

(51)Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テマコード [*] （参考）
A 6 1 K 39/00		A 6 1 K 39/00	H 2 G 0 4 5
31/7088		31/7088	4 B 0 2 4
39/39		39/39	4 B 0 6 3
45/00		45/00	4 C 0 8 4
48/00		48/00	4 C 0 8 5
審査請求 未請求 予備審査請求（全 70数） 最終頁に続く			

(21)出願番号	特願2000－603705(P2000－603705)	(71)出願人	スミスクライン ビーチャム バイオロジカルズ ソシエテ アノニム
(86)(22)出願日	平成12年2月28日(2000.2.28)		ベルギー国 リキセンザール ビー 1330
(85)翻訳文提出日	平成13年9月5日(2001.9.5)		ルー デ ランスティテュート 89
(86)国際出願番号	PCT/EP00/01587	(72)発明者	ヴィナルス イ デ バソルス、カルロッタ
(87)国際公開番号	W000/53216		ベルギー国 リキセンザール ビー1330
(87)国際公開日	平成12年9月14日(2000.9.14)		ルー デ ランスティテュート 89、ス
(31)優先権主張番号	9905124.5		ミスクライン ビーチャム バイオロジカ
(32)優先日	平成11年3月5日(1999.3.5)		ルズ ソシエテ アノニム
(33)優先権主張国	イギリス(GB)	(74)代理人	弁理士 平木 祐輔 （外2名）
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 新規な使用方法

(57)【要約】

本発明は、CASB616ポリペプチドおよびポリヌクレオチドを診断に利用する方法、ならびに癌（特に大腸癌）、自己免疫疾患および関連病態の予防的ならびに治療的処置のためのワクチンに関する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 有効量の、配列番号2もしくは4のアミノ酸配列またはその免疫原性断片に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドを、製薬上許容される担体と共に含むワクチン組成物。

【請求項2】 アミノ酸配列が配列番号2もしくは4のアミノ酸配列またはその免疫原性断片に対して少なくとも95%の同一性を有する、請求項1に記載のワクチン組成物。

【請求項3】 有効量の、配列番号1もしくは3のヌクレオチド配列または免疫原性ポリペプチドをコードするその断片に対して少なくとも85%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを、製薬上許容される担体と共に含むワクチン組成物。

【請求項4】 配列番号2または4のポリペプチドをin vitroで供給することにより改変したか、または配列番号2または4のポリペプチドを発現するようにin vitroで遺伝的に改変した、有効量の抗原提示細胞および製薬上許容される担体を含むワクチン組成物。

【請求項5】 TH-1誘導アジュバントをさらに含む、請求項1～4のいずれか1項に記載のワクチン。

【請求項6】 TH-1誘導アジュバントが、3D-MPL、QS21、QS21とコレステロールの混合物、およびCpGオリゴヌクレオチドを含むアジュバントの群から選択される、請求項5に記載のワクチン。

【請求項7】 請求項1～6のいずれか1項に規定のポリペプチドまたは免疫学的断片に対して免疫特異的な抗体。

【請求項8】 配列番号2または4のポリペプチドの機能を刺激または抑制する化合物を同定するためのスクリーニング法であって、

(a) 候補化合物と、上記ポリペプチド（または該ポリペプチドを担持している細胞もしくはその膜）またはその融合タンパク質との結合を、該候補化合物に直接または間接的に結合させた標識により測定すること、

(b) 候補化合物と、上記ポリペプチド（または該ポリペプチドを担持している細胞もしくはその膜）またはその融合タンパク質との結合を、標識競合物質の

存在下で測定すること、

(c) 候補化合物が上記ポリペプチドの活性化または抑制により生ずるシグナルをもたらすか否かを、該ポリペプチドを担持している細胞または細胞膜に適した検出系を用いて調べること、

(d) 候補化合物と、配列番号2または4のポリペプチドを含有する溶液とを一緒にして混合物を調製し、該混合物中の該ポリペプチドの活性を測定して、該混合物の活性をスタンダードと比較すること、または

(e) 候補化合物が細胞における上記ポリペプチドをコードするmRNAおよび該ポリペプチドの産生に及ぼす効果を例えばELISAアッセイを用いて検出すること

、

よりなる群から選択される方法を含んでなるスクリーニング法。

【請求項9】 配列番号2もしくは4のポリペプチドまたは配列番号1もしくは3のポリヌクレオチドを哺乳動物の免疫系に由来する細胞と共にin vitroでインキュベートすることにより、配列番号1～4のいずれか1つの分子に対する免疫応答をin vitroで誘導すること、およびそれらの活性化免疫細胞を疾病の治療のために哺乳動物に再注入することを含む、免疫学的予防または治療による被験者の処置方法。

【請求項10】 前記処置が卵巣癌または大腸癌に対するものである、請求項9に記載の方法。

【請求項11】 配列番号2または4のポリペプチドに対するアゴニストまたはアンタゴニスト。

【請求項12】 治療上使用するための、以下の(a)～(c)のいずれかである化合物：

(a) 配列番号の2または4のポリペプチドに対するアゴニストまたはアンタゴニスト；

(b) 配列番号の1または3の単離されたポリヌクレオチド；または

(c) 配列番号2または4のいずれか1つのポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の発現をモジュレートする核酸分子。

【請求項13】 被験者における配列番号2または4のポリペプチドの発現

または活性に関連した該被験者の疾病または該疾病への罹りやすさを診断する方法であって、該被験者から得られたサンプル中の該ポリペプチドの存在または量を分析することを含んでなる方法。

【請求項14】 被験者における配列番号1または3のポリヌクレオチドの発現または活性に関連した該被験者の疾病または該疾病への罹りやすさを診断する方法であって、該被験者から得られたサンプル中の該ポリヌクレオチドの存在または量を分析することを含んでなる方法。

【請求項15】 被験者における配列番号2または4のポリペプチドの発現または活性に関連した該被験者の大腸癌の存在または大腸癌への罹りやすさを診断する方法であって、該被験者から得られたサンプル中の該ポリペプチドの存在または量を分析することを含んでなる方法。

【請求項16】 被験者における配列番号1または3のポリヌクレオチドの発現または活性に関連した該被験者の大腸癌の存在または大腸癌への罹りやすさを診断する方法であって、該被験者から得られたサンプル中の該ポリヌクレオチドの存在または量を分析することを含んでなる方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

本発明は、癌および自己免疫疾患ならびに他の関連病態の治療を含めたポリペプチドおよびポリヌクレオチド（本明細書においては、「CASB616」ポリペプチドおよび「CASB616」ポリヌクレオチドと呼ばれる）の使用方法に関する。さらなる態様において、本発明は本発明によって提供される物質を用いてアゴニストおよびアンタゴニスト/インヒビターを同定する方法、ならびに同定された化合物を用いてCASB616ポリペプチド平衡異常と関連した症状を治療することに関する。さらに他の態様において、本発明は不適當なCASB616ポリペプチド活性またはCASB616ポリペプチドレベルと関連した疾病を検出するための診断アッセイに関する。

【0002】

CASB616は、受容体プロテイン-チロシンキナーゼの最も大きいファミリーである、EPH受容体およびEPH関連受容体に属するポリペプチドをコードすることが発見された。CASB616は、そのほかにEPHB2（別名：EBHB2、ERK、EPH3、EPHT3、DRT、HEK5）およびEPHB2vとしても知られている。

【0003】

EPH受容体およびEPH関連受容体は、特に神経系における発生事象を媒介することに関与している。Ephサブファミリーの受容体は、典型的には単一キナーゼドメインと、Cys-リッチドメインおよびフィブロネクチンタイプIII反復配列を含む細胞外領域を有する。Eph受容体のリガンドは、Eph学名委員会によってエフリン（ephrin）と命名された（Cell 90: 403-404, 1997; PubMed ID : 9267020）。それらの構造および配列関係に基づいて、エフリンは、エフリン-A(EFNA)クラス（これらは、グリコシルホスファチジルイノシトール結合によって膜に固着されている）およびエフリン-B(EFNB)クラス（これらは、膜貫通型タンパク質である）に分類される。EPHファミリーの受容体は、それらの細胞外ドメイン配列の類似性ならびにエフリン-Aおよびエフリン-Bリガンドへのそれらの結合親和性に基づき2グループに分類される。Eph学名委員会（1997）は、エフリン-Aタンパク質と優先的に相互作用するEph受容体をEphAと呼び、エフリン-Bタンパク質と優先

的に相互作用するEph受容体をEphBと呼ぶことを提案した。

【0004】

Ikegakiら (Hum. Molec. Genet. 4: 2033-2045, 1995)は、ヒト/げっ歯類の体細胞ハイブリッドパネルのPCRスクリーニングによって、ならびに蛍光in situ ハイブリダイゼーションによって、DRTであるEPHB2遺伝子を1p36.1-p35にマッピングした。1pの遠位末端部は、神経芽細胞腫において欠失していることが多いので、DRT遺伝子は、神経芽細胞腫および小細胞肺癌(SCLC)の腫瘍形成において何らかの役割を果たしている可能性がある。

【0005】

蛍光 in situ ハイブリダイゼーションによって、Saitoら (Genomics 26: 382-384, 1995, PubMed ID : 7601466)は、ERK遺伝子が染色体1p36.1領域に位置することを示した。さらに彼らは、相同性遺伝子がマウス4D2.2-D3およびラット5q36.13に位置することを明らかにしたが、これらの領域はいずれも、ヒト染色体1pに対して保存的連鎖相同性(linkage homology)を有する領域である。

【0006】

本発明は、以下により詳細に記載されるようなCASB616ポリペプチドおよびポリヌクレオチドの使用に関する。本発明は、とりわけ配列番号1または3ならびに配列番号2または4にそれぞれ記載されるヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を有するCASB616の使用に関する。

【0007】

さらに本発明は、配列番号1または3ならびに配列番号2または4に示した配列に対して、少なくとも85%の同一性、好ましくは少なくとも90%の同一性、さらに好ましくは少なくとも95%の同一性、最も好ましくは少なくとも97~99%の同一性または厳密に一致した同一性を有するポリヌクレオチドおよびポリペプチドの使用に関する。

【0008】

CASB616ポリペプチドおよびポリヌクレオチドは、腫瘍に対する特定の予防目的または治療目的の免疫用の重要な免疫原であると考えられる。何故なら、前記ポリペプチドおよび前記ポリヌクレオチドは、正常細胞と比較して腫瘍において

特異的に発現されるかまたはかなり過剰に発現され、そのため抗原特異的免疫機構の標的となって前記腫瘍細胞の破壊をもたらさうからである。また、それらを使用して腫瘍細胞の発生を診断することもできる。さらに、特定の環境における前記ポリヌクレオチドおよび前記ポリペプチドの不適切な発現により、自己免疫性の不適切な免疫応答の誘導を引き起こし得るが、該応答は前記同様のポリペプチドまたはポリヌクレオチドを用いる適切なワクチン接種により矯正することができる。この点において、本発明者らの目的にとって最も重要な生物学的活性は、本発明のポリペプチドの抗原性活性および免疫原性活性である。また、本発明のポリペプチドは、CASB616ポリペプチドの少なくとも1つの他の生物学的活性を示すものであってもよく、該活性により本発明のポリペプチドを前記免疫応答に関連したものとは異なる治療的または予防的介入の標的とみなすことができる。

【0009】

本発明の第一の態様においては、CASB616ポリペプチドの使用およびその生物学的に、診断的に、予防的に、臨床的に、または治療的に有用な変異体、ならびにそれらを含んでなる組成物の使用を提供する。

【0010】

さらに本発明は、

(a) 配列番号2または4のアミノ酸配列に対して、少なくとも85%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、さらにより好ましくは少なくとも95%の同一性、最も好ましくは少なくとも97~99%の同一性、または厳密に一致した同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたポリペプチド、

(b) それぞれ配列番号1または3の全長にわたる配列番号1または3に対して少なくとも85%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、さらにより好ましくは少なくとも95%の同一性、最も好ましくは少なくとも97~99%の同一性、または厳密に一致した同一性を有するポリヌクレオチド配列を含んでなる単離されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド；または

(c) それぞれ配列番号2または4のアミノ酸配列に対して少なくとも85%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、さらにより好ましくは少なくと

も95%の同一性、最も好ましくは少なくとも97~99%の同一性、または厳密に一致した同一性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含んでなる単離されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド；
の使用を提供する。

【0011】

また本発明は、CASB616ポリペプチドの免疫原性断片、すなわち配列番号2または4のアミノ酸配列を含むポリペプチドと同様のまたは実質的に同様の免疫原活性を有するCASB616ポリペプチドの連続した部分の使用を提供する。すなわち、前記断片(必要であれば、担体に結合されている)は、CASB616ポリペプチドを認識する免疫応答を引き出すことができる。こうした免疫原性断片は、例えば、N末端のリーダー配列および/または膜貫通ドメインおよび/またはC末端のアンカードメインを欠くCASB616ポリペプチドを含むことができる。好ましい態様において、本発明のCASB616の免疫原性断片は、配列番号2または4のそれぞれの全長にわたる配列番号2または4のポリペプチドに対して少なくとも85%の同一性、好ましくは少なくとも90%の同一性、より好ましくは少なくとも95%の同一性、最も好ましくは少なくとも97~99%の同一性を有するポリペプチドの実質的に全ての細胞外ドメインを含む。

【0012】

断片は、本発明の任意のポリペプチドのアミノ酸配列のすべてというわけではないが、一部分として完全に同じであるアミノ酸配列を有するポリペプチドである。CASB616ポリペプチドがそうであるように、断片は「それ自体で独立」しているか、もしくは該断片が一部分または領域(最も好ましくは単一のより大きなポリペプチド中の単一の連続的な領域)を形成するより大きいポリペプチド内に含まれていてもよい。

【0013】

好ましい断片には、例えば、アミノ末端および/またはカルボキシル末端のアミノ酸配列を含む連続した一連の残基のような、配列番号2もしくは4またはそれらの変異体のアミノ酸配列の一部分を有する切断型(truncation)ポリペプチドが挙げられる。宿主細胞によって、または宿主細胞中で産生された本発明のポリ

ペプチドの分解(degradation)形態も好ましいものである。さらに、以下の断片のように構造的または機能的性状によって特性付けられる断片も好適である。かかる断片とは、 β -バレル、 α -ヘリックスおよび α -ヘリックス形成領域、 β -シートおよび β -シート形成領域、ターンおよびターン形成領域、コイルおよびコイル形成領域、親水性領域、疎水性領域、 α 両親媒性領域、 β 両親媒性領域、柔軟性領域、表面形成領域、基質結合領域および高抗原指数領域を含む断片である。

【0014】

さらに好ましい断片には、配列番号2または4のアミノ酸配列に由来する少なくとも15、20、30、40、50または100個の連続したアミノ酸を有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチド、または配列番号2もしくは4のアミノ酸配列から切断されたまたは欠失された少なくとも15、20、30、40、50または100個の連続したアミノ酸を有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドが含まれる。

【0015】

特に好ましいものは、数個、5~10、1~5、1~3、1~2または1個のアミノ酸が、任意の組み合わせで置換、欠失または付加された変異体である。

【0016】

使用目的での本発明のポリペプチドまたは免疫原性断片は、「成熟」タンパク質の形であっても、前駆体または融合タンパク質のような、より大きいタンパク質の一部であってもよい。しばしば、追加のアミノ酸配列を含めることが有利であり、このようなアミノ酸配列としては、分泌すなわちリーダー配列、プロ配列、多重ヒスチジン残基のような精製に役立つ配列、または組換え体生産の間の安定性を確保する付加的配列などがある。さらに、外来ポリペプチドまたは脂質テイル(lipid tail)またはポリヌクレオチド配列の追加により最終的な分子の免疫原としての可能性を高めることも考慮される。

【0017】

1つの態様において、本発明は、本発明のポリペプチドまたはその断片と、各種サブクラス(IgG、IgM、IgA、IgE)の免疫グロブリンのH鎖またはL鎖の定常領

域の様々な部分とを含んでなる遺伝子工学的に作製された可溶性融合タンパク質の使用に関する。免疫グロブリンとしては、ヒトIgG、特にIgG1のH鎖の定常部が好ましく、その場合は融合がヒンジ領域で起こる。特定の実施形態においては、血液凝固因子Xaで開裂され得る開裂配列を組み込むことで、Fc部分を簡単に除去できる。

【0018】

融合タンパク質技術の例は、国際特許出願 W094/29458 およびW094/22914に見いだせる。

【0019】

前記タンパク質を化学的に結合するかまたは組換え融合タンパク質として発現させることにより、発現系において該タンパク質が非融合タンパク質に比べて増大されたレベルで産生される。融合パートナーはTヘルパーエпитープ、好ましくはヒトにより認識されるTヘルパーエпитープの提供を助ける(免疫学的融合パートナー)か、または前記タンパク質の、元の組換えタンパク質より高い産生量での発現を助ける(発現エンハンサー)ことができる。好ましくは、前記融合パートナーは免疫学的融合パートナーおよび発現エンハンサーパートナーの両方である。

【0020】

融合パートナーには、ヘモフィルス・インフルエンザ(*Haemophilus influenzae*)由来のプロテインDおよびインフルエンザウイルス由来の非構造タンパク質NS1(赤血球凝集素)が含まれる。別の融合パートナーは、LytAとして知られるタンパク質である。好ましくは、該分子のC末端部分を使用する。LytAは、N-アセチル-L-アラニンアミダーゼLytA(lytA遺伝子によりコードされる[Gene. 43(1986) page 265-272])、すなわちペプチドグリカン骨格内の特定の結合を特異的に分解する自己分解酵素を合成するストレプトコッカス・ニューモニア(*Streptococcus pneumoniae*)から得られる。前記LytAタンパク質のC末端ドメインは、コリン、またはDEAE等の数種のコリン類似体に対する親和性に関与している。この性質を融合タンパク質の発現に有用な大腸菌(*E.coli*)C-LytA発現プラスミドの開発に利用した。そのアミノ末端に前記C-LytA断片を含有するハイブリッドタンパク質の

精製については、Biotechnology:10. (1992) page 795-798に記載されている。
前記LytA分子のC末端に見出され、残基178から始まる反復部分(例えば残基188～305)を使用することができる。

【0021】

また、前記ポリペプチドの変異体、すなわち保存的アミノ酸置換（ある残基が性質の似ている他の残基により置換される）により基準ポリペプチドと相違しているポリペプチドも本発明に含まれる。典型的なかかる置換は、Ala、Val、Leu およびIleの間；SerとThrの間；酸性残基 AspとGluの間；AsnとGlnの間；塩基性残基 LysとArgの間；または芳香族残基 PheとTyrの間で起こる。

【0022】

使用目的での本発明のポリペプチドは、任意の適当な方法で製造することができる。このようなポリペプチドには、単離された天然のポリペプチド、組換え的に生産されたポリペプチド、合成的に生産されたポリペプチド、またはこれらの方法の組合せにより生産されたポリペプチドが含まれる。かかるポリペプチドを製造するための手段は、当業界でよく理解されている。

【0023】

さらなる態様において、本発明は、CASB616ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、特に本明細書に記載のワクチン組成物における使用目的での、またはその製造における、本明細書でCASB616と呼ばれるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの使用に関する。

【0024】

特に好ましい実施形態において、該ポリヌクレオチドは、全長遺伝子またはその変異体を含む配列番号1または3に記載の配列を含んでなるCASB616ポリペプチドをコードする領域を含む。

【0025】

本明細書において提供される情報、例えば配列番号1または3に記載のポリヌクレオチド配列を用いて、CASB616ポリペプチドをコードする本発明のポリヌクレオチドは、標準的なクローニング法およびスクリーニング法を用いて、ヒト大腸癌、肺癌、子宮癌および胎児組織の細胞中のmRNAに由来するcDNAライブラリー

から得ることができる。好適な技術は、Maniatis, T., Fritsch, E.F.およびSambrookら, MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL, 第2版; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York(1989)によって記載されている。本発明に記載されるポリヌクレオチドは、ゲノムDNAライブラリーのような天然の供給源から得ることもでき、またはよく知られている市販の技術を用いて合成することもできる。

【0026】

さらに配列番号1または3に記載のDNA配列は、配列番号2または4に記載のアミノ酸残基数にほぼ等しい残基数を有し、当業者に周知のアミノ酸残基の分子量値を用いて計算することができる推定分子量を有するタンパク質をコードするオープンリーディングフレームを含む。

【0027】

配列番号1のヌクレオチド番号105にある開始コドンとヌクレオチド番号3066で始まる終止コドンとの間の配列番号1のポリヌクレオチドは、配列番号2のポリペプチドをコードする。

【0028】

配列番号3のヌクレオチド番号26にある開始コドンとヌクレオチド番号3191で始まる終止コドンとの間の配列番号3のポリヌクレオチドは、配列番号4のポリペプチドをコードする。

【0029】

さらなる態様において、本発明は、

(a) 配列番号1または3の全長にわたる配列番号1または3に対して少なくとも85%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、さらにより好ましくは少なくとも95%の同一性、最も好ましくは97~99%の同一性または厳密に一致した同一性を有するポリヌクレオチド配列、
または

(b) 配列番号2または4の全長にわたる配列番号2または4のアミノ酸配列に対して少なくとも85%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、さらにより好ましくは少なくとも95%の同一性、最も好ましくは少なくとも97~99%

の同一性または厳密に一致した100%の同一性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列、
を含んでなる、またはから成る単離されたポリヌクレオチドの使用を提供する。

【0030】

使用目的での本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件（例えば、45～65℃の範囲の温度および0.1～1%のSDS濃度を用いる）下にて、配列番号1または3の配列から成る、または含んでなる標識したまたは検出可能なプローブを用いて、適当なライブラリーをスクリーニングし、さらに該ポリヌクレオチド配列を含有する全長遺伝子および/またはゲノムクローンを単離するステップを含む方法によって得ることができる。

【0031】

本発明は、配列番号1または3のコード配列（オープンリーディングフレーム）に対してその全長にわたり同一であるポリヌクレオチド配列の使用を提供する。また本発明によって提供されるものは、成熟ポリペプチドまたはその断片のコード配列の単独での使用、ならびに他のコード配列（例えば、リーダー配列もしくは分泌型配列、プレタンパク質配列、プロタンパク質配列もしくはプレプロタンパク質配列、または他の融合ペプチド部分をコードする配列）とリーディングフレームを合わせた成熟ポリペプチドまたは断片のコード配列の使用である。該ポリヌクレオチドはまた、少なくとも1つの非コード配列を含んでいてもよい。かかる非コード配列には、限定されるものではないが、例えば転写されるが翻訳されない配列のような少なくとも1つの非コード5'配列および3'配列、終結シグナル（例えばρ因子依存的終結シグナルおよびρ因子非依存的終結シグナル）、リボソーム結合部位、コザック(Kozak)配列、mRNAを安定化する配列、イントロンおよびポリアデニル化シグナルが挙げられる。ポリヌクレオチド配列には、また付加的なアミノ酸をコードする付加的なコード配列を含んでいてもよい。例えば、融合ポリペプチドの精製を容易にするマーカー配列がコードされ得る。本発明の特定の実施形態において、マーカー配列は、pQEベクター(Qiagen, Inc.)により提供されかつ Gentzら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824 (1989)に

記載されるような、ヘキサースチジンペプチド、またはHAペプチドタグである (Wilsonら, Cell 37: 767 (1984)。これら双方とも、これらに融合されたポリペプチド配列を精製するのに有用であり得る。本発明とともに使用するポリヌクレオチドにはまた、限定されるものではないが、構造遺伝子および遺伝子発現を制御する該遺伝子の天然の関連配列を含むポリヌクレオチドが挙げられる。

【0032】

配列番号2または4のCASB616ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、配列番号1のヌクレオチド105～3068に含まれるポリペプチドコード配列または配列番号3のヌクレオチド26～3193に含まれるポリペプチドコード配列のそれぞれと同一であってよい。あるいは、該ヌクレオチド配列は、遺伝コードの重複（縮重）の結果として、やはり配列番号2または4のポリペプチドをコードする配列であってもよい。

【0033】

本明細書において使用される「ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド」という用語は、本発明のポリペプチド、特に配列番号2または4に記載のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする配列を含めたポリヌクレオチドを包含する。該用語は、ポリペプチドをコードする単一の連続的な領域または不連続的な領域を付加的な領域（これは、またコード配列および/または非コード配列を含んでいてもよい）と一緒に含めたポリヌクレオチド（例えば、組込み型ファージ、組込み型挿入配列、組込み型ベクター配列、組込み型トランスポゾン配列が介在するポリヌクレオチド、またはRNA編集もしくはゲノムDNA再構成に起因するポリヌクレオチド）も包含する。

【0034】

さらに本発明は、配列番号2または4の推定アミノ酸配列を有するポリペプチドの変異体をコードする本明細書に記載のポリヌクレオチドの変異体に関する。本発明のポリヌクレオチドの断片を用いて、例えば本発明の全長ポリヌクレオチドを合成することができる。

【0035】

さらに特に好ましい実施形態は、配列番号2または4のCASB616ポリペプチド

のアミノ酸配列を有し、該配列中で数個、2～3個、5～10、1～5、1～3、2、1個のアミノ酸残基が任意の組み合わせで置換、修飾、欠失および/または付加されていてもよいCASB616変異体をコードするポリヌクレオチドである。これらの中でとりわけ好ましいものは、CASB616ポリペプチドの性質および活性を変更しないサイレントの置換、付加および欠失である。

【0036】

使用目的でのさらに好ましい本発明のポリヌクレオチドは、配列番号2または4に記載のアミノ酸配列を有するCASB616ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに対して全長にわたり少なくとも85%の同一性があるポリヌクレオチド、および前記ポリヌクレオチドに相補的であるポリヌクレオチドである。あるいは、最もきわめて好ましいものは、CASB616ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに対して全長にわたり少なくとも90%の同一性がある領域を含んでなるポリヌクレオチド、およびそれに相補的なポリヌクレオチドである。これに関して、前記ポリヌクレオチドに対して全長にわたり少なくとも95%の同一性があるポリヌクレオチドは、特に好ましい。さらに少なくとも97%同一であるポリヌクレオチドは、少なくとも95%同一であるポリヌクレオチドの中できわめて好ましく、少なくとも98%同一および少なくとも99%同一であるポリヌクレオチドは、これらのポリヌクレオチドの中で特にきわめて好ましく、少なくとも99%同一であるポリヌクレオチドは、より好ましいものである。

【0037】

好ましい実施形態は、配列番号1または3のDNAによってコードされる成熟ポリペプチドと実質的に同じ生物学的機能または活性を保持するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである。

【0038】

本発明の特定の好ましい実施形態によれば、CASB616ポリヌクレオチド配列、例えば配列番号1または3のポリヌクレオチドに、特にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドの使用を提供する。

【0039】

さらに本発明は、本明細書において提供されるポリヌクレオチド配列にハイブ

リダイズするポリヌクレオチドの使用に関する。これに関して、とりわけ本発明は、本明細書に記載のポリヌクレオチドに、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドの使用に関する。本明細書で用いられる「ストリンジェントな条件」および「ストリンジェントなハイブリダイゼーション」という用語は、配列間に少なくとも95%の同一性および好ましくは少なくとも97%の同一性がある場合にのみ起こるハイブリダイゼーションを意味する。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の具体的な例としては、50%ホルムアミド、5×SSC(150mM NaCl, 15mM クエン酸三ナトリウム)、50mMリン酸ナトリウム(pH 7.6)、5×Denhardt溶液、10%デキストラン硫酸および20 µg/mlの変性し切断したサケ精子DNAを含有する溶液中、42°Cで一夜インキュベートし、次いでハイブリダイゼーションの支持体を 0.1×SSC中、約65°Cで洗浄することである。ハイブリダイゼーションおよび洗浄条件は、周知であり、かつSambrookら, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989)、特にその第11章中に例証されている。

【0040】

配列番号1または3に提供されるDNA配列を用いてスクリーニングすることによってCASB616遺伝子のコード領域を単離し、オリゴヌクレオチドプローブを合成することができる。次いで本発明の遺伝子の配列に相補的である配列を有する標識したオリゴヌクレオチドを用いて、cDNA、ゲノムDNAまたはmRNAのライブラリーをスクリーニングし、ライブラリーのどのメンバーに該プローブがハイブリダイズするかを決定する。

【0041】

完全長cDNAを得るための、または短鎖cDNAを伸長させるための、利用可能であり当業者に周知の方法がいくつかあり、例えば、cDNA末端高速増幅法(RACE)に基づいた方法がある(例えば、Frohmanら, PNAS USA 85; 8998-9002, 1988を参照のこと)。例えばMarathonTM技術(Clontech Laboratories Inc.)により示されるような、上記技法の最近の改良により、より長いcDNAの検索が大いに簡便化された。MarathonTM技術では、選択した組織より抽出されたmRNAからcDNAを作製し、各末端に「アダプター」配列を連結する。続いて、遺伝子特異的およびアダプ

ター特異的なオリゴヌクレオチドプライマーの組合せを用いて核酸増幅（PCR）を行い、DNAの「欠失」5'末端を増幅する。次に、「ネステッド(nested)」プライマー、すなわち増幅産物の内部にアニールするように設計されたプライマー（典型的には、アダプター配列のさらに3'側にアニールするアダプター特異的プライマーおよび選択した遺伝子配列のさらに5'側にアニールする遺伝子特異的プライマー）を用いてPCR反応を繰り返す。その後、この反応の産物をDNA塩基配列決定により解析し、この産物を既存のDNAに直接結合して全長DNAを構築し完全な配列を得るか、または5'プライマー設計用の新たな配列情報を用いて別の全長PCRを行うことにより、全長DNAを構築し完全な配列を得ることができる。

【0042】

本発明はまた、成熟タンパク質と、付加的なアミノ末端またはカルボキシル末端アミノ酸、もしくは成熟ポリペプチドの内部の付加的なアミノ酸(成熟形態が、例えば2以上のポリペプチド鎖を有する場合)とからなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの使用に関する。かかる付加的配列は、とりわけ前駆体から成熟形態へのタンパク質のプロセッシングにおいて役割を果たし、タンパク質輸送を可能にし、タンパク質の寿命を長くまたは短くし、あるいはアッセイまたは生産のためのタンパク質の操作を容易にすることができる。一般的にin vivoの場合、付加的なアミノ酸は、細胞性酵素によってプロセッシングされて成熟タンパク質から切り離される。

【0043】

一つ以上のプロ配列に融合された成熟形態のポリペプチドを有する前駆体タンパク質は、該ポリペプチドの不活性型形態であり得る。プロ配列が除去された場合にかかる不活性型前駆体は、一般的に活性化される。プロ配列の幾つかまたはすべては、活性化前に除去され得る。一般的に、かかる前駆体はプロタンパク質と呼ばれる。

【0044】

本発明の組換え体ポリペプチドは、当業界で周知の方法を用いて、発現系を含有する遺伝子操作宿主細胞から生産することができる。したがって、更なる態様において、本発明は、本発明のポリヌクレオチドを含有する発現系、該発現系に

より遺伝子操作された宿主細胞、および組換え法による本発明のポリペプチドの生産に関する。本発明のDNA構築物から誘導されたRNAを用いてこの種のタンパク質を生産するために、無細胞翻訳系を使用することもできる。

【0045】

組換え体生産に関しては、本発明のポリヌクレオチドの発現系またはその一部を組み込むために宿主細胞を遺伝子操作する。宿主細胞へのポリヌクレオチドの導入は、Davisら、Basic Methods in Molecular Biology (1986) および Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989) などの多くの標準的な実験室マニュアルに記載された方法により行うことができる。好適なこうした方法として、例えば、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAEーデキストラン媒介トランスフェクション、トランスベクション(transvection)、マイクロインジェクション、カチオン性脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、スクレープローディング(scrape loading)、弾丸導入(ballistic introduction)または感染などがある。

【0046】

好ましくは、本発明のタンパク質をトランス型チオレドキシン(thioredoxin in trans : TIT)と同時発現させる。プロテアーゼを必要とすること無しに、抗原をチオレドキシンの無い状態に維持するためには、シス型よりもトランス型のチオレドキシンを同時発現させることが好ましい。チオレドキシンの同時発現は本発明のタンパク質の可溶化を容易にする。また、チオレドキシンの同時発現はタンパク質の精製収率、精製されたタンパク質の溶解性および品質に重大な影響を与える。

【0047】

適当な宿主の代表的な例として、細菌細胞（例：ストレプトコッカス、スタフィロコッカス、大腸菌、ストレプトミセス、枯草菌）、真菌細胞（例：酵母、アスペルギルス）、昆虫細胞（例：ショウジョウバエS2、スポドプテラSf9細胞）、動物細胞（例：CHO、COS、HeLa、C127、3T3、BHK、HEK293、Bowesメラノーマ細胞）および植物細胞が挙げられる。

【0048】

多種多様な発現系を使用することができる。こうした発現系として、例えば、染色体、エピソームおよびウイルス由来の系、例えば、細菌プラスミド由来、バクテリオファージ由来、トランスポゾン由来、酵母エピソーム由来、挿入因子由来、酵母染色体エレメント由来、ウイルス（例：バキュロウイルス、SV40のようなパポバウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、仮性狂犬病ウイルス、レトロウイルス）由来のベクター、およびこれらの組合せに由来するベクター、例えば、コスミドやファージミドのようなプラスミドとバクテリオファージの遺伝的要素に由来するものがある。これらの発現系は発現を起こさせるだけでなく発現を調節する制御領域を含んでいてもよい。一般的に、宿主内でのポリペプチドの産生のためにポリヌクレオチドを維持し、増やし、発現することができる系またはベクターはどれも使用しうる。Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual（前掲）に記載されるような、日常的に用いられる周知の技法のいずれかにより、適当なヌクレオチド配列を発現系に挿入することができる。翻訳されたタンパク質を小胞体の内腔に、細胞周辺腔に、または細胞外の環境に分泌させるために、適当な分泌シグナルを目的のポリペプチドに組み込むことができる。これらのシグナルは目的のポリペプチドに対して内因性であっても、異種シグナルであってもよい。

【0049】

また、前記発現系はウイルスまたは細菌等の組換え生存微生物であってもよい。目的とする遺伝子を組換え生存ウイルスまたは細菌のゲノム内に挿入することができる。この生存ベクターを用いての接種またはin vivo感染により、抗原のin vivo発現および免疫応答の誘導がもたらされる。この目的のために使用するウイルスおよび細菌としては、例えば、ポックスウイルス（例えば、ワクシニアウイルス、鶏痘ウイルス、カナリア痘ウイルス）、アルファウイルス（シンドビスウイルス、セムリキ森林ウイルス、ヴェネズエラウマ脳炎ウイルス）、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ピコルナウイルス（ポリオウイルス、ライノウイルス）、ヘルペスウイルス（水痘-帯状ヘルペスウイルス等）、リステリア、サルモネラ、シゲラ、BCG、がある。これらのウイルスおよび細菌は有毒であっても、ま

たは生ワクチンを得るために種々の方法により弱毒化されていてもよい。そのような生ワクチンもまた、本発明の一部を成すものである。

【0050】

組換え細胞培養物から本発明のポリペプチドを回収し精製するには、硫酸アンモニウムまたはエタノール沈殿、酸抽出、アニオンまたはカチオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィーおよびレクチンクロマトグラフィーを含めた周知の方法を用いることができる。最も好ましくは、イオン金属アフィニティークロマトグラフィー(ion metal affinity chromatography:IMAC)が精製に用いられる。ポリペプチドが細胞内合成、単離および／または精製中に変性されるときは、タンパク質を再生させるための周知の技法を用いて、活性のあるコンフォメーションを復元することが可能である。

【0051】

本発明の別の重要な態様は哺乳動物において免疫学的応答を誘導、増強またはモジュレートする方法に関するものであり、この方法は、癌および自己免疫疾患および関連病態の予防または治療的処置のための抗体および／またはT細胞免疫応答を生ずるのに十分な本発明の断片または全長ポリヌクレオチドもしくはポリヌクレオチドを、哺乳動物に接種することを含んでなる。本発明のさらに別の態様は、哺乳動物を前記疾患からの予防または治療のための免疫応答を生じさせるような免疫学的応答を引き出すために、in vivo で本発明のポリペプチドをコードし、該ポリヌクレオチドの発現を指令するベクターまたは細胞を介して、本発明のポリペプチドを送達することを含んでなる、哺乳動物において免疫学的応答を誘導、増強またはモジュレートする方法に関する。

【0052】

本発明の更なる態様は、哺乳動物宿主に導入したとき、その哺乳動物において本発明のポリペプチドに対する免疫学的応答を誘導、増強またはモジュレートする免疫学的／ワクチン製剤（組成物）に関し、この組成物は本発明のポリペプチドもしくはポリヌクレオチドまたは上記で定義したその免疫原性断片を含有する

。ワクチン製剤は適当な担体をさらに含んでいてもよい。ポリペプチドは胃の中で分解される可能性があるので、非経口的に（例えば、皮下、筋肉内、静脈内または皮内注射により）投与することが好ましい。非経口投与に適した製剤としては、酸化防止剤、緩衝剤、静菌剤およびこの製剤を受容者の血液と等張にする溶質を含みうる水性および非水性の無菌注射液、並びに懸濁化剤または増粘剤を含みうる水性および非水性の無菌懸濁液がある。こうした製剤は1回量容器または数回量容器（例えば、密閉アンプルおよびバイアル）で提供することができ、また、使用直前に無菌の液状担体を添加するだけでよい凍結乾燥状態で保管することもできる。

【0053】

本発明の更なる態様は、本発明の断片または完全なポリペプチドもしくはポリヌクレオチド、あるいは本発明のポリペプチドもしくはポリヌクレオチドを含む分子に対する免疫応答を、哺乳動物の免疫系からの細胞を使用してin vitroで誘導し、前記哺乳動物のこれらの活性化された免疫細胞を疾病の治療のために再注入することに関する。免疫系からの細胞の活性化は、本発明の完全なポリペプチドもしくはポリヌクレオチド、または本発明のポリペプチドもしくはポリヌクレオチドを含む分子と共に種々の免疫モジュレーター分子の存在下または不在下でin vitroにてインキュベートすることにより達成される。本発明の更なる態様は、本発明の部分もしくは完全なポリペプチドまたは本発明のポリペプチドを含む分子をin vitroで供給することにより改変した抗原提示細胞の投与による哺乳動物の免疫化、ならびに免疫原性による方法にてin vivo投与することによる前記免疫化に関する。あるいは、抗原提示細胞を本発明の断片もしくは完全なポリヌクレオチドまたは本発明のポリヌクレオチドを含む分子を含有するベクターでin vitroでトランスフェクトして、対応するポリペプチドを発現させることができ、さらに免疫原性的方法でin vivoにて投与することができる。

【0054】

また、本発明のワクチン製剤は該製剤の免疫原性を増強するためのアジュバント系を含んでいてもよい。好ましくは、前記アジュバント系は優先的にTH1型の応答を生じさせる。

【0055】

免疫応答は極端な2つのカテゴリー(体液性または細胞媒介性免疫応答[慣例では、それぞれ抗体による、および細胞エフェクターによる防御機構によって特徴付けられている])に大まかに区別することができる。これらの応答カテゴリーは、TH1型応答(細胞媒介性応答)およびTH2型免疫応答(体液性応答)と呼ばれている。

【0056】

極端なTH1型免疫応答は、抗原特異的でハプロタイプ拘束性細胞傷害性Tリンパ球の生成およびナチュラルキラー細胞の応答により特徴付けられる。マウスではTH1型応答はIgG2aサブタイプの抗体の生成により特徴付けられることが多いが、ヒトではこれらはIgG1型抗体に相当する。TH2型免疫応答はマウスIgG1、IgAおよびIgMを含む広範囲の免疫グロブリンアイソタイプの生成により特徴付けられる。

【0057】

これらの2タイプの免疫応答の発生を陰で駆動している力はサイトカインであると考えられる。高濃度のTH1型サイトカインは所与の抗原に対して細胞媒介性免疫応答を好んで誘導する傾向があるが、高濃度のTH2型サイトカインは前記抗原に対して体液性免疫応答を好んで誘導する傾向がある。

【0058】

TH1およびTH2型免疫応答の区別は絶対的なものではない。実際、ある人は、主にTH1であるとか、主にTH2であるとか記載されるような免疫応答を支持している。しかしながら、多くの場合、MosmannおよびCoffmanによりマウスCD4+ve T細胞クローンについて記載された内容(Mosmann, T.R. および Coffmann, R.L. (1989) TH 1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. Annual Review of Immunology, 7, p145-173)から、サイトカインのファミリーを考慮するのが都合がよい。慣例上、TH1型応答はTリンパ球によるINF- γ およびIL-2サイトカイン産生と関連している。TH1型免疫応答の誘導に直接関わることの多い他のサイトカインは、IL-12等のT細胞によっては産生されない。対照的に、TH2型応答はIL-4、IL-5、IL-6およびIL13の分

泌に関連している。

【0059】

特定のワクチンアジュバントがTH1またはTH2型のいずれかのサイトカイン応答の刺激にとりわけ適していることが知られている。慣例上、ワクチン接種または感染後の免疫応答におけるTH1：TH2平衡の最良の指標としては、抗原再刺激後の *in vitro*でのTリンパ球によるTH1またはTH2サイトカイン産生の直接測定、および／または抗原特異的抗体応答のIgG1：IgG2a比の測定が挙げられる。

【0060】

従って、TH1型アジュバントは、抗原により *in vitro*で再刺激された際に優先的に単離されたT細胞集団を刺激して高濃度のTH1型サイトカインを産生し、CD8+細胞傷害性Tリンパ球の発生およびTH1型アイソタイプに関連した抗原特異的免疫グロブリン応答を促進するものである。

【0061】

TH1細胞応答を優先的に刺激し得るアジュバントは、国際特許出願番号W094/00153およびW095/17209に記載されている。

【0062】

3De-0-アシル化モノホスホリルリピドA (3D-MPL) はそうしたアジュバントの1つである。これはGB2220211(Ribi)により知られている。化学的には、該アジュバントは3De-0-アシル化モノホスホリルリピドAと4、5、6本のアシル化された鎖との混合物であり、Ribi Immunochem. Montanaにより製造される。3De-0-アシル化モノホスホリルリピドAの好ましい形態は、欧州特許第0 689 454 B1号(SmithKline Beecham Biologicals SA)に開示されている。

【0063】

好ましくは、3D-MPLの粒子は、0.22ミクロンの膜を通り抜けて滅菌ろ過されるのに十分な程度小さい(欧州特許第0 689 454 B1号)。3D-MPLは投与量あたり10 μ g～100 μ g、好ましくは25～50 μ gの範囲で存在する。この場合、抗原は通常投与量あたり2～50 μ gの範囲で存在する。

【0064】

別の好ましいアジュバントは、QS21(Quillaja Saponaria Molinaの樹皮から得

た、Hplc精製した毒性の無い画分)を含む。任意でこれを3De-0-アシル化モノホスホリルリピドA (3D-MPL) と、場合により担体と共に混合することもできる。

【0065】

QS21の製造方法は米国特許第5,057,540号に開示されている。

【0066】

QS21を含有する反応性の無いアジュバント製剤は以前に記載されている(W096/33739)。QS21およびコレステロールを含むそうした製剤は、抗原と共に製剤する場合には良好なTH1刺激性アジュバントであることが示されている。

【0067】

TH1細胞応答の優先的刺激物質である別のアジュバントとしては、免疫調節性の(immunomodulatory)オリゴヌクレオチド、例えばW096/02555に開示されている非メチル化CpG配列が挙げられる。

【0068】

また、前述したもののような異なるTH1刺激アジュバントの組み合わせも、TH1細胞応答の優先的な刺激物質であるアジュバントを提供する際に考慮される。例えば、QS21を3D-MPLと共に製剤化することができる。通常、QS21:3D-MPL比は1:10~10:1であり、好ましくは1:5~5:1であり、多くの場合は実質的に1:1である。最適な共働作用のために好ましい範囲は、2.5:1~1:1の3D-MPL:QS21である。

【0069】

好ましくは、本発明のワクチン組成物中に担体も存在する。前記担体は水中油型エマルジョンであっても、リン酸アルミニウムまたは水酸化アルミニウム等のアルミニウム塩であってもよい。

【0070】

好ましい水中油型エマルジョンは代謝可能な油、例えばスクアレン、 α -トコフェロールおよびTween80を含む。特に好ましい態様では本発明のワクチン組成物中の抗原をそのようなエマルジョン中でQS21および3D-MPLと組み合わせる。更に、前記水中油型エマルジョンはスパン85および／またはレシチンおよび／またはトリカプリリン(tricaprylin)を含んでいてもよい。

【0071】

通常、ヒトへの投与の場合は、QS21および3D-MPLは投与量あたり1~200 μg の範囲内、例えば10~100 μg 、好ましくは10~50 μg の範囲内でワクチン中に存在する。通常、水中油型エマルジョンは、2~10%のスクアレン、2~10%の α -トコフェロールおよび0.3~3%のTween80を含む。好ましくは、スクアレン： α -トコフェロール比は1以下であり、これによってより安定なエマルジョンが提供される。また、スパン85は1%という濃度で存在しうる。幾つかの場合、本発明のワクチンが更に安定化剤を含むことが有益であろう。

【0072】

毒性の無い水中油型エマルジョンは、好ましくは、毒性の無い油(例えばスクアレンもしくはスクアレン)、または乳化剤(例えばTween80)を水性担体中に含む。前記水性担体は、例えば、リン酸緩衝化生理食塩水でありうる。

【0073】

水中油型エマルジョン中にQS21、3D-MPLおよびトコフェロールを含む特に有効なアジュバント製剤はW095/17210に記載されている。

【0074】

また本発明は、本発明のワクチン製剤を他の抗原、特に癌、自己免疫疾患および関連病態の治療に有用な抗原と組み合わせて含む多価ワクチン組成物を提供する。そのような多価ワクチン組成物は前記のTH1誘導性アジュバントを含みうる。

【0075】

本発明は、また診断用試薬としての本発明のポリヌクレオチド由来のプライマー形態のポリヌクレオチドの使用、および本発明のポリペプチドに特異的な抗体または試薬の形態のポリペプチドの使用に関する。

【0076】

発癌経路に沿った非常に初期の変化の検出を可能にする血液または組織中の遺伝的または生化学的マーカーを同定することは、患者に対する最良の治療を決定するのに役立つであろう。代理の腫瘍マーカー(例えばポリヌクレオチド発現)を用いて、癌の様々な形態および状態を診断することができる。本発明のポリヌクレオチドの発現レベルを同定することは、癌性障害の病期分類および癌組織の

性質の悪性度分類に有用であろう。病期分類は、癌の進行をモニターし、生検された領域における悪性組織の有無で決定される。本発明のポリヌクレオチドは、癌の攻撃度（例えば身体の様々な領域における癌の存在）に対するマーカーを同定することによって病期分類を成し遂げるのに役立つ。癌の悪性度分類は、腫瘍がそれと同じ型の正常組織にどのくらい類似しているかを示し、悪性度分類は癌の細胞形態学および他の分化マーカーによって評価される。本発明のポリヌクレオチドは、腫瘍細胞の分化状態の決定に役立つことができるので、腫瘍の悪性度を決定するのに有用であり得る。他方で、本発明のポリペプチドは、ストローマ細胞によって産生され得るので、その場合には、該ポリペプチドの特異的な発現または示差的な発現は、疾患状態のマーカーとなる。

【0077】

診断アッセイは、癌、自己免疫疾患、および関連病態への罹りやすさを、被験者由来のサンプルからポリペプチドまたはmRNAの異常な減少レベルまたは増加レベルを決定することを含めた方法による診断を通じて、診断または判定する方法を提供する。このような診断方法は、示差的発現として知られている。特定の遺伝子の発現が、疾患組織と正常組織との間で比較される。比較される2つの組織間のポリヌクレオチド関連遺伝子、mRNAまたはタンパク質の差異、例えば分子量、アミノ酸配列もしくはヌクレオチド配列、または相対的存在度の差異は、患っていることが疑われるヒトの組織中での該遺伝子、または該遺伝子を調節する遺伝子の変化を示す。

【0078】

発現の低下または増加は、RNAレベルで測定することができる。ポリA+RNAを、最初に2つの組織から単離し、示差的に発現する本発明のポリヌクレオチドに対応した遺伝子によってコードされるmRNAの検出を、例えば組織切片のin situ ハイブリダイゼーション、逆転写酵素PCR、ポリA+mRNAを含有するノーザンブロットを用いて、もしくは他の直接的または間接的RNA検出法によって行う。正常組織と比較して疾患組織中の所定のRNAの発現の増加または減少は、転写産物および/または発現したタンパク質が該疾患に対して何らかの役割を有することを示唆する。従って正常レベルに対して配列番号1または3に対応するmRNAのより高

いレベルまたはより低いレベルであるという検出は、患者における癌の存在を示す。

【0079】

サンプル中のmRNA発現レベルは、サンプルからの発現配列タグ(EST)のライブラリーの作製によって決定することができる。該ライブラリー中のESTの相対的な表示を用いて、出発サンプル中の遺伝子転写産物の相対的な表示を評価することができる。次いで該試験のEST分析を、参照サンプルのEST分析と比較し、目的のポリヌクレオチドの相対的な発現レベルを決定することができる。

【0080】

他のmRNA分析は、遺伝子発現の連続分析(SAGE)方法論(Velculescuら, Al. Science (1995) 270:484)、ディファレンシャルディスプレイ方法論(例えば、US 5, 776,683)またはヌクレオチド相互作用の特異性に依存するハイブリダイゼーション分析を用いて実施することができる。

【0081】

あるいは、比較はタンパク質レベルでも行うことができる。2つの組織中のタンパク質サイズは、抗体を用いた2つの組織からのタンパク質抽出物のウエスタンブロットにおいてポリペプチドを検出することで比較することができる。タンパク質の発現レベルおよび細胞下局在は、対応するタンパク質に対する抗体を用いて免疫学的に検出することもできる。宿主由来のサンプル中のタンパク質、例えば本発明のポリペプチドのレベルを決定するために用いることができるさらなるアッセイ技術は、当業者に周知である。疾患組織中のポリペプチド発現レベルを正常組織中の同様のタンパク質発現レベルと比較した際の増加したレベルまたは減少したレベルは、発現したタンパク質が疾患に関与しているかもしれないことを示す。

【0082】

本発明のアッセイにおいて、診断は、配列番号1または3に記載の少なくとも1つの配列によってコードされる遺伝子産物発現レベルの検出によって決定することができる。疾患組織対正常組織のmRNAレベルまたはタンパク質レベルの比較を用いて、疾患の進行または寛解傾向を追跡することもできる。

【0083】

サンプル中の多数のポリヌクレオチド配列を、ポリヌクレオチドアレイ法を用いてアッセイすることができる。これらを用いて、遺伝子の示差的発現を調査し、遺伝子機能を決定することができる。例えば、配列番号1または3のポリヌクレオチド配列のアレイを用いると、該ポリヌクレオチドのどれが正常細胞と癌細胞の間で示差的に発現されるかを決定することができる。本発明の1つの実施形態において、配列番号1または3のヌクレオチド配列またはその断片を含んでなるオリゴヌクレオチドプローブのアレイを構築して、例えば遺伝子突然変異の効率的なスクリーニングを実施することができる。アレイ技術の方法は、周知であり、一般的な応用可能性を有し、さらに該方法を用いて、遺伝子発現、遺伝的連関および遺伝的多様性を含めた分子遺伝学における種々の疑問を解決することができる(例えば、M. Cheeら, Science, Vol 274, pp610-613 (1996)を参照のこと)。

【0084】

本明細書で使用される「診断」という用語には、被験者の疾患への罹りやすさの決定、被験者が現在疾患に罹っているか否かの決定およびまた疾患に罹った被験者の予後判定が含まれる。

【0085】

本発明は、さらに

- (a) 本発明のポリヌクレオチド、好ましくは配列番号1もしくは3のヌクレオチド配列またはその断片、
 - (b) (a) のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列、
 - (c) 本発明のポリペプチド、好ましくは配列番号2もしくは4のポリペプチドまたはその断片、または
 - (d) 本発明のポリペプチド、好ましくは配列番号2もしくは4のポリペプチドに対する抗体、
- を含んでなる、診断アッセイを実施するための診断用キットに関する。

【0086】

また、本発明のヌクレオチド配列は染色体位置決定にも有用である。この配列

は個々のヒト染色体上の特定の位置を特異的にターゲティングし、その特定位置とハイブリダイズすることができる。本発明に従って関連配列をマッピングすることは、これらの配列と遺伝子関連疾患とを相関させるうえで重要な第一段階である。ひとたび配列が正確な染色体位置にマップされたら、その染色体上のその配列の物理的位置を遺伝的地図データと相関させることができる。この種のデータは、例えば、V. McKusick, Mendelian Inheritance in Man (Johns Hopkins University Welch Medical Library からオンラインで入手可能) 中に見いだせる。その後、同一の染色体領域にマップされた遺伝子と疾患との関係を連鎖解析（物理的に隣接した遺伝子の共遺伝）により確認する。罹患個体と非罹患個体とのcDNAまたはゲノム配列の差異も調べることができる。

【0087】

本発明のポリペプチド、その断片もしくは類似体、またはそれらを発現する細胞は、本発明のポリペプチドに免疫特異的な抗体を生産するための免疫原としても使用することができる。「免疫特異的」とは、その抗体が従来技術における他の関連ポリペプチドに対するその親和性よりも本発明のポリペプチドに対して実質的に高い親和性を示すことを意味する。

【0088】

さらなる態様において、本発明は本発明のポリペプチドまたはその免疫原性断片（本明細書中上記にて定義したとおりである）に対して免疫特異的な抗体を提供する。好ましくは、該抗体はモノクローナル抗体である。

【0089】

本発明のポリペプチドに対する抗体は、慣用のプロトコルを用いて、動物（好ましくはヒト以外の動物）に該ポリペプチドまたはエピトープを含む断片、類似体もしくは細胞を投与することにより得られる。モノクローナル抗体の調製には、連続細胞系の培養物から抗体を産生させる任意の技法を用いることができる。例を挙げると、ハイブリドーマ法 (Kohler, G.およびMilstein, C., Nature (1975) 256:495-497)、トリオーマ法、ヒトB細胞ハイブリドーマ法 (Kozborら, Immunology Today (1983) 4:72) およびEBV-ハイブリドーマ法 (Coleら, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, 77-96, Alan R. Liss, Inc., 1985) な

どがある。

【0090】

本発明のポリペプチドに対する一本鎖抗体を産生するために、米国特許第4,946,778号に記載されるような一本鎖抗体の調製法も適応することができる。また、ヒト化抗体を発現させるために、トランスジェニックマウスまたは他の哺乳動物を含む他の生物を利用することができる。

【0091】

前記の抗体を用いて、そのポリペプチドを発現するクローンを単離・同定したり、アフィニティークロマトグラフィーでそのポリペプチドを精製することもできる。

【0092】

本発明の抗体はまた、癌（特に卵巣癌および大腸癌）、自己免疫疾患および関連病態を予防または治療するためにも用いられうる。

【0093】

本発明の更なる態様は哺乳動物において免疫学的応答を誘導またはモジュレートする方法に関するものであり、この方法は、特に前記疾患の症状もしくは進行を防ぐかまたは改善するための抗体および／またはT細胞免疫応答を生ずるのに十分な本発明のポリペプチドを哺乳動物に接種することを含んでなる。本発明のさらに別の態様は、哺乳動物を前記疾患から防御する抗体を産生させるような免疫学的応答を誘導するために、*in vivo* で本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの発現を指令するベクターを介して該ポリペプチドを送達することを含んでなる、哺乳動物において免疫学的応答を誘導またはモジュレートする方法に関する。

【0094】

それゆえ、本発明によって、CASB616ポリペプチド活性の存在、該活性の過剰、または該活性の過少発現のいずれかと関連した、例えば癌および自己免疫疾患、特に卵巣癌および大腸癌などの異常な状態を治療する方法が提供されることが理解されるであろう。

【0095】

さらに本発明は、CASB616ポリペプチドの機能を刺激または抑制する化合物を同定するための化合物のスクリーニング法を提供する。一般的には、前記疾患の治療および予防目的のためにアゴニストまたはアンタゴニストが使用される。種々の供給源、例えば、細胞、無細胞調製物、化学物質ライブラリーおよび天然産物の混合物から化合物を同定することができる。このように同定されたアゴニスト、アンタゴニストまたはインヒビターは、場合により、該ポリペプチドの天然のまたは修飾された基質、リガンド、受容体、酵素などであってよく、また、その構造的または機能的なミメティックであってもよい (Coliganら, *Current Protocols in Immunology* 1(2): Chapter 5 (1991)を参照のこと)。スクリーニング法は当業者には公知であろう。さらなるスクリーニング法は、例えば D. Bennettら, *J. Mol. Recognition*, 8:52-58 (1995) および K. Johansonら, *J. Biol. Chem.*, 270(16):9459-9471 (1995)ならびに本明細書中の引用文献にみられる。

【0096】

したがって本発明は、本発明のポリペプチドの機能を刺激または抑制する化合物を同定するためのスクリーニング法であって、以下：

(a) 候補化合物と、上記ポリペプチド（または該ポリペプチドを担持している細胞もしくはその膜）またはその融合タンパク質との結合を、該候補化合物に直接または間接的に結合させた標識により測定すること、

(b) 候補化合物と、上記ポリペプチド（または該ポリペプチドを担持している細胞もしくはその膜）またはその融合タンパク質との結合を、標識競合物質の存在下で測定すること、

(c) 候補化合物が上記ポリペプチドの活性化または抑制により生ずるシグナルをもたらすか否かを、該ポリペプチドを担持している細胞または細胞膜に適した検出系を用いて調べること、

(d) 候補化合物と、請求項1に記載のポリペプチドを含有する溶液とを一緒にして混合物を調製し、該混合物中の該ポリペプチドの活性を測定して、該混合物の活性をスタンダードと比較すること、または

(e) 候補化合物が細胞における上記ポリペプチドをコードするmRNAおよび該ポリペプチドの産生に及ぼす効果を例えばELISAアッセイを用いて検出すること

、
よりなる群から選択される方法を含んでなるスクリーニング法を提供する。

【0097】

膜に結合した受容体または可溶性の受容体が存在するのであれば、当業界で公知の標準的な受容体結合法によりこの種の受容体を同定するために本発明のポリペプチドを用いることができる。また周知のスクリーニング法を用いて、その受容体への本発明のポリペプチドの結合に関して競合する、本発明のポリペプチドのアゴニストまたはアンタゴニストを（もし存在するのであれば）同定することもできる。

【0098】

かくして、他の態様において、本発明は、本発明のポリペプチドに対するアゴニスト、アンタゴニスト、リガンド、受容体、基質、酵素など、またはこの種のポリペプチドの産生を低減または増加させる化合物を同定するためのスクリーニングキットに関し、このキットは、

- (a) 本発明のポリペプチド、
 - (b) 本発明のポリペプチドを発現している組換え細胞、
 - (c) 本発明のポリペプチドを発現している細胞膜、または
 - (d) 本発明のポリペプチドに対する抗体、
- を含んでなり、前記ポリペプチドは好ましくは配列番号2のポリペプチドである。

当業者であれば、本発明のポリペプチドは、その構造に基づいて該ポリペプチドのアゴニスト、アンタゴニストまたはインヒビターを設計する方法にも使用できることが容易に理解されよう。この方法は、

- (a) 最初に該ポリペプチドの三次元構造を解析し、
- (b) アゴニスト、アンタゴニストまたはインヒビターの確実と思われる反応部位または結合部位の三次元構造を想定し、
- (c) 想定された反応部位または結合部位と結合または反応すると予想される候補化合物を合成し、そして
- (d) その候補化合物が実際にアゴニスト、アンタゴニストまたはインヒビター

であるか否かを調べる、
ことを含んでなる。

【0099】

また、遺伝子治療を利用して、被験者の適切な細胞によりCASB616ポリペプチドを内生的に産生させることもできる。遺伝子治療の概要については、Human Molecular Genetics, T StrachanおよびA P Read, BIOS Scientific Publishers Ltd(1996)中、20章 Gene Therapy and other Molecular Genetic-based Therapeutic Approaches（および本明細書で引用した引用文献）を参照のこと。

【0100】

ワクチン調製については、Pharmaceutical Biotechnology, Vol.61 Vaccine Design-the subunit and adjuvant approach (PowellおよびNewmanによる編集), Plenum Press, 1995; New Trends and Developments in Vaccines (Vollerらによる編集), University Park Press, Baltimore, Maryland, U.S.A. 1978に一般的に記載されている。リポソーム内へのカプセル化は、例えばFullerton, 米国特許第4,235,877号に記載されている。タンパク質の巨大分子へのコンジュゲート化は、例えばLikhite, 米国特許第4,372,945号、およびArmorら, 米国特許第4,474,757号により開示されている。

【0101】

各ワクチン用量中のタンパク質量は、典型的なワクチンにおいては、重大かつ不利益な副作用を引き起こすことなく免疫防御応答を誘導する量として選択される。そのような量は、用いた特定の免疫原によって異なるであろう。一般的には、各用量はタンパク質を1~1000 μ g、好ましくは2~100 μ g、最も好ましくは4~40 μ g含むことが期待される。特定のワクチンについての最適な量は、被験者における抗体力価およびその他の応答の測定を伴う標準的研究により確定することができる。最初のワクチン接種に引き続いて、被験者は約4週間の間に1回の追加免疫を受けることもある。

【0102】

「単離された」とは、天然の状態から「人間の手によって」改変されたことを意味する。「単離された」組成物または物質が天然に存在するのであれば、それ

はそのもとの環境から変化しているか分離されており、またはその両方である。例えば、生存している動物の体内に自然界で存在するポリヌクレオチドまたはポリペプチドは「単離された」ものではないが、その天然状態の共存物質から分離されたポリヌクレオチドまたはポリペプチドは、本明細書中で用いられるように、「単離された」ものである。

【0103】

「ポリヌクレオチド」とは、一般に任意のポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドを指し、これは一本鎖および二本鎖の領域を含む、修飾されていないRNAもしくはDNA、または修飾されたRNAもしくはDNAであり得る。

【0104】

本明細書中で用いる「変異体」とは、基準のポリヌクレオチドまたはポリペプチドと異なるが、不可欠な性質を保持しているポリヌクレオチドまたはポリペプチドのことである。典型的なポリヌクレオチドの変異体は基準ポリヌクレオチドとヌクレオチド配列の点で相違する。この変異体のヌクレオチド配列の変化は、基準ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのアミノ酸配列を変更しても、しなくてもよい。ヌクレオチドの変化は、以下で述べるように、基準配列によりコードされるポリペプチドのアミノ酸の置換、欠失、付加、融合および末端切断（トランケーション）をもたらさう。典型的なポリペプチドの変異体は基準ポリペプチドとアミノ酸配列の点で相違する。一般的には、基準ポリペプチドの配列と変異体の配列が全般的によく類似しており、多くの領域で同一となるような相違に限られる。変異体と基準ポリペプチドは任意に組み合わせた1以上の置換、欠失、付加によりアミノ酸配列が相違していてよい。置換または付加されるアミノ酸残基は遺伝子コードによりコードされるものであっても、なくてもよい。ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの変異体は対立遺伝子変異体のように天然に存在するものでも、天然に存在することが知られていない変異体であってもよい。ポリヌクレオチドおよびポリペプチドの天然に存在しない変異体は、突然変異誘発法または直接合成により作製することができる。

【0105】

当技術分野で知られた「同一性」とは、ポリペプチド配列またはポリヌクレオ

チド配列の比較により決定された、2以上のかかる配列間の類縁性のことである。当技術分野ではまた、「同一性」はポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列の鎖間の一致度(match)により決定された、このような配列間の配列類縁性の程度を意味する。「同一性」および「類似性」は公知の方法により難なく算出することができ、こうした方法として、例えば Computational Molecular Biology, Lesk, A.M.編, Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W. 編, Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M. and Griffin, H.G. 編, Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J. 編, M Stockton Press, New York, 1991; および Carillo, H. and Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48: 1073 (1988) に記載された方法があるが、これらに限らない。同一性を決定するための好ましい方法は、検討する配列間で最大級のマッチングが得られるように設計される。同一性および類似性を決定する方法は一般に入手可能なコンピュータプログラムに編集されている。2配列間の同一性および類似性を決定するための好ましいコンピュータプログラム法としては、GCGプログラムパッケージ (Devereux, J.ら, Nucleic Acids Research 12(1):387 (1984))、BLASTP、BLASTNおよびFASTA (Atschul, S.F.ら, J. Molec. Biol. 215:403-410 (1990)) があるが、これらに限らない。BLAST XプログラムはNCBIおよび他のソースから一般に入手可能である (BLAST Manual, Altschul, S.ら, NCBI NLM NIH Bethesda, MD 20894; Altschul, S.ら, J. Mol. Biol. 215: 403-410 (1990))。公知のSmith Watermanアルゴリズムも同一性の決定に使用することができる。

【0106】

使用した好適なアルゴリズムはFASTAである。このアルゴリズムを用いたポリペプチドまたはポリヌクレオチドの配列比較のための好適なパラメーターは、以下のものを含む：

ギャップペナルティー：12

ギャップ伸長ペナルティー：4

ワードサイズ：2、最大6

ポリペプチド配列をその他の方法で比較するための好ましいパラメーターは次のものを含む：

1) アルゴリズム：Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48: 443-453 (1970)

比較マトリックス：BLOSSUM62、Hentikoff and Hentikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 10915-10919 (1992)

ギャップペナルティー：12

ギャップ長ペナルティー：4

これらのパラメーターを用いて有効なプログラムは Genetics Computer Group (Madison WI) から「gap」プログラムとして一般に入手可能である。前記のパラメーターはポリペプチド比較のためのデフォルトパラメーター(default parameter) である（末端ギャップのペナルティーは無し）。

【0107】

ポリヌクレオチド配列を比較するための好ましいパラメーターは次のものを含む：

1) アルゴリズム：Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48: 443-453 (1970)；

比較マトリックス：マッチ＝+10、ミスマッチ＝0

ギャップペナルティー：50

ギャップ長ペナルティー：3

これらのパラメーターを用いて有用であるプログラムは Genetics Computer Group (Madison WI) から「gap」プログラムとして公に入手可能である。前記パラメーターはポリヌクレオチド比較のためのデフォルトパラメーターである。

【0108】

例として、本発明のポリヌクレオチド配列は、配列番号1の基準配列と同一である、すなわち基準配列に対して100%の同一性を有するか、または該基準配列に対して、一定の整数個までのヌクレオチド変異を含んでいてもよい。そのような変異は少なくとも1個のヌクレオチドの欠失、置換（トランジションおよびトランスバージョンを含む）または挿入よりなる群から選択され、こうした変異は基準ヌクレオチド配列の 5'もしくは 3'末端位置、またはこれらの末端位置の間

のどこに存在してもよく、基準配列中のヌクレオチドの間に個々に、または基準配列内に1以上の連続するグループとして散在する。ヌクレオチド変異の数は、配列番号1のヌクレオチドの総数に、それぞれの同一性%値の絶対比率（100で割った値）を掛け、その積を配列番号1のヌクレオチドの総数から差し引くことにより、すなわち、次式：

$$n_n \leq x_n - (x_n \cdot y)$$

により求めることができる。式中、 n_n はヌクレオチド変異の数であり、 x_n は配列番号1のヌクレオチドの総数であり、 y は例えば70%については0.70、80%については0.80、85%については0.85、90%については0.90、95%については0.95などであり、さらに x_n と y の非整数の積は、その積を x_n から引く前に、最も近似する整数に切り下げる。配列番号2のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列の改変は、そのコード配列にナンセンス、ミスセンスまたはフレームシフト突然変異を生じさせ、それにより、こうした変異後に該ポリヌクレオチドによりコードされたポリペプチドを改変させることができる。

【0109】

同様に、本発明のポリペプチド配列は、配列番号2の基準配列と同一である、すなわち基準配列に対して100%の同一性を有するか、または同一性%が100%未満であるように基準配列に対して一定の整数個までのアミノ酸変異を含むことができる。このような変異は少なくとも1個のアミノ酸の欠失、置換（保存的および非保存的アミノ酸置換を含む）または挿入よりなる群から選択され、これらの変異は基準ポリペプチド配列のアミノもしくはカルボキシ末端位置、またはこれらの末端位置の間のどこに存在してもよく、基準配列中のアミノ酸の間に個々に、または基準配列内に1以上の連続したグループとして散在する。アミノ酸変異の数は、配列番号2中のアミノ酸の総数にそれぞれの（100で割った）同一性%の絶対比率を掛け、その積を配列番号2中のアミノ酸の総数から引くことにより、すなわち次式により求められる。

【0110】

$$n_a \leq x_a - (x_a \cdot y)$$

式中、 n_a はアミノ酸変異の数であり、 x_a は配列番号2中のアミノ酸の総数であ

り、 y は例えば70%については0.70、80%については0.80、85%については0.85等であり、さらに x_a と y の非整数の積は、その積を x_a から引く前に、最も近似する整数に切り下げる。

【0111】

「相同体」とは、当技術分野において用いられる、被験配列に対し高度な配列近縁性を有するポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列を指す総称用語である。この類縁性は前述のように比較した配列間の同一性および／または類似性の程度を決定することにより定量化することができる。別々の種における機能的に等価なポリヌクレオチドまたはポリペプチドを意味する「オーソログ体」、同じ種内で考える場合に機能的に類似した配列を意味する「パラログ体」という用語は、この総称用語の範囲に含まれるものである。

【0112】

実施例

実施例1 リアルタイムRT-PCR分析

リアルタイムRT-PCR(U.Gibson, 1996, Genome Research: 6,996)を用いて複数の患者由来の腫瘍大腸組織と正常大腸組織の対における候補抗原のmRNA転写産物存在量を比較する。さらに、正常組織のパネルにおいて候補遺伝子のmRNAレベルを、この手法により評価する。

【0113】

正常大腸および腫瘍大腸由来の総RNAを、TriPure試薬(Boehringer)を用いて急速凍結生検材料から抽出する。正常組織由来の総RNAは、InVitrogenから購入するか、またはTriPure試薬を用いて急速凍結生検材料から抽出する。ポリ-A⁺ mRNAをオリゴ-dT磁気ビーズ(Dynal)を用いてDNAase処理後に総RNAから精製する。mRNAの定量化は、分光蛍光分析(VersaFluor, BioRad)によってSybrII染料(Molecular Probes)を用いて行う。リアルタイムPCR増幅用のプライマーは、TaqMan増幅条件用のデフォルトオプションを用いてPerkin-Elmer Primer Expressソフトウェアで設計する。

【0114】

リアルタイム反応を、各反応について標準PCRプロトコルにしたがって2ngの精

製mRNAを用いてアセンブルする。SybrI染料(Molecular Probes)をリアルタイム検出のために1/75000の最終希釈度で加える。増幅(40サイクル)およびリアルタイム検出は、Perkin-Elmer Biosystems PE7700システムにて通常の機器装置を用いて行う。Ct値を、PE7700 Sequence Detectorソフトウェアを用いて計算する。2つのCt値、すなわち腫瘍Ct(CtT)および対である正常大腸Ct(CtN)を、各患者のサンプルについて得る。リアルタイムPCRによって得られるCt値は、標的鋳型のコピー数に対数直線的に関連している。一般的な実験条件下でのPCR増幅の効率は、理論的な増幅効率に近似しているので、 $2^{(CtN - CtT)}$ は、2つの組織における相対的転写産物レベルの推定値(すなわち、腫瘍中のmRNA過剰発現の倍率)である。リアルタイムPCR反応を、17人の患者由来の生検材料において実施する。mRNA過剰発現のレベルは、各患者について記載のとおりに計算する。次いで候補抗原に対してのmRNA過剰発現の平均レベルおよび該候補抗原を過剰発現する患者の割合を、このデータセットから計算する。

【0115】

正常組織においては、候補抗原に対するCt値を、同じ組織サンプルで得られるアクチンのCt値と比較する。

【0116】

大腸癌/正常大腸サンプルにおけるリアルタイムPCRの結果

要約

【表1】

大腸の腫瘍におけるCASB616 を過剰発現する患者 (%)	大腸の腫瘍における 過剰発現の平均レベル (倍)
17/17 (100%)	17

3つの実験の詳細

【表2】

実験1 (6サンプル)						
	CtN (範囲)	CtN (平均)	CtT (範囲)	CtT (平均)	(CtN-CtT) (平均)	T過剰発現 (平均倍)
CASB616*						
プローブ1	30-34.5	32.3	28.5-31	29.8	2.5	5.7
プローブ2		26.3		26	4	16
プローブ3		26.6		27.1	2.7	6.5
実験2 (5サンプル)						
	CtN (範囲)	CtN (平均)	CtT (範囲)	CtT (平均)	(CtN-CtT) (平均)	T過剰発現 (平均倍)
CASB616	34-39	37.5	28-34.5	31	4.7	26
実験3 (6サンプル)						
	CtN (範囲)	CtN (平均)	CtT (範囲)	CtT (平均)	(CtN-CtT) (平均)	T過剰発現 (平均倍)
CASB616	38-40	39	29.5-35.5	32.5	7.7	207

*最初の実験において、3つの異なるプローブ対を用いた。

正常組織におけるリアルタイムPCRの結果

【表3】

		Ct値											
		Bl	Bra	Sk	Ce	He	Ki	Li	Lu	Sp	Pl	Re	Te
CASB616		31.5	29.5	20	32.5	34.5	31.5	30.5	31	30	29.5	28.5	31
アクチン		16	17	18.5	17.5	17.5	17	15.5	16.5	30	16	16.5	16.5

		Ao	Ad Gl	Lu 2	Pr	Te 2	Oe	St	Co	Sk Mu	Ov	Fa Tu	Ce 2
CASB616		24	30	21	29	22.5	33.5	30.5	22	30.5	24.5	25.5	28.5
アクチン		40	28.5	28.5	27	25.5	26	28	33.5	29	30.5	28.5	23.5

Bl: 膀胱; Bra: 脳; Sk: 皮膚; Ce: 頸部; He: 心臓; Ki: 腎臓; Li: 肝臓; Lu: 肺; Sp: 脾臓; Pl: 胎盤; Re: 直腸; Te: 精巣; Ao: 大動脈; Ad Gl: 副腎; Pr: 前立腺; Oe: 食道; St: 胃; Sk Mu: 骨格筋; Ov: 卵巣; Fa Tu: ファローピウス管。同じ組織からの異なるサンプルは、さらに数字で識別される。

【0117】

結論 CASB616遺伝子転写産物は、試験したすべての原発性大腸腫瘍において、

正常大腸と比べて有意に過剰発現している。大多数の正常組織における発現は、非常に低いようである。

【0118】

実施例2

DNAマイクロアレイ法

DNAマイクロアレイ法を用いて、複数のサンプルにおける大きなコレクションの遺伝子のmRNA発現プロファイルを試験する。この情報を用いて、リアルタイムPCRによって得られたデータを補足し、腫瘍および正常組織における遺伝子発現レベルの独立した測定を提供する。

【0119】

DNAマイクロアレイの現在の作製技術の例には、1)オリゴヌクレオチドを、写真平板法を用いた固相化学合成によってチップの表面上に合成する、Affymetrix「遺伝子チップ」アレイ、2)DNA溶液の小容量を固相（例えばガラス）の表面上に自動機械的に配置し、次いで固定化する、DNAスポッティング(spotting)技術が含まれる。いずれの場合にも、チップを、目的の組織(例えば正常組織、腫瘍など)から抽出して、さらに放射活性でまたは蛍光レポーター分子で標識したcDNAまたはcRNAとハイブリダイズさせる。標識した物質をチップにハイブリダイズさせ、チップ上の各配列に結合したプローブ量を、専門のスキャナーを用いて決定する。この実験は、単一の蛍光レポーター(または放射活性)を用いて組み立てることができ、あるいはまた2つの蛍光レポーターを用いても実施できる。後者の場合、2つのサンプルの各々を、2つのレポーター分子の一方で標識する。次いでこの2つの標識したサンプルを、DNAチップ上の配列に競合的にハイブリダイズさせる。2つの蛍光シグナルの比率を、チップ上の各配列について決定する。この比率を用いて、2つのサンプル中の転写産物の相対的存在量を計算する。詳細なプロトコルは、「DNA Microarrays: A practical approach. Schena M. Oxford University Press 1999」およびWorld Wide Web(<http://cmgm.stanford.edu/pbrown/protocols/index.html>、<http://arrayit.com/DNA-Microarray-Protocols/>)を含めた多数のソース、ならびに専門の配給業者(例えばAffymetrix)から利用可能である。

【0120】

実施例3

ESTプロフィール

実験的抗原組織発現の特性付けへの補足的なアプローチは、ヒトの「発現配列タグ(Expressed Sequence Tags) (ESTs)のデータベースを探索することである。ESTは、特定の組織または細胞系から抽出されたmRNAの集合から作製されたcDNAの小断片である。かかるデータベースは、現在、疾患の種々の型および状態からの腫瘍組織を含めて、数百ものcDNA組織ライブラリーから大量のEST(10^6)を提供する。情報科学ツールによって、CASB616配列の比較検索は、組織発現をさらに洞察するために実施される。

【0121】

CASB616配列を用いたデータベース検索の結果

【表4】

DbEST	ATG lib ID	説明	カテゴリー*
NCBI:580826	424	胎児の心臓	F
NCBI:581388	424	胎児の心臓	F
NCBI:584556	424	胎児の心臓	F
NCBI:1160708	882	NCI_CGAP_Co3 (12のプールされた大腸癌)	TC
NCBI:1150180	895	NCI_CGAP_Br2 (プールされた乳癌組織)	TB
NCBI:1150189	895	NCI_CGAP_Br2 (プールされた乳癌組織)	TB
NCBI:1150229	895	NCI_CGAP_Br2 (プールされた乳癌組織)	TB
NCBI:1150370	895	NCI_CGAP_Br2 (プールされた乳癌組織)	TB
NCBI:1777532	843	胎児	F
NCBI:2127996	1541	NCI_CGAP_Lu25	Tlg
NCBI:2129674	1541	NCI_CGAP_Lu25	Tlg
NCBI:2129684	1541	NCI_CGAP_Lu25	Tlg
NCBI:2649403	1540	NCI_CGAP_Co16	TC
NCBI:3415191	1918	シュナイダー (Schneider) 胎児の脳 00004	F
NCBI:24019	2	胎児の脳	F
NCBI:1942	2	胎児の脳	F
NCBI:79438	226	ヒトの胎盤	N
NCBI:982827	695	胎児の腎臓	F

* F: 胎児組織ライブラリー; TC: 大腸癌ライブラリー; TB: 乳癌ライブラリー; Tlg: 肺癌ライブラリー; N: 正常組織ライブラリー。

【0122】

実施例4ノーザン-サザンブロット分析

限られた量の腫瘍性大腸のcDNAと正常大腸のcDNAの混合物を、Advantage PCR(上記を参照のこと)によって増幅する。複数の正常組織由来のメッセンジャーRNAも同様の手法を用いて増幅する。増幅したcDNA(1 μ g)を、1.2%のアガロースゲル上に電気泳動し、さらにナイロン製の膜上に移行させる。該膜を、候補TAA cDNAの断片を用いて調製したプローブとハイブリダイズさせる(AlkPhos Direct System)。ノーザン-サザン分析は、腫瘍組織および正常組織中の転写産物のサイズ、スプライス変異体の存在および転写産物の存在量に関する情報を提供する。

【0123】

実施例5ノーザンブロット分析

ノーザンブロットを、1 μ gのポリA+mRNAのを用いて標準プロトコルに従い作製する。放射活性プローブを、Ready-to-Goシステム(Pharmacia)を用いて調製する。

【0124】

実施例6：6.1 腫瘍特異的抗原の発現および精製

ワクチン用途のために本発明の抗原を産生させるため、そして天然発現のタンパク質の免疫組織化学による特性評価に必要な抗体の迅速な精製および作製、または精製の追跡用のタンパク質断片またはタンパク質全体を産生させるために、微生物宿主における発現を用いる。

【0125】

組換えタンパク質が2つの微生物宿主、大腸菌および酵母(*Saccharomyces cerevisiae*または*Pichia pastoris*など)において発現され得る。このことによって、この特定の抗原産生にとって最良の特性を有する発現系の選択が可能である。一般的に、組換え抗原は大腸菌で発現され、試薬タンパク質は酵母で発現される。

【0126】

発現の戦略は、まず、組換え抗原の一次構造の設計を含む。一般に、抗原の免疫原性特性をモジュレートするのに有用な領域、免疫融合パートナー(IFP)をも含み得る発現融合パートナー(EFP)が、発現レベルを向上させるためにN末端に配置される。加えて、さらに精製を促進するのに有用なアフィニティ融合パートナー(AFP)がC-末端に含まれる。

【0127】

組換え株が入手可能な場合、組換え産物は、発現レベルの評価、および粗抽出物中の反応の分析によるタンパク質のさらなる可溶性の予測によって特徴付けられる。

【0128】

適当な培地上で増殖させ、組換えタンパク質の発現を誘導した後、全抽出物をSDS-PAGEで分析する。組換えタンパク質を、染色ゲルで視覚化し、特異的抗体を用いてウェスタンブロット分析で同定する。

【0129】

種々のタイプの発現した抗原を比較評価することで、さらなる精製および免疫学的評価に用いられることになる最も有望な候補の選別が可能になる。

【0130】

精製操作は、組換えタンパク質におけるアフィニティHis末端の存在に基づく古典的な手法に従う。典型的な実験では、破壊した細胞を濾過し、細胞抽出物を、組換えタンパク質を特異的に保持するイオン金属アフィニティクロマトグラフィー(Ion Metal Affinity Chromatography)(IMAC: Qiagen製の Ni^{++} NTA)にかける。保持されたタンパク質をリン酸バッファー中0~500mMのイミダゾール勾配(可能な限り界面活性剤の存在下)で溶出する。このステップの後、Imacステップの成功および混入物の性質に依存して最も適切のように陰イオン交換樹脂ステップおよびサイズ排除クロマトグラフィーステップを行う。

【0131】**6.2 抗体産生および免疫組織化学**

少量の比較的精製されたタンパク質を用いて、

- a) 正常または癌組織切片における免疫組織化学による発現を検出するため、
 - b) 発現を検出し、精製プロセス中のタンパク質を追跡するため(ELISA/ウェスタンブロット)、または
 - c) 精製タンパク質を特性評価/定量するため(ELISA)
- に、免疫学的ツールを作成することができる。

【0132】

6.2.1 ポリクローナル抗体：_____

免疫感作

2～3羽のウサギを、アジュバント3D-MPL/QS21中で処方した100 μ gのタンパク質にて、3週間間隔で3回筋肉投与(I.M.)により免疫感作する。各免疫感作の3週間後、血液サンプルを採取し、抗体価を、標準プロトコルにしたがってコーティング抗原としてタンパク質を用いて血清中でELISAによって評価する。

【0133】

ELISA _____

96ウェルマイクロプレート(maxisorb Nunc)を5 μ gのタンパク質で4℃にて一晩かけて被覆する。PBS NCS1%で37℃にて1時間飽和させた後、ウサギ血清の連続希釈液を37℃で1時間30分かけて加える(1/10から出発)。PBS Tween中で3回洗浄した後、抗ウサギビオチニル化抗血清(Amersham)を加える(1/5000)。プレートを洗浄し、ペルオキシダーゼ結合ストレプトアビジン(1/5000)を37℃で30分かけて加える。洗浄後、50 μ lのTMB(BioRad)を7分かけて加え、次いで反応を0.2MのH₂SO₄で停止させる。ODを450nmで測定し、SoftmaxProで中点希釈度を計算し得る。

【0134】

6.2.2 モノクローナル抗体 _____

免疫感作

5匹のBALB/cマウスを5 μ gの精製タンパク質にて3週間間隔で3回免疫感作する。II後14日目、3後1週間目にブリージングを行う。この血清を、被覆抗原として用いられる精製タンパク質についてElisaによって試験する。これらの結果(中点希釈度>10000)に基づいて、融合のために1匹のマウスを選別する。

【0135】

融合/HAT選別

標準プロトコルにしたがってPEG40%およびDMSO5%を用いて、脾臓細胞をSP2/0骨髓腫と融合する。次いで、細胞を96ウェルプレートに $2.5 \times 10^4 \sim 10^5$ 細胞/ウェルで接種して、耐性クローンをHAT培地中で選択する。これらのハイブリドーマの上清を特異的抗体のその含量について試験し、陽性の場合、限界希釈法を2サイクル行う。スクリーニングを2ラウンド行った後、3種のハイブリドーマを腹水(ascitis)産生用を選択する。

【0136】

6.2.3 免疫組織化学

抗体が入手可能な場合、

- ・正常組織に対する癌における本発明の抗原の発現のレベル、または
- ・その抗原を発現している一定のタイプの癌の割合、
- ・その他の癌のタイプもその抗原を発現するかどうか、
- ・癌組織においてその抗原を発現している細胞の割合、

を測定するために、免疫染色を正常または癌組織切片で行う。

【0137】

組織サンプル調製

切開後、組織サンプルをOCT化合物中でコルクディスク上にのせ、液体窒素(-160°C)中で予め過冷却したイソペンタン中で急速に凍結させる。次いで、ブロックを使用するまで-70°Cで保存する。7~10 μmの切片はクライオスタットチャンバー(-20、-30°C)中で作製される。

【0138】

染色

組織切片を室温(RT)で5分間乾燥し、アセトン中にRTにて10分間固定し、再び乾燥し、PBS0.5%BSA5%血清で飽和する。RTで30分間置いた後、直接または間接染色を抗原特異的抗体を用いて行う。直接染色は良好な特異性をもたらすが、染色の強さは小さく、一方間接染色は染色の強さは大きいが染色の特異性が低い。

【0139】

6.3 本発明の抗原に対するヒト細胞性免疫反応の分析

本発明の抗原の免疫学的な適切性はヒトT細胞のin vitro初回抗原刺激によって評価することができる。全てのT細胞リンパ球系および樹状細胞を健康なドナーのPBMC(末梢血単核細胞)(好ましくはHLA-A2サブタイプ)から誘導する。またHLA-A2.1/K^bトランスジェニックマウスをHLA-A2.1ペプチドのスクリーニングに用いる。

【0140】

新たに発見された抗原特異的CD8⁺ T細胞系を週1回のin vitro刺激により生じさせ、維持する。抗原または抗原由来のペプチドに応答したCD8系の γ -IFN産生および溶菌活性を標準方法で試験する。

【0141】

CD8⁺ T細胞系を生じさせるために2つのストラテジー、すなわちペプチドに基づく手法と全遺伝子に基づく手法が用いられる。両手法には、適当な送達システム中にクローニングするか、またはHLA結合ペプチドの配列を予測するのに用いられる、正確なリーディングフレームでの新たに発見された抗原の全長cDNAが必要である。

【0142】

ペプチドに基づく手法

HLA-A2結合ペプチド配列を、Parker'sアルゴリズムで予測する。次いで、ペプチドをHLA-A2.1/K^bトランスジェニックマウスモデル(Vitielloら)でスクリーニングする。予測を行うために用いられる配列は、EPHB2vである。なぜなら、EPHB2vは、付加的なC末端配列の伸長を有するEPHB2に同一であるからである。

【0143】

予測されるHLA_A0201対立遺伝子に結合するエピトープ：

【表5】

配列番号	開始位置	部分配列残基一覧	スコア*
5	948	MMMEDILRV	2979.496
6	11	LLLPLLAHV	1006.209
7	387	GLTEPRIYI	235.260
8	712	RQNDGQFTV	167.692
9	22	TLMDSTTAT	113.047
10	641	KLPGKREIFV	1338.876
11	10	LLLLpLLAAV	1006.209
12	947	QMMMeDILRV	427.474
13	810	WSYGivMWEV	115.285
14	554	FLIAvVVIAI	110.379

*この部分配列(subsequence)を含む分子の脱会合の半減期の評価

【0144】

簡単に述べると、トランスジェニックマウスをアジュバントを加えたHLA-A2ペプチドで免疫感作し、CD8応答(ペプチドでパルスした自己脾臓細胞の効率的な溶解により定義される)を誘導できないものをヒト系においてさらに分析する。

【0145】

ヒト樹状細胞(Romaniらにしたがって培養)をペプチドでパルスし、CD8で選別し刺激したT細胞に用いる(Facsによる)。週1回の刺激を数回行った後、CD8系をまずペプチドパルス化自己BLCL(EBV-B形質転換細胞系)にて試験する。ペプチドの適正なin vivoプロセッシングを確認するために、CD8系をcDNAトランスフェクト腫瘍細胞(HLA-A2トランスフェクトLnCaP、Skov3またはCAMA腫瘍細胞)にて試験する。

【0146】

全遺伝子に基づく手法

CD8+ T細胞系を、遺伝子銃でトランスフェクトした樹状細胞、レトロウイルスにより形質導入されたB7.1-トランスフェクト線維芽細胞、組換えポックスウイルス(Kimら)またはアデノウイルス(Butterfieldら)を感染させた樹状細胞のいずれかで抗原刺激する。ウイルス感染細胞は、抗原が高レベルで発現されるので抗原ペプチドを提示するのに非常に効率的であるが、ウイルスT細胞系の過剰増殖

を回避するために1回使用できるにすぎない。

【0147】

交互に刺激した後、CD8系を上記のようなcDNAトランスフェクト腫瘍細胞にて試験する。ペプチドの特異性および同一性を決定して免疫学的な有効性を確認する。

【0148】

参考文献

Vitielloら(L.Sherman), J. Exp. Med., J. Exp. Med., 1991, 173:1007-1015 ;
Romaniら, J. Exp. Med., 1994, 180:93-93 ;
Kimら, J. Immunother., 1997, 20:276-286 ;
Butterfieldら, J. Immunol., 1998, 161:5607-5613。

【0149】

本明細書に引用された全ての刊行物、例えば限定するものではないが、特許および特許出願などは、それぞれの刊行物が、あたかも完全に記載されているかの如く参照により本明細書に組み入れるものとする。

【0150】

配列情報

配列番号 1

1 aacaaaagct ggagctccac cgcggtggcg gccgctctag cccctggttc ggcccacctc
 61 tgaaggttcc agaatcgata gtgaattcgt ggggaagcgc agccatggct ctgcgaggcg
 121 tggggggccgc gctgctgctg ctgccgctgc tcgccgccgt ggaagaaacg ctaatggact
 181 ccactacagc gactgctgag ctgggctgga tgggtgcattc tccatcaggg tgggaagagg
 241 tgagtggtcta cgatgagaac atgaacacga tccgcacgta ccaggtgtgc aacgtgtttg
 301 agtcaagcca gaacaactgg ctacggacca agtttatccg gcgccgtggc gccaccgca
 361 tccacgtgga gatgaagttt tcggtgctg actgcagcag catccccagc gtgcttggct
 421 cctgcaagga gaccttcaac ctctattact atgaggctga ctttgactcg gccaccaaga
 481 ccttccccaa ctggatggag aatccatggg tgaaggtgga taccattgca gccgacgaga
 541 gcttctccca ggtggacctg ggtggccgcg tcatgaaaat caacaccgag gtgcgaggct
 601 tcggacctgt gtcccgcagc ggcttctacc tggccttcca ggactatggc ggctgcattg
 661 ccctcatcgc cgtgctgtgc ttctaccgca agtgcccccg catcatccag aatggcgcca
 721 tcttccagga aaccctgtcg ggggtgaga gcacatcgct ggtggctgcc cggggcagct
 781 gcatcgccaa tgcggaagag gtggatgtac ccatcaagct ctactgtaac ggggacggcg
 841 agtggctggg gcccatcggg cgctgcatgt gcaaagcagg cttcgaggcc gttgagaatg
 901 gcaccgtctg ccgaggttgt ccatctggga ctttcaaggc caaccaaggg gatgaggcct
 961 gtaccactcg tcccatcaac agccggacca cttctgaagg ggccaccaac tgtgtctgcc
 1021 gcaatggcta ctacagagca gacctggacc ccctggacat gccctgcaca accatcccc
 1081 ccgcgccccca ggctgtgatt tccagtgtca atgagacctc cctcatgctg gagtggaccc
 1141 ctccccgcga ctccggaggc cgagaggacc tcgtctacaa catcatctgc aagagctgtg
 1201 gctcggggccg ggggtgcctgc acccgctgcg gggacaatgt acagtacgca ccacgccagc
 1261 taggcctgac cgagccacgc atttacatca gtgacctgct ggcccacacc cagtacacct
 1321 tcgagatcca ggctgtgaac ggcgttactg accagagccc cttctcgccct cagttcgcct
 1381 ctgtgaacat caccaccaac caggcagctc catcggcagt gtccatcatg catcaggtga
 1441 gccgcaccgt ggacagcatt accctgtcgt ggtcccagcc agaccagccc aatggcgtga
 1501 tcctggacta tgagctgcag tactatgaga aggagctcag tgagtacaa gccacagcca
 1561 taaaaagccc caccaacacg gtcaccgtgc agggcctcaa agccggcgcc atctatgtct
 1621 tccaggtgcg ggcacgcacc gtggcaggct acggcgcta cagcggaag atgtacttcc
 1681 agaccatgac agaagccgag taccagacaa gcatccagga gaagttgcca ctcatcatcg
 1741 gctcctcggc cgctggcctg gtcttctcctc ttgctgtggt tgtcatcgcc atcgtgtgta
 1801 acagaagacg ggggtttgag cgtgctgact cggagtacac ggacaagctg caacactaca
 1861 ccagtggcca catgacccca ggcattgaaga tctacatcga tcctttcacc tacgaggacc
 1921 ccaacgaggc agtgcgggag tttgccagg aaattgacat ctctgtgtc aaaattgagc
 1981 aggtgatcgg agcaggggag tttggcgagg tctgcatggt ccacctgaag ctgccaggca
 2041 agagagagat ctttgtggcc atcaagacgc tcaagtcggg ctacacggag aagcagcgcc
 2101 gggacttcct gagcgaaagg tccatcatgt gccagttcga ccatcccaac gtcatccacc
 2161 tggaggggtgt cgtgaccaag agcacacctg tgatgatcat caccgagttc atggagatg
 2221 gctccctgga ctcttttctc cggcaaaacg atgggcagtt cacagtcattc cagctgggtg
 2281 gcatgcttcg gggcatcgca gctggcatga agtacctggc agacatgaac tatgttcacc
 2341 gtgacctggc tgcccgcac atctctgtca acagcaacct ggtctgcaag gtgtcggact
 2401 ttgggctctc acgctttcta gaggacgata cctcagaccc cacctacacc agtgccctgg
 2461 gcggaaagat ccccatccgc tggacagccc cggaaagccat ccagtaccgg aagttcacct
 2521 cggccagtga tgtgtggagc tacggcattg tcatgtggga ggtgatgtcc tatggggagc
 2581 ggccctactg ggacatgacc aaccaggatg taatcaatgc cattgagcag gactatcggc
 2641 tgccaccgcc catggactgc ccgagcgccc tgcaccaact catgctggac tgttggcaga
 2701 aggaccgcaa ccaccggccc aagttcgggc aaattgtcaa cagctagac aagatgatcc
 2761 gcaatcccaa cagcctcaaa gccatggcgc ccctctctc tggcatcaac ctgcccgtgc
 2821 tggaccgcac gatccccgac tacaccagct ttaacacggg ggacgagtgg ctggaggcca
 2881 tcaagatggg gcagtacaag gagagcttcg ccaatgccgg cttcacctcc tttgacgtcg
 2941 tgtctcagat gatgatggag gacattctcc gggttgggct cactttggct ggccaccaga
 3001 aaaaaatcct gaacagtatc caggtgatgc gggcgagat gaaccagatt cagtctgtgg
 3061 aggtttgaca ttcacctgcc tcggtcacc tcttctcca agccccgcc cctctgcccc
 3121 acgtgcccggc cctcctgggtg ctctatccac tgcagggcca gccactcgcc aggaggccac
 3181 gggccacggg aagaaccaag cgggtccagc cagcgagcgt caccaagaaa acatgcaact
 3241 caaacgacgg aaaaaaaaaa ggaatgggaa aaaagaaaac agatcctggg agggggcggg

```

3301 aaatacaagg aatatttttt aaagaggatt ctcataagga aagcaatgac tgttcttgcg
3361 ggggataaaa aagggtcttg gagattcatg cgatgtgtcc aatcggagac aaaagcagtt
3421 tctctccaac tccctctggg aaggtgacct ggccagagcc aagaaacact ttcagaaaaa
3481 caaatgtgaa ggggagagac aggggctcgc cttggctcct gtccctgctg ctcctctagg
3541 cctcactcaa caaccaagcg cctggaggac gggacagatg gacagacagc caccctgaga
3601 acccctcttg gaaaatctat tcctgccacc actgggcaaa cagaagaatt tttctgtctt
3661 tggagagtat tttagaaact ccaatgaaag acactgtttc tcctgttggc tcacagggct
3721 gaaaggggct tttgtcctcc tgggtcaggg agaacgcggg gacccag//

```

【0151】

配列番号2

```

1 malrrlgaal illpllaave etlmdsttat aelgwmvhpp sgweevsgyd enmntirtyq
61 vcnvfessqn nwlrtkfirr rgahrihvem kfsvrdcssi psvpgscket fnlyyyeadf
121 dsatktfpnw menpwwkvdt iaadesfsqv dlgrvmkin tevrsfgpvs rsgfylaifqd
181 yggcmsliav rvfyrkcpri iqngaifqet lsgaestslv aargsciana eevdvpikly
241 cngdgewlvp igrcmckagf eavengtvcv gcpsgtfkan qgdeacthcv insrttsega
301 tncvcrngyy radldpldmp cttipsapqa vissvnetsl mlewtpprds ggredlvyni
361 ickscgsgrg actrcgdnvq yaprqlgte priyisdlla htqytfeiqa vngvtdqspf
421 spqfasvnit tnqaapsavs imhqvsrtvd sitlswsqpd qpngvildye lqyyekelse
481 ynataikspt ntvvtvgglka gaiyvfvvra rtvagygrys gkmyfqtmta aeyqtsiqek
541 lpliigssaa glvfliavvv iaivcnrrgf eradseytdk lqhytsghmt pgmkiiyidpf
601 tyedpneavr efakeidisc vkieqvigag efgevcsghl klpgkreifv aiktllksgyt
661 ekqrrdflse asimgqfdhp nvihlegvvt kstpvmiite fmengslsdf lrqndgqftv
721 iqlvgmlrgi aagmkyladm nyvhrdlaar nilvnsnlvc kvsdfglsrf ledtdsdpty
781 tsalggkipi rwtapeaiqy rkftsasdvw sygvmwevm sygerpywdm tnqdvinaie
841 qdyrlpppmc cpsalhqlml dcwqkdrnhr pkfgqivntl dkmirnpnsl kamaplssgi
901 nlpilldrtip dytsfntvde wleaikmgqy kesfanagft sfdvvsqmmu edilrlgvtl
961 aghqkkilns iqvmraqmnq iqsvev

```

【0152】

配列番号3

```

1  gaattccgcc  ccgggaagcg  cagccatggc  tctgcggagg  ctggggggccg  cgctgctgct
61  gctgccgctg  ctgcgcgcgc  tggaagaaac  gctaattggac  tccactacag  cgactgctga
121  gctgggctgg  atggtgcata  ctccatcagg  gtgggaagag  gtgagtggct  acgatgagaa
181  catgaacacg  atccgcacgt  accaggtgtg  caacgtgttt  gagtcaagcc  agaacaactg
241  gctacggacc  aagtttatcc  ggcgcgctgg  cgcgccaccg  atccacgtgg  agatgaagtt
301  ttcgggtgct  gactgcagca  gcatccccag  cgtgcctggc  tcctgcaagg  agaccttcaa
361  cctctattac  tatgaggctg  actttgactc  ggccaccaag  accttcccc  actggatgga
421  gaatccatgg  gtgaagggtg  atacatttgc  agccgacgag  agcttctccc  aggtggacct
481  ggggtggcgc  gtcataaaaa  tcaacaccga  ggtgcggagc  ttcggacctg  tgtcccgcat
541  cggctttctac  ctggccttcc  aggactatgg  cggctgcatg  tccctcatcg  ccgtgctgtg
601  cttctaccgc  aagtgccccc  gcatcatcca  gaatggcgcc  atcttccagg  aaaccctgtc
661  gggggctgag  agcacatcgc  tgggtggctg  ccggggcagc  tgcatcgcca  atgcggaaga
721  ggtggatgta  cccatcaagc  tctactgtaa  cggggacggc  gagtggctgg  tgcccatcgg
781  gcgctgcatg  tgcaaagcag  gcttcgaggc  cgttgagaat  ggcaccgtct  gccgaggttg
841  tccatctggg  actttcaagg  ccaaccaagg  ggatgaggcc  tgcaccact  gtcccatcaa
901  cagccggacc  acttctgaag  gggccacca  ctgtgtctgc  cgcaatggct  actacagagc
961  agacctggac  cccctggaca  tgccctgcac  aaccatcccc  tccgcgcccc  aggctgtgat
1021  ttccagtgtc  aatgagacct  ccctcatgct  ggagtggacc  cctccccgcg  actccggagg
1081  ccgagaggac  ctctgtctaca  acatcatctg  caagagctgt  ggctcgggcc  ggggtgcctg
1141  caccogctgc  ggggacaatg  tacagtacgc  accacgccag  ctaggcctga  ccgagccacg
1201  catttacatc  agtgacctgc  tggccacac  ccagtacacc  ttcgagatcc  aggctgtgaa
1261  cggcggttact  gaccagagcc  ccttctcgcc  tcagttcgcc  tctgtgaaca  tcaccaccaa
1321  ccaggcagct  ccatcggcag  tgtccatcat  gcatcagggt  agccgcaccg  tggacagcat
1381  taccctgtcg  tgggtccagc  cagaccagcc  caatggcggt  atcctggact  atgagctgca
1441  gtactatgag  aaggagctca  gtgagtacaa  cgccacagcc  ataaaaagcc  ccaccaacac
1501  ggtcaccgtg  cagggcctca  aagccggcgc  catctatgtc  tccaggtgc  gggcacgcac

```

```

1561 cgtggcaggc tacgggcgct acagcggcaa gatgtacttc cagaccatga cagaagccga
1621 gtaccagaca agcatccagg agaagttagc actcatcacc ggctcctcgg ccgctggcct
1681 ggcttctctc attgctgtgg ttgtcatcgc catcgtgtgt aacagacggg ggtttgagcg
1741 tgctgactcg gactacacgg acaagctgca acactacacc agtggccaca tgaccccagg
1801 catgaagatc tacatcgatc ctttcaccta ctaggacccc aacgaggcag tgcgggagtt
1861 tgccaaggaa attgacatct cctgtgtcaa aattgagcag gtgatcggag caggggagtt
1921 tggcgagggtc tgcagtggcc acctgaagct gccaggcaag agagagatct ttgtggccat
1981 caagacgctc aagtccgggt acacggagaa gcagcgccgg gacttctctga gcgaagcctc
2041 catcatgggc cagtccgacc atcccaacgt catccacctg gaggtgtctg tgaccaagag
2101 cacacctgtg atgatcatca ccgagttcat ggagaatggc tccctggact ctttctctcg
2161 gcaaaacgat gggcagttca cagtcatcca gctgggtggc atgcttcggg gcctcgcagc
2221 tggcatgaag tacctggcag acatgaacta tgttcaccgt gacctggctg cccgcaacat
2281 cctcgtcaac agcaacctgg tctgaagggt gtccgacttt gggctctcac gcttcttaga
2341 ggacgatacc tcagacccca cctacaccag tgccctgggc ggaaagatcc ccacccgctg
2401 gacgaccccg gaagccatcc agtaccggaa gttcacctcg gccagtgatg tgtggagcta
2461 cggcatttgc atgtgggagg tgatgtccta tggggagcgg cctactggg acatgaccaa
2521 ccaggatgta atcaatgcca ttgagcagga ctatcggctg ccaccgcca tggactgccc
2581 gagcgccctg caccaactca tgctggactg ttggcagaag gaccgcaacc accggcccaa
2641 gttcggccaa attgtcaaca cgctagacaa gatgatccgc aatcccaaca gcctcaaagc
2701 catggcgccc ctctcctctg gcatcaacct gccgctgctg gaccgcacga tccccgacta
2761 caccagcttt aacacgggtg acgagtggct ggaggccatc aagatggggc agtacaaggga
2821 gagcttcgcc aatgcccgtt tcacctcctt tgacgtcgtg tctdagatga tgatggaggga
2881 cattctccgg gttgggggtca ctttggctgg ccaccagaaa aaaatcctga acagtatcca
2941 ggtgatgcgg gcgcagatga accagattca gtctgtggag ggccagccac tcgccaggag
3001 gccacgggoc acgggaagaa ccaagcgggt ccagccacga gacgtacca agaaaaatg
3061 caactcaaac gacggaaaaa aaaagggaat gggaaaaaag aaaacagatc ctgggagggg
3121 gcgggaaata caaggaatat tttttaaaga ggattctcat aaggaaagca atgactgttc
3181 ttgcggggga taaaaaaggg cttgggagat tcatgcgatg tgtccaatcg gagacaaaag
3241 cagtttctct ccaactccct ctgggaagggt gacctggcca gagccaagaa acactttcag
3301 aaaaacaaat gtgaagggga gagacagggg ccaccttgg ctctgtccc tgctgtctct
3361 ctaggcctca ctcaacaacc aagcgcctgg aggacgggac agatggacag acagccaccc
3421 tgagaacccc tctgggaaaa tctattcctg ccaccactgg gcaaacagaa gaatttttct
3481 gtctttggag agtattttag aaactccaat gaaagacact gtttctcctg ttggctcaca
3541 gggctgaaag gggcttttgt cctcctgggt caggggagaa gcggggaccc cagaaagggtc
3601 agccttcctg aggatgggca acccccagggt ctgcagctcc aggtacatat cagcgcacac
3661 gcctggcagc ctggccctcc tgggtgccac tcccgcagc ccctgcctcg aggactgata
3721 ctgcagtac tgccgtcagc tccgactgcc gctgagaagg gttgatcctg catctgggtt
3781 tgtttacagc aattcctgga ctcgggggtg ttttggtcac agggtggttt tgggttaggg
3841 ggtttgtttg ttgggttgtt ttttgttttt tgggtttttt taatgacaat gaagtgcac
3901 tttgacattt ccaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa//

```

【0153】

配列番号4

```

1 malrrlgaal lllpllaave etlmdsttat aelgwmvhpp sgweevsgyd enmntirtyq
61 vcnvfessqn nwlrtkfirr rgahrihvem kfsvrdcssi psvpgscket fnlyyyeadf
121 dsatktfpnw menpwwkvdt iaadesfsqv dlgrvmkin tevrsfgpvs rsgfylafqd
181 yggcmqliav rvfykcpri iqngaifqet lsgaestslv aargsciana eevdvpikly
241 cngdgewlvp igrmcckagf eavengtvcg gcpsgtfkan qgdeacthcg insrttsega
301 tncvcrngyy radldpldmp cttipsapqa vissvnetsl mlewtpprds ggredlvyni
361 ickscgsgrg actrcgdnvq yaprqlgte priyisdlla htqytfeiqa vngvtdqspf
421 spqfasvnit tnqaapsavs imhqvsrtvd sitlswsqpd qpngvildye lqyyekelse
481 ynataikspt ntvvtvqglka gaiyvfvqra rtvagygrys gkmyfqtmte aeyqtsiqek
541 lplliqssaa glvfliaavv iaivcnrrgf eradseytdk lqhytsghmt pgmkiiyidpf
601 tyedpneavr efakeidisc vkieqvigag efgevcsghl klpgkreifv aiktlksqyt
661 ekqrrdflse asimgqfdhp nvihlegvvt kstpvmiite fmengsldsf lrqndgqftv
721 iqlvgmlrgi aagmkyladm nyvhirdlaar nilvnsnlvc kvdfglsrf ledtdsdpty
781 tsalggkipi rwtapeaiqy rkftsasdvw sygivmwewm sygerpywdm tnqdvinaie
841 qdyrlpppm d cpsalhqlml dcwqkdrnhr pkfgqivnti dkmirnpnsl kamaplssgi
901 nlplldrtip dytsfntvde wleaikmgqy kesfanagft sfdvvsqmmmm edilrvgttl
961 aghqkkilns iqvmraqmng iqsvegqpla rrpratgrtk rcqprdvtkk tcnsndgkkk
1021 gmgkkktdpg rgreiaggiff kedshkesnd cscgg

```

【0 1 5 4】

配列番号 5

MMMEDILRV

配列番号 6

LLLPLLA AV

配列番号 7

GLTEPRIYI

配列番号 8

RQNDGQFTV

配列番号 9

TLMDSTTAT

配列番号 10

KLPGkreIFV

配列番号 11

LLLLpLLAAV

配列番号 12

QMMMeDILRV

配列番号 13

WSYGivMWEV

配列番号 14

FLIAvVVIAl

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> SmithKline Beecham Biologicals S.A.

<120> Novel Uses

<130> BC45244

<160> 14

<170> FastSEQ for Windows Version 3.0

<210> 1

<211> 3768

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

aacaaaagct	ggagctccac	cgcggtggcg	gccgctctag	cccctgggtc	ggcccacctc	60
tgaagggtcc	agaatcgata	gtgaattcgt	ggggaagcgc	agccatggct	ctgcggaggc	120
tgggggcccgc	gctgctgctg	ctgccgctgc	tcgccgcccgt	ggaagaaacg	ctaattggact	180
ccactacagc	gactgctgag	ctgggctgga	tgggtgcaccc	tccatcaggg	tgggaagagg	240
tgagtggcta	cgatgagaac	atgaacacga	tccgcacgta	ccagggtgtg	aacgtgtttg	300
agtcaagcca	gaacaactgg	ctacggacca	agtttatccg	gcgccgtggc	gcccacgcga	360
tcccagtgga	gatgaagttt	tcgggtgcgtg	actgcagcag	catccccagc	gtgcctggct	420
ccctgcaagga	gaccttcaac	ctctattact	atgaggctga	ctttgactcg	gccaccaaga	480
ccttccccaa	ctggatggag	aatccatggg	tgaagggtga	taccattgca	gcgcagcaga	540
gcttctccca	ggtggacctg	ggtggccgcg	tcataaaaat	caacaccgag	gtgcggagct	600
tcggacctgt	gtcccgcagc	ggcttctacc	tggccttcca	ggactatggc	ggctgcatgt	660
ccctcacgcg	cgtgcgtgtc	ttctacgcga	agtgcctccg	catcatccag	aatggcgcca	720
tcctccagga	aacctgtgtc	ggggctgaga	gcacatcgct	ggtggctgcc	cggggcagct	780
gcacgcgcaa	tgccgaagag	gtggatgtac	ccatcaagct	ctactgtaac	ggggacggcg	840
agtggctggt	gcccacgggg	cgtgcatgtg	gcaaagcagg	cttcgaggcc	gttgagaatg	900
gcacgcgtctg	ccgaggttgt	ccatctggga	ctttcaaggc	caaccaaggg	gatgagcct	960
gtacccactg	tcccatcaac	agccggacca	cttctgaagg	ggccaccaac	tgtgtctgcc	1020
gcaatggcta	ctacagagca	gacctggacc	ccctggacat	gcccctgcaca	accatcccct	1080
ccgcgcgccc	ggctgtgatt	tccagtgtca	atgagacctc	cctcatgctg	gagtggaacc	1140
ctcccccgcga	ctccggaggc	cgagaggacc	tcgtctacaa	catcatctgc	aagagctgtg	1200
gctcggggccg	gggtgcctgc	accogctgog	gggacaatgt	acagtacgca	ccacgccagc	1260
taggcctgac	cgagccacgc	attacatca	gtgacctgct	ggcccacacc	cagtacacct	1320
tcgagatcca	ggctgtgaac	ggcgttactg	accagagccc	cttctcgccct	cagttcgcct	1380
ctgtgaacat	caccaccaac	caggcagctc	catcggcagt	gtccatcatg	catcagggtga	1440
gccgcaccgt	ggacagcatt	accctgtcgt	ggtcccagcc	agaccagccc	aatggcgtga	1500
tcctggacta	tgagctgcag	tactatgaga	aggagctcag	tgagtacaac	gccacagcca	1560
taaaaagccc	caccaaacacg	gtcacctgct	agggcctcaa	agccggcgcc	atctatgtct	1620
tccaggtgcg	ggcacgcacc	gtggcaggct	acgggcgcta	cagcggcaag	atgtacttcc	1680
agaccatgac	agaagccgag	taccagacaa	gcacccagga	gaagttgcca	ctcatcatcg	1740
gctcctcgcc	cgtggtccctg	gtcttctctca	ttgctgtggt	tgtcatcgcc	atcgtgtgta	1800
acagaagacg	gggttttgag	cgtgctgact	cggagtacac	ggacaagctg	caacactaca	1860
ccagtggcca	catgacccca	ggcatgaaga	tctacatcga	tcctttcacc	tacgaggacc	1920
ccaacgagcg	agtgcgggag	tttgccaagg	aaattgacat	ctcctgtgtc	aaaattgagc	1980
aggtgatcgg	agcaggggag	tttggcgagg	tctgcagtgg	ccacctgaag	ctgccaggca	2040
agagagagat	ctttgtggcc	atcaagacgc	tcaagtcggg	ctacacggag	aagcagcgcc	2100
gggacttccct	gagcgaagcc	tccatcatgg	gccagttcga	ccatcccaac	gtcatccacc	2160
tggagggtgt	cgtgaccaag	agcacacctg	tgatgatcat	caccgagttc	atggagaatg	2220
gctccctgga	ctcctttctc	cggcaaaaacg	atgggcagtt	cacagtcac	cagctgggtg	2280
gcctgcttcg	gggcacgcga	gctgggcatga	agtacctggc	agacatgaac	tatgttcacc	2340
gtgacctggc	tgcccgcgaac	atcctcgtca	acagcaacct	ggtctgcaag	gtgtcggact	2400
ttgggtctct	acgctttcta	gaggacgata	cctcagaccc	cacctacacc	agtgccttgg	2460
cgggaagagat	ccccctccgc	tggacagccc	cggaaagccat	ccagtaccgg	aagttcacct	2520
ggccagtgta	tgtgtggagc	tacggcattg	tcattgtggga	ggtgatgtcc	tatggggagc	2580
ggccctactg	ggacatgacc	aaccaggatg	taatcaatgc	cattgagcag	gactatcgcc	2640

```

tgccaccgcc catggactgc cegagcgccc tgcaccaact catgctggac tgttggcaga 2700
aggaccgcaa ccaccggccc aagttcggcc aaattgtcaa cacgctagac aagatgatcc 2760
gcaatcccaa cagcctcaaa gccatggcgc cctctcctc tggcatcaac ctgccgctgc 2820
tggaccgcac gatccccgac tacaccagct ttaacacggt ggacgagtggt ctggaggcca 2880
tcaagatggg gcagtacaag gagagcttcg ccaatgccgg ctacacctcc tttgacgtcg 2940
tgtctcagat gatgatggag gacattctcc gggttgggct cactttggct ggccaccaga 3000
aaaaaatcct gaacagtatc caggtgatgc gggcgagat gaaccagatt cagtctgttg 3060
aggtttgaca ttcactgccc tcggctcacc tcttcctcca agccccgccc cctctgcccc 3120
acgtgcccgc cctcctgggt ctctatccac tgcagggccca gccactcgcc aggaggccac 3180
ggggcacggg aagaaccaag cgggtgccgc cagagagcgt caccaagaaa acatgcaact 3240
caaacgacgg aaaaaaaaaa ggaatgggaa aaaagaaaac agatcctggg agggggcggg 3300
aaatacaagg aatatttttt aaagaggatt ctcataagga aagcaatgac tgttcttgcg 3360
ggggataaaa aagggtcttg gagattcatg cgatgtgtcc aatcggagac aaaagcagtt 3420
tctctccaac tccctctggg aaggtgacct ggccagagcc aagaaacact ttcagaaaaa 3480
caaatgtgaa gggggagagc aggggcccgc cttggtcctt gtccctgctg ctccctcagg 3540
cctcactcaa caaccaagcg cctggaggac gggacagatg gacagacagc caccctgaga 3600
acccctcttg gaaaatctat tctgtccacc actgggcaaa cagaagaatt tttctgtctt 3660
tggagagtat tttagaaact ccaatgaaag acactgtttc tctgtttggc tcacagggct 3720
gaaaggggct tttgtctccc tgggtcaggg agaacgaggg gaccccgag 3768

```

```

<210> 2
<211> 986
<212> PRT
<213> homo sapiens

```

```

<400> 2
Met Ala Leu Arg Arg Leu Gly Ala Ala Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu
1 5 10 15
Ala Ala Val Glu Glu Thr Leu Met Asp Ser Thr Thr Ala Thr Ala Glu
20 25 30
Leu Gly Trp Met Val His Pro Pro Ser Gly Trp Glu Glu Val Ser Gly
35 40 45
Tyr Asp Glu Asn Met Asn Thr Ile Arg Thr Tyr Gln Val Cys Asn Val
50 55 60
Phe Glu Ser Ser Gln Asn Asn Trp Leu Arg Thr Lys Phe Ile Arg Arg
65 70 75 80
Arg Gly Ala His Arg Ile His Val Glu Met Lys Phe Ser Val Arg Asp
85 90 95
Cys Ser Ser Ile Pro Ser Val Pro Gly Ser Cys Lys Glu Thr Phe Asn
100 105 110
Leu Tyr Tyr Tyr Glu Ala Asp Phe Asp Ser Ala Thr Lys Thr Phe Pro
115 120 125
Asn Trp Met Glu Asn Pro Trp Val Lys Val Asp Thr Ile Ala Ala Asp
130 135 140
Glu Ser Phe Ser Gln Val Asp Leu Gly Gly Arg Val Met Lys Ile Asn
145 150 155 160
Thr Glu Val Arg Ser Phe Gly Pro Val Ser Arg Ser Gly Phe Tyr Leu
165 170 175
Ala Phe Gln Asp Tyr Gly Gly Cys Met Ser Leu Ile Ala Val Arg Val
180 185 190
Phe Tyr Arg Lys Cys Pro Arg Ile Ile Gln Asn Gly Ala Ile Phe Gln
195 200 205
Glu Thr Leu Ser Gly Ala Glu Ser Thr Ser Leu Val Ala Ala Arg Gly
210 215 220
Ser Cys Ile Ala Asn Ala Glu Glu Val Asp Val Pro Ile Lys Leu Tyr
225 230 235 240
Cys Asn Gly Asp Gly Glu Trp Leu Val Pro Ile Gly Arg Cys Met Cys
245 250 255
Lys Ala Gly Phe Glu Ala Val Glu Asn Gly Thr Val Cys Arg Gly Cys
260 265 270
Pro Ser Gly Thr Phe Lys Ala Asn Gln Gly Asp Glu Ala Cys Thr His
275 280 285
Cys Pro Ile Asn Ser Arg Thr Thr Ser Glu Gly Ala Thr Asn Cys Val
290 295 300

```


Cys Arg Asn Gly Tyr Tyr Arg Ala Asp Leu Asp Pro Leu Asp Met Pro
 305 310 315 320
 Cys Thr Thr Ile Pro Ser Ala Pro Gln Ala Val Ile Ser Ser Val Asn
 325 330 335
 Glu Thr Ser Leu Met Leu Glu Trp Thr Pro Pro Arg Asp Ser Gly Gly
 340 345 350
 Arg Glu Asp Leu Val Tyr Asn Ile Ile Cys Lys Ser Cys Gly Ser Gly
 355 360 365
 Arg Gly Ala Cys Thr Arg Cys Gly Asp Asn Val Gln Tyr Ala Pro Arg
 370 375 380
 Gln Leu Gly Leu Thr Glu Pro Arg Ile Tyr Ile Ser Asp Leu Leu Ala
 385 390 395 400
 His Thr Gln Tyr Thr Phe Glu Ile Gln Ala Val Asn Gly Val Thr Asp
 405 410 415
 Gln Ser Pro Phe Ser Pro Gln Phe Ala Ser Val Asn Ile Thr Thr Asn
 420 425 430
 Gln Ala Ala Pro Ser Ala Val Ser Ile Met His Gln Val Ser Arg Thr
 435 440 445
 Val Asp Ser Ile Thr Leu Ser Trp Ser Gln Pro Asp Gln Pro Asn Gly
 450 455 460
 Val Ile Leu Asp Tyr Glu Leu Gln Tyr Tyr Glu Lys Glu Leu Ser Glu
 465 470 475 480
 Tyr Asn Ala Thr Ala Ile Lys Ser Pro Thr Asn Thr Val Thr Val Gln
 485 490 495
 Gly Leu Lys Ala Gly Ala Ile Tyr Val Phe Gln Val Arg Ala Arg Thr
 500 505 510
 Val Ala Gly Tyr Gly Arg Tyr Ser Gly Lys Met Tyr Phe Gln Thr Met
 515 520 525
 Thr Glu Ala Glu Tyr Gln Thr Ser Ile Gln Glu Lys Leu Pro Leu Ile
 530 535 540
 Ile Gly Ser Ser Ala Ala Gly Leu Val Phe Leu Ile Ala Val Val Val
 545 550 555 560
 Ile Ala Ile Val Cys Asn Arg Arg Gly Phe Glu Arg Ala Asp Ser Glu
 565 570 575
 Tyr Thr Asp Lys Leu Gln His Tyr Thr Ser Gly His Met Thr Pro Gly
 580 585 590
 Met Lys Ile Tyr Ile Asp Pro Phe Thr Tyr Glu Asp Pro Asn Glu Ala
 595 600 605
 Val Arg Glu Phe Ala Lys Glu Ile Asp Ile Ser Cys Val Lys Ile Glu
 610 615 620
 Gln Val Ile Gly Ala Gly Glu Phe Gly Glu Val Cys Ser Gly His Leu
 625 630 635 640
 Lys Leu Pro Gly Lys Arg Glu Ile Phe Val Ala Ile Lys Thr Leu Lys
 645 650 655
 Ser Gly Tyr Thr Glu Lys Gln Arg Arg Asp Phe Leu Ser Glu Ala Ser
 660 665 670
 Ile Met Gly Gln Phe Asp His Pro Asn Val Ile His Leu Glu Gly Val
 675 680 685
 Val Thr Lys Ser Thr Pro Val Met Ile Ile Thr Glu Phe Met Glu Asn
 690 695 700
 Gly Ser Leu Asp Ser Phe Leu Arg Gln Asn Asp Gly Gln Phe Thr Val
 705 710 715 720
 Ile Gln Leu Val Gly Met Leu Arg Gly Ile Ala Ala Gly Met Lys Tyr
 725 730 735
 Leu Ala Asp Met Asn Tyr Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile
 740 745 750
 Leu Val Asn Ser Asn Leu Val Cys Lys Val Ser Asp Phe Gly Leu Ser
 755 760 765
 Arg Phe Leu Glu Asp Asp Thr Ser Asp Pro Thr Tyr Thr Ser Ala Leu
 770 775 780
 Gly Gly Lys Ile Pro Ile Arg Trp Thr Ala Pro Glu Ala Ile Gln Tyr
 785 790 795 800
 Arg Lys Phe Thr Ser Ala Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Ile Val Met
 805 810 815

Trp Glu Val Met Ser Tyr Gly Glu Arg Pro Tyr Trp Asp Met Thr Asn
 820 825 830
 Gln Asp Val Ile Asn Ala Ile Glu Gln Asp Tyr Arg Leu Pro Pro Pro
 835 840 845
 Met Asp Cys Pro Ser Ala Leu His Gln Leu Met Leu Asp Cys Trp Gln
 850 855 860
 Lys Asp Arg Asn His Arg Pro Lys Phe Gly Gln Ile Val Asn Thr Leu
 865 870 875 880
 Asp Lys Met Ile Arg Asn Pro Asn Ser Leu Lys Ala Met Ala Pro Leu
 885 890 895
 Ser Ser Gly Ile Asn Leu Pro Leu Leu Asp Arg Thr Ile Pro Asp Tyr
 900 905 910
 Thr Ser Phe Asn Thr Val Asp Glu Trp Leu Glu Ala Ile Lys Met Gly
 915 920 925
 Gln Tyr Lys Glu Ser Phe Ala Asn Ala Gly Phe Thr Ser Phe Asp Val
 930 935 940
 Val Ser Gln Met Met Met Glu Asp Ile Leu Arg Leu Gly Val Thr Leu
 945 950 955 960
 Ala Gly His Gln Lys Lys Ile Leu Asn Ser Ile Gln Val Met Arg Ala
 965 970 975
 Gln Met Asn Gln Ile Gln Ser Val Glu Val
 980 985

<210> 3
 <211> 3949
 <212> DNA
 <213> homo sapiens

<400> 3
 gaattccgcc cggggaagcg cagccatggc tctgcggagg ctggggggccg cgctgctgct 60
 gctgccgctg ctgcgcgccc tggaagaaac gctaattggac tccactacag cgactgctga 120
 gctgggcttg atgggtgcac ctccatcagg gtgggaagag gtgagtggct acgatgagaa 180
 catgaacacg atccgcacgt accaggtgtg caactgtgtt gactcaagcc agaacaactg 240
 gctacggacc aagtttatcc ggcggcgttg cgcaccaccg atccacgttg agatgaagtt 300
 ttcggtgctg gactgcagca gcatccccag cgtgcctggc tcttgcaagg agaccttcaa 360
 cctctattac tatgaggctg actttgactc ggcacccaag accttcccca actggatgga 420
 gaatccatgg gtgaaggttg ataccattgc agccgacgag agcttctccc aggtggacct 480
 ggtgggcccg gtcataaaaa tcaacaccga ggtgcggagc ttccgacctg tgtcccgcag 540
 cggcttctac ctggccttcc aggactatgg cggctgcacg tccctcatcg cctgctgtgt 600
 ctctaccgcg aagtgcccc gcatcatcca gaattggcgc atcttccagg aaacctgtgc 660
 gggggctgag agcacatgcg tgggtggctgc ccggggcagc tgcacgcaca atgcggaaga 720
 ggtggatgta cccatcaagc tctactgtaa cggggacggc gactggcttg tgcccatcgg 780
 gcgctgcacg tgcaaaagcag gcttcgaggg cgttgagaat ggcaccgtct gccgaggttg 840
 tccatctggg actttcaagg ccaaccaggg ggtatggggc tgtaccact gtcccatcaa 900
 cagccggacc acttctgaag gggccaccaa ctgtgtctgc cgcaatggct actacagagc 960
 agacctggac cccctggaca tgcctgcac aacctcccc tccgcgcccc aggtgtgat 1020
 ttccagtgtc aatgagacct cctcatgct ggagtggacc cctccccgcg actccggagg 1080
 ccgagaggac ctctctaca acatcatctg caagagctgt ggtcggggc ggggtgctg 1140
 caccgcctgc ggggacaatg tacagtacgc accacgccag ctaggcctga ccgagccacg 1200
 catttacatc agtgacctgc tggccacac ccagtaacac ttcgagatcc aggtgtgaa 1260
 cggcgcttact gaccagagcc ccttctcgcc tcagttcgcc tctgtgaaca tcaccaccaa 1320
 ccaggcagct ccacggcgag tgtccatcat gcatcagggt agccgcaccg tggacagcat 1380
 taccctgtcg tggctccagc cagaccagcc caatggcgtg atcctggact atgagctgca 1440
 gtactatgag aaggagctca gtgagtacaa cggccacagc ataaaaagcc ccaccaacac 1500
 ggtcaccgtg cagggcctca aagccggcgc catctatgtc ttccaggtgc gggcacgcac 1560
 cgtggcaggc tacgggcgct acagcggcaa gatgtacttc cagacctga cagaagcga 1620
 gtaccagaca agcatccagg agaagtggc actcatcatc ggtcctcctg ccgctggcct 1680
 ggtcttctc attgtgttg ttgtcatcgc catcgtgtgt aacagacggg ggtttgagcg 1740
 ttctgactcg gactacacgg acaagctgca acactacacc agtggccaca tgacccagg 1800
 catgaagatc tacatcgatc ctttcaacct caggagcccc aacgaggcag tgcgggagtt 1860
 tgccaaggaa attgacatct cctgtgtcaa aattgagcag gtgatcggag caggggagtt 1920
 tggcgaggtc tgcagtggcc acctgaagct gccaggcaag agagagatct ttgtggccat 1980
 caagacgctc aagtcgggct acacggagaa gcagcgcgg gacttctga gcgaagcctc 2040
 catcatgggc cagttcgacc atcccaactg catccacctg gaggggtgtg tgaccaagag 2100

```

cacacctgtg atgatcatca ccgagttcat ggagaatggc tccctggact cctttctccg 2160
gcaaaacgat gggcagttca cagtcattcca gctgggtggc atgcttcggg gcacgcgcgc 2220
tggcatgaag tacctggcag acatgaacta tgttcaccgt gacctgggtg ccgcgaacat 2280
cctcgtcaac agcaacctgg tctgcaaggt gtcggacttt gggctctcac gctttctaga 2340
ggacgatacc tcagacccca cctacaccag tgccttgggc ggaagatcc ccatccgctg 2400
gacagccccg gaagccatcc agtaccggaa gttcacctcg gccagtgatg tgtggagcta 2460
cggcattgtc atgtgggagg tgatgtccta tggggagcgg ccctactggg acatgaccaa 2520
ccaggatgta atcaatgcca ttgagcagga ctatcggtcg ccaccgcccc tggactgccc 2580
gagcgccctg caccaaactca tgctggactg ttggcagaag gaccgcaacc accggcccaa 2640
gttcgggcca attgtcaaca cgctagacaa gatgatccgc aatcccaaca gcctcaaagc 2700
catggcgccc ctctctcttg gcatcaacct gccgctgctg gaccgcacga tccccgacta 2760
caccagcttt aacacggtgg acgagtggct ggaggccatc aagatggggc agtacaaggga 2820
gagcttcgct aatgcgggct tcacctcctt tgacgtcgtg tctcagatga tgatggagga 2880
cattctccgg gttgggggtca ctttggctgg ccaccagaaa aaaatcctga acagtatcca 2940
ggtgatggcg gcgcagatga accagattca gtctgtggag ggcagccac tcgccaggag 3000
gccacggggc acgggaagaa ccaagcggtg ccagccacga gacgtacca agaaaacatg 3060
caactcaaac gacggaaaaa aaaagggaat gggaaaaaag aaaacagatc ctgggagggg 3120
gcgggaaata caaggaatat tttttaaga ggattctcat aaggaaagca atgactgttc 3180
tgcgggggga taaaaaaggg cttgggagat tcatgcgatg tgtccaatcg gagacaaaag 3240
cagtttctct ccaactccct ctgggaaggt gacctggcca gagccaagaa acactttcag 3300
aaaaacaaat gtgaagggga gagacagggg ccaccttgg ctctgtctcc tgcgtctcct 3360
ctaggcctca ctcaacaacc aagcgctcgg aggacgggac agatggacag acagccacco 3420
tgagaacccc tctgggaaaa tctattcctg ccaccactgg gcaaacagaa gaatttttct 3480
gtctttggag agtattttag aaactccaat gaaagacact gtttctcctg ttggctcaca 3540
gggctgaaag gggcttttgt cctcctgggt caggagaaac gcggggaccc cagaaaggtc 3600
agccttcctg aggatgggca acccccaggt ctgcagctcc aggtacatat cagcgccaca 3660
ctgcagtgac tgcgctcagc tccgactgcc gctgagaagg gttgatcctg catctgggtt 3720
tgtttacagc aattcctgga ctggggggtg ttttggtcac aggggtgggt ttggttaggg 3780
ggtttgggtt ttgggtgtgt ttttggtttt tgggtttttt taatgacaat gaagtgcacac 3840
tttgacattt ccaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3900

```

```

<210> 4
<211> 1055
<212> PRT
<213> homo sapiens

```

```

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

```

Glu Thr Leu Ser Gly Ala Glu Ser Thr Ser Leu Val Ala Ala Arg Gly
 210 215 220
 Ser Cys Ile Ala Asn Ala Glu Glu Val Asp Val Pro Ile Lys Leu Tyr
 225 230 235 240
 Cys Asn Gly Asp Gly Glu Trp Leu Val Pro Ile Gly Arg Cys Met Cys
 245 250 255
 Lys Ala Gly Phe Glu Ala Val Glu Asn Gly Thr Val Cys Arg Gly Cys
 260 265 270
 Pro Ser Gly Thr Phe Lys Ala Asn Gln Gly Asp Glu Ala Cys Thr His
 275 280 285
 Cys Pro Ile Asn Ser Arg Thr Thr Ser Glu Gly Ala Thr Asn Cys Val
 290 295 300
 Cys Arg Asn Gly Tyr Tyr Arg Ala Asp Leu Asp Pro Leu Asp Met Pro
 305 310 315 320
 Cys Thr Thr Ile Pro Ser Ala Pro Gln Ala Val Ile Ser Ser Val Asn
 325 330 335
 Glu Thr Ser Leu Met Leu Glu Trp Thr Pro Arg Asp Ser Gly Gly
 340 345 350
 Arg Glu Asp Leu Val Tyr Asn Ile Ile Cys Lys Ser Cys Gly Ser Gly
 355 360 365
 Arg Gly Ala Cys Thr Arg Cys Gly Asp Asn Val Gln Tyr Ala Pro Arg
 370 375 380
 Gln Leu Gly Leu Thr Glu Pro Arg Ile Tyr Ile Ser Asp Leu Leu Ala
 385 390 395 400
 His Thr Gln Tyr Thr Phe Glu Ile Gln Ala Val Asn Gly Val Thr Asp
 405 410 415
 Gln Ser Pro Phe Ser Pro Gln Phe Ala Ser Val Asn Ile Thr Thr Asn
 420 425 430
 Gln Ala Ala Pro Ser Ala Val Ser Ile Met His Gln Val Ser Arg Thr
 435 440 445
 Val Asp Ser Ile Thr Leu Ser Trp Ser Gln Pro Asp Gln Pro Asn Gly
 450 455 460
 Val Ile Leu Asp Tyr Glu Leu Gln Tyr Tyr Glu Lys Glu Leu Ser Glu
 465 470 475 480
 Tyr Asn Ala Thr Ala Ile Lys Ser Pro Thr Asn Thr Val Thr Val Gln
 485 490 495
 Gly Leu Lys Ala Gly Ala Ile Tyr Val Phe Gln Val Arg Ala Arg Thr
 500 505 510
 Val Ala Gly Tyr Gly Arg Tyr Ser Gly Lys Met Tyr Phe Gln Thr Met
 515 520 525
 Thr Glu Ala Glu Tyr Gln Thr Ser Ile Gln Glu Lys Leu Pro Leu Ile
 530 535 540
 Ile Gly Ser Ser Ala Ala Gly Leu Val Phe Leu Ile Ala Val Val Val
 545 550 555 560
 Ile Ala Ile Val Cys Asn Arg Arg Gly Phe Glu Arg Ala Asp Ser Glu
 565 570 575
 Tyr Thr Asp Lys Leu Gln His Tyr Thr Ser Gly His Met Thr Pro Gly
 580 585 590
 Met Lys Ile Tyr Ile Asp Pro Phe Thr Tyr Glu Asp Pro Asn Glu Ala
 595 600 605
 Val Arg Glu Phe Ala Lys Glu Ile Asp Ile Ser Cys Val Lys Ile Glu
 610 615 620
 Gln Val Ile Gly Ala Gly Glu Phe Gly Glu Val Cys Ser Gly His Leu
 625 630 635 640
 Lys Leu Pro Gly Lys Arg Glu Ile Phe Val Ala Ile Lys Thr Leu Lys
 645 650 655
 Ser Gly Tyr Thr Glu Lys Gln Arg Arg Asp Phe Leu Ser Glu Ala Ser
 660 665 670
 Ile Met Gly Gln Phe Asp His Pro Asn Val Ile His Leu Glu Gly Val
 675 680 685
 Val Thr Lys Ser Thr Pro Val Met Ile Ile Thr Glu Phe Met Glu Asn
 690 695 700
 Gly Ser Leu Asp Ser Phe Leu Arg Gln Asn Asp Gly Gln Phe Thr Val
 705 710 715 720

```

Ile Gln Leu Val Gly Met Leu Arg Gly Ile Ala Ala Gly Met Lys Tyr
      725      730      735
Leu Ala Asp Met Asn Tyr Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile
      740      745      750
Leu Val Asn Ser Asn Leu Val Cys Lys Val Ser Asp Phe Gly Leu Ser
      755      760      765
Arg Phe Leu Glu Asp Asp Thr Ser Asp Pro Thr Tyr Thr Ser Ala Leu
      770      775      780
Gly Gly Lys Ile Pro Ile Arg Trp Thr Ala Pro Glu Ala Ile Gln Tyr
      785      790      795      800
Arg Lys Phe Thr Ser Ala Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Ile Val Met
      805      810      815
Trp Glu Val Met Ser Tyr Gly Glu Arg Pro Tyr Trp Asp Met Thr Asn
      820      825      830
Gln Asp Val Ile Asn Ala Ile Glu Gln Asp Tyr Arg Leu Pro Pro Pro
      835      840      845
Met Asp Cys Pro Ser Ala Leu His Gln Leu Met Leu Asp Cys Trp Gln
      850      855      860
Lys Asp Arg Asn His Arg Pro Lys Phe Gly Gln Ile Val Asn Thr Leu
      865      870      875      880
Asp Lys Met Ile Arg Asn Pro Asn Ser Leu Lys Ala Met Ala Pro Leu
      885      890      895
Ser Ser Gly Ile Asn Leu Pro Leu Leu Asp Arg Thr Ile Pro Asp Tyr
      900      905      910
Thr Ser Phe Asn Thr Val Asp Glu Trp Leu Glu Ala Ile Lys Met Gly
      915      920      925
Gln Tyr Lys Glu Ser Phe Ala Asn Ala Gly Phe Thr Ser Phe Asp Val
      930      935      940
Val Ser Gln Met Met Met Glu Asp Ile Leu Arg Val Gly Val Thr Leu
      945      950      955      960
Ala Gly His Gln Lys Lys Ile Leu Asn Ser Ile Gln Val Met Arg Ala
      965      970      975
Gln Met Asn Gln Ile Gln Ser Val Glu Gly Gln Pro Leu Ala Arg Arg
      980      985      990
Pro Arg Ala Thr Gly Arg Thr Lys Arg Cys Gln Pro Arg Asp Val Thr
      995      1000      1005
Lys Lys Thr Cys Asn Ser Asn Asp Gly Lys Lys Lys Gly Met Gly Lys
      1010      1015      1020
Lys Lys Thr Asp Pro Gly Arg Gly Arg Glu Ile Gln Gly Ile Phe Phe
      1025      1030      1035      104
Lys Glu Asp Ser His Lys Glu Ser Asn Asp Cys Ser Cys Gly Gly
      1045      1050      1055

```

```

<210> 5
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

```

```

<400> 5
Met Met Met Glu Asp Ile Leu Arg Val
1 5

```

```

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

```

```

<400> 6
Leu Leu Leu Pro Leu Leu Ala Ala Val
1 5

```

```

<210> 7
<211> 9

```

```

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<400> 7
Gly Leu Thr Glu Pro Arg Ile Tyr Ile
1           5

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<400> 8
Arg Gln Asn Asp Gly Gln Phe Thr Val
1           5

<210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<400> 9
Thr Leu Met Asp Ser Thr Thr Ala Thr
1           5

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<400> 10
Lys Leu Pro Gly Arg Glu Ile Phe Val
1           5

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<400> 11
Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Val
1           5

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<400> 12
Gln Met Met Met Asp Ile Leu Arg Val
1           5

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<400> 13
Trp Ser Tyr Gly Val Met Trp Glu Val
1           5

<210> 14
<211> 9
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<400> 14
Phe Leu Ile Ala Val Val Ile Ala Ile
1           5

```

【手続補正書】

【提出日】 平成13年10月26日(2001. 10. 26)

【手続補正1】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 特許請求の範囲

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 有効量の、配列番号2もしくは4のアミノ酸配列またはその免疫原性断片に対して少なくとも85%の同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドを、製薬上許容される担体と共に含むワクチン組成物。

【請求項2】 アミノ酸配列が配列番号2もしくは4のアミノ酸配列またはその免疫原性断片に対して少なくとも95%の同一性を有する、請求項1に記載のワクチン組成物。

【請求項3】 有効量の、配列番号1もしくは3のヌクレオチド配列または免疫原性ポリペプチドをコードするその断片に対して少なくとも85%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを、製薬上許容される担体と共に含むワクチン組成物。

【請求項4】 配列番号2または4のポリペプチドをin vitroで供給することにより改変された、または配列番号2または4のポリペプチドを発現するようにin vitroで遺伝的に改変された、有効量の抗原提示細胞および製薬上許容される担体を含むワクチン組成物。

【請求項5】 TH-1誘導アジュバントをさらに含む、請求項1～4のいずれか1項に記載のワクチン。

【請求項6】 TH-1誘導アジュバントが、3D-MPL、QS21、QS21とコレステロールの混合物、およびCpGオリゴヌクレオチドを含むアジュバントの群から選択される、請求項5に記載のワクチン。

【請求項7】 請求項1～6のいずれか1項に規定のポリペプチドまたは免疫学的断片に対して免疫特異的な抗体。

【請求項8】 配列番号2または4のポリペプチドの機能を刺激または抑制する化合物を同定するためのスクリーニング法であって、

(a) 候補化合物と、上記ポリペプチド（または該ポリペプチドを担持している細胞もしくはその膜）またはその融合タンパク質との結合を、該候補化合物に直接または間接的に結合させた標識により測定すること、

(b) 候補化合物と、上記ポリペプチド（または該ポリペプチドを担持している細胞もしくはその膜）またはその融合タンパク質との結合を、標識競合物質の存在下で測定すること、

(c) 候補化合物が上記ポリペプチドの活性化または抑制により生ずるシグナルをもたらすか否かを、該ポリペプチドを担持している細胞または細胞膜に適した検出系を用いて調べること、

(d) 候補化合物と、配列番号2または4のポリペプチドを含有する溶液とを一緒にして混合物を調製し、該混合物中の該ポリペプチドの活性を測定して、該混合物の活性をスタンダードと比較すること、または

(e) 候補化合物が細胞における上記ポリペプチドをコードするmRNAおよび該ポリペプチドの産生に及ぼす効果を例えばELISAアッセイを用いて検出すること

、

よりなる群から選択される方法を含んでなるスクリーニング法。

【請求項9】 配列番号2もしくは4のポリペプチドまたは配列番号1もしくは3のポリヌクレオチドを哺乳動物の免疫系に由来する細胞と共にin vitroでインキュベートすることにより、配列番号1～4のいずれか1つの分子に対する免疫応答をin vitroで誘導すること、およびそれらの活性化免疫細胞を疾病の治療のために哺乳動物に再注入することを含む、免疫学的予防または治療による被験者の処置方法。

【請求項10】 前記処置が卵巣癌または大腸癌に対するものである、請求項9に記載の方法。

【請求項11】 配列番号2または4のポリペプチドに対するアゴニストまたはアンタゴニスト。

【請求項12】 治療上使用するための、以下の(a)～(c)のいずれかである

化合物：

- (a) 配列番号の2または4のポリペプチドに対するアゴニストまたはアンタゴニスト；
- (b) 配列番号の1または3の単離されたポリヌクレオチド；または
- (c) 配列番号2または4のいずれか1つのポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の発現をモジュレートする核酸分子。

【請求項13】 被験者における配列番号2または4のポリペプチドの発現または活性に関連した該被験者の疾病または該疾病への罹りやすさを診断する方法であって、該被験者から得られたサンプル中の該ポリペプチドの存在または量を分析することを含んでなる方法。

【請求項14】 被験者における配列番号1または3のポリヌクレオチドの発現または活性に関連した該被験者の疾病または該疾病への罹りやすさを診断する方法であって、該被験者から得られたサンプル中の該ポリヌクレオチドの存在または量を分析することを含んでなる方法。

【請求項15】 前記疾病が大腸癌である、請求項13に記載の方法。

【請求項16】 前記疾病が大腸癌である、請求項14に記載の方法。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Ir. national Application No PCT/EP 00/01587		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K38/17 A61K39/395 C07K14/705 A61P35/00 A61K39/00 A61K48/00 C07K16/28 G01N33/68 C12Q1/68 C12N15/12		
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 A61K C07K		
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) EP0-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, STRAND		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KIYOKAWA E ET AL: "OVEREXPRESSION OF ERK AN EPH FAMILY RECEPTOR PROTEIN TYROSINE KINASE IN VARIOUS HUMAN TUMORS" CANCER RESEARCH, US, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, BALTIMORE, MD, vol. 54, 15 July 1994 (1994-07-15), pages 3645-3650, XP002070092 ISSN: 0008-5472	14,16
Y	the whole document --- -/-	1-7
☒ Further documents are listed in the continuation of box C. ☐ 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 "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 10 October 2000		Date of mailing of the international search report 26/10/2000
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 Noë, V

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/EP 00/01587

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CHEN YING ET AL: "DNA vaccines encoding full-length or truncated Neu induce protective immunity against Neu-expressing mammary tumors." CANCER RESEARCH, vol. 58, no. 9, 1 May 1998 (1998-05-01), pages 1965-1971, XP002149613 ISSN: 0008-5472 abstract page 1965, column 1, last paragraph -column 2, paragraph 3 page 1967, column 2, last paragraph -page 1969, column 1, paragraph 2; figures 4-6 ---	1-7
A	IWASE T ET AL: "IDENTIFICATION OF PROTEIN-TYROSINE KINASE GENES PREFERENTIALLY EXPRESSED IN EMBRYO STOMACH AND GASTRIC CANCER" BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS,US,ACADEMIC PRESS INC. ORLANDO, FL, vol. 194, no. 2, 30 July 1993 (1993-07-30), pages 698-705, XP002014925 ISSN: 0006-291X abstract figures 1,3B page 704, paragraph 2 - paragraph 3 page 704, last paragraph ---	1-4,7,9, 10,12, 14,16
A	IKEGAKI NAOMIKO ET AL: "Molecular characterization and chromosomal localization of DRT (EPH3): A developmentally regulated human protein-tyrosine kinase gene of the EPH family." HUMAN MOLECULAR GENETICS, vol. 4, no. 11, 1995, pages 2033-2045, XP000946771 ISSN: 0964-6906 abstract figure 1 page 2037, column 1, paragraph 2 -page 2038, column 1, paragraph 1 page 2042, column 1, paragraph 3 -column 2, paragraph 1 --- -/--	1-4,7,9, 12-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 00/01587

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FOX GARY M ET AL: "CDNA cloning and tissue distribution of five human EPH-like receptor protein-tyrosine kinases." ONCOGENE, vol. 10, no. 5, 1995, pages 897-905, XP000946743 ISSN: 0950-9232 abstract page 898, column 1, line 2 - line 6 page 902, column 1, line 15 - line 17 figure 1 -----	1-4,7,9, 10,12-16

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/SA/ 210

Continuation of Box 1.2

Claims Nos.: 11,12 (a and c)

Present claims 11,12(a and c) relate to compounds defined by reference to a desirable characteristic or property, namely Erk agonist or antagonist and nucleic acids modulating Erk expression.

The claims cover all products having these characteristics, whereas the application provides support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT for only a very limited number of such products. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible. Independent of the above reasoning, the claims also lack clarity (Article 6 PCT). An attempt is made to define the products by reference to a result to be achieved. Again, this lack of clarity in the present case is such as to render a meaningful search over the whole of the claimed scope impossible. Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be clear, supported and disclosed, namely those parts relating to Erk polypeptides and polynucleotides.

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.

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード [*] (参考)
A 6 1 P 35/00		A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 6
37/00		37/00	4 H 0 4 5
C 0 7 K 16/30		C 0 7 K 16/30	
C 1 2 N 15/09	Z N A	C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 Q 1/68		G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/15		33/50	Z
33/50		33/53	D
33/53			M
		33/566	
33/566		C 1 2 N 15/00	Z N A A
(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, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, 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, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW			
Fターム(参考) 2G045 AA40 DA12 DA13 DA14 DA36			
FB02 FB03			
4B024 AA01 AA12 BA63 CA04 DA06			
DA12 EA04 GA11 HA12 HA15			
4B063 QA19 QQ08 QQ43 QR08 QR36			
QR42 QR56 QS25 QS34 QX02			
4C084 AA01 AA13 AA17 BA22 CA62			
MA05 NA14 ZB071 ZB261			
ZC781			
4C085 AA03 BB11 EE06 FF12 FF13			
4C086 AA01 AA02 EA16 MA05 NA14			
ZB07 ZB26			
4H045 AA11 AA30 BA10 CA41 DA50			
DA75 EA28 EA51 FA72 FA74			

专利名称(译)	新用法		
公开(公告)号	JP2002538218A	公开(公告)日	2002-11-12
申请号	JP2000603705	申请日	2000-02-28
[标]申请(专利权)人(译)	史克必成生物兴业ANONYME		
申请(专利权)人(译)	史克必成生物兴业ANONYME		
[标]发明人	ヴィナルスイデバソルスカルロッタ		
发明人	ヴィナルス イ デ バソルス、カルロッタ		
IPC分类号	A61K38/00 A61K39/00 A61K48/00 A61P35/00 C07K14/705 C07K16/00 C12N15/12 C12Q1/00 G01N33/00 A61K31/7088 A61K39/39 A61K45/00 A61P37/00 C07K16/30 C12N15/09 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61K39/0011 A61K48/00 A61P35/00 A61P37/00 C07K14/705 A61K2039/82		
FI分类号	A61K39/00.H A61K31/7088 A61K39/39 A61K45/00 A61K48/00 A61P35/00 A61P37/00 C07K16/30 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12N15/00.ZNA.A		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA12 4B024/BA63 4B024/CA04 4B024/DA06 4B024/DA12 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA12 4B024/HA15 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QQ43 4B063/QR08 4B063/QR36 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02 4C084/AA01 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA22 4C084/CA62 4C084/MA05 4C084/NA14 4C084/ZB071 4C084/ZB261 4C084/ZC781 4C085/AA03 4C085/BB11 4C085/EE06 4C085/FF12 4C085/FF13 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA05 4C086/NA14 4C086/ZB07 4C086/ZB26 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA41 4H045/DA50 4H045/DA75 4H045/EA28 4H045/EA51 4H045/FA72 4H045/FA74		
优先权	1999005124 1999-03-05 GB		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及使用CASB616多肽和多核苷酸进行诊断的方法，以及用于预防和/或治疗癌症（特别是结肠癌），自身免疫性疾病和相关病症的疫苗。

大腸の腫瘍におけるCASB616を過剰発現する患者 (%)	大腸の腫瘍における過剰発現の平均レベル (倍)
17/17 (100%)	17