で保管。

上記したようにPICOGREEN試薬(Molecular Probes)でDNAを定量化した。DNA回収率の悪いサンプルは、上記した条件で再び増幅した。サンプルを20%のジメチルサルホサイド(dimethylsulphoxide)(1:2, v/v)で希釈し、DYENAMIC DIRECTキット(Amersham Pharmacia Biotech)またはABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reactionキット(Perkin-Elmer)を用いてシーケンシングした。

【0225】

同様に上述の手順で、SEQ ID NO:16 - 30のヌクレオチド配列を利用し、この伸長のために設計したオリゴヌクレオチドと好適な遺伝子ライブラリを用いて5調節配列を得た。

【0226】

7 個々のハイブリダイゼーションプローブの標識及び使用

SEQ ID NO:16 - 30から導き出されたハイブリダイゼーションプローブを用いて、cDNA、mRNA、またはゲノムDNAをスクリーニングする。約20塩基対からなるオリゴヌクレオチドの標識について特に記すが、より大きなcDNAフラグメントの場合でも基本的に同じ手順を用いる。オリゴヌクレオチドを、OLIGO4.06ソフトウェア(National Bioscience)のような最新式のソフトウェアを用いてデザインし、50pmolの各オリゴマーと、250µCiの[³²P]アデノシン三リン酸(Amersham, Chicago, IL)及びT4ポリヌクレオチドキナーゼ(DuPont NEN, Boston MA)とを組み合わせて用いることにより標識する。標識されたオリゴヌクレオチドを、SEPHADEX G-25超精細排除デキストランビードカラム(Amersham Phar

macia Biotech) を用いて実質的に精製する。毎分 10^7 カウントの標識されたプローブを含むアリコットを、次のエンドヌクレアーゼ、Ase I、Bgl II、Eco RI、Pst I、XbaI 或いは Pvu II (DuPont NEN) の 1 つを用いて切断したヒトゲノム DNA の典型的な膜ベースのハイブリダイゼーション解析において用いる。

【0227】

各切断物からの DNA を、0.7% アガロースゲル上で分画して、ナイロン製メンブラン (Nytran Plus, Schleicher & Schuell, Durham NH) に転写する。ハイブリダイゼーションは 40 で 16 時間かけて行う。非特異的シグナルを取り除くため、例えば、最大 0.1 x クエン酸ナトリウム食塩水及び 0.5% ドデシル硫酸ナトリウムの条件の下、プロットを順次室温にて洗浄する。ハイブリダイゼーションパターンをオートラジオグラフィー或いは別のイメージ化手段で視覚化して比較する。

【0228】

8 マイクロアレイ

化学結合方法及びインクジェット装置を用いて、基板の表面上でアレイ要素を合成することが可能である (例えば、上記 Baldeschweiler を参照)。ドットプロット法またはスロットプロット法に類似したアレイを利用し、要素を熱、UV、機械的または化学的結合方法を用いて基板の表面に配置し結合させる。典型的なアレイは、手作業または利用可能な方法や機械を用いて作製することができ、任意の適正な数の要素を含み得る。ハイブリダイゼーションの後、ハイブリダイズしていないプローブを取り除き、スキャナーを用いて蛍光のレベル及びパターンを決定する。スキャンした画像を分析して、マイクロアレイ上で要素にハイブリダイズする各プローブの相補性の程度及び相対的な量 / 発現レベルを調べることが可能である。

【0229】

完全長の cDNA、発現遺伝子配列断片 (EST)、或いはそれらの断片が、マイクロアレイの要素となり得る。ハイブリダイゼーションに好適な断片を、LASERGEN E ソフトウェア (DNASTAR) などの当分野で周知のソフトウェアを用いて選択することが可能である。本発明の核酸配列の 1 つに対応する完全長の cDNA、EST、或

いはそれらの断片、或いは本発明に関連するcDNAライブラリから任意に選択されたcDNAを、ガラススライドなどの好適な基板に整列する。cDNAは、例えばUV交差結合(UV cross-linking)を利用してスライドに固定してから、熱処理及び化学処理を施し、最後に乾燥させる(例えば、Schena, M. 他. (1995) Science 270:467-470; 及び Shalon, D. 他. (1996) Genome Res. 6:639-645を参照)。蛍光プローブを準備して、基板上の要素にハイブリダイゼーションするために用いる。上記した方法でこの基板を分析する。

【0230】

9 相補的ポリヌクレオチド

IMOLをコードする配列或いはその任意の一部に対して相補的な配列は、自然発生のIMOLの発現を低下させるため即ち阻害するために用いられる。約15~約30個の塩基対を含むオリゴヌクレオチドの使用について記すが、より小さな或いはより大きな配列の断片の場合でも本質的に同じ方法を用いることができる。Oligo4.06ソフトウェア(National Biosciences)及びIMOLのコーディング配列を用いて、適切なオリゴヌクレオチドを設計する。転写を阻害するためには、最も独特な5'配列から相補的なオリゴヌクレオチドを設計し、これを用いてプロモーターがコーディング配列に結合するのを阻害する。翻訳を阻害するためには、相補的なオリゴヌクレオチドを設計して、リボソームがIMOLをコードする転写物に結合するのを阻害する。

【0231】

1.0 IMOLの発現

IMOLの発現及び精製は、細菌若しくはウイルスを基にした発現系を用いて行うことができる。細菌でIMOLが発現するために、抗生物質耐性及びcDNAの転写レベルを高める誘導性のプロモーターを含む好適なベクターにcDNAをサブクローニングする。このようなプロモーターには、lacオペレーター調節要素に関連するT5またはT7バクテリオファージプロモーター及びtrp-lac(tac)ハイブリッドプロモーターが含まれるが、これらに限定されるものではない。組換えベクターを、BL21(DE3)などの好適な細菌宿主に形質転換する。抗生物質耐性をもつ細菌が、イソプロピル-Dチオガラクトピラノシド(IPTG)で誘発されるとIMOLを発現する

。真核細胞でのIMOLの発現は、昆虫細胞株または哺乳動物細胞株に一般にバキュロウイルスとして知られているAutographica californica核多面性ウイルス(AcMNPV)を感染させて行う。バキュロウイルスの非必須ポリヘドリン遺伝子を、相同組換え或いは転移プラスミドの媒介を伴う細菌の媒介による遺伝子転移のどちらかによって、IMOLをコードするcDNAと置換する。ウイルスの感染力は維持され、強いポリヘドリンプロモータによって高いレベルのcDNAの転写が行われる。組換えバキュロウイルスは、多くの場合はSpodoptera frugiperda (Sf9)昆虫細胞に感染に用いられるが、ヒト肝細胞の感染にも用いられることもある。後者の感染の場合は、バキュロウイルスの更なる遺伝的変更が必要になる。(例えば、Engelhard, E. K.他 (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-3227; Sandig, V. 他 (1996) Hum. Gene Ther. 7:1937-1945.を参照)。

【0232】

殆どの発現系では、IMOLが、例えばグルタチオンSトランスフェラーゼ(GST)、またはFLAGや6-Hisなどのペプチドエピトープ標識で合成された融合タンパク質となるため、未精製の細胞溶解物からの組換え融合タンパク質の親和性ベースの精製が素早く1回で行うことができる。Schistosoma japonicumからの26キログルトンの酵素GSTによって、タンパク質の活性及び抗原性を維持した状態で固定されたグルタチオンで融合タンパク質の精製が可能となる(Amersham Pharmacia Biotech)。精製の後、GST部分を特定の操作部位でIMOLからタンパク質的に切断できる。アミノ酸8個のペプチドであるFLAGで、市販のモノクローナル及びポリクローナル抗FLAG抗体(Eastman Kodak)を用いた免疫親和性の精製が可能となる。6個の連続するヒスチジン残基のストレッチである6-Hisによって、金属キレート樹脂(QIAGEN)で精製が可能となる。タンパク質の発現及び精製の方法は、Ausubel (1995,前出, ch 10, 16)に記載されている。これらの方法で精製したIMOLを直接用いて以下のアッセイを行うことができる。

【0233】

1.1 IMOLの活性の実証

IMOLの活性を調べるアッセイでは、IMOLに反応した白血球の増殖を測定する。このアッセイでは、新規に合成されたDNAに組み込まれたトリチウム化チミジン

の量を用いて増殖活性を推定する。放射性DNA前駆体である $[^3\text{H}]$ チミジンの存在下で、様々な量のIMOLを顆粒球及び単球、リンパ球などの培養白血球に加える。このアッセイ用のIMOLは、遺伝子組み換え或いは生化学的製法によって得ることができる。酸不溶性DNAへの $[^3\text{H}]$ チミジンの組み込みを、適当な時間間隔で測定し、その組み込まれた量が新規に合成されたDNAの量に正比例する。少なくとも100倍のIMOL濃度範囲における線形の線量効果曲線が、IMOLの活性を示唆する。1ml当たりの活性の1単位は従来から50%の反応レベルとなるIMOLの濃度と定義され、100%の反応レベルは酸不溶性DNAへの $[^3\text{H}]$ チミジンの組み込みが最大であることを表す。

【0234】

別法のIMOLの活性を調べるアッセイでは、細胞表面のIMOLの発現を測定する。IMOLをコードするcDNAを非白血球細胞株にトランスフェクトする。細胞表面タンパク質をビオチンで標識する (de la Fuente, M. A. et al. (1997) Blood 90:2398-2405を参照)。IMOL特異的抗体を用いて免疫沈降を行い、免疫沈降したサンプルをSDS-PAGE及び免疫ブロッティング技術を用いて分析する。標識されていない免疫沈降物に対する標識された免疫沈降物の比率が細胞表面で発現したIMOLの量に比例する。

【0235】

別法では、IMOLの活性は、血清から抗原を認識して沈降させる免疫グロブリンによって示される。定量沈降反応によって活性を評価する (Golub, E. S. et al. (1987) Immunology: A Synthesis, Sinauer Associates, Sunderland, MA, pages 113-115)。IMOLは、当分野で既知の方法で同位体的に標識する。様々な濃度の血清を一定量の標識されたIMOLに加える。遠心分離によって溶液から沈殿したIMOL抗原複合体を回収する。沈降可能なIMOL抗原複合体の量が、沈降物の中から検出されたラジオアイソトープの量に比例する。沈降可能なIMOL抗原複合体の量を、血清濃度に対してプロットする。様々な血清濃度に対する沈降曲線を求める。この沈降曲線は、初めは血清濃度の上昇に比例して沈降可能なIMOL抗原複合体の量が増加するが、等量点でピークを迎え、血清濃度が更に上昇すると低下するという特性を有する。従って、沈降可能なIMOL抗原複合体の量が、抗原の限界

量及び過剰量双方に対して感受性を有するという特徴をもつIMOL活性の尺度となる。

【0236】

1.2 機能的アッセイ

IMOLの機能は、哺乳動物細胞培養系において生理学的に高められたレベルでのIMOLをコードする配列の発現によって評価する。cDNAを、cDNAを高いレベルで発現する強いプロモーターを含む哺乳動物発現ベクターにサブクローニングする。このようなベクターには、pCMV SPORT™ (Life Technologies.)及びpCR 3.1 (Invitrogen, Carlsbad, CA)が含まれ、どちらもサイトメガロウイルスプロモーターを含んでいる。5 ~ 10 µgの組換えベクターを、例えば内皮由来か造血由来のヒト細胞株にリポソーム製剤或いは電気穿孔法によって一時的に形質移入する。更に、標識タンパク質をコードする配列を含む1 ~ 2 µgのプラスミドを同時に形質移入する。標識タンパク質の発現により、形質移入された細胞と形質移入されていない細胞とを区別できる。また、標識タンパク質の発現によって、cDNAの組換えベクターからの発現を正確に予想できる。このような標識タンパク質には、緑色蛍光タンパク質(GFP; Clontech)、及びCD64またはCD64-GFP融合タンパク質が含まれる。レーザー光学に基づいた技術を利用した自動流動細胞計測法(FCM)を用いて、GFPまたはCD64-GFPを発現する形質移入された細胞を同定し、その細胞のアポトーシス状態や他の細胞特性を評価する。また、FCMで、先行した或いは同時の細胞死の現象を診断する蛍光分子の取り込みを検出して計量する。これらの現象には、プロピジウムヨウ化物でのDNAの染色によって計測される核DNA内容物の変化と、プロモデオキシウリジンの取り込み量の低下によって計測されるDNA合成の下方調節と、特異的な抗体との反応性によって計測される細胞表面及び細胞内のタンパク質の発現の変化と、蛍光複合アネキシンVタンパク質の細胞表面への結合によって計測される原形質膜組成の変化とが含まれる。流動細胞計測法は、Ormerod, M. G.による(1994) Flow Cytometry Oxford, New York, NY.に記載されている。

【0237】

遺伝子発現におけるIMOLの影響は、IMOLをコードする配列とCD64またはCD64-G

FPのどちらかが形質移入された高度に精製された細胞集団を用いて評価することができる。CD64またはCD64-GFPは形質転換された細胞表面で発現し、ヒト免疫グロブリンG(IgG)の保存された領域と結合する。形質転換された細胞と形質転換されない細胞とは、ヒトIgGかCD64に対する抗体のどちらかで被覆された磁気ビードを用いて分離することができる(DYNAL, Lake Success, NY)。mRNAは、当分野で周知の方法で細胞から精製することができる。IMOL及び目的の他の遺伝子をコードするmRNAの発現は、ノーザン分析やマイクロアレイ技術で分析することができる。

【0238】

1.3 IMOLに特異的な抗体の作製

ポリアクリルアミドゲル電気泳動法(PAGE; 例えば、Harrington, M.G. (1990) Methods Enzymol. 1816 - 3088-495を参照)または他の精製技術で実質的に精製されたIMOLを用いて、標準的なプロトコルでウサギを免疫化して抗体を作り出す。

【0239】

別法では、IMOLアミノ酸配列をLASERGENEソフトウェア(DNASTAR)を用いて解析して免疫原性の高い領域を決定し、対応するオリゴペプチドを合成してこれを用いて当業者に周知の方法で抗体を産生させる。C末端付近の、或いは隣接する親水性領域内のエピトープなどの適切なエピトープの選択については、当分野で周知である(例えば、前出のAusubel, 1995, 11章を参照)。

【0240】

通常、約15残基の長さのオリゴペプチドを、Applied BiosystemsのABI 431Aペプチドシンセサイザ(Perkin-Elmer)を用いてfmoc法のケミストリにより合成し、N-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル(MBS)を用いた反応によりKLH(Sigma-Aldrich, St. Louis MO)に結合させて、免疫原性を高める(例えば、前出のAusubel, 1995を参照)。フロイントの完全アジュバントにおいてオリゴペプチド-KLH複合体を用いてウサギを免疫化する。得られた抗血清の抗ペプチド活性及び抗IMOL活性を検査するには、ペプチドまたはIMOLを基板に結合し、1%BSAを用いてブロックし、ウサギ抗血清と反応させて洗

浄し、さらに放射性ヨウ素標識されたヤギ抗ウサギIgGと反応させる。

【0241】

1.4 特異的抗体を用いる自然発生IMOLの精製

自然発生IMOL或いは組換えIMOLを、IMOLに特異的な抗体を用いるイムノアフィニティークロマトグラフィにより実質的に精製する。イムノアフィニティークラムは、CNBr-活性化SEPHAROSE (Amersham Pharmacia Biotech) のような活性化クロマトグラフィ用レジンと抗IMOL抗体とを共有結合させることにより形成する。結合の後、そのレジンを製造者の使用説明書に従って、ブロックし洗浄する。

【0242】

IMOLを含む培養液をイムノアフィニティークラムに通し、IMOLを優先的に吸着できる条件で(例えば、界面活性剤の存在下において高イオン強度のバッファーで)そのカラムを洗浄する。そのカラムを、抗体とIMOLとの結合を切るような条件で(例えば、pH 2~3のバッファー、或いは高濃度の尿素またはチオシアン酸塩イオンのようなカオトロピックイオンで)溶出させ、IMOLを回収する。

【0243】

1.5 IMOLと相互作用する分子の同定

IMOL又は生物学的に活性なその断片を、¹²⁵I ボルトンハンター試薬(例えば、Bolton A.E.及びW.M. Hunter (1973) Biochem. J. 133:529を参照)で標識する。マルチウェルプレートに予め配列しておいた候補の分子を、標識したIMOLと共にインキュベートし、洗浄して、標識したIMOL複合体を有する全てのウェルをアッセイする。様々なIMOL濃度で得られたデータを用いて、候補分子と結合したIMOLの数量及び親和性、会合についての値を計算する。

【0244】

別法では、IMOLと相互作用する分子を、Fields, S.及びO. Song(1989, Nature 340:245-246)に記載の酵母2-ハイブリッドシステム(yeast two-hybrid system)やMATCHMAKERシステム(Clontech)などの2-ハイブリッドシステムに基づいた市販のキットを用いて分析する。

【0245】

当業者は、本発明の範囲及び精神から逸脱することなく本発明の記載した方法

及びシステムの種々の改変を行うことができるであろう。特定の好適実施例に基づいて本発明を説明したが、本発明の範囲が、そのような特定の実施例に不当に制限されるべきではないことを理解されたい。実際に、分子生物学或いは関連する分野の専門家には明らかな、本明細書に記載の本発明の実施方法の様々な改変は、特許請求の範囲に含まれる。

【0246】

(表の簡単な説明)

表1は、IMOLをコードする完全長の配列を作り出すために用いた、ポリペプチド配列及びヌクレオチド配列の配列番号(SEQ ID NO)、クローン識別番号、cDNAライブラリ、及びcDNA断片を示す。

【0247】

表2は、潜在モチーフ及び相同配列を含む各ポリペプチド配列の特徴、並びにIMOLの解析に用いた方法、アルゴリズム、及び検索可能なデータベースを示す。

【0248】

表3は、各核酸配列の選択された断片と、ノーザン分析によって決定された各核酸配列の組織特異的発現パターンと、これらの組織に関連した疾患、異常症及び症状と、各DNAがクローニングされたベクターとを示す。

【0249】

表4は、IMOLをコードするcDNAクローンを単離したcDNAライブラリの作製に用いた組織を示す。

【0250】

表5は、IMOLの分析に用いたツール、プログラム、及びアルゴリズム、並びにその説明、引用文献、閾値パラメーターを示す。

【表1】

表 1

ポリペプチド SEQ ID NO:	ヌクレオチド SEQ ID NO:	クローンID	ライブラリ	断片
1	16	2705028	PONSZAT01	659491H1 (BRAINT03), 749439R1 (BRAITUT01), 786579R6 (PROSN05), 913159R6 (STOMN02), 144081F6 (THYRN03), 2209623H1 (SINTF03), 2603630F6 (LUNGTF07), 2705028H1 (PONSZAT01), 4934049F6 (BRSTTUT20), 4934049T6 (BRSTTUT20), 1441709F1 (THYRN03), 2595366F6 (OVARTUT02), 2751129H1 (THPIAZS08), 2751129R6 (THPIAZS08)
2	17	2751129	THPIAZS08	
3	18	2818076	BRSTN014	1269389T1 (BRAINT09), 2818076F6 (BRSTN014), 2818076H1 (BRSTN014), 3224685R6 (UTRSN03), 3224685T6 (UTRSN03)
4	19	2907049	THYMN005	2907049H1 (THYMN05), SBZA00343V1, SCCA03402V1, SBZA05102V1
5	20	3402252	ESOGN003	2960277T6 (ADREN009), 3402252H1 (ESOGN003), SBZA00824V1, SBZA01322V1
6	21	3577142	BRONN001	2967181T6 (SCORN004), 3577142H1 (BRONN001)
7	22	3725986	BRSTN023	2296581R6 (BRSTN05), 3725986H1 (BRSTN023), 3957555H2 (HEARF02), 4325138H1 (TLYMN01)
8	23	3799011	SPLNN012	1674311F6 (BLADN005), 1994530H1 (BRSTTUT03), 3054149H1 (LNODN08), 3339240H1 (SPLNN010)
9	24	3887384	UTRSN005	078084F1 (SYNORAB01), 3887384H1 (UTRSN05), 5422664H1 (PROSTN07)
10	25	1352789	LATRTUT02	530695T6 (BRAINT03), 1352789H1 and 1352789T6 (LATRTUT02), 1512934F6 and 1512934T6 (PANCTUT01)
11	26	1666486	BMARN003	689749R6 (LUNGTF02), 1666486H1 (BMARN003), 2771470F6.comp (COLAN002)
12	27	1706596	DUODN002	077057R1 (SYNORAB01), 1241315R6 (LUNGN003), 1370244T6.comp (BSTMN02), 1706596H1 (DUODN02)
13	28	1890540	BLADTUT07	137725F1 and 137725R1 (SYNORAB01), 1890540H1 (BLADTUT07), 2861361F6 (SININ003), 5370394H1 (BRAINT02)
14	29	2774913	PANCN015	961128R2 (BRSTTUT03), 1511626F1 (LUNGN014), 2774913H1 (PANCN015), 3295703H1 (TLYJINT01), SAXB00207F1, SAXB00564F1, SASA00067F1
15	30	5571291	TLYMN008	534078F6 (BRAINT03), 1655166F6 (PROSTU08), 2073461H1 (ISLTN001), 2545752F6 (UTRSN011), 3171142T6 (BRSTN018), 3767674T6 (BRSTN024), 3842267H1 and 3845101H1 (DENND01), 5571291H1 (TLYMN008)

【表 2】

表2-1

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸残基	潜在的リン酸化部位	潜在的 グリコシル化部位	サイン(signature)配列	相同配列	分析方法
1	613	T52 S80 T175 S205 T215 T271 S141 T192 T250 T388 T403 S424 S465 S526 S562 Y404	N50 N327 N463	高分子Ig受容体サイン: T260-A281, Y314-E421 Igドメイン G42-T129, G179-A272 シグナルペプチド: M1-A27 膜貫通ドメイン: P583-M607	Ig様タンパク質 (g3676136)	BLOCKS PFAM HMM MOTIFS BLAST SPSCAN
2	271	T5 S19 S21 T89 T208 S11 T63 T68 S82 S180 S187 S192 S193 S203 T225 T251 T43 T51 S93 S105 T230 S79 S113			腎臓癌に関連する MYCEN-15抗原 (g5360116)	MOTIFS BLAST
3	235	T43 T51 S93 S105 T230 S79 S113			IL-6 誘導骨髄性分化 (MvD88)タンパク質 (g53294)	MOTIFS BLAST
4	310	S308 T129 S148 S235 S85 T112 T155 S208	N89 N201	Igドメイン: G85-T112 シグナルペプチド: M1-A21 膜貫通ドメイン: Y280-M300	T細胞受容体β (g1100182)	PFAM HMM MOTIFS BLAST SPSCAN
5	246	T114 S186 S203 S153	N68 N82	MHC Iドメイン D29-D65, T120-I205 シグナルペプチド: M1-R27	MHCクラスII抗原 (g2789617)	PFAM HMM MOTIFS BLAST SPSCAN
6	180	T131 S24 S27 S93	N75	hVcxCサイトカインサイン: R120-M128 シグナルペプチド: M1-P22	サイトカイン相同体CT07 (g6013321)	HMM PRINTS MOTIFS BLAST SPSCAN
7	200	T21 S86 S96 S100 T189 S11 S12 S14			B-6 (MHC) 抗原 (g211254)	MOTIFS BLAST

【表3】

表2-2

ペプチド SEQ ID NO.	アミノ酸残基	潜在的リン酸化部位	潜在的 グリコシル化部位	サイン(signature)配列	相同配列	分析方法
8	211	S76 T94 S166 S200 S205	N83 N92	Igドメイン: G29-V105 シグナルペプチド: M1-T23	CNRF-35抗原 (ポリIg重鎖体に相同) (g396170)	PFAM HMM MOTIFS BLAST SPSCAN MOTIFS BLAST
9	225	S12 T23 S61 S65 S76 T88 T138 S150 S151 S159 T209 S218 S14 S19 Y114 S74 S75 T99	N52		胸腺細胞プロテイン c1hy28k0 (g995778)	MOTIFS BLAST
10	329	T127 T154 T194 T299 T66 S75 T134 T222 Y221 S36 S74 S89		ATP/GTP結合部位: G37-S44	AI(6)抗原性誘導遺伝子 g1127804	Motifs BLAST
11	237	T125 S185 T187 S205 T44		Ig/生薬組織適合抗原複合体: D193-E236 免疫グロブリンドメイン: G38-G112 S150-V219 シグナルペプチド: M1-Q22	E2765423 免疫グロブリンKL鎖	Motifs ProfileScan Pfam SPScan HMM BLOCKS BLOCKS-DOMO BLAST
12	235	S109 S144 S223 S68 S79 S210		Ig/生薬組織適合抗原複合体: N193-S235 免疫グロブリン: R34-V110, A150-V218 シグナルペプチド: M1-A21	免疫グロブリンL鎖A前駆体 (AA-20~215) g33395	Motifs ProfileScan Pfam SPScan HMM BLOCKS BLOCKS-DOMO BLAST
13	246	T77 S138 S48 T152		C1q: A119-L242 C1qドメインタンパク質: G54-E80, G134-M169 D202-R221, S235-E244 シグナルペプチド: M1-Q22	C1q関連因子 g3747057	Motifs Pfam SPScan HMM BLOCKS PRINTS BLAST

【表4】

表2-3

ポリペプチド SEQ ID NO.	アミノ酸残基	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	サイン(signature)配列	相同配列	分析方法
14	322	S28 S97 Y168	N66	膜貫通ドメイン: W295-L223, L240-W258 W67-W85 シグナルペプチド: M1-A50	骨髄性上皮制御タンパク質 g2463265	Motifs HMM SPScan BLAST
15	191	S11 S91 S103 T142 T73			IL-17受容体 g2826476	Motifs BLAST

【表5】

表3-1

ヌクレオチド SEQ ID NO	断片	発現組織 (割合)	疾患又は症状 (割合)	ベクター
16	217-261	神経 (0.377) 生殖 (0.203) 心血管 (0.145)	癌 (0.522) 炎症 (0.246) 外傷 (0.101)	pINCY
17	109-153 757-801	生殖 (0.400) 発達 (0.200) 内分泌 (0.200)	癌 (0.600) 細胞増殖 (0.400)	PSPORT
18	812-856	生殖 (0.375) 心血管 (0.125) 発達 (0.125)	癌 (0.500) 細胞増殖 (0.250) 外傷 (0.250)	pINCY
19	165-209	造血/免疫 (0.294) 胃腸 (0.235) 生殖 (0.132)	炎症 (0.412) 癌 (0.353) 細胞増殖 (0.132)	pINCY
20	650-694	心血管 (0.250) 胃腸 (0.250) 筋骨格 (0.250)	癌 (0.250) 細胞増殖 (0.250) 炎症 (0.250)	pINCY
21	541-585	心血管 (0.333) 神経 (0.333) 生殖 (0.333)	癌 (0.667) 炎症 (0.333)	pINCY
22	165-209 597-641	神経 (0.400) 生殖 (0.400) 発達 (0.200)	癌 (0.200) 細胞増殖 (0.200) 炎症 (0.200)	pINCY
23	595-639	造血/免疫 (0.381) 生殖 (0.190) 心血管 (0.143)	炎症 (0.524) 癌 (0.333) 細胞増殖 (0.143)	pINCY
24	704-748	生殖 (0.233) 胃腸 (0.183) 神経 (0.167)	癌 (0.483) 炎症 (0.233) 細胞増殖 (0.133)	pINCY
25	84-128	生殖 (0.194) 心血管 (0.164) 造血/免疫 (0.149)	癌 (0.403) 炎症 (0.283) 胎児/増殖/細胞株 (0.075) 外傷 (0.104)	pINCY
26	348-392	生殖 (0.268) 胃腸 (0.254) 心血管 (0.136)	癌 (0.573) 炎症 (0.251) 外傷 (0.071)	pINCY
27	111-155	胃腸 (0.296) 生殖 (0.251) 心血管 (0.133)	癌 (0.557) 炎症 (0.300) 外傷 (0.088)	pINCY

【表6】

表3-2

ポリヌクレオチド SEQ ID NO	断片	発現組織 (割合)	疾患又は症状 (割合)	ペクター
28	217-261	柔骨格 (0.162) 筋神経 (0.162)	癌 (0.486) 胎児/増殖/細胞株 (0.216) 炎症 (0.162)	pINCY
29	390-434	生殖 (0.311) 胃腸 (0.174) 造血/免疫 (0.121) 心血管 (0.121)	癌 (0.530) 炎症 (0.174) 胎児/増殖/細胞株 (0.106)	pINCY
30	226-270	胃腸 (0.214) 造血/免疫 (0.178) 神経 (0.178) 生殖 (0.178)	癌 (0.571) 炎症 (0.148) 神経 (0.107)	pINCY

【表7】

表 4 - 1

ポリヌクレオチド SEQ ID NO	ライブラリ	ライブラリの説明
1 6	PONSAZT01	PONSAZT01 ライブラリは、アルツハイマー病で死亡した 74 歳の白人男性の脳から採取した病変脳橋組織から単離した RNA を用いて作製した。
1 7	THP1AZS08	このサブトラクトされたライブラリは、5-アザ-2'-デオキシシチジン (AZ) で処理した THP-1 (前単球) 細胞ライブラリから得た 5.76×10^6 個のクローンから作製した。開始の RNA は、0.8 μ M の AZ で 3 日間処理した THP-1 前単球細胞から単離した。サブトラクションのため、0.8 μ M の AZ で 3 日間処理した THP-1 細胞から単離した RNA から派生したものである。AZ 処理した THP-1 細胞ライブラリから得た 5.76×10^6 個のクローンは次に、未処理の THP-1 細胞から採取した 5×10^6 個のクローンで 2 回のサブトラクティブハイブリダイゼーションにかけた。サブトラクティブハイブリダイゼーション条件は、Swaroop ら、Nuc. Acids Res. (1991) 19:1954 及び Bonaldo ら、Genome Research (1996) 6:791 の方法論に基づいた。THP-1 (ATCC TIB 202) は、急性単球白血病を患う 1 歳白人男児の末梢血液由来のヒト前単球線である (Int. J. Cancer 26 (1980):171 を参照)。
1 8	BRSTNOT14	BRSTNOT14 ライブラリは、62 歳の白人女性から片側拡大単純乳房切除の際に採取した乳房組織から単離した RNA を用いて作製した。関連腫瘍組織は、病理学的には浸潤性グレード (4 中の) 3、核グレード (3 中の) 3 の管型腺癌を示していた。in situ でコメド型型の管癌腫の 60% は、集塊から構成されていた。転移性腺癌は、(14 個中の) 1 個の腋窩リンパ節において結節周囲の発現を伴わずに同定された。腫瘍細胞は、エストロゲン受容体に対しては強い陽性、プロゲステロン受容体に対しては陰性であった。患者の病歴には、良性大腸新生物、高脂血症、不整脈及び肥満症が含まれる。家族歴には、アテローム硬化性冠状動脈疾患、心筋梗塞、大腸癌、卵巣癌、肺癌及び脳血管障害が含まれる。
1 9	THYMNOT05	THYMNOT05 ライブラリは、3 歳のヒスパニック男児から胸腺摘出及び動脈管閉鎖の際に採取した胸腺組織から単離した RNA を用いて作製した。患者の病歴には、心カテーター法、心エコー図、ブラックボックスタウシグタ陽気及び肺弁膜切開が含まれる。家族歴には、良性高血圧症、変形性関節症、抑うつ障害及び外因性喘息が含まれる。
2 0	ESOGNOT03	ESOGNOT03 ライブラリは、53 歳の白人男性から部分的食道切除、噴門切除及び部分的リンパ節牛絞の際に食道組織から単離した RNA を用いて作製した。患者の病歴には、膜性腎炎、高脂血症、良性高血圧症、不安状態及びアデノイド口蓋扁桃摘出が含まれる。家族歴には、アテローム硬化性冠状動脈疾患、腹部大動脈瘤破裂及び乳癌が含まれる。
2 1	BRONNOT01	BRONNOT01 ライブラリは、15 歳の白人男性から採取した気管支組織から単離した RNA を用いて作製した。

【表 8】

表 4 - 2

ポリヌクレオチド SEQ ID NO	ライブラリ	ライブラリの説明
2 2	BRSTNOT23	BRSTNOT23 ライブラリは、35歳の白人女性から片側拡大単純乳房切除の際に採取した病変乳房組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、非増殖性線維囊腫症を示していた。患者の病歴には、II型糖尿病、アテローム硬化性冠状動脈疾患、急性心筋梗塞、高脂血症及び大動脈冠動脈バイパス術が含まれる。
2 3	SPLNNOT12	SPLNNOT12 ライブラリは、65歳の女性から採取した脾臓組織から単離したRNAを用いて作製した。関連する腫瘍組織は、病理学的には核グレード1の、遠位脾臓に優性の塊を形成する、よく分化した神経内分泌癌腫（島細胞腫）を示していた。外発性小腸癌小結節は、主要な塊のすぐ近くに隣接していた。肝臓は、外発性小結節を形成する転移性のグレード1島腫瘍を示していた。外発性(4)総胆管周辺(pericholedochal)リンパ節には、転移性グレード1島細胞腫瘍が含まれていた。
2 4	UTRSNOT05	UTRSNOT05 ライブラリは、45歳白人女性から腹式子宮全摘出及び大腸全切除の際に採取した子宮組織から単離したRNAを用いて作製した。関連する腫瘍組織は、病理学的には子宮筋層の多数の平滑筋腫及び盲腸のグレード2大腸癌を示していた。患者の病歴には、多発性硬化病及び慢性腎臓病が含まれる。家族歴には、I型糖尿病、脳血管障害、アテローム性冠動脈疾患、悪性皮膚癌、高血圧症及び悪性大腸癌新生物が含まれる。
2 5	LATRTUT02	LATRTUT02 ライブラリは、43歳の白人男性から輪状成形術の際に左心房から採取した粘液腫から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、心房の粘液腫を示していた。患者の病歴には、肺不全、急性心筋梗塞、アテローム硬化性冠動脈疾患及び高脂血症が含まれる。家族歴には、良性高血圧症、急性心筋梗塞、アテローム硬化性冠動脈疾患及びII型糖尿病が含まれる。
2 6	BMARNOT03	BMARNOT03 ライブラリは、16歳の白人男性から遊離精皮術を伴う部分的左脛骨切断の際に採取した左脛骨髄組織から単離したRNAを用いて作製した。患者の病歴には、赤血球の異常が含まれる。家族歴には、変形性関節症が含まれる。
2 7	DUODNOT02	DUODNOT02 ライブラリは、頭部外傷により死亡した8歳の白人女性の十二指腸組織から単離したRNAを用いて作製した。血清学は、サイトメガロウイルス(CMV)に対して陽性であった。
2 8	BLADTUT07	BLADTUT07 ライブラリは、58歳の白人男性の前膀胱壁から根治的膀胱切除、前立腺切除及び精管切除の際に採取した膀胱腫瘍組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、左膀胱壁にグレード3移行性上皮癌を示していた。患者の病歴には、アングリオ及び気腫が含まれる。家族歴には、急性心筋梗塞、アテローム硬化性冠動脈疾患及びII型糖尿病が含まれる。

【表9】

表4-3

ポリヌクレオチド SEQ ID NO	ライブラリ	ライブラリの説明
29	PANCNOT15	PANCNOT15ライブラリは、15歳の白人男性から膵尾側切除術及び全脾切除を伴う診察開腹の際に採取した膵臓組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、島細胞増殖を示していた。家族歴には、前立腺癌及び心血管疾患が含まれる。
30	TLYMNNOT08	TLYMNNOT08ライブラリは、成人(40~50歳)の白人男性から採取したアネルギー性同種T-リンパ球組織から単離したRNAを用いて作製した。細胞は、OKT3 mAb (1 µg/ml OKT3)及び5%ヒト血清の存在下で3日間インキュベートしたものである。

【表10】

表 5 - 1

プログラム名	説明	引用文献	パラメーター 閾値
ABI FACTURA	核酸配列においてベクター配列を除去して不明瞭な塩基をマスキングする。	Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, CA.	
ABU/PARACEL FDF	Fast Data Finder は、アミノ酸又は核酸配列の比較や注釈付けに有用である。	Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, CA.	ミスマッチ<50%
ABI AutoAssembler	核酸配列を構築するプログラムである。	Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, CA.; Paracel inc., Pasadena, CA.	
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool は、アミノ酸及び核酸配列の配列類似性検索に有用である。BLAST には、blastp 及び blastn、blastx、tblastn、tblastx の 5 つの機能がある。	Altschul, S.F.ら(1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Altschul, S.F.ら(1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402.	ESTs: 確率値=1.0E-8 以下 完全長配列: 確率値=1.0E-10 以下
FASTA	Pearson 及び Lipman アルゴリズムは、問合わせの配列と同種の配列のグループとの類似性を検索する。FASTA は、少なくとも 5 つの機能 fasta、tfasta、fastx、tfastx、及び ssearch からなる。	Pearson, W.R. 及び D.J. Lipman (1988) Proc.Natl. Acad. Sci. 85:2444-2448; Pearson, W.R.(1990) Methods Enzymol. 183: 63-98; Smith, T.F. 及び M. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489.	ESTs: fasta E 値=1.06E-6 Assembled ESTs: fasta 同一性=95%以上 一致長=200 塩基以上 fastx E 値=1.0E-8 以下 完全長配列: fastx スコア=100 以上
BLIMPS	BLOCKS IMPROVED Searcher は配列を、BLOCKS 及び PRINTS データベースにおける配列と一致させて、遺伝子ファミリー及び配列相同性、構造的フィンガープリント領域を検索する。	Itenikoff, S 及び J.G. Henikoff, Nucl. Acid Res. 19:6565-72, 1991. J.G. Henikoff 及び S. Henikoff (1996) Methods Enzymol. 266:88-105; Artwood, T.K.ら(1997) J. Chem. Inf. Comput. Sci. 37: 417-424.	スコア=1000 以上 スコア/強度=0.75 以上 確率値=1.0E-3 以下(適用可能な場合)
HMMER	PFAM 等の、タンパク質ファミリーコンセンサス配列の Hidden Markov Model に基づいたデータベースに対する問合せ配列を探するアルゴリズム	Krogh, A.ら(1994) J. Mol. Biol. 235:1501-1531; Sonnhammer, E.L.L.ら(1988) Nucleic Acids Res. 26:320-322.	個々のタンパク質ファミリーによって、スコア=(PFAM ヒットに) 10-50 ビット

【表 1 1】

表5-2

プログラム名	説明	引用文献	パラメーター閾値
ProfileScan	Prosites で定義された配列パターンと一致するタンパク質配列における構造的及び配列モチーフを検索するアルゴリズムである。	Gribskov, M.ら(1988) CABIOS 4:61-66; Gribskov ら(1989) Methods Enzymol. 183:146-159; Baistroch, A.ら(1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221.	標準化された質のスコア≧特定の Prosites モチーフのための GCG 指定された「高い」値 通常、スコア=1.4-2.1
Phred	高い感度及び確率で自動の配列のトレースを検査する塩基呼び出しアルゴリズムである。	Ewing, B.ら(1998) Genome Res. 8:175-185; Ewing, B.及び P. Green (1998) Genome Res. 8:186-194.	
Phrap	Smith-Waterman アルゴリズムを効率的に利用したプログラムである SWAT や CrossMatch を含む Phrap Revised Assembly プログラムは、配列の相同性の検索及び DNA 配列の構築に有用である。	Smith, T.F.及び M. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489; Smith, T.F.及び M.S. Waterman (1981) J. Mol. Biol. 147:195-197; 並びに Green, P., University of Washington, Seattle, WA.	スコア=120 以上 一致長さ=56 以上
Consed	Phrap assemblies の編集及び観察用のグラフィックツールである。	Gordon, D.ら(1998) Genome Res. 8:195-202.	
SPScan	分泌シグナルペプチドの存在するかどうかタンパク質配列をスクリーンするウエイトマトリックス分析プログラムである。	Nielson, H.ら(1997) Protein Engineering 10: 1-6; Claverie, J.M. 及び S. Audic (1997) CABIOS 12: 431-439.	スコア=3.5 以上
Motifs	Prosites で定義された配列と一致するパターンをアミノ酸配列に対して検索するプログラムである。	Baistroch ら、前出; Wisconsin Package Program Manual, version 9, page M51-59, Genetics Computer Group, Madison, WI.	

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> INCYTE PHARMACEUTICALS, INC.
 YUE, Henry
 LAL, Preeti
 TANG, Y. Tom
 BAUGHN, Mariah R.
 AZIMZAI, Yalda
 LU, Dyung Aina M.

<120> MOLECULES OF THE IMMUNE SYSTEM

<130> PF-0680 PCT

<140> To Be Assigned
 <141> Herewith

<150> 60/127,852; 60/132,647
 <151> 1999-04-05; 1999-05-05

<160> 30

<170> PERL Program

<210> 1
 <211> 613
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte 2705028CD1

<400> 1
 Met Gly Ala Leu Arg Pro Thr Leu Leu Pro Pro Ser Leu Pro Leu
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Leu Met Leu Gly Met Gly Cys Trp Ala Arg Glu Val
 20 25 30
 Leu Val Pro Glu Gly Pro Leu Tyr Arg Val Ala Gly Thr Ala Val
 35 40 45
 Ser Ile Ser Cys Asn Val Thr Gly Tyr Glu Gly Pro Ala Gln Gln
 50 55 60
 Asn Phe Glu Trp Phe Leu Tyr Arg Pro Glu Ala Pro Asp Thr Ala
 65 70 75
 Leu Gly Ile Val Ser Thr Lys Asp Thr Gln Phe Ser Tyr Ala Val
 80 85 90
 Phe Lys Ser Arg Val Val Ala Gly Glu Val Gln Val Gln Arg Leu
 95 100 105
 Gln Gly Asp Ala Val Val Leu Lys Ile Ala Arg Leu Gln Ala Gln
 110 115 120
 Asp Ala Gly Ile Tyr Glu Cys His Thr Pro Ser Thr Asp Thr Arg
 125 130 135
 Tyr Leu Gly Ser Tyr Ser Gly Lys Val Glu Leu Arg Val Leu Pro
 140 145 150
 Asp Val Leu Gln Val Ser Ala Ala Pro Pro Gly Pro Arg Gly Arg
 155 160 165
 Gln Ala Pro Thr Ser Pro Pro Arg Met Thr Val His Glu Gly Gln
 170 175 180
 Glu Leu Ala Leu Gly Cys Leu Ala Arg Thr Ser Thr Gln Lys His
 185 190 195
 Thr His Leu Ala Val Ser Phe Gly Arg Ser Val Pro Glu Ala Pro
 200 205 210
 Val Gly Arg Ser Thr Leu Gln Glu Val Val Gly Ile Arg Ser Asp

				215						220										225	
Leu	Ala	Val	Glu	Ala	Gly	Ala	Pro	Tyr	Ala	Glu	Arg	Leu	Ala	Ala							
				230																240	
Gly	Glu	Leu	Arg	Leu	Gly	Lys	Glu	Gly	Thr	Asp	Arg	Tyr	Arg	Met							
				245																255	
Val	Val	Gly	Gly	Ala	Gln	Ala	Gly	Asp	Ala	Gly	Thr	Tyr	His	Cys							
				260																270	
Thr	Ala	Ala	Glu	Trp	Ile	Gln	Asp	Pro	Asp	Gly	Ser	Trp	Ala	Gln							
				275																285	
Ile	Ala	Glu	Lys	Arg	Ala	Val	Leu	Ala	His	Val	Asp	Val	Gln	Thr							
				290																300	
Leu	Ser	Ser	Gln	Leu	Ala	Val	Thr	Val	Gly	Pro	Gly	Glu	Arg	Arg							
				305																315	
Ile	Gly	Pro	Gly	Glu	Pro	Leu	Glu	Leu	Leu	Cys	Asn	Val	Ser	Gly							
				320																330	
Ala	Leu	Pro	Pro	Ala	Gly	Arg	His	Ala	Ala	Tyr	Ser	Val	Gly	Trp							
				335																345	
Glu	Met	Ala	Pro	Ala	Gly	Ala	Pro	Gly	Pro	Gly	Arg	Leu	Val	Ala							
				350																360	
Gln	Leu	Asp	Thr	Glu	Gly	Val	Gly	Ser	Leu	Gly	Pro	Gly	Tyr	Glu							
				365																375	
Gly	Arg	His	Ile	Ala	Met	Glu	Lys	Val	Ala	Ser	Arg	Thr	Tyr	Arg							
				380																390	
Leu	Arg	Leu	Glu	Ala	Ala	Arg	Pro	Gly	Asp	Ala	Gly	Thr	Tyr	Arg							
				395																405	
Cys	Leu	Ala	Lys	Ala	Tyr	Val	Arg	Gly	Ser	Gly	Thr	Arg	Leu	Arg							
				410																420	
Glu	Ala	Ala	Ser	Ala	Arg	Ser	Arg	Pro	Leu	Pro	Val	His	Val	Arg							
				425																435	
Glu	Glu	Gly	Val	Val	Leu	Glu	Ala	Val	Ala	Trp	Leu	Ala	Gly	Gly							
				440																450	
Thr	Val	Tyr	Arg	Gly	Glu	Thr	Ala	Ser	Leu	Leu	Cys	Asn	Ile	Ser							
				455																465	
Val	Arg	Gly	Gly	Pro	Pro	Gly	Leu	Arg	Leu	Ala	Ala	Ser	Trp	Trp							
				470																480	
Val	Glu	Arg	Pro	Glu	Asp	Gly	Glu	Leu	Ser	Ser	Val	Pro	Ala	Gln							
				485																495	
Leu	Val	Gly	Gly	Val	Gly	Gln	Asp	Gly	Val	Ala	Glu	Leu	Gly	Val							
				500																510	
Arg	Pro	Gly	Gly	Gly	Pro	Val	Ser	Val	Glu	Leu	Val	Gly	Pro	Arg							
				515																525	
Ser	His	Arg	Leu	Arg	Leu	His	Ser	Leu	Gly	Pro	Glu	Asp	Glu	Gly							
				530																540	
Val	Tyr	His	Cys	Ala	Pro	Ser	Ala	Trp	Val	Gln	His	Ala	Asp	Tyr							
				545																555	
Ser	Trp	Tyr	Gln	Ala	Gly	Ser	Ala	Arg	Ser	Gly	Pro	Val	Thr	Val							
				560																570	
Tyr	Pro	Tyr	Met	His	Ala	Leu	Asp	Thr	Leu	Phe	Val	Pro	Leu	Leu							
				575																585	
Val	Gly	Thr	Gly	Val	Ala	Leu	Val	Thr	Gly	Ala	Thr	Val	Leu	Gly							
				590																600	
Thr	Ile	Thr	Cys	Cys	Phe	Met	Lys	Arg	Leu	Arg	Lys	Arg									
				605																	

<210> 2
 <211> 271
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <221> misc_feature

<223> Incyte ID No.: 2751129CD1

<400> 2

Met	Val	Val	Val	Thr	Gly	Arg	Glu	Pro	Asp	Ser	Arg	Arg	Gln	Asp
1				5					10					15
Gly	Ala	Met	Ser	Ser	Ser	Asp	Ala	Glu	Asp	Asp	Phe	Leu	Glu	Pro
				20					25					30
Ala	Thr	Pro	Thr	Ala	Thr	Gln	Ala	Gly	His	Ala	Leu	Pro	Leu	Leu
				35					40					45
Pro	Gln	Glu	Phe	Pro	Glu	Val	Val	Pro	Leu	Asn	Ile	Gly	Gly	Ala
				50					55					60
His	Phe	Thr	Thr	Arg	Leu	Ser	Thr	Leu	Arg	Cys	Tyr	Glu	Asp	Thr
				65					70					75
Met	Leu	Ala	Ala	Met	Phe	Ser	Gly	Arg	His	Tyr	Ile	Pro	Thr	Asp
				80					85					90
Ser	Glu	Gly	Arg	Tyr	Phe	Ile	Asp	Arg	Asp	Gly	Thr	His	Phe	Gly
				95					100					105
Asp	Val	Leu	Asn	Phe	Leu	Arg	Ser	Gly	Asp	Leu	Pro	Pro	Arg	Glu
				110					115					120
Arg	Val	Arg	Ala	Val	Tyr	Lys	Glu	Ala	Gln	Tyr	Tyr	Ala	Ile	Gly
				125					130					135
Pro	Leu	Leu	Glu	Gln	Leu	Glu	Asn	Met	Gln	Pro	Leu	Lys	Gly	Glu
				140					145					150
Lys	Val	Arg	Gln	Ala	Phe	Leu	Gly	Leu	Met	Pro	Tyr	Tyr	Lys	Asp
				155					160					165
His	Leu	Glu	Arg	Ile	Val	Glu	Ile	Ala	Gly	Cys	Val	Arg	Ser	Ser
				170					175					180
Gly	Arg	Pro	Ala	Leu	Pro	Ser	Ser	Arg	Ser	Val	Ser	Ser	Arg	Arg
				185					190					195
Arg	Cys	Pro	Ser	Pro	Pro	Met	Ser	Val	Arg	Ser	Ser	Thr	Pro	Cys
				200					205					210
Asp	Leu	Ser	Gly	Val	Arg	Val	Thr	Gly	Ser	Phe	Leu	Ser	Thr	Thr
				215					220					225
Val	Lys	Trp	Met	Cys	Leu	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Leu	Trp	Leu	Met
				230					235					240
Phe	Met	Thr	Cys	Cys	Thr	Ala	Trp	Ser	Arg	Thr	Ser	Arg	Pro	Arg
				245					250					255
Val	Ser	Pro	Trp	Thr	Thr	Ser	Ala	Ser	Gly	Cys	Val	Thr	Ser	Thr
				260					265					270
Ser														

<210> 3

<211> 235

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No.: 2818076CD1

<400> 3

Met	Ala	Ser	Ser	Thr	Ser	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Ser	Arg	Pro	Lys
1				5					10					15
Lys	Pro	Leu	Gly	Lys	Met	Ala	Asp	Trp	Phe	Arg	Gln	Thr	Leu	Leu
				20					25					30
Lys	Lys	Pro	Lys	Lys	Arg	Pro	Asn	Ser	Pro	Glu	Ser	Thr	Ser	Ser
				35					40					45
Asp	Ala	Ser	Gln	Pro	Thr	Ser	Gln	Asp	Ser	Pro	Leu	Pro	Pro	Ser
				50					55					60
Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ser	Pro	Ser	Leu	Pro	Pro	Thr	His	Ala	Ser
				65					70					75

Asp Ser Gly Ser Ser Arg Trp Ser Lys Asp Tyr Asp Val Cys Val
 80 85 90
 Cys His Ser Glu Glu Asp Leu Val Ala Ala Gln Asp Leu Val Ser
 95 100 105
 Tyr Leu Glu Gly Ser Thr Ala Ser Leu Arg Cys Phe Leu Gln Leu
 110 115 120
 Arg Asp Ala Thr Pro Gly Gly Ala Ile Val Ser Glu Leu Cys Gln
 125 130 135
 Ala Leu Ser Ser Ser His Cys Arg Val Leu Leu Ile Thr Pro Gly
 140 145 150
 Phe Leu Gln Asp Pro Trp Cys Lys Tyr Gln Met Leu Gln Ala Leu
 155 160 165
 Thr Glu Ala Pro Gly Ala Glu Gly Cys Thr Ile Pro Leu Leu Leu
 170 175 180
 Gly Leu Ser Arg Ala Ala Tyr Pro Pro Glu Leu Arg Phe Met Tyr
 185 190 195
 Tyr Val Asp Gly Arg Gly Pro Asp Gly Gly Phe Arg Gln Val Lys
 200 205 210
 Glu Ala Val Met Arg Cys Lys Leu Leu Gln Glu Gly Glu Gly Glu
 215 220 225
 Arg Asp Ser Ala Thr Val Ser Asp Leu Leu
 230 235

<210> 4
 <211> 310
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 2907049CD1

<400> 4
 Met Gly Pro Gly Leu Leu His Trp Met Ala Leu Cys Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Thr Gly His Gly Asp Ala Met Val Ile Gln Asn Pro Arg Tyr Gln
 20 25 30
 Val Thr Gln Phe Gly Lys Pro Val Thr Leu Ser Cys Ser Gln Thr
 35 40 45
 Leu Asn His Asn Val Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Gln
 50 55 60
 Ala Pro Lys Leu Leu Phe His Tyr Tyr Asp Lys Asp Phe Asn Asn
 65 70 75
 Glu Ala Asp Thr Pro Asp Asn Phe Gln Ser Arg Arg Pro Asn Thr
 80 85 90
 Ser Phe Cys Phe Leu Asp Ile Arg Ser Pro Gly Leu Gly Asp Ala
 95 100 105
 Ala Met Tyr Leu Cys Ala Thr Ser Lys Tyr Arg Asp Gly Glu Leu
 110 115 120
 Phe Phe Gly Glu Gly Ser Arg Leu Thr Val Leu Glu Asp Leu Lys
 125 130 135
 Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala
 140 145 150
 Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Thr
 155 160 165
 Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly
 170 175 180
 Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys
 185 190 195
 Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg
 200 205 210

Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe
 215 220 225
 Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp
 230 235 240
 Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu
 245 250 255
 Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln
 260 265 270
 Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly
 275 280 285
 Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met
 290 295 300
 Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Ser Arg Gly
 305 310

<210> 5
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 3402252CD1

<400> 5
 Met Ala Ala Ala Ala Ile Pro Ala Leu Leu Leu Cys Leu Pro Leu
 1 5 10 15
 Leu Phe Leu Leu Phe Gly Trp Ser Arg Ala Arg Arg Asp Asp Pro
 20 25 30
 His Ser Leu Cys Tyr Asp Ile Thr Val Ile Pro Lys Phe Arg Pro
 35 40 45
 Gly Pro Arg Trp Cys Ala Val Gln Gly Gln Val Asp Glu Lys Thr
 50 55 60
 Phe Leu His Tyr Asp Cys Gly Asn Lys Thr Val Thr Pro Val Ser
 65 70 75
 Pro Leu Gly Lys Lys Leu Asn Val Thr Thr Ala Trp Lys Ala Gln
 80 85 90
 Asn Pro Val Leu Arg Glu Val Val Asp Ile Leu Thr Glu Gln Leu
 95 100 105
 Arg Asp Ile Gln Leu Glu Asn Tyr Thr Pro Lys Glu Pro Leu Thr
 110 115 120
 Leu Gln Ala Arg Met Ser Cys Glu Gln Lys Ala Glu Gly His Ser
 125 130 135
 Ser Gly Ser Trp Gln Phe Ser Phe Asp Gly Gln Ile Phe Leu Leu
 140 145 150
 Phe Asp Ser Glu Lys Arg Met Trp Thr Thr Val His Pro Gly Ala
 155 160 165
 Arg Lys Met Lys Glu Lys Trp Glu Asn Asp Lys Val Val Ala Met
 170 175 180
 Ser Phe His Tyr Phe Ser Met Gly Asp Cys Ile Gly Trp Leu Glu
 185 190 195
 Asp Phe Leu Met Gly Met Asp Ser Thr Leu Glu Pro Ser Ala Gly
 200 205 210
 Ala Pro Leu Ala Met Ser Ser Gly Thr Thr Gln Leu Arg Ala Thr
 215 220 225
 Ala Thr Thr Leu Ile Leu Cys Cys Leu Leu Ile Ile Leu Pro Cys
 230 235 240
 Phe Ile Leu Pro Gly Ile
 245

<210> 6
 <211> 180
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 3577142CD1

<400> 6
 Met Asp Trp Pro His Asn Leu Leu Phe Leu Leu Thr Ile Ser Ile
 1 5 10 15
 Phe Leu Gly Leu Gly Gln Pro Arg Ser Pro Lys Ser Lys Arg Lys
 20 25 30
 Gly Gln Gly Arg Pro Gly Pro Leu Val Pro Gly Pro His Gln Val
 35 40 45
 Pro Leu Asp Leu Val Ser Arg Met Lys Pro Tyr Ala Arg Met Glu
 50 55 60
 Glu Tyr Glu Arg Asn Ile Glu Glu Met Val Ala Gln Leu Arg Asn
 65 70 75
 Ser Ser Glu Leu Ala Gln Arg Lys Cys Glu Val Asn Leu Gln Leu
 80 85 90
 Trp Met Ser Asn Lys Arg Ser Leu Ser Pro Trp Gly Tyr Ser Ile
 95 100 105
 Asn His Asp Pro Ser Arg Ile Pro Val Asp Leu Pro Glu Ala Arg
 110 115 120
 Cys Leu Cys Leu Gly Cys Val Asn Pro Phe Thr Met Gln Glu Asp
 125 130 135
 Arg Ser Met Val Ser Val Pro Val Phe Ser Gln Val Pro Val Arg
 140 145 150
 Arg Arg Leu Cys Pro Pro Pro Pro Arg Thr Gly Pro Cys Arg Gln
 155 160 165
 Arg Ala Val Met Glu Thr Ile Ala Val Gly Cys Thr Cys Ile Phe
 170 175 180

<210> 7
 <211> 200
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 3725986CD1

<400> 7
 Met Glu Ser Gln Leu Gln Glu Arg Val Glu Ser Ser Arg Arg Ala
 1 5 10 15
 Val Ser Gln Ile Val Thr Val Tyr Asp Lys Leu Gln Glu Lys Val
 20 25 30
 Glu Leu Leu Ser Arg Lys Leu Asn Ser Gly Asp Asn Leu Ile Val
 35 40 45
 Glu Glu Ala Val Gln Glu Leu Asn Ser Phe Leu Ala Gln Glu Asn
 50 55 60
 Met Arg Leu Gln Glu Leu Thr Asp Leu Leu Gln Glu Lys His Arg
 65 70 75
 Thr Met Ser Gln Glu Phe Ser Lys Leu Gln Ser Lys Val Glu Thr
 80 85 90
 Ala Glu Ser Arg Val Ser Val Leu Glu Ser Met Ile Asp Asp Leu
 95 100 105
 Gln Trp Asp Ile Asp Lys Ile Arg Lys Arg Glu Gln Arg Leu Asn

Arg	His	Leu	Ala	110	Glu	Val	Leu	Glu	Arg	115	Val	Asn	Ser	Lys	Gly	Tyr	120
				125						130							135
Lys	Val	Tyr	Gly	140	Ala	Gly	Ser	Ser	Leu	145	Tyr	Gly	Gly	Thr	Ile	Thr	150
Ile	Asn	Ala	Arg	155	Lys	Phe	Glu	Glu	Met	160	Asn	Ala	Glu	Leu	Glu	Glu	165
Asn	Lys	Glu	Leu	170	Ala	Gln	Asn	Arg	Leu	175	Cys	Glu	Leu	Glu	Lys	Leu	180
Arg	Gln	Asp	Phe	185	Glu	Glu	Val	Thr	Thr	190	Gln	Asn	Glu	Lys	Leu	Lys	195
Val	Arg	Thr	His	200	Pro												

<210> 8
 <211> 211
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 3799011CD1

Met	Trp	Leu	Pro	Trp	Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro	Gly	Cys			
1				5						10				15			
Phe	Ala	Leu	Ser	Lys	Cys	Arg	Thr	Val	Ala	Gly	Pro	Val	Gly	Gly			
				20					25					30			
Ser	Leu	Ser	Val	Gln	Cys	Pro	Tyr	Glu	Lys	Glu	His	Arg	Thr	Leu			
				35					40					45			
Asn	Lys	Tyr	Trp	Cys	Arg	Pro	Pro	Gln	Ile	Phe	Leu	Cys	Asp	Lys			
				50					55					60			
Ile	Val	Glu	Thr	Lys	Gly	Ser	Ala	Gly	Lys	Arg	Asn	Gly	Arg	Val			
				65					70					75			
Ser	Ile	Arg	Asp	Ser	Pro	Ala	Asn	Leu	Ser	Phe	Thr	Val	Thr	Leu			
				80					85					90			
Glu	Asn	Leu	Thr	Glu	Glu	Asp	Ala	Gly	Thr	Tyr	Trp	Cys	Gly	Val			
				95					100					105			
Asp	Thr	Pro	Trp	Leu	Arg	Asp	Phe	His	Asp	Pro	Val	Val	Glu	Val			
				110					115					120			
Glu	Val	Ser	Val	Phe	Pro	Ala	Ser	Thr	Ser	Met	Thr	Pro	Ala	Ser			
				125					130					135			
Ile	Thr	Ala	Ala	Lys	Thr	Ser	Thr	Ile	Thr	Thr	Ala	Phe	Pro	Pro			
				140					145					150			
Val	Ser	Ser	Thr	Thr	Leu	Phe	Ala	Val	Gly	Ala	Thr	His	Ser	Ala			
				155					160					165			
Ser	Ile	Gln	Glu	Glu	Thr	Glu	Glu	Val	Val	Asn	Ser	Gln	Leu	Pro			
				170					175					180			
Leu	Thr	Pro	Leu	Pro	Ala	Gly	Ile	Val	Ala	Ala	Ser	Val	Gly	Gly			
				185					190					195			
Gly	Leu	Pro	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Val	Ser	Glu	Met	Asp	Gln	Ser			
				200					205					210			
Trp																	

<210> 9
 <211> 225
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 3887384CD1

<400> 9

Met	Ser	Arg	Pro	Arg	Lys	Arg	Leu	Ala	Gly	Thr	Ser	Gly	Ser	Asp
1				5					10					15
Lys	Gly	Leu	Ser	Gly	Lys	Arg	Thr	Lys	Thr	Glu	Asn	Ser	Gly	Glu
				20					25					30
Ala	Leu	Ala	Lys	Val	Glu	Asp	Ser	Asn	Pro	Gln	Lys	Thr	Ser	Ala
				35					40					45
Thr	Lys	Asn	Cys	Leu	Lys	Asn	Leu	Ser	Ser	His	Trp	Leu	Met	Lys
				50					55					60
Ser	Glu	Pro	Glu	Ser	Arg	Leu	Glu	Lys	Gly	Val	Asp	Val	Lys	Phe
				65					70					75
Ser	Ile	Glu	Asp	Leu	Lys	Ala	Gln	Pro	Lys	Gln	Thr	Thr	Cys	Trp
				80					85					90
Asp	Gly	Val	Arg	Asn	Tyr	Gln	Ala	Arg	Asn	Phe	Leu	Arg	Ala	Met
				95					100					105
Lys	Leu	Gly	Glu	Glu	Ala	Phe	Phe	Tyr	His	Ser	Asn	Cys	Lys	Glu
				110					115					120
Pro	Gly	Ile	Ala	Gly	Leu	Met	Lys	Ile	Val	Lys	Glu	Ala	Tyr	Pro
				125					130					135
Asp	His	Thr	Gln	Phe	Glu	Lys	Asn	Asn	Pro	His	Tyr	Asp	Pro	Ser
				140					145					150
Ser	Lys	Glu	Asp	Asn	Pro	Lys	Trp	Ser	Met	Val	Asp	Val	Gln	Phe
				155					160					165
Val	Arg	Met	Met	Lys	Arg	Phe	Ile	Pro	Leu	Ala	Glu	Leu	Lys	Ser
				170					175					180
Tyr	His	Gln	Ala	His	Lys	Ala	Thr	Gly	Gly	Pro	Leu	Lys	Asn	Met
				185					190					195
Val	Leu	Phe	Thr	Arg	Gln	Arg	Leu	Ser	Ile	Gln	Pro	Leu	Thr	Gln
				200					205					210
Glu	Glu	Phe	Asp	Phe	Val	Leu	Ser	Leu	Glu	Glu	Lys	Glu	Pro	Ser
				215					220					225

<210> 10
 <211> 329
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 1352789CD1

<400> 10

Met	Ala	Ala	Gln	Tyr	Gly	Ser	Met	Ser	Phe	Asn	Pro	Ser	Thr	Pro
1				5					10					15
Gly	Ala	Ser	Tyr	Gly	Pro	Gly	Arg	Gln	Glu	Pro	Arg	Asn	Ser	Gln
				20					25					30
Leu	Arg	Ile	Val	Leu	Val	Gly	Lys	Thr	Gly	Ala	Gly	Lys	Ser	Ala
				35					40					45
Thr	Gly	Asn	Ser	Ile	Leu	Gly	Arg	Lys	Val	Phe	His	Ser	Gly	Thr
				50					55					60
Ala	Ala	Lys	Ser	Ile	Thr	Lys	Lys	Cys	Glu	Lys	Arg	Ser	Ser	Ser
				65					70					75
Trp	Lys	Glu	Thr	Glu	Leu	Val	Val	Val	Asp	Thr	Pro	Gly	Ile	Phe
				80					85					90

Asp Thr Glu Val Pro Asn Ala Glu Thr Ser Lys Glu Ile Ile Arg

```

          95          100          105
Cys Ile Leu Leu Thr Ser Pro Gly Pro His Ala Leu Leu Leu Val
          110          115          120
Val Pro Leu Gly Arg Tyr Thr Glu Glu Glu His Lys Ala Thr Glu
          125          130          135
Lys Ile Leu Lys Met Phe Gly Glu Arg Ala Arg Ser Phe Met Ile
          140          145          150
Leu Ile Phe Thr Arg Lys Asp Asp Leu Gly Asp Thr Asn Leu His
          155          160          165
Asp Tyr Leu Arg Glu Ala Pro Glu Asp Ile Gln Asp Leu Met Asp
          170          175          180
Ile Phe Gly Asp Arg Tyr Cys Ala Leu Asn Asn Lys Ala Thr Gly
          185          190          195
Ala Glu Gln Glu Ala Gln Arg Ala Gln Leu Leu Gly Leu Ile Gln
          200          205          210
Arg Val Val Arg Glu Asn Lys Glu Gly Cys Tyr Thr Asn Arg Met
          215          220          225
Tyr Gln Arg Ala Glu Glu Ile Gln Lys Gln Thr Gln Ala Met
          230          235          240
Gln Glu Leu His Arg Val Glu Leu Glu Arg Glu Lys Ala Arg Ile
          245          250          255
Arg Glu Glu Tyr Glu Glu Lys Ile Arg Lys Leu Glu Asp Lys Val
          260          265          270
Glu Gln Glu Lys Arg Lys Lys Gln Met Glu Lys Lys Leu Ala Glu
          275          280          285
Gln Glu Ala His Tyr Ala Val Arg Gln Gln Arg Ala Arg Thr Glu
          290          295          300
Val Glu Ser Lys Asp Gly Ile Leu Glu Leu Ile Met Thr Ala Leu
          305          310          315
Gln Ile Ala Ser Phe Ile Leu Leu Arg Leu Phe Ala Glu Asp
          320          325

```

```

<210> 11
<211> 237
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No.: 1666486CD1

```

```

<400> 11
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu
  1          5          10          15
Trp Leu Pro Gly Ala Lys Cys Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro
  20          25          30
Ser Thr Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
  35          40          45
Arg Ala Thr Gln Ser Ile Gly Ser Trp Val Ala Trp Tyr Gln Gln
  50          55          60
Lys Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Ala Ser Ser
  65          70          75
Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
  80          85          90
Thr Glu Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe
  95          100          105
Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asp Thr Tyr Pro Thr Trp Ser
  110          115          120
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
  125          130          135
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

```

Gly Thr Ala Ser	140	145	150
Val Val Cys Leu Leu	155	160	165
Asn Asn Phe Tyr Pro	170	175	180
Glu Ala Lys Val Gln	185	190	195
Trp Lys Val Asp Asn	200	205	210
Ala Leu Gln Ser Gly	215	220	225
Asn Ser Gln Glu Ser	230	235	
Val Thr Glu Gln Asp			
Ser Lys Asp Ser Thr			
Tyr Ser Leu Ser Ser			
Thr Leu Thr Leu Ser			
Lys His Lys Leu Tyr			
Ala Cys Glu Val Thr			
His Gln Gly Leu Ser			
Ser Pro Val Thr Lys			
Ser Phe Asn Arg Gly			
Glu Cys			

<210> 12
 <211> 235
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 1706596CD1

<400> 12

Met Pro Trp Ala Leu	Leu Leu Leu Thr	Leu Leu Thr His Ser Ala
1 5	10	15
Val Ser Val Val Gln	Ala Gly Leu Thr	Gln Pro Pro Ser Val Ser
20	25	30
Arg Ala Leu Arg Gln	Thr Ala Thr Leu	Thr Cys Thr Gly Asn Asn
35	40	45
Asn Asn Val Gly Asn	Gln Gly Ala Ala	Trp Leu Gln Gln His Gln
50	55	60
Gly His Pro Pro Lys	Leu Leu Ser Tyr	Arg Asn Asn Asn Arg Pro
65	70	75
Ser Gly Ile Ser Glu	Arg Phe Ser Ala	Ser Arg Ser Arg Asn Thr
80	85	90
Ala Ser Leu Thr Ile	Thr Gly Leu Gln	Pro Glu Asp Glu Ala Asp
95	100	105
Tyr Tyr Cys Ser Val	Trp Asp Ser Ser	Leu Ser Ala Trp Val Phe
110	115	120
Gly Gly Gly Thr Lys	Leu Thr Val Leu	Ser Gln Pro Lys Ala Ala
125	130	135
Pro Ser Val Thr Leu	Phe Pro Pro Ser	Ser Glu Glu Leu Gln Ala
140	145	150
Asn Lys Ala Thr Leu	Val Cys Leu Ile	Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
155	160	165
Ala Val Thr Val Ala	Trp Lys Ala Asp	Ser Ser Pro Val Lys Ala
170	175	180
Gly Val Glu Thr Thr	Thr Pro Ser Lys	Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
185	190	195
Ala Ala Ser Ser Tyr	Leu Ser Leu Thr	Pro Glu Gln Trp Lys Ser
200	205	210
His Arg Ser Tyr Ser	Cys Gln Val Thr	His Glu Gly Ser Thr Val
215	220	225
Glu Lys Thr Val Ala	Pro Thr Glu Cys	Ser
230	235	

<210> 13
 <211> 246
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No.: 1890540CD1

<400> 13

```

Met Leu Trp Arg Gln Leu Ile Tyr Trp Gln Leu Leu Ala Leu Phe
 1          5          10          15
Phe Leu Pro Phe Cys Leu Cys Gln Asp Glu Tyr Met Glu Ser Pro
          20          25          30
Gln Thr Gly Gly Leu Pro Pro Asp Cys Ser Lys Cys Cys His Gly
          35          40          45
Asp Tyr Ser Phe Arg Gly Tyr Gln Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly
          50          55          60
Pro Pro Gly Ile Pro Gly Asn His Gly Asn Asn Gly Asn Asn Gly
          65          70          75
Ala Thr Gly His Glu Gly Ala Lys Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly
          80          85          90
Asp Leu Gly Pro Arg Gly Glu Arg Gly Gln His Gly Pro Lys Gly
          95          100          105
Glu Lys Gly Tyr Pro Gly Ile Pro Pro Glu Leu Gln Ile Ala Phe
          110          115          120
Met Ala Ser Leu Ala Thr His Phe Ser Asn Gln Asn Ser Gly Ile
          125          130          135
Ile Phe Ser Ser Val Glu Thr Asn Ile Gly Asn Phe Phe Asp Val
          140          145          150
Met Thr Gly Arg Phe Gly Ala Pro Val Ser Gly Val Tyr Phe Phe
          155          160          165
Thr Phe Ser Met Met Lys His Glu Asp Val Glu Glu Val Tyr Val
          170          175          180
Tyr Leu Met His Asn Gly Asn Thr Val Phe Ser Met Tyr Ser Tyr
          185          190          195
Glu Met Lys Gly Lys Ser Asp Thr Ser Ser Asn His Ala Val Leu
          200          205          210
Lys Leu Ala Lys Gly Asp Glu Val Trp Leu Arg Met Gly Asn Gly
          215          220          225
Ala Leu His Gly Asp His Gln Arg Phe Ser Thr Phe Ala Gly Phe
          230          235          240
Leu Leu Phe Glu Thr Lys
          245

```

<210> 14

<211> 322

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No.: 2774913CD1

<400> 14

```

Met Pro Val Thr Val Thr Arg Thr Thr Ile Thr Thr Thr Thr Thr
 1          5          10          15
Ser Ser Ser Gly Leu Gly Ser Pro Met Ile Val Gly Ser Pro Arg
          20          25          30
Ala Leu Thr Gln Pro Leu Gly Leu Leu Arg Leu Leu Gln Leu Val
          35          40          45
Ser Thr Cys Val Ala Phe Ser Leu Val Ala Ser Val Gly Ala Trp
          50          55          60
Thr Gly Ser Met Gly Asn Trp Ser Met Phe Thr Trp Cys Phe Cys

```

```

        65              70              75
Phe Ser Val Thr Leu Ile Ile Leu Ile Val Glu Leu Cys Gly Leu
        80              85
Gln Ala Arg Phe Pro Leu Ser Trp Arg Asn Phe Pro Ile Thr Phe
        95              100              105
Ala Cys Tyr Ala Ala Leu Phe Cys Leu Ser Ala Ser Ile Ile Tyr
        110              115              120
Pro Thr Thr Tyr Val Gln Phe Leu Ser His Gly Arg Ser Arg Asp
        125              130              135
His Ala Ile Ala Ala Thr Phe Phe Ser Cys Ile Ala Cys Val Ala
        140              145              150
Tyr Ala Thr Glu Val Ala Trp Thr Arg Ala Arg Pro Gly Glu Ile
        155              160              165
Thr Gly Tyr Met Ala Thr Val Pro Gly Leu Leu Lys Val Leu Glu
        170              175              180
Thr Phe Val Ala Cys Ile Ile Phe Ala Phe Ile Ser Asp Pro Asn
        185              190              195
Leu Tyr Gln His Gln Pro Ala Leu Glu Trp Cys Val Ala Val Tyr
        200              205              210
Ala Ile Cys Phe Ile Leu Ala Ala Ile Ala Ile Leu Leu Asn Leu
        215              220              225
Gly Glu Cys Thr Asn Val Leu Pro Ile Pro Phe Pro Ser Phe Leu
        230              235              240
Ser Gly Leu Ala Leu Leu Ser Val Leu Leu Tyr Ala Thr Ala Leu
        245              250              255
Val Leu Trp Pro Leu Tyr Gln Phe Asp Glu Lys Tyr Gly Gly Gln
        260              265              270
Pro Arg Arg Ser Arg Asp Val Ser Cys Ser Arg Ser His Ala Tyr
        275              280              285
Tyr Val Cys Ala Trp Asp Arg Arg Leu Ala Val Ala Ile Leu Thr
        290              295              300
Ala Ile Asn Leu Leu Ala Tyr Val Ala Asp Leu Val His Ser Ala
        305              310              315
His Leu Val Phe Val Lys Val
        320

```

```

<210> 15
<211> 191
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No.: 5571291CD1

```

```

<400> 15
Met Trp Arg His Glu Arg Ile Lys Lys Thr Ser Phe Ser Thr Thr
  1          5          10          15
Thr Leu Leu Pro Pro Ile Lys Val Leu Val Val Tyr Pro Ser Glu
  20         25         30
Ile Cys Phe His His Thr Ile Cys Tyr Phe Thr Glu Phe Leu Gln
  35         40         45
Asn His Cys Arg Ser Glu Val Ile Leu Glu Lys Trp Gln Lys Lys
  50         55         60
Lys Ile Ala Glu Met Gly Pro Val Gln Trp Leu Ala Thr Gln Lys
  65         70         75
Lys Ala Ala Asp Lys Val Val Phe Leu Leu Ser Asn Asp Val Asn
  80         85         90

Ser Val Cys Asp Gly Thr Cys Gly Lys Ser Glu Gly Ser Pro Ser
  95         100        105

```

Glu Asn Ser Gln Asp Leu Phe Pro Leu Ala Phe Asn Leu Phe Cys
 110 115 120
 Ser Asp Leu Arg Ser Gln Ile His Leu His Lys Tyr Val Val Val
 125 130 135
 Tyr Phe Arg Glu Ile Asp Thr Lys Asp Asp Tyr Asn Ala Leu Ser
 140 145 150
 Val Cys Pro Lys Tyr His Leu Met Lys Asp Ala Thr Ala Phe Cys
 155 160 165
 Ala Glu Leu Leu His Val Lys Gln Gln Val Ser Ala Gly Lys Arg
 170 175 180
 Ser Gln Ala Cys His Asp Gly Cys Cys Ser Leu
 185 190

<210> 16
 <211> 2265
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 2705028CB1

<400> 16
 cagttcagct cgctcggcgc acccaagcct cgctgccccg ctctctgccc tcaacctggg 60
 catgctcccc ccacccttcc ggccccccag aaccocggcc atcccccgga gcctccccag 120
 agctggccgc gcaggatggg cgccctcagg cccacgctgc tgccgccttc gctgcccctg 180
 ctgctgctgc taatgctagg aatgggatgc tgggcccggg aggtgctggt ccccgagggg 240
 cccttgtaacc gcgtggctgg cacagctgtc tccatctcct gcaatgtgac cggctatgag 300
 ggccctgccc agcagaactt cgagtggttc ctgtataggc ccgaggcccc agatactgca 360
 ctgggcattg tcagtaccaa ggatacccag ttctcctatg ctgtcttcaa gtcccagatg 420
 gtggcgggtg aggtgcaggt gcagcgccta caaggtgatg ccgtggtgct caagattgcc 480
 cgccctgcagg cccaggatgc cggcatttat gagtgccaca cccctccac tgatacccgc 540
 tacctgggca gctacagcgg caaggtggag ctgagagttc ttccagatgt cctccaggtg 600
 tetgctgccc ccccaaggcc ccgaggccgc caggccccaa cctcaccccc acgcatgacg 660
 gtgcatgagg ggcaggagct ggcactgggc tgccctggcg ggacaagcac acagaagcac 720
 acacacctgg cagtgtcctt tggcgcgatc gtgcccaggg caccagttag gcggtcaact 780
 ctgcaggaag tggtaggaat ccggtcagac ttggccgtgg aggtctggagc tccctatgct 840
 gaggcatggg ctgcagggga gctctgcttg gccaaggaag ggaccgatcg gtaccgatg 900
 gtagtagggg gtgcccaggc aggggacgca ggcacctacc actgcactgc cgtgagatgg 960
 attcaggatc ctgatggcag ctgggcccag attgcagaga aaagggccgt cctggcccac 1020
 gtggatgtgc agacgctgtc cagccagctg gcagtgcag tggggcctgg tgaactcgg 1080
 atcggcccag gggagccctt ggaactgctg tgcaatgtgt caggggcact tccccagca 1140
 ggccgctcat ctgcatactc ttaggttgg gagatggcac ctgcccgggg acctggggcc 1200
 ggccgcctgg tagcccagct ggacacagag ggtgtgggca gcctggggcc tggctatgag 1260
 ggccgacaca ttgccatgga gaaggtggca tccagaacat accggctacg gctagaggct 1320
 gccaggcctg gtgatgcggg cacctaccgc tgccctcgca aagcctatgt tcgagggctc 1380
 gggaccocggc ttctgtaagc agccagtgcc cgttcccggc ctctccctgt acactgctg 1440
 gaggaagggtg tgggtgctgga ggctgtggca tggctagcag gaggcacagt gtaccgctgg 1500
 gagactgctt ccctgctgtg caacatctct gtgcccgggt gcccccagg actgcccctg 1560
 gccgccagct ggtgggtgga gcgaccagag gacggagagc tcagctctgt ccctgcccag 1620
 ctgggtgggtg gcgtaggcca ggatggtgtg gcagagctgg gagtccggcc tggaggaggc 1680
 cctgtcagcg tagagctggt ggggcccga agccatcggc tgagactaca cagctgggg 1740
 cccgaggatg aaggcgtgta ccaactgtgcc cccagcgcct ggtgacagca tgccgactac 1800
 agctggtacc aggcgggcag tgcccgcctca gggcctgtta cagtctaccc ctacatgcat 1860
 gccctggaca cctatttgt gcctctgctg gtgggtacag ggttggccct agtcaactggt 1920
 gccactgtcc ttgggtaccat cacttctgct ttcatgaaga ggcttogaaa acggtgatcc 1980
 cttactcccc aggtcttgca ggtgtgact gtcttccggc ccagctccaa gccctcctct 2040
 ggttgctctg acaccctctc cctctgtcca ctcttcttt aatttatttg acctcccact 2100
 acccagaatg ggagacgtgc ctccccttcc ccaactcctc cctcccagc cctcctctct 2160
 ggccctctgt tcttgatctc ttagggatcc tatagggagg ccatctcctg tcctggaatt 2220
 agtttttota aaatgtgaat aaactgtttt tataaaaaaa aaaaa 2265

<210> 17
 <211> 1124
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 2751129CB1

<400> 17
 ccgccccac tccccagagc cagagggatg gtggtagtca cggggcggga gccagacagc 60
 cgtcgtcagg acgggtgccat gtccagctct gacgcggaag acgactttct ggagccggcc 120
 acgcccagcg ccacgcaggg ggggcacgcg ctgcccctgc tgcacacagga gttcctgag 180
 gttgttcccc ttaacatcgg aggggctcac ttcactacac gcctgtccac actgcgggtgc 240
 tacgaagaca ccatgttggc agccatgttc agtgggcggc actacatccc caccggactcc 300
 gagggccggg acttcatcga ccgagatggc acacactttg gagatgtgct gaatttctg 360
 cgctcagggg acctcccacc cagggagcgt gtccgagctg tgtacaaaga ggcccagtac 420
 tatgccatcg gggcccctct ggagcagctg gagaacatgc agccactgaa gggcgagaag 480
 gtgcgccaaag cgtttctggg actcatgccc tattacaaag accacttggg cgggattgtg 540
 gagatcgccg gctgcgtgcg gtccagcggg agggccgctt tgccaagctc aaggctctgtg 600
 tcttcaagga ggagatgccc atcaccctct atgagtgccc gctcctcaac tcctgctgat 660
 ttgagcggag tgagagtgc gggcagcttt ttgagcacca ctgtgaagtg gatgtgtctt 720
 ttggccctcg ggaggctgtg gctgatgttt atgacctgct gcaactgctg gtcacggacc 780
 tctcggccca gggctcacc gtggaccacc agtgcacggg ggtgtgtgac aagcacctcg 840
 tgaaccacta ctactgcaag ctgcccctct atgagttcaa gatcacatgg tggtagtag 900
 ctccggtagg cgagagtctc atcagggagg atgtccacct tgcttgggtg ctctgggagt 960
 aagattcctg aaggggctgc tgactgccca gaatcctgcy aagtgagaac agcatcctga 1020
 agcaaagctc ccagggacag aagtggtagt caatttctg actgcactaa ggtttggctc 1080
 aggtttcggc atgagantca ttcngntaac tggctttctc agga 1124

<210> 18
 <211> 1082
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 2818076CB1

<400> 18
 gcccgcgcag tccgcgcagc ctcacatgcaa ctgggcccgc gcgcaggcct tacataggaa 60
 gtccttctaa agagctgcct gccagctgcc cttccccaga tcccgaatat cctcctggcc 120
 aggtggagca gagaacagtt cctcagctgg tcatgctgag ctcataacct gatggctgct 180
 ccatgaggtc aagactgggt ctctcccctc ctcccccttc accaatgctt ggtctcacgg 240
 ggctagtttt gacccccacg ctatggcctc atcgacctcc ctcccagctc ctggctctcg 300
 gcctaagaag cctctaggca agatggctga ctggttcagg cagaccctgc tgaagaagcc 360
 caagaagagg cccaactccc cagaaagcac ctccagcgat gcttcacagc ctacctcaca 420
 ggacagccca ctacccccaa gcctcagctc agtcacgtct cccagcctgc caccacaca 480
 tgcgagtgc agtggcagta gtcgctggag caaagactat gacgtctgcy tgtgccacag 540
 tgaggaagac ctgggtggcg cccaagacct ggtctcctac ttggaaggca gcaactgccag 600
 cctgcgctgc ttcttgcaac tccgggatgc aaccccaggc ggcgctatag tgtccagact 660
 gtgccaggca ctgagcagta gtcactgccg ggtgctgctc atcacgcccg gcttccttca 720
 ggacccctgg tgcaagtacc agatgctgca ggcctgacc gaggctccag gggccgaggg 780
 ctgcaccatc ccctgctgtg tgggcctcag cagagctgcc taccacctg agctccgatt 840
 catgtactac gtcgatggca gggcccctga tgggtgcttt cytcaagtca aagaagctgt 900
 catgcyttgt aagctactac aggagggaga aggggaacgg gattcagcta cagtatctga 960
 tctactttga cttttaggag acagccctgt agcctagtag ttcaaagcgc agcttctgga 1020
 aaaggctgct ggggtttgta tcctggctcc tgcacttatt aaccataaa aagtaacttg 1080
 tg 1082

<210> 19
 <211> 1180

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No.: 2907049CB1

<400> 19
cagacagatg cttcattcct gtatgggggt gtattcctgc catgggtcct gggcttctcc 60
actggatggc cctttgtctc cttggaacag gtcatgggga tgccatggtc atccagaacc 120
caagatacca ggttaccag tttggaagc cagtgacct gaggttgtct cagactttga 180
accataacgt catgtactgg taccagcaga agtcaagtca ggcccaaaag ctgctgttcc 240
actactatga caaagatttt aacaatgaag cagacacccc tgataacttc caatccagga 300
ggcgaacac ttctttctgc tttcttgaca tccgctcacc agcctgggg gacgcagcca 360
tgtacctgtg tgccaccagc aaatacaggg acggggagct gttttttgga gaaggtctta 420
ggctgacctg actggaggac ctgaaaaacg tgttcccacc cgaggctcgt gtgtttgagc 480
catcagaagc agagatctcc cacaccocaa aggccacact ggtatgcctg gccacaggct 540
tctaccccca ccacgtggag ctgagctggt gggatgaatg gaaggagggt cacagtgggg 600
tcagcacaga cccgcagccc ctcaaggagc agcccgcctc caatgactcc agatactgcc 660
tgagcagccg cctgagggtc tgggccaact tctggcagaa ccccgcacac cacttccgct 720
gtcaagtcca gttctacggg ctctcggaga atgacgagtg gaccaggat agggccaaac 780
ctgtcaccoca gatcgtcagc gccgaggcct ggggtagagc agactgtggc ttcacctccg 840
agtcttacca gcaagggtc ctgtctgcca ccatcctcta tgagatcttg ctagggaagg 900
ccaccttcta tgccgtgctg gtcagtgccc tcgtgctgat ggcctatggtc aagagaagg 960
attccagagg ctagctccaa aaccatccca ggtcattctt catcctcacc caggattctc 1020
ctgtacctgc tcccaatctg ttttctctaa agtgattctc actctgcttc tcatctcta 1080
cttacatgaa tacttctctc tttttctctg ttccttgaag attgagctcc caaccccaaa 1140
gtacgaaata ggctaaacca ataaaaaatt gtgtgttggg 1180

<210> 20
<211> 1307
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No.: 3402252CB1

<400> 20
gatccacctt gattaatatc cttgtcccca gccctcctgg tcccgaatgg cagcagccgc 60
catcccagct ttgcttctgt gcctcccgtc tctgttctct ctgttcggct ggtcccgggc 120
taggcgagac gacctcact ctctttgcta tgacatcacc gtcateccta agttcagacc 180
tggaaccagg tgggtgycgg ttcaaggcca ggtggatgaa aagactttc ttcactatga 240
ctgtggcaac aagacagtca cacctgtcag tcccctgggg aagaaactaa atgtcacaac 300
ggcctggaaa gcacagaacc cagtactgag agagggtggg gacatactta cagagcaact 360
gcgtgacatt cagctggaga attacacacc caaggaaacc ctcacctgc aggcaggat 420
gtcttgtgag cagaagctg aaggacacag cagtggatct tggcagttca gtttcgatgg 480
gcagatcttc ctctctttg actcagagaa gagaatgtgg acaacggttc atcctggagc 540
cagaagatg aaagaaaagt gggagaatga caagttgtg gccatgtcct tccattactt 600
ctcaatggga gactgtatag gatggcttga ggacttcttg atggcagatg acagcaccct 660
ggagccaagt gcaggagcac cactcgccat gtcctcaggg acaacccaac tcaggggcac 720
agccaccacc ctcatccttt gctgcctcct catcctcctc cctgtctca tccctcctgg 780
catctgagga gagtccctta gactgacagg ttaaagctga taccaaaagg ctctgtgag 840
cacggtcttg atcaactcg ccttctctgc tggccagctg cccacgacct acggtgtatg 900
tcagtgggc tccagcagat catgatgaca tcatggaccc aatagctcat tcaactgcctt 960
gattcctttt gccacaact ttaccagcag ttatacctaa catattatgc aattttctct 1020
tgggtctacc tgatggaatt cctgcactta aagttctggc tgactaaaca agatataatca 1080
ttttctttct tctctttttg tttggaaaaat caagtacttc tttgaaatgat gatctctttc 1140
ttgcaaatga tattgtcagt aaaataatca cgttagactt cagacctctg gggattcttt 1200
ccgtgtcctg aaagagaatt tttaaattat ttaataagaa aaaatttata ttaatgattg 1260
ttccttttag taatttattg ttctgtactg atatttaaat aacgcat 1307

<210> 21
 <211> 689
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 3577142CB1

<400> 21
 cggcggcattc tggggttcca ggcgggcagc agctgcagggc tgaccttgca gcttggcggga 60
 atggactggc ctcacaacct gctgtttctt cttaccattt ccatcttctt ggggctgggc 120
 cagcccagga gcccaaaaag caagaggaag gggcaagggc ggcctgggccc cctgggtccct 180
 ggccctcacc aggtgccact ggacctgggtg tcacggatga aacctgatgc ccgcatggag 240
 gagtatgaga ggaacatcga ggagatgggtg gccacagctg ggaacagctc agagctggccc 300
 cagagaaagt gtgaggtcaa cttgcagctg tggatgtcca acaagaggag cctgtctccc 360
 tggggctaca gcatcaacca cgaccccagc cgtatccccg tggacctgcc ggaggcacgg 420
 tgctgtgttc tgggtgtgt gaaccccttc accatgcagg aggaccgcag catggtgagc 480
 gtgccgggtg tcagccaggt tcctgtggcg cgccgctctt gccccgccacc gccccgcaca 540
 gggccttggc gccagcgcgc agtcatggag accatcgctg tgggctgcac ctgcatcttc 600
 tgaatcacct ggcccagaag ccaggccagc agcccagac catcctcctt gcacctttgt 660
 gccaaagaag gcctatgaaa agtaaacac 689

<210> 22
 <211> 818
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 3725986CB1

<400> 22
 aagggcaaga gccagcttcc tcttctcttg ctactttggc cagcagttcc agtgaagaga 60
 tggagtctca gctgcaggaa cgtgtggagt cttcccgcgc agccgtgtcc cagattgtga 120
 ctgtttatga taaattgcaa gaaaaagtgg agctcttctc ccggaagcta aacagtggag 180
 ataactctgat agtggaggaa gcagtgcagg agctgaactc tttcctcgca caggagaata 240
 tgaggctaca ggaattgaca gatcttcttc aggaaaagca tcgcaccatg tctcaggagt 300
 tetccaagtt gcagagtaaa gtggagacag ccgaatcacg agtgtctgtc ctggagtcca 360
 tgattgatga cctgcagtgg gatattgaca aaattcgaaa gagggaacag cgactcaacc 420
 gacacttagc agaagtccca gaacgggtga attccaaagg ttataagggt tatggagcgg 480
 ggagcagttc gtatggcggc acaatcacta tcaatgctcg gaagtttgag gaaatgaatg 540
 cagagcttga ggagaacaaa gattggctc agaaccgtct ctgtgagctg gagaacttc 600
 ggcaagactt tgaggaggtc actacacaaa atgaaaagct gaaggtacga acgcatccct 660
 gaagggcagt aaaatcagac gttctgctga tcaactcacg tatatacata gttgtgaatc 720
 tgcgtattca tgagggataa gaaaaatgta gacaaaatcc aacatccttt tatgataaaa 780
 ctcttaacaa attaggtgta aagaagtgta cctcaaca 818

<210> 23
 <211> 899
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 3799011CB1

<400> 23
 gccttggagg cgtgacttcc cctcgggctc caggtagggc ctggagctgc tgcaagtgcc 60
 gcctgtgctg gggaaagggc catgtggctg ccttgggctc tggttgctct ctgggtccca 120
 ggatgttttg ctctgagcaa atgcaggacc gtggcgggccc ccgtgggggg atccctgagt 180
 gtgcagtgct cctatgagaa ggaacacagg accctcaaca aatactgggt cagaccacca 240

```

cagattttcc tatgtgacaa gattgtggag accaaagggg cagcaggaaa aaggaacggc 300
cgagtgtcca tcagggacag tcttgcaaac ctcagcttca cagtgaccct ggagaatctc 360
acagaggagg atgcaggcac ctactggtgt ggggtggata caccatggct ccgagacttt 420
catgatcccc ttgtcaggtt tgaggtgtcc gtgttcccgg catcaacgtc aatgacacct 480
gcaagtatca ctgcccgaac gacctcaaca atcacaactg ctttccacc tgtatcatcc 540
actaccctgt ttgcagtggg tgcaccacac agtgccagca tccaggagga aactgaggag 600
gtggtgaact cacagctccc gctgactect ctccctgctg gcattgttgc tgcttctgtt 660
ggtggggggc tccctgctag cctggaggat gtttcagaaa tggatcaaaag ctggtgacca 720
ttcagagctg tcccagaacc ccaagcaggc tgccacgtag agtgagctgc actacgcaaa 780
tctggagctg ctgatgtggc ctctgcagga aaagccagca ccaccaaggg aggtggaggt 840
ggaatcacgc actgtggcct cccccaggga agaacttcac tatgcctcgg tgggtgtttg 899

```

```

<210> 24
<211> 953
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No.: 3887384CB1

```

```

<400> 24
cgcgggggtc gcgctgcaca gcctgcggcg cagcggaggc ggaccgcagt cgagtctgca 60
gagtgttggg atcgtccgca ctaaagtccc ctgcagcgtg accatgtcga gaccccggaa 120
gaggctggct gggacttctg gttcagacaa gggactatca ggaaaacgca ccaaaactga 180
gaaactcagg gaggcattag ctaaagtggg ggactccaac cctcagaaga cttcagccac 240
taaaaactgt ttgaagaatc taagcagcca ctggctgatg aagtcagagc cagagagccg 300
cctagagaaa ggtgtagatg tgaagttcag cattgaggat ctcaaagcac agcccaaaaca 360
gacaacatgc tgggatgggt tctgtaacta ccaggctcgg aacttcctta gagccatgaa 420
gctggggagaa gaagccttct tctaccatag caactgcaaa gagccaggca tgcaggact 480
catgaagatc gtgaagagg cttaccocaga ccacacacag tttgagaaaa acaatcccca 540
ttatgaccca tctagcaaa aggacaaccc taagtggctc atgggtggatg tacagtttgt 600
tcggatgatg aaacgtttca ttccctggc tgagctcaaa tctatcatc aagctcaca 660
agctactggt ggccccttaa aaaatatggt tctcttctc cgccagagat tatcaatcca 720
gcccctgacc caggaagagt ttgattttgt tttgagcctg gaggaaaagg aaccaagtta 780
actgagatc tgctgctgga atggcgagga cattgctgca aagaagtcaa gctttttca 840
gacaaaaggt gtgagggggc ttgcttggta tgcttacctg ggcttgtgta cctcagtggg 900
ttttgtgtac ttttttcaat aaaatatcaa agttgaagaa aaaaaaaaaa aaa 953

```

```

<210> 25
<211> 1979
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No.: 1352789CB1

```

```

<400> 25
ttctcaacat cctggcttag tattgtgtgc aaaatcagag aggggtgcaa gatcctgatt 60
tttcaggagt tcaagcgaca atggcagccc aatacggcag tatgagcttc aaccccagca 120
caccaggggc cagttatggg cctggaaagg aagagcccag aaattcccaa ttgagaattg 180
tgttagtggg taaaaccgga gcaggaaaaa gtgcaacagg aaacagcatc cttggccgga 240
aagtgtttca ttctggcact gcagcaaaaat ccattacca gaagtgtgag aaacgcagca 300
gctcatggaa ggaaacagaa ctgtctgtag ttgacacacc aggcattttc gacacagagg 360
tgcccaatgc tgaaacgtcc aaggagatta ttcgctgcat tcttctgacc tccccagggc 420
ctcatgctct gcttctggtg gtccactgg gccgttacac tgaggaagag cacaaagcca 480
cagagaagat cctgaaaatg tttggagaga gggctagaag tttcatgatt ctcatattca 540
cccggaaaga tgacttaggt gacaccaatt tgcatgacta ctttaagggaa gctccagaag 600
acattcaaga cttgatggac attttcggtg accgctactg tgcgttaaac aacaaggcaa 660

```

```

caggcgctga gcaggaggcc cagagggcac agttgctggg cctgatccag cgcgtggtga 720
gggagaacaa ggaaggctgc tacactaata ggatgtacca aagggcggag gaggagatcc 780
agaagcaaac acaagcaatg caagaactcc acagagtgga gctggagaga gagaagcgc 840
ggataagaga ggagtatgaa gagaaatca gaaagctgga agataaagtg gaggcagaaa 900
agagaagaaa gcaaatggag aagaaactag cagaacagga gctcactat gctgtaaggc 960
agcaaaagggc aagaacggaa gtggagagta aggatgggat acttgaatta atcatgacag 1020
cgttacagat tgcttccctt atttgtttac gtctgttgc ggaagattaa acttaatgaa 1080
aatctgtttg tattttctgc atattctctg gcaaccttgc cccatactta cttatttagc 1140
atagtcgagt gctctagtgt ctgtctctca ggcactcgt actaaggacc accattggcc 1200
attgtagat gtttgattga cttacaaga gagggacaaa ttttcaattt gtgaaactcc 1260
aaagcagaaa gtattggtgc ttgctacctt gtgaattctt ccttagacat gcagagaaaa 1320
tgtatgcaag agacaaaaa gatggctcca agctatgtca tgttacctgt aataaaatct 1380
tttctctag attctttcta tgttggcaga taatctcccc ttgtagcttc cactcactta 1440
ttcttgcaat cagagtcaca atgatcatct taccatgtg gtttttgaga aagaagatc 1500
aattctttgt ttgcagtagg taatctttaga gatggagatg attgtagaat tattcctaga 1560
tgatgtgcaa tttatttaat tccattgtca tataaggagt caaattgttt cttatcattt 1620
gttcattgaa gaacagagac ctgtctggaa aatcgatctc taaaaattca attaaataat 1680
gatccccaaa tgctgaaaaa gtgaaataca gcaattcaac agataataga gcaatgttta 1740
gtatattcag ctgtatctgt agaaactctt tgacgaacct caatttaacc aatttgatga 1800
atacccagtt ctctctttt ctagagaaag atagttgcaa cctcacctcc ctactcaac 1860
actttgaata cttattgttt ggcaggctcat ccacacactt ctgccccac tgcatgtaat 1920
ttttgctta tgttgtttat aataaaactt ttcaattatc tcataaaaa aaaaaaaaa 1979

```

```

<210> 26
<211> 923
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No.: 1666486CT1

```

```

<400> 26
cccagtcagg acacagcatg gacatgaggg tccccgctca gctcctgggg ctctgctgc 60
tctggctccc aggtgccaaa tgtgacatcc tgctgaccca gtctccttcc accgtctctg 120
catctgtggg cgacagagtc accattactt gccgggccac tcagagtatt ggtagctggg 180
tggcctggta tcagcaaaaa ccagggaaag cccctcagct cctgatctat aagggctcca 240
gtttagaaaag tggagtccca tcaaggttta gtggcagtgg atctgggaca gaattcactc 300
tcagcatcaa cagcctgcag cctgatgatt ttgcaactta tttctgccag cagtatgaca 360
cttaccctcac gtggtcgttc ggccagggga ccaagctgga gatcaaacga actgtggctg 420
caccatctgt cttcatcttc cgcctatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg 480
ttgtgtgcct gctgaataac ttctatcca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata 540
acgcccctcca atcgggtaac tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca 600
cctacagcct cagcagcacc ctgacgctga gcaaaagcaga ctacgagaaa cacaaactct 660
acgctcgcga agtcacccat cagggcctga gctcgcctc cacaagagc ttcaacaggg 720
gagagtgtta gagggagaag tgccccacc tgcctctcag ttccagcctg acccccctcc 780
atcctttggc ctctgacct tttccacag gggacctacc cctattgcgg tctccagct 840
catctttcac ctaccccc tcctctctct tggctttaat tatgctaaty ttggaggaga 900
atgaataaat aaagtgaatc ttc 923

```

```

<210> 27
<211> 888
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No.: 1706596CB1

<400> 27

```

```

cagcaagcat agtgggaatc tgcaccatgc cctgggctct gctcctcctg accctcctca 60
ctcactctgc agtgtcagtg gtccaggcag ggctgactca gccaccctcg gtgtccagg 120
ccttgagaca gaccgccaca ctacactgca ctgggaacaa caacaatggt ggcaaccaag 180
gagcagcttg gctgcagcag caccagggcc accctcccaa actcctgtcc tacaggaata 240
acaaccggcc ctccagggatc tcagagagat tctctgcata caggctcgaga aacacagcct 300
cctgaccat tactggactc cagcctgagg acgaggctga ctattactgc tcagtatggg 360
acagcagcct cagtgtcttg gtgttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc ctaagttagc 420
ccaaggctgc cccctcggtc actctgttcc caccctcctc tgaggagcct caagccaaca 480
aggccacat ggtgtgtctc ataagtgact totaccggg agccgtgaca gtggcctgga 540
aggcagatag cagccccgtc aaggcgggag tggagaccac cacaccctcc aaacaaagca 600
acaacaagta cgcggccagc agctacctga gcctgacgcc tgagcagtggt aagtcccaca 660
gaagctacag ctgccaggtc acgcatgaag ggagcaccgt ggagaagaca gtggccccta 720
cagaatgttc ataggttctc aaccctcacc ccccaaccag ggagactaga gctgcaggat 780
ccaggggag ggtctctctc tcccacccca aggcataaag ccttctctcc tgcactcaat 840
aaaccctcaa taaatattct cattgtcaat cagaaaaaaaa aaaaaaaaa 888

```

```

<210> 28
<211> 1760
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No.: 1890540CB1

```

```

<400> 28
ccaaagtata aaaccactcc gccgctgcag ctctcagctc cagtctctggc atctgcccga 60
ggagaccacg ctctgggagc tctgctgtct tctcaggag actctgaggc tctgttgaga 120
atcatgtttt ggaggcagct catctatttg caactgctgg ctttgttttt cctccctttt 180
tgctgtgttc aagatgaata catggagtct ccacaaaccg gaggactacc cccagactgc 240
agtaagtgtt gtcattggaga ctacagcttt cgaggctacc aaggccccc tgggccaccg 300
ggcctcctcg gcattccagg aaaccatgga aacaatggca acaatggagc cactggtcat 360
gaaggagcca aaggtgagaa gggcgacaaa ggtgacctgg ggcctcgagg ggagcggggg 420
cagctggccc ccaaaggaga gaagggctac ccggggattc caccagaact tcagattgca 480
ttcatggctt ctctggcaac ccacttcagc aatcagaaca gtgggattat cttcagcagt 540
gttgagacca acattggaaa cttctttgat gtcatgactg gtagatttgg ggcgccagta 600
tcaggtgtgt atttcttcac cttcagcatg atgaagcatg aggatgttga ggaagtgtat 660
gtgtacctta tgcacaatgg caacacagtc ttcagcatgt acagctatga aatgaagggc 720
aaatcagata catccagcaa tcatgctgtg ctgaagctag ccaaagggga tgaggtttgg 780
ctgcgaatgg gcaatggcgc tctccatggg gaccaccaac gcttctccac ctttgcagga 840
ttcctgctct ttgaaactaa gtaaatatat gactagaata gctccacttt ggggaagact 900
tgtagctgag ctgatttgtt acgatctgag gaacattaaa gttgaggggt ttacattgct 960
gtattcaaaa aattattggt tgcaatgttg ttcacgctac aggtacacca ataattgttg 1020
acaattcagg ggctcagaag aatcaaccac aaaatagtct tctcagatga ccttgactaa 1080
tatactcagc atctttatca ctctttcctt ggcacctaaa agataattct cctctgacgc 1140
agggtggaaa tatttttttc tatcacagaa gtcatttgc aagaattttg actactctgc 1200
ttttaattta ataccagttt tcaggaacc ctagaagttt aagttcatta ttctttataa 1260
catttgagag aatcagatgt agtgatatga cagggctggg gcaagaacag gggcacttagc 1320
tgccttatta gctaatttag tgcctcctgt gttcagctta gcctttgacc ctttctcttt 1380
gatccacaaa atacattaaa actctgaatt cacatacaat gctattttta agtcaataga 1440
ttttagctat aaagtgtctg accagtaatg tggttgtaat tttgtgtatg ttccccaca 1500
tcgcccccaa cttcggatgt ggggtcagga ggttgagggt cactattaac aatgtcata 1560
aatatctcat agaggtacag tgccaataga tattcaaatg ttgcatgttg accagagggga 1620
ttttatatct gaagaacata cactattaat aaatacctta gagaagattt ttgacctggc 1680
tttagataaa actgtggcaa gaaaaatgta atgagcaata tatggaaata aacacacctt 1740
tgtaaagat aaaaaaaaaa

```

```

<210> 29
<211> 2015
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 2774913CB1

<400> 29
 gcttcagccg cagtcgccac tggctgcctg aggtgctcct acagcctggt ccaagtgtgg 60
 cttaatccgt ctccaccacc agatctttct cctggtgattc ctctgctaag accgctgcc 120
 tgccagtgc ggtaaccgcg accaccatca caaccaccac gacgtcatct tggggcctgg 180
 ggtcccccat gatcgtgggg tcccctcggg ccttgacaca gcccctgggt ctccctcgcc 240
 tgctgcagct ggtgtctacc tgcgtggcct tctcgtggtt ggctagcgtg ggcgcctgga 300
 cggggtccat gggcaactgg tccatgttca cctggtgctt ctgcttctcc gtgaccctga 360
 tcatctcat cgtggagctg tgcgggctcc aggcccgctt ccccctgtct tggcgcaact 420
 tcccacacac ctctgcctgc tatggggccc tcttctgctt ctggcctcc atcatctacc 480
 ccaccaccta tgtccagttc ctgtcccacg gccgttcgog ggaccacgcc atcgccgcc 540
 ccttctctct ctgcatcgcg tgtgtggctt acgccaccga agtggcctgg acccgggcc 600
 ggcccggcga gatcactggc tatatggcca ccttaccggg gctgtgaaag gtgtctggaga 660
 ccttctgttc ctgcatctac ttctgcgttca tcagcgacc caacctgtac cagcaccagc 720
 cggccctgga gtgggtgcgtg cgggtgtacg ccatctgctt catcctagcg gccatcgcca 780
 tcctgctgaa cctgggggag tgcaccaacg tgcctaccat ccccttcccc agcttctctg 840
 cggggctgge cttgctgtct gtccctctct atgccaccgc ccttcttctc tggccctct 900
 accagtccga tgggtgcgtg cgggtgtacg cctcctgctt gatcctagcg gccatcgcca 960
 gcagccatgc ctactacgtg tgtgcctggg accgcccact ggctgtggcc atcctgacgg 1020
 ccataaacct actggcgtat gtggctgacc tgggtgcact tgcccactct gtttttctca 1080
 aggtctaaaga ctctcccaag aggtctccgt tccctctcca acctctttgt tcttcttggc 1140
 cgagtcttct ttatggagta cttcttctct cgccttctcc tctgttctcc tcttctctgc 1200
 tcccctccct cccacctttt tcttctctct caaatctctt gcactctaac cagtctctgg 1260
 atgcactctt tctcttccct ttctctctgc tgttctcttc ctgtgttgtt ttgttgccca 1320
 catctgtttt tcaccctgga gctgttctct ttttcttttt ctttcttttt ttttcttttt 1380
 ttttaagcgg attctacca ctgtgtctca gctgggggga cagagcgaga ctccatctca 1440
 aaaaaaaaaa ggaatcggac gaagaaccac aggatgttga agacaactgt ctgaagtatt 1500
 tgtgagggac agcgtatgtg cctctctgtt taagaataac gtgtcctgct ttggcagaga 1560
 gaagaaaata gccactgccc gctttcaagg caagatcgac ctttctgtt ttgtttgtt 1620
 tttctttctt tttcttggcc atgaggacaa aaattactga gtggccctta aagagggag 1680
 tttgttttca gctgttctct tttgcccgtg gttgggaggg tggggattgc tgcctctag 1740
 cttagaggaat ggctttgctt gaatgtgtag tgcacacgca cgggtgttct tgtgtgctag 1800
 ttgctctctg ctgctgcttc ctgctgtctt gggactcaca tacataacgt gatatatata 1860
 tatatatata aatgtataaa tatatatatt attttttttt aaatccttgg agcttctggt 1920
 tcctatcagt tctgtgtgtt aatcgtagaa ccgttgtccc tcccccat cccgtatcca 1980
 tcatgttctt tttcttttaa atatcaatat aaaaa 2015

<210> 30
 <211> 2080
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No.: 5571291CB1

<400> 30
 gctgcagtga accgagattg cggcactgca ctccagccta ggcaacaaag cgagactctg 60
 tctcaaaact aaaaaataat aaaaaataaa taaacctcta taaagtatac caagtcttag 120
 tttttaaatt aagagataag tgtggatttg ttttccaaag gtgaataagc tttgtttttt 180
 ccagacaaaa gcaagccggg aggtctggctg cctctctctc tgcgtctctt gctggtggcc 240
 acatgggtgc tgggtggcagg gatctatcta atgtggagge acgaaaggat caagaagact 300
 tcttcttcta ccaccacact actgcccccc attaaggttc ttgtggttta cccatctgaa 360
 atatgtttcc atcacacaat ttgttacttc actgaatttc ttcaaaaacca ttgcagaagt 420
 gaggtcatcc ttgaaaagtg gcagaaaaag aaaatagcag agatgggtcc agtgcagtgg 480
 cttgccactc aaaagaaggc agcagacaaa gtcgtcttcc ttctttccaa tgactcaac 540
 agtgtgtgag atggtacctg tggcaagagc gagggcagtc ccagttagaa ctctcaagac 600
 ctcttcccc ttgcctttaa cctttctgct agtgccttaa gaagccagat tcatctgcac 660
 aaatcgtgg tggctactt tagagagatt gatacaaaag acgattacaa tgcctctcagt 720
 gctgccecca agtaccacct catgaaggat gccactgctt tctgtgcaga acttctccat 780

gtcaagcagc	aggtgtcagc	aggaaaaaga	tcacaagcct	gccacgatgg	ctgctgctcc	840
ttgtagccca	cccatgagaa	gcaagagacc	ttaaaggcct	cctatcccac	caattacagg	900
gaaaaaacgt	gtgatgatcc	tgaagcttac	tatgcagcct	acaacacagc	ttagtaatta	960
aaacatttta	taccaataaa	atthtcaaat	attgctaact	aatgtagcat	taactaacga	1020
ttggaacta	catttacaac	ttcaaagctg	ttttatacat	agaaatcaat	tacagtttta	1080
attgaaaact	ataaccattt	tgataatgca	acaataaagc	atcttcagcc	aaacatctag	1140
tcttccatag	accatgcatt	gcagtggtacc	cagaactggt	tagctaatat	tctatgttta	1200
attaatgaat	actaactcta	agaacccttc	actgattcac	tcaatagcat	cttaagttaa	1260
aaaccttcta	ttacatgcaa	aaaatcattg	tttttaagat	aacaaaagta	gggaataaac	1320
aagctgaacc	cacttttact	ggaccaaatg	atctattata	tgtgtaacca	cttgtagtat	1380
ttggtatttg	cataagacct	tccctctaca	aactagattc	atatcttgat	tcttgtacag	1440
gtgcctttta	acatgaacaa	caaaatacc	acaaacttgt	ctacttttgc	ctaaagttac	1500
ctattagagg	tcactgtcag	agttctcagt	ttcttagtta	ctatttaact	tttcatgttc	1560
aaaatgaaaa	taattcttaa	gttgaaagcc	ctcttgaagt	aaccttttta	taaatgagtt	1620
attataatgg	tttacttaaa	taaaaaacag	gggtgggtgc	agtggctcat	gcctccaatc	1680
ccagcacttt	ggcaaggcca	aggcaaaagg	atcgctcaag	accaggctac	gtcacaaagc	1740
gagacctcca	tctctacaaa	agatttaaaa	aattagctga	gtgtgatggt	gtaagcctgt	1800
ggtcccagct	actagggagg	ctgagatggg	aggatcactt	gagccctgga	ggtaagggtt	1860
gcagtaaacg	gtgattgtgc	cactgcactc	catcctgggt	gagagcagac	cctgtctaaa	1920
acaacaaaac	gaaaaaaccc	ccacagaatg	acagaacata	aaagatgcac	atthtgtctt	1980
cccacttttt	tactcttcta	aaggcatctt	tttttaaat	ttcttaaat	tttttttttt	2040
tgagacagag	gttcacccgg	tcaccaggcc	tggaggtgcg			2080

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

					Int. Application No PCT/US 00/09072	
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER						
IPC 7	C12N15/12	C12N5/10	C07K14/47	C07K14/705	C07K16/18	
	C07K16/28	A61K38/17	C12Q1/68	601N33/50		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC						
B. FIELDS SEARCHED						
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)						
IPC 7	C12N	C07K	A61K	C12Q	G01N	
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched						
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)						
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, STRAND, EMBL						
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT						
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages					Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL [Online] Accession No. A1336860, 31 December 1998 (1998-12-31) STRAUSBERG R.: "EST; H. sapiens cDNA clone IMAGE:2009429 similar to leukocyte surface protein" XP002143583 nt 119-307 encode aa 148-289 of seq. ID 1					1-17,20, 23
A	RUEGG C.L. ET AL.: "V7, a novel leukocyte surface protein that participates in T cell activation. II. Molecular cloning and characterization of the V7 gene." J. IMMUNOL., vol. 154, 1995, pages 4434-4443, XP002143613 the whole document					1-17,20, 23

-/--						
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.						
* Special categories of cited documents:						
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance			"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention			
"E" earlier document but published on or after the international filing date			"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone			
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)			"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art			
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means			"8" document member of the same patent family			
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed						
Date of the actual completion of the international search				Date of mailing of the international search report		
27 July 2000				08.11.00		
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016				Authorized officer Galli, I		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No
PCT/US 00/09072

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 98 27114 A (SCHERING CORP) 25 June 1998 (1998-06-25) abstract claims 1-10 -----	1-17,20, 23

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.
 PCT/US 00/09072
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
 because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 Claims 16,19,22 are directed to methods of treatment of the human/animal body.
 The search, if at all possible, has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.: 18,19,21,22
 because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
 see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. Claims Nos.:
 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

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

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
 Claims 1-23, partially.

Remark on Protest

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

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 18,19,21,22

Claims 18,19,21,22 relate to agonists and antagonists of the human immune system molecule claimed, but do not offer a true technical characterization thereof. Moreover, no such compounds are defined in the application. In consequence, the scope of said claims is ambiguous and vague, and the subject-matter is not adequately disclosed and supported (Art. 5 and 6 PCT). No search can be carried out for such purely speculative claims, the wording of which is, in fact, a mere recitation of the results to be achieved.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. Claims: (1-23) - partial

An isolated polypeptide comprising the amino acid sequence of seq. ID 1.

Corresponding nucleic acids (Seq. ID 16), vectors, recombinant host cells, transgenic organisms, antibodies, pharmaceutical compositions, detection methods, methods to evaluate agonists/antagonists/regulators, therapeutic applications.

2. Claims: (1-23) - partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 2,17

3. Claims: (1-23) - partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 3,18

4. Claims: (1-23) - partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 4,19

5. Claims: (1-23) - partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 5,20

6. Claims: (1-23) - partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 6,21

7. Claims: (1-23) - partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 7,22

8. Claims: (1-23) - partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 8,23

9. Claims: (1-23) - partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 9,24

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

10. Claims: (1-23) - partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 10,25

11. Claims: (1-23) - partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 11,26

12. Claims: (1-23) - partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 12,27

13. Claims: (1-23) - partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 13,28

14. Claims: (1-23) - partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 14,29

15. Claims: (1-23) - partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 15,30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/US 00/09072

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9827114 A	25-06-1998	AU 5705898 A	15-07-1998

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコ-ト' (参考)
A 6 1 P 1/04		A 6 1 P 3/10	4 C 0 8 4
1/16		7/00	4 C 0 8 5
3/10		7/08	4 H 0 4 5
7/00		9/10	1 0 1
7/08		11/00	
9/10	1 0 1	13/12	
11/00		17/00	
13/12		17/06	
17/00		19/02	
17/06		21/04	
19/02		29/00	1 0 1
21/04		31/10	
29/00	1 0 1	31/12	
31/10		33/00	
31/12		33/08	
33/00		33/12	
33/08		35/00	
33/12		35/02	
35/00		37/00	
35/02		37/08	
37/00		C 0 7 K 14/47	
37/08		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		C 1 2 P 21/02	C
1/21		C 1 2 Q 1/68	A
5/10		G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 P 21/02		33/50	Z
C 1 2 Q 1/68		33/53	D
G 0 1 N 33/15			M
33/50		33/566	
33/53		37/00	1 0 2
		C 1 2 N 15/00	Z N A A
33/566		5/00	A
37/00	1 0 2	A 6 1 K 37/02	

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

- (72)発明者 タング、ワイ・トム
 アメリカ合衆国カリフォルニア州95118・
 サンノゼ・ランウィックコート 4230
- (72)発明者 ボーゲン、マライア・アール
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94577・
 サンレアンドロ・サンティアゴロード
 14244
- (72)発明者 アジムザイ、ヤルダ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94545・
 ヘイワード・ロックスプリングスドライブ
 2045
- (72)発明者 リュ、デュング・アイナ・エム
 アメリカ合衆国カリフォルニア州95136・
 サンノゼ・パークベルモントプレイス 55

F ターム(参考) 2G045 AA40 BB20 CA26 CB21 DA12
DA13 DA14 DA36 FB02 FB03
FB04 FB05 FB06 FB07 HA10
HA16
4B024 AA01 AA11 BA31 BA41 CA01
CA09 FA02 GA11
4B063 QA00 QA01 QA18 QQ42 QR32
QR55 QS34 QX01
4B064 AG31 CA19 CC24 DA01 DA13
4B065 AA93Y AB01 AC14 BA01
CA24 CA44 CA45
4C084 AA02 AA06 AA07 BA22 CA53
CA56 MA52 MA55 NA14 ZA451
ZA511 ZA521 ZA591 ZA661
ZA681 ZA751 ZA811 ZA891
ZA941 ZA961 ZA971 ZB071
ZB111 ZB131 ZB151 ZB261
ZB271 ZB331 ZB351 ZB381
ZB391 ZC061 ZC351 ZC551
4C085 AA02 BB11 EE01
4H045 AA10 AA11 BA10 CA40 DA86
EA31 EA50 FA74

专利名称(译)	免疫系统的分子		
公开(公告)号	JP2002540791A	公开(公告)日	2002-12-03
申请号	JP2000609571	申请日	2000-04-04
申请(专利权)人(译)	洞察制药公司		
[标]发明人	ユエヘンリー ラルプリーティ タングワイトム ボーグンマライアール アジムザイヤルダ リュデュングアイナエム		
发明人	ユエ、ヘンリー ラル、プリーティ タング、ワイトム ボーグン、マライアール アジムザイ、ヤルダ リュ、デュング・アイナ・エム		
IPC分类号	A01K67/027 A61K38/00 A61K39/00 A61K45/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P3/10 A61P7/00 A61P7/08 A61P9/10 A61P11/00 A61P13/12 A61P17/00 A61P17/06 A61P19/02 A61P21/04 A61P29/00 A61P31/10 A61P31/12 A61P33/00 A61P33/08 A61P33/12 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/00 A61P37/08 C07K14/47 C07K14/705 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/566 G01N37/00		
CPC分类号	A01K2217/05 A61K38/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P11/00 A61P13/12 A61P17/00 A61P17/06 A61P19/02 A61P21/04 A61P29/00 C07K14/47 C07K14/705		
FI分类号	A01K67/027 A61K39/00.H A61K45/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P3/10 A61P7/00 A61P7/08 A61P9/10.101 A61P11/00 A61P13/12 A61P17/00 A61P17/06 A61P19/02 A61P21/04 A61P29/00.101 A61P31/10 A61P31/12 A61P33/00 A61P33/08 A61P33/12 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/00 A61P37/08 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 G01N37/00.102 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/BB20 2G045/CA26 2G045/CB21 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB04 2G045/FB05 2G045/FB06 2G045/FB07 2G045/HA10 2G045/HA16 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA31 4B024/BA41 4B024/CA01 4B024/CA09 4B024/FA02 4B024/GA11 4B063/QA00 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QQ42 4B063/QR32 4B063/QR55 4B063/QS34 4B063/QX01 4B064/AG31 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA45 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/BA22 4C084/CA53 4C084/CA56 4C084/MA52 4C084/MA55 4C084/NA14 4C084/ZA451 4C084/ZA511 4C084/ZA521 4C084/ZA591 4C084/ZA661 4C084/ZA681 4C084/ZA751 4C084/ZA811 4C084/ZA891 4C084/ZA941 4C084/ZA961 4C084/ZA971 4C084/ZB071 4C084/ZB111 4C084/ZB131 4C084/ZB151 4C084/ZB261 4C084/ZB271 4C084/ZB331 4C084/ZB351 4C084/ZB381 4C084/ZB391 4C084/ZC061 4C084/ZC351 4C084/ZC551 4C085/AA02 4C085/BB11 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA86 4H045/EA31 4H045/EA50 4H045/FA74		
优先权	60/127852 1999-04-05 US 60/132647 1999-05-05 US		
外部链接	Espacenet		
摘要(译)			

