

(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2003 - 521239**

(P2003 - 521239A)

(43)公表日 平成15年7月15日(2003.7.15)

(51) Int.Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード ( 参考 )
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 31/7088	2 G 0 4 5
A 6 1 K 31/7088		39/395	D 4 B 0 2 4
38/00		48/00	4 B 0 6 3
39/395		A 6 1 P 7/00	4 B 0 6 4
48/00		9/10 101	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 ( 全228数 ) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 611677(P2000 - 611677)

(86)(22)出願日 平成12年4月7日(2000.4.7)

(85)翻訳文提出日 平成13年10月9日(2001.10.9)

(86)国際出願番号 PCT/US00/09392

(87)国際公開番号 W000/061754

(87)国際公開日 平成12年10月19日(2000.10.19)

(31)優先権主張番号 60/128,514

(32)優先日 平成11年4月9日(1999.4.9)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/186,592

(32)優先日 平成12年3月3日(2000.3.3)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 キュラジェン コーポレイション  
アメリカ合衆国 コネチカット州 06511  
ニュー ハイブン ロング ウォーフ ド  
ライブ 555

(72)発明者 フェルナンデス, エルマ  
アメリカ合衆国 コネチカット 06405,  
ブランフォード, フローレンス ロード  
ナンバー2ビー 77

(74)代理人 弁理士 大塩 竹志

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規ヒトタンパク質およびそれらをコードするポリヌクレオチド

(57)【要約】

本発明は、新規の単離された S E C X ポリヌクレオチドおよびこの S E C X ポリヌクレオチドによってコードされる膜関連ポリペプチドまたは分泌ポリペプチドを提供する。S E C X ポリペプチド、または S E C X のポリペプチド、ポリヌクレオチド、もしくは抗体の任意の誘導体、改変体、変異体、もしくはフラグメントに免疫特異的に結合する抗体もまた提供される。本発明はさらに、広範な病理学的状態の検出および処置、ならびに他の用途に S E C X のポリペプチド、ポリヌクレオチド、および抗体を利用する方法を提供する。

**【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、以下：

a) 配列番号8、16、24、26、28および30からなる群より選択されるアミノ酸配列の成熟形態；

b) 配列番号8、16、24、26、28および30からなる群より選択されるアミノ酸配列の成熟形態の改変体であって、ここで該選択される配列の該成熟形態中の任意のアミノ酸は、異なるアミノ酸に変更されているが、但し、該成熟形態の配列中の15%以下のアミノ酸残基が、このように変更されている、改変体；

c) 配列番号8、16、24、26、28および30からなる群より選択されるアミノ酸配列；ならびに

d) 配列番号8、16、24、26、28および30からなる群より選択されるアミノ酸配列の改変体であって、ここで該選択された配列中の指定された任意のアミノ酸が異なるアミノ酸に変更されているが、但し、該配列中の15%以下のアミノ酸残基が、このように変更されている、改変体；  
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

【請求項2】 改変体ポリペプチドである、請求項1に記載のポリペプチドであって、該ポリペプチドが、該ポリペプチドの天然に存在する対立遺伝子改変体のアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

【請求項3】 前記改変体が、単一ヌクレオチド多型の翻訳物である、請求項2に記載のポリペプチド。

【請求項4】 前記選択された配列中に指定された任意のアミノ酸が変更されて保存的置換を提供する、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項5】 単離されたポリペプチドであって、以下：

a) 配列番号2、4、6、10、12、14、18、20および22からなる群より選択されるアミノ酸配列の成熟形態；ならびに

b) 配列番号2、4、6、10、12、14、18、20および22からなる群より選択されるアミノ酸配列  
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

【請求項6】 単離された核酸分子または該核酸分子の相補体であって、該核酸分子は、以下：

a) 配列番号8、16、24、26、28および30からなる群より選択されるアミノ酸配列の成熟形態；

b) 配列番号8、16、24、26、28および30からなる群より選択されるアミノ酸配列の改変体の成熟形態であって、ここで選択された配列の成熟形態中の任意のアミノ酸は、異なるアミノ酸に変更されているが、但し、該成熟形態の配列中の15%以下のアミノ酸残基が、このように変更されている、成熟形態；

c) 配列番号8、16、24、26、28および30からなる群より選択されるアミノ酸配列；

d) 配列番号8、16、24、26、28および30からなる群より選択されるアミノ酸配列の改変体であって、ここで該選択された配列中の指定された任意のアミノ酸は、異なるアミノ酸に変更されているが但し、該配列中の15%以下のアミノ酸残基がこのように変更されている、改変体；ならびに

e) 配列番号8、16、24、26、28および30からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチドの少なくとも一部分をコードする核酸フラグメント；

からなる群より選択されるポリペプチドのアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする核酸配列を含む、核酸分子。

【請求項7】 前記核酸分子が、天然に存在する対立遺伝子核酸改変体のヌクレオチド配列を含む、請求項6に記載の核酸分子。

【請求項8】 改変体ポリペプチドをコードする請求項6に記載の核酸分子であって、ここで該コードされる改変体ポリペプチドが、天然に存在するポリペプチド改変体のポリペプチド配列を有する、核酸分子。

【請求項9】 前記核酸分子が、前記改変体ポリペプチドをコードする単一ヌクレオチド多型を含む、請求項6に記載の核酸分子。

【請求項10】 前記核酸分子が、以下：

a) 配列番号7、15、23、25、27および29からなる群より選択され

るヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列；

b) 配列番号7、15、23、25、27および29からなる群由来のヌクレオチド配列中の1つ以上のヌクレオチドが、該選択された配列により与えられるヌクレオチドから異なるヌクレオチドへと変化されているが、但し、20%以下のヌクレオチドがこのように変更されている、ヌクレオチド配列；

c) a) の核酸フラグメント；ならびに

d) b) の核酸フラグメント、

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、請求項6に記載の核酸分子。

【請求項11】 前記核酸分子が、配列番号7、15、23、25、27および29からなる群より選択されるヌクレオチド配列または該ヌクレオチド配列の相補体にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする、請求項6に記載の核酸分子。

【請求項12】 請求項6に記載の核酸分子であって、ここで、該核酸分子が、前記選択されたヌクレオチド配列のコード配列において指定される任意のヌクレオチドが、該選択された配列により与えられるヌクレオチドから異なるヌクレオチドへと変更されているが但し、該選択されたコード配列中の20%以下のヌクレオチドがこのように変更されている、ヌクレオチド配列、第1のポリヌクレオチドの相補体である単離された第2のポリヌクレオチド、またはそれらのいずれかのフラグメントを含む、核酸分子。

【請求項13】 単離された核酸分子、または該核酸分子の相補体であって、該核酸分子は、以下：

a) 配列番号2、4、6、10、12、14、18、20および22からなる群より選択されるアミノ酸配列の成熟形態；

b) 配列番号2、4、6、10、12、14、18、20および22からなる群より選択されるアミノ酸配列；ならびに

c) 配列番号2、4、6、10、12、14、18、20および22からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチドの少なくとも一部分をコードする核酸フラグメント；

からなる群より選択されるポリペプチドのアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする核酸配列を含む、核酸分子。

【請求項14】 請求項13に記載の核酸分子であって、ここで該核酸分子が、以下：

a) 配列番号1、3、5、9、11、13、17、19および21からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列；ならびに

b) a)の核酸フラグメント、または該核酸分子の相補体、からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、核酸分子。

【請求項15】 請求項6に記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項16】 前記核酸分子に作動可能に連結されているプロモーターをさらに含む、請求項15に記載のベクター。

【請求項17】 請求項13に記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項18】 前記核酸分子に作動可能に連結されるプロモーターをさらに含む、請求項16に記載のベクター。

【請求項19】 請求項15に記載のベクターを含む、細胞。

【請求項20】 請求項17に記載のベクターを含む、細胞。

【請求項21】 請求項1に記載のポリペプチドに免疫特異的に結合する、抗体。

【請求項22】 前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項21に記載の抗体。

【請求項23】 前記抗体がヒト化抗体である、請求項21に記載の抗体。

【請求項24】 請求項5に記載のポリペプチドに免疫特異的に結合する、抗体。

【請求項25】 前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項24に記載の抗体。

【請求項26】 前記抗体がヒト化抗体である、請求項24に記載の抗体。

【請求項27】 サンプル中の請求項1に記載のポリペプチドの存在または量を決定するための方法であって、該方法は、以下：

(a) 該サンプルを提供する工程；

(b) 該サンプルを、請求項1に記載のポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体と接触させる工程；および

(c) 該ポリペプチドと結合した抗体の存在または量を決定する工程、を包含し、その結果、該サンプル中のポリペプチドの存在または量を決定する、方法。

【請求項28】 サンプル中の請求項5に記載のポリペプチドの存在または量を決定するための方法であって、該方法は、以下：

(a) 該サンプルを提供する工程；

(b) 該サンプルを、請求項5に記載のポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体と接触させる工程；および

(c) 該ポリペプチドと結合した抗体の存在または量を決定する工程、を包含し、その結果、該サンプル中のポリペプチドの存在または量を決定する、方法。

【請求項29】 サンプル中の請求項6に記載の核酸分子の存在または量を決定するための方法であって、該方法は、以下：

(a) 該サンプルを提供する工程；

(b) 該サンプルを、該核酸分子と結合するプローブと接触させる工程；および

(c) 該核酸分子と結合した該プローブの存在または量を決定する工程、を包含し、その結果、該サンプル中の該核酸分子の存在または量を決定する、方法。

【請求項30】 サンプル中の請求項13に記載の核酸分子の存在または量を決定するための方法であって、該方法は、以下：

(a) 該サンプルを提供する工程；

(b) 該サンプルを、該核酸分子と結合するプローブと接触させる工程；および

(c) 該核酸分子と結合した該プローブの存在または量を決定する工程、を包含し、その結果、該サンプル中の該核酸分子の存在または量を決定する、方法。

【請求項31】 請求項1に記載のポリペプチドと結合する薬剤を同定する方法であって、該方法は、以下：

- (a) 該薬剤と該ポリペプチドとを接触させる工程；および
- (b) 該薬剤が該ポリペプチドと結合するか否かを決定する工程、を包含する、方法。

【請求項32】 請求項5に記載のポリペプチドと結合する薬剤を同定する方法であって、該方法は、以下：

- (a) 該薬剤と該ポリペプチドとを接触させる工程；および
- (b) 該薬剤が該ポリペプチドと結合するか否かを決定する工程、を包含する、方法。

【請求項33】 病理の処置における使用のための潜在的な治療剤を同定するための方法であって、ここで該病理は、請求項1に記載のポリペプチドの異常発現または異常な病理学的相互作用に関連し、該方法は、以下：

- (a) 該病理に関連するポリペプチドを同定する工程；
- (b) 選択された該ポリペプチドを発現し、かつ該ポリペプチドの作用に起因する特性または機能を有する細胞を提供する工程；
- (c) 候補物質を含む組成物と該細胞とを接触させる工程、および
- (d) 該物質が、該ポリペプチドの作用に起因する特性または機能を変更するか否かを決定する工程；

を包含し、これにより、該物質の存在下で観察される変更が、該細胞を該物質を欠く組成物と接触させた時には観察されない場合、該物質は潜在的な治療剤として同定される、方法。

【請求項34】 病理の処置における使用のための潜在的な治療剤を同定するための方法であって、ここで該病理は、請求項5に記載のポリペプチドの異常発現または異常な病理学的相互作用に関連し、該方法は、以下：

- (a) 該病理に関連するポリペプチドを同定する工程；
- (b) 選択された該ポリペプチドを発現し、かつ該ポリペプチドの作用に起因する特性または機能を有する細胞を提供する工程；
- (c) 候補物質を含む組成物と該細胞とを接触させる工程、および

(d) 該物質が、該ポリペプチドの作用に起因する特性または機能を変更するか否かを決定する工程；

を包含し、これにより、該物質の存在下で観測される変更が、該細胞を該物質を欠く組成物と接触させた時には観察されない場合、該物質は潜在的な治療剤として同定される、方法。

【請求項35】 請求項1に記載のポリペプチドの活性を調節するための方法であって、該方法は、請求項1に記載のポリペプチドを発現する細胞サンプルと、該ポリペプチドの活性を調節するのに十分な量の、該ポリペプチドに結合する化合物とを接触させる工程を包含する、方法。

【請求項36】 請求項5に記載のポリペプチドの活性を調節するための方法であって、該方法は、請求項5に記載のポリペプチドを発現する細胞サンプルと、該ポリペプチドの活性を調節するのに十分な量の、該ポリペプチドに結合する化合物とを接触させる工程を包含する、方法。

【請求項37】 SECX関連障害を処置または予防する方法であって、該方法は、このような処置または予防が所望される被験体に、該被験体における該SECX関連障害を処置または予防するのに十分な量で、請求項1に記載のポリペプチドを投与する工程を包含する、方法。

【請求項38】 前記被験体がヒトである、請求項37に記載の方法。

【請求項39】 SECX関連障害を処置または予防する方法であって、該方法は、このような処置または予防が所望される被験体に、該被験体における該SECX関連障害を処置または予防するのに十分な量で、請求項5に記載のポリペプチドを投与する工程を包含する、方法。

【請求項40】 前記被験体がヒトである、請求項39に記載の方法。

【請求項41】 SECX関連障害を処置または予防する方法であって、該方法は、このような処置または予防が所望される被験体に、該被験体における該SECX関連障害を処置または予防するのに十分な量で、請求項6に記載の核酸を投与する工程を包含する、方法。

【請求項42】 前記被験体がヒトである、請求項41に記載の方法。

【請求項43】 SECX関連障害を処置または予防する方法であって、該

方法は、このような処置または予防が所望される被験体に、該被験体における該 S E C X 関連障害を処置または予防するのに十分な量で、請求項 1 3 に記載の核酸を投与する工程を包含する、方法。

【請求項 4 4】 前記被験体がヒトである、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 5】 S E C X 関連障害を処置または予防する方法であって、該方法は、このような処置または予防が所望される被験体に、該被験体における該 S E C X 関連障害を処置または予防するのに十分な量で、請求項 2 1 に記載の抗体を投与する工程を包含する、方法。

【請求項 4 6】 前記被験体がヒトである、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 7】 請求項 1 に記載のポリペプチドおよび薬学的に受容可能なキャリアを含む、薬学的組成物。

【請求項 4 8】 請求項 5 に記載のポリペプチドおよび薬学的に受容可能なキャリアを含む、薬学的組成物。

【請求項 4 9】 請求項 6 に記載の核酸分子および薬学的に受容可能なキャリアを含む、薬学的組成物。

【請求項 5 0】 請求項 1 3 に記載の核酸分子および薬学的に受容可能なキャリアを含む、薬学的組成物。

【請求項 5 1】 請求項 2 1 に記載の抗体および薬学的に受容可能なキャリアを含む、薬学的組成物。

【請求項 5 2】 請求項 2 4 に記載の抗体および薬学的に受容可能なキャリアを含む、薬学的組成物。

【請求項 5 3】 1 つ以上の容器中に、請求項 4 7 に記載の薬学的組成物を含む、キット。

【請求項 5 4】 1 つ以上の容器中に、請求項 4 8 に記載の薬学的組成物を含む、キット。

【請求項 5 5】 1 つ以上の容器中に、請求項 4 9 に記載の薬学的組成物を含む、キット。

【請求項 5 6】 1 つ以上の容器中に、請求項 5 0 に記載の薬学的組成物を含む、キット。

【請求項57】 1つ以上の容器中に、請求項51に記載の薬学的組成物を含む、キット。

【請求項58】 1つ以上の容器中に、請求項52に記載の薬学的組成物を含む、キット。

【請求項59】 ヒト疾患に関連する症候群を処置するための医薬の製造における治療剤の使用であって、該疾患は、SECX関連障害から選択され、ここで該治療剤は、SECXポリペプチド、SECX核酸およびSECX抗体からなる群より選択される、使用。

【請求項60】 SECX関連障害の活性の調節因子またはSECX関連障害の潜伏性もしくはSECX関連障害に対する素因の調節因子についてスクリーニングするための方法であって、該方法は、以下；

a) SECX関連障害について危険性の増加した試験動物に、試験化合物を投与する工程であって、ここで該試験動物は、請求項1に記載のポリペプチドを組換え的に発現する、工程；

b) 工程(a)の化合物を投与する工程の後、該試験動物中の該ポリペプチドの活性を測定する工程；

c) 該ポリペプチドが投与されていないコントロール動物における該ポリペプチドの活性と、該試験動物中のタンパク質の活性とを比較する工程であって、ここで該コントロール動物と比較した該試験動物における該ポリペプチドの活性の変化は、該試験化合物が、SECX関連障害の潜伏性またはSECX関連障害に対する素因の調節因子であることを示す、工程、を包含する、方法。

【請求項61】 請求項59に記載の方法であって、前記試験動物が、試験タンパク質導入遺伝子を発現するか、またはプロモーターの制御下で野生型試験動物と比較して増加したレベルで該導入遺伝子を発現する組換え試験動物であり、ここで該プロモーターは、該導入遺伝子のネイティブな遺伝子プロモーターではない、方法。

【請求項62】 SECX関連障害の活性の調節因子またはSECX関連障害の潜伏性もしくはSECX関連障害に対する素因の調節因子についてスクリー

ニングする方法であって、該方法は、以下；

a) S E C X 関連障害について危険性の増加した試験動物に対して、試験化合物を投与する工程であって、ここで該試験動物は、請求項5に記載のポリペプチドを組換え的に発現する、工程；

b) 工程(a)の化合物を投与する工程の後、該試験動物中の該ポリペプチドの活性を測定する工程；および

c) 該ポリペプチドが投与されていないコントロール動物における該ポリペプチドの活性と該試験動物中のタンパク質の活性とを比較する工程であって、ここで該コントロール動物と比較した該試験動物における該ポリペプチドの活性の変化は、該試験化合物が、S E C X 関連障害の潜伏性またはS E C X 関連障害に対する素因の調節因子であることを示す、工程、を包含する、方法。

【請求項63】 請求項62に記載の方法であって、前記試験動物が、試験タンパク質導入遺伝子を発現するか、またはプロモーターの制御下で野生型試験動物と比較して増加したレベルで該導入遺伝子を発現する組換え試験動物であり、ここで該プロモーターは、該導入遺伝子のネイティブな遺伝子プロモーターではない、方法。

【請求項64】 第1の哺乳動物被験体中の請求項1に記載のポリペプチドの変更されたレベルに関連する疾患の存在または該疾患に対する素因を決定するための方法であって、該方法は、以下：

a) 該第1の哺乳動物被験体からのサンプル中の該ポリペプチドの発現のレベルを測定する工程；および

b) 該疾患を有さないことが既知であるか、または該疾患に対する素因がないことが既知である第2の哺乳動物被験体からのコントロールサンプル中に存在する該ポリペプチドの量に対して、工程(a)に記載の該サンプル中の該ポリペプチドの量を比較する工程；

を包含し、ここで該コントロールサンプルと比較した該第1の被験体中の該ポリペプチドの該発現レベルの変更が、該疾患の存在または該疾患に対する素因を示す、方法。

【請求項65】 第1の哺乳動物被験体中の請求項5に記載のポリペプチドの変更されたレベルに関連する疾患の存在または該疾患に対する素因を決定するための方法であって、該方法は、以下：

a) 該第1の哺乳動物被験体からのサンプル中の該ポリペプチドの発現のレベルを測定する工程；および

b) 該疾患を有さないことが既知であるか、または該疾患に対する素因がないことが既知である第2の哺乳動物被験体からのコントロールサンプル中に存在する該ポリペプチドの量に対して、工程(a)に記載の該サンプル中の該ポリペプチドの量を比較する工程；

を包含し、ここで該コントロールサンプルと比較した該第1の被験体中の該ポリペプチドの該発現レベルの変更が、該疾患の存在または該疾患に対する素因を示す、方法。

【請求項66】 第1の哺乳動物被験体中の請求項6に記載の核酸分子の変更されたレベルに関連する疾患の存在または該疾患に対する素因を決定するための方法であって、該方法は、以下：

a) 該第1の哺乳動物被験体からのサンプル中の該核酸の量を測定する工程；および

b) 該疾患を有さないことが既知であるか、または該疾患に対する素因がないことが既知である第2の哺乳動物被験体からのコントロールサンプル中に存在する該核酸の量に対して、工程(a)に記載の該サンプル中の該核酸の量を比較する工程；

を包含し、ここで該コントロールサンプルと比較した該第1の被験体中の該核酸のレベルにおける変更が、該疾患の存在または該疾患に対する素因を示す、方法。

【請求項67】 第1の哺乳動物被験体中の請求項13に記載の核酸分子の変更されたレベルに関連する疾患の存在または該疾患に対する素因を決定するための方法であって、該方法は、以下：

a) 該第1の哺乳動物被験体からのサンプル中の該核酸の量を測定する工程；および

b) 該疾患を有さないことが既知であるか、または該疾患に対する素因がないことが既知である第2の哺乳動物被験体からのコントロールサンプル中に存在する該核酸の量に対して、工程(a)に記載の該サンプル中の該核酸の量を比較する工程；

を包含し、ここで該コントロールサンプルと比較した該第1の被験体中の該核酸のレベルにおける変更が、該疾患の存在または該疾患に対する素因を示す、方法。

【請求項68】 哺乳動物における病理状態を処置する方法であって、該方法は、該病理状態を緩和するに十分な量でポリペプチドを該哺乳動物に投与する工程を包含し、ここで該ポリペプチドは、請求項1に記載のポリペプチドに少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチドまたはその生物学的に活性なフラグメントである、方法。

【請求項69】 哺乳動物における病理状態を処置する方法であって、該方法は、該病理状態を緩和するに十分な量でポリペプチドを該哺乳動物に投与する工程を包含し、ここで該ポリペプチドは、請求項5に記載のポリペプチドに少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチドまたはその生物学的に活性なフラグメントである、方法。

【請求項70】 哺乳動物における病理状態を処置する方法であって、該方法は、該病理状態を緩和するに十分な量で、請求項21に記載の抗体を該哺乳動物に投与する工程を包含する、方法。

【請求項71】 哺乳動物における病理状態を処置する方法であって、該方法は、該病理状態を緩和するに十分な量で、請求項24に記載の抗体を該哺乳動物に投与する工程を包含する、方法。

**【発明の詳細な説明】****【0001】****(発明の分野)**

本発明は、ポリヌクレオチドおよびそのようなポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、ならびにそれらのポリペプチドおよびポリヌクレオチドを産生するためのベクター、宿主細胞、抗体、および組換え方法に関する。

**【0002】****(発明の背景)**

真核細胞は、膜によって、オルガネラと呼ばれる複数の機能的に別個の区画に細分されている。各オルガネラは、その正しい機能のために必須であるタンパク質を含む。これらのタンパク質は、しばしばソーティングシグナルと呼ばれる配列モチーフを含み得る。このソーティングシグナルは、タンパク質を、それらの適切な細胞内オルガネラに標的化する際に補助となり得る。さらに、ソーティングシグナルは、細胞から搬出または分泌されるようにいくつかのタンパク質を方向付け得る。

**【0003】**

1つの型のソーティングシグナルは、シグナル配列であり、これはまた、シグナルペプチドまたはリーダー配列とも呼ばれる。このシグナル配列は、新規に合成されたポリペプチドのアミノ末端伸長として存在する。シグナル配列は、タンパク質を小胞体(E R)と呼ばれる細胞内オルガネラに標的化し得る。

**【0004】**

シグナル配列は、E R中のチャネルを通してシグナル配列を含むポリペプチドの移行を生じる一連のタンパク質-タンパク質相互作用およびタンパク質-脂質の相互作用において役割を果たす。移行後、シグナルペプチダーゼという名前の膜結合酵素が、シグナル配列から成熟酵素を遊離させる。

**【0005】**

E Rは、膜結合タンパク質および分泌タンパク質を、細胞質中に残っているタンパク質から分離するように機能する。一旦E Rに標的化されたならば、分泌タンパク質と膜結合タンパク質の両方は、ゴルジ装置と呼ばれる別の細胞内オルガ

ネラにさらに分布され得る。ゴルジは、他の細胞内オルガネラ（例えば、ベシクル、リソソーム、原形質膜、ミトコンドリア、およびマイクロボディー）にタンパク質を方向付ける。

#### 【0006】

ヒトの膜結合タンパク質および分泌タンパク質をコードする遺伝子の限られた数のみが同定されている。既知の分泌タンパク質の例には、ヒトインスリン、インターフェロン、インターロイキン、トランスフォーミング増殖因子、ヒト成長ホルモン、エリスロポエチン、およびリンホカインが挙げられる。

#### 【0007】

##### （発明の要旨）

本発明は、部分的には、新規なヒトポリヌクレオチド配列およびこれらの配列によってコードされるポリペプチドの発見に基づく。本発明のポリペプチドまたは同義のタンパク質には、IL-17様タンパク質（クローン2191999）、推定細胞接着タンパク質改変体（クローン11753149.0.6および11753149.0.37）、推定表面膜結合タンパク質（クローン3883556およびcDNAクローンpCDNA3.1-TOPO-3883556-S54）、PCK-1様タンパク質改変体（クローン4301136-1および4301136-2）、表面接着タンパク質様改変体（クローン4324229および4324229-2）、表面接着タンパク質様タンパク質（AC012614\_1.0.123）、ミトコンドリア膜または原形質膜結合タンパク質改変体（クローン4339264-2および4339264-3）、推定マイクロボディー（ペルオキシソーム）結合タンパク質（クローン4991184）、ならびにオプソニン様および/またはMAG4V様タンパク質およびそのcDNA改変体（クローン4437909.0.4、4437909.0.55およびcDNA TA-4437909-S443）が挙げられる。本発明のタンパク質には、本明細書中の核酸のオープンリーディングフレームによってコードされる全長タンパク質とそのタンパク質のプロセスされた成熟形態の両方が含まれる。本発明のタンパク質の前駆体形態および成熟形態は、本明細書中に記載される。それによってコードされるこれらのポリヌクレオチドおよびポリペプチドは、集合的

に、SECX遺伝子セットと呼ばれ、その配列は配列番号1～31において開示される。

【0008】

1つの局面において、本発明は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、および30の1つ以上のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、単離されたSECX核酸分子を含む。例えば、種々の実施形態において、その核酸は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、および31を含むヌクレオチド配列を含み得る。あるいは、コードされたSECXポリペプチドは、改変体アミノ酸配列を有し得、例えば、本明細書中に記載されるような、開示されたアミノ酸配列に対して、100%未満の同一性または類似性を有する。

【0009】

本発明はまた、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、および30の1つ以上のアミノ酸配列、またはこれらのアミノ酸配列の少なくとも15アミノ酸を有するフラグメントを含む、単離されたポリペプチドを含む。SECXポリペプチドの、天然に存在するポリペプチド改変体もまた含まれ、ここでそのポリペプチドは、ストリンジェントな条件下で、SECX核酸分子からなる核酸分子にハイブリダイズする核酸分子によってコードされる。

【0010】

SECXポリペプチドに選択的に結合する抗体もまた、本発明に含まれる。

【0011】

本発明はさらに、核酸分子が発現される条件下で、本明細書中に記載されるSECX核酸の1つを発現する宿主細胞を培養することによってSECXポリペプチドを産生するための方法を含む。

【0012】

本発明はまた、哺乳動物（例えば、ヒト）由来のサンプル中のSECXポリペプチドまたは核酸の存在および量を検出するための方法を含み、この方法は、哺

乳動物由来のサンプルを、本明細書中に記載されるポリペプチドの1つと選択的に結合する抗体と接触させる工程、ならびにサンプル中の抗体およびポリペプチドを含む反応複合体の形成を検出する工程を包含する。サンプル中の複合体の形成の検出は、そのサンプル中でのポリペプチドの存在を示す。抗体反応複合体濃度の測定のための方法は、当該分野で周知である。核酸を検出および定量するための方法は、ハイブリダイゼーションおよびTaqMan™定量を包含する。

#### 【0013】

本発明はさらに、サンプル中のSECXポリペプチドに対して少なくとも80%同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドのレベルの変化に関連した、疾患の存在（例えば、病理学的状態）を検出または診断するための方法を包含する。この方法は、哺乳動物被験体（例えば、ヒト）由来の生物学的サンプルにおけるポリペプチドのレベルを測定する工程、およびその検出したレベルを、正常な被験体において、または異なる時点（例えば、状態の発症に先立つ時点）における同じ被験体において存在するポリペプチドのレベルと比較する工程を包含する。正常レベルに対して比較されるような、そのポリペプチドのレベルの増加または減少は、疾患状態を示す。

#### 【0014】

哺乳動物（例えば、ヒト）由来のサンプルにおけるSECX核酸分子の存在を検出する方法も、本発明に含まれる。この方法は、サンプルを、その核酸分子と選択的にハイブリダイズする核酸プローブまたはプライマーと接触させる工程、およびその核酸プローブまたはプライマーが、サンプル中の核酸分子に結合するか否かを決定する工程を包含する。核酸プローブまたはプライマーの結合は、その核酸分子がそのサンプル中に存在することを示す。

#### 【0015】

本発明はさらに、哺乳動物（例えば、ヒト）由来のサンプルにおけるSECX核酸のレベルの変化に関連した疾患の存在を検出または診断するための方法を包含する。この方法は、哺乳動物被験体由来の生物学的サンプル中の核酸のレベルを測定する工程、およびその検出したレベルを、正常な被験体において、または異なる時点における同じ被験体において存在する核酸のレベルと比較する工程を

包含する。正常レベルに対して比較されるような、その核酸のレベルの増加または減少は、疾患状態を示す。

【0016】

本発明はまた、病理学的状態を緩和するのに十分な量でSECXポリペプチドを被験体に投与することによって、哺乳動物（例えば、ヒト）における病理学的状態を処置する方法を包含する。そのポリペプチドは、SECXポリペプチドに対して少なくとも80%同一なアミノ酸配列を有する。

【0017】

あるいは、その哺乳動物は、本明細書中に記載されるような抗体を、病理学的状態を緩和するのに十分な量で投与することによって処置され得る。

【0018】

本発明の処置の方法がそのために想定される病理学的状態には、非限定的な例として、癌、新生物障害、免疫障害、免疫不全、自己免疫疾患、後天性免疫不全症候群、移植片拒絶、アレルギー、病理学的生物または薬剤による感染、炎症性障害、関節炎、乾癬、造血性障害、皮膚障害、分化障害、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、神経学的疾患または障害、アルツハイマー病、癲癇、精神分裂病、組織再生、外傷、外科的または外傷的創傷、脊髄損傷、角膜ジストロフィー、生殖障害、筋系障害、および骨格障害が挙げられる。

【0019】

他に規定しない限り、本明細書中で使用される技術的用語および科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって共通して理解されるのと同じ意味を有する。本明細書中に記載される方法および材料と類似または等価な方法または材料が、本発明の実施および試験において使用され得るが、適切な方法および材料は以下に記載される。本明細書中で言及されるすべての刊行物、特許出願、特許、および他の文献は、その全体が参考として援用される。矛盾する場合には、定義を含む本明細書が優先される（control）。さらに、材料、方法、および実施例は、例示のみであって限定することを意図しない。

【0020】

本発明の他の特徴および他の利点は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲

から明らかとなる。

【0021】

(発明の詳細な説明)

本発明は、新規なヌクレオチドおよびそれによってコードされるを提供する。このポリヌクレオチドおよびそれらによってコードされるポリペプチドは、配列番号1～31に開示される。

【0022】

それらの配列は、集合的に「SECX核酸」または「SECXポリヌクレオチド」と呼ばれ、そして対応するコードされるポリペプチドは、「SECXポリペプチド」または「SECXタンパク質」と呼ばれる。例えば、本発明に従うSECX核酸は、SECX核酸を含む核酸であり、そして本発明に従うSECXポリペプチドは、SECXポリペプチドのアミノ酸配列を含むポリペプチドである。他に示されない場合、「SECX」は、本明細書中に開示された新規な配列のいずれかをいうことを意味する。

【0023】

表1は、SECX核酸およびそれらのコードされるポリペプチドの要約を提供する。本発明に従うSECX核酸についての核酸配列およびポリペプチド配列は、「SECX核酸およびポリペプチド配列の開示された配列」と題された、本明細書の以下の節において提供される。

【0024】

【表1】

SECX クローン, 表, 配列番号

クローン	表	核酸 配列番号	ポリペプチド 配列番号
2191999	図 1	1	2
11753149.0.6	図 2	3	4
11753149.0.37	図 3	5	6
3883556	図 4	7	8
4301136-1	図 5	9	10
4301136-2	図 6	11	12
4324229	図 7	13	14
4324229-2	図 8	15	16
AC012614_1.0.123	図 9	17	18
4339264-2	図 10	19	20
4357764-3	図 11	21	22
4391184	図 12	23	24
4437909.0.4	図 13	25	26
4437909.0.55	図 14	27	28
pCDNA3.1-TOPO- 3883556-S54	図 18	29	30
TA-4437909-S443	図 19	31	
pSec-V5-His 正方向	実施例 1	32	
pSec-V5-His 逆方向	実施例 1	33	
11753149 SECF	実施例 2	34	
11753149 SECR	実施例 2	35	
3883556 F-TOPO-F	実施例 4	36	
3883556 F-TOPO-R	実施例 4	37	
4437909-F	実施例 5	38	
4437909-R	実施例 5	39	
4437909 S1	実施例 5	40	
4437909 S2	実施例 5	41	
4437909 S3	実施例 5	42	
4437909 S4	実施例 5	43	
リンカー 1	実施例 7	44	
リンカー 2	実施例 7	45	
Ag 45 (F)	実施例 8	46	
Ag 45 (R)	実施例 8	47	
Ag 45 (P)	実施例 8	48	
Ab10(F)	実施例 9	49	
Ab10(R)	実施例 9	50	
Ab10(P)	実施例 9	51	
Ag 120 (F)	実施例 10	52	
Ag 120 (R)	実施例 10	53	
Ag 120 (P)	実施例 10	54	
Ab11(F)	実施例 11	55	
Ab11(R)	実施例 11	56	
Ab11(P)	実施例 11	57	

本明細書中に記載されるポリペプチドまたはタンパク質は、天然に存在するポリペプチドまたは前駆体型またはプロタンパク質の産物である。天然に存在するポリペプチド、前駆体、またはプロタンパク質には、例えば、対応する遺伝子によってコードされる全長遺伝子産物が含まれる。あるいは、それは、本明細書中

に記載されるオープンリーディングフレームによってコードされる、ポリペプチド、前駆体、またはタンパク質として定義され得る。「成熟」型のポリペプチドまたはタンパク質は、1つ以上の天然に存在するプロセス工程が細胞または宿主細胞内で起こり得る場合に、その工程の結果として生じる。ここでその遺伝子産物は、例えば、オープンリーディングフレームの開始コドンによってコードされるアミノ末端メチオニン残基の切断、またはシグナルペプチドもしくはリーダー配列のタンパク質分解性の切断を生じる。従って、残基1～N（ここで、残基1はN末端メチオニンである）を有する前駆体ポリペプチドまたはタンパク質から生じる成熟形態は、残りの残基2～Nを有する。あるいは、残基1～Nを有する前駆体ポリペプチドまたはタンパク質から生じる成熟形態（ここで、残基1～残基Mまでのアミノ末端シグナル配列が切断されている）は、残りの残基M+1～残基Nまでの残基を有する。本明細書中でさらに使用されるように、「成熟」型のポリペプチドまたはタンパク質は、タンパク質分解事象ではなく、翻訳後修飾の工程から生じ得る。このようなさらなるプロセスには、非限定的な例示として、グリコシル化、ミリスチル化、またはリン酸化が挙げられる。一般的に、成熟ポリペプチドまたはタンパク質は、これらのプロセスの1つのみの操作から生じ得るか、またはそれらのいずれかの組み合わせから生じ得る。

#### 【0025】

本明細書中で使用される場合、「同一の」残基とは、2つの配列のアラインメントにおける等価なヌクレオチド塩基またはアミノ酸残基が同じ残基である、2つの配列間の比較における残基に対応する。アラインメント中の2つの配列間の比較が、その比較における等価な位置の残基が同じアミノ酸であるか、または以下に定義する保存性アミノ酸であるかのいずれかを示す場合に、残基は、代替的に、「類似」または「ポジティブ」であると記載される。

#### 【0026】

(1. クローン2191999)

クローン2191999は、インターロイキン-17 (IL-17) に類似する。このクローン2191999のヌクレオチド配列 (配列番号1) は、図1に示され、1107bp長である。このヌクレオチド配列は、178アミノ酸残基

(図1; 配列番号2において表される)のポリペプチドをコードするオープンリーディングフレーム(「ORF」)を有する。開始コドンは、ヌクレオチド65~67にあり、そして終止コドンはヌクレオチド599~601にある。配列番号2のタンパク質は、PSORTプログラムによって、確実度0.4037で細胞外に局在することが予測される。プログラムSignalPは、N末端シグナルペプチドが、アミノ酸GSQ-EP(すなわち、GlySerGln-GluPro)の間でダッシュによって表される、残基22と23との間の最も可能性の高い切断部位を有することを予測する。

#### 【0027】

IL-17は、プロ炎症性応答の開始および維持において重要な役割を果たし得るT細胞由来のサイトカインである。IL-17の発現が活性化T細胞に制限されるのに対して、IL-17レセプターは、広範に発現されることが見出されており、これは、IL-17の多面的な活性と一致する知見である。2つのヒトサイトカイン、IL-17BおよびIL-17Cは、IL-17に関連する(約27%アミノ酸同一性; Proc Natl Acad Sci USA 2000、97(2):773-8)。IL-17B mRNAは、成体膵臓、小腸、および胃において発現される。IL-17C mRNAは、いくつかの成体組織のRNAプロットハイブリダイゼーションによっては検出されない。IL-17BまたはIL-17C mRNAの発現は、活性化T細胞においては見出されない。サイトカイン誘導の概観において、IL-17BおよびIL-17Cは、単球細胞株THP-1からの腫瘍壊死因子 およびIL-1の放出を刺激するのに対して、IL-17は、この系において小さな効果を有する。IL-1、IL-6、IFN、または顆粒球コロニー刺激因子の誘導は、THP-1細胞において見出されない。蛍光活性化セルソーター分析は、IL-17BおよびIL-17CがTHP-1細胞に結合することを示す。逆に、IL-17BおよびIL-17Cは、IL-17アッセイ、またはヒト線維芽細胞からのIL-6の放出の刺激において活性ではなく、そしてヒトIL-17レセプター細胞外ドメインに結合しない。これらのデータは、細胞表面レセプターの同族のセットを通して伝達され得る発現のパターンおよびプロ炎症性応答において異なるIL

- 17関連サイトカインのファミリーが存在することを示す。クローン2191999は、類似性によってIL-17と高度に関連しているので、クローン2191999は、サイトカイン発現のパターンを評価する際に、およびプロ炎症性応答において使用され得る。

【0028】

配列番号1のヌクレオチド配列のBLASTX検索において、クローン2191999タンパク質は、発現配列タグである、ヒトPRO1031タンパク質に類似である(90%; WO9946281-A2、1999年9月16日公開)ことが見出されている。これはまた、180残基を有するヒトインターロイキン17Dに90%類似である(WO9935267-A1、1999年7月15日公開)。

【0029】

ヒトIL-17D様ポリペプチドは、ヒトIL-17ポリペプチドに有意に関連する。IL-17とIL-17Dとの間の相同性は、IL-17D様ポリペプチド(例えば、クローン2191999)が、サイトカインレセプターを介するシグナル伝達が可能であることを示唆する。IL-17D様タンパク質はまた、IL-17Dによって媒介される疾患の処置のための治療薬剤として使用され得る。これらのポリペプチドは、B細胞およびB細胞腫瘍に化合物を標的化するために、およびB細胞集団の特異的選択のために使用し得るようである。

【0030】

配列番号1のBLASTXはさらに、クローン2191999タンパク質が、180残基を有する、ヒト胎児由来インターロイキン関連因子Iタンパク質(EDIRF I)(1999年7月1日に公開されたWO9932632-A1)に90%類似であることを示す。このEDIRF様DNAおよびタンパク質配列(例えば、クローン2191999)およびそれらのホモログ、EDIRF様タンパク質に特異的な抗体(Ab)、および他のモジュレーターが以下の場合に使用され得る:(i)スクリーニングおよび検出アッセイにおいて(例えば、染色体マッピング、組織適合試験、または法医学的研究のために);(ii)診断、予後、または臨床試験のモニタリングにおいて;(iii)EDIRF様関連疾

患（とりわけ、免疫性疾患、造血性疾患、分化性疾患、発生性疾患、または炎症性疾患（関節炎および乾癬を含む））を処置または予防するため。E D I R F 様コード配列またはそのフラグメントもまた、プローブまたはプライマーとして（関連する配列および疾患関連変異を検出するため、また変異誘発のため）、組換えE D I R F を発現するため、ならびに、E D I R F 由来のmRNAの翻訳を阻害するためのアンチセンス、リボザイム、およびペプチド核酸の供給源として有用である。E D I R F 様タンパク質は、Ab（異常な翻訳後修飾を有する型を含むE D I R F を検出するため、アフィニティークロマトグラフィーのために、および治療的に有用である）を惹起するために、および特定のモジュレーター（例えば、ペプチドまたはペプチド模倣物）をスクリーニングするために使用され得る。

#### 【0031】

クローン2191999はまた、ヒトインターロイキン-20（IL-20；WO9903982-A1、1999年1月28日公開）に90%類似である。クローン2191999配列は、例えば、B細胞新生物（慢性リンパ球白血病（CLL）およびBリンパ球白血病（BLL）を含む）を処置するために、および抗癌処置および抗ウイルス処置において使用され得るヒトインターロイキン-20様遺伝子および遺伝子産物を表す。クローン2191999は、免疫不全（例えば、Tリンパ球およびBリンパ球）、白血球減少、白血球の数の減少、免疫障害（例えば、慢性関節リウマチ）を処置するために使用され得る。クローン2191999はまた、クローン2191999と同時投与され得る他の治療薬剤に、インビボで体液性免疫応答または細胞性免疫応答を増強するために（例えば、ウイルス抗原ワクチン（例えば、HIV）の効力を増強するために）使用され得る。クローン2191999はまた、骨髄移植からの化学療法に苦しむ患者の処置のため、角膜損傷、角膜炎、潰瘍、血小板減少症を処置するため、癌の処置において好中球および血小板の数を回復させるため、炎症、腎不全、AIDS、および癌に関連する貧血を処置するために赤血球生成を増強させるための、免疫治療組成物および抗炎症組成物において有用であり得る。クローン2191999は、造血を処置するため、および敗血症を処置するために使用され得る。クロー

ン2191999のアゴニストおよびアンタゴニストもまた、使用され得る。

【0032】

配列番号1によってコードされるタンパク質はまた、180残基のポリペプチドである、哺乳動物サイトカイン様因子7ポリペプチド、ヒトZcyto7(1998年11月5日に公開された、WO9849310-A1)に90%類似である。従って、クローン2191999は、例えば、骨粗しょう症を処置するために、または炎症、神経変性疾患などの処置において、例えば、骨および軟骨の成長を促進するために有用であり得る。

【0033】

クローン2191999は、本明細書中で開示されたORFによってコードされるような、開示された全長タンパク質、ならびにシグナルペプチドの除去の結果としてそこから生じる任意の成熟タンパク質を含む。クローン2191999はまた、クローン2191999のすべてのフラグメント、アナログ、ホモログ、および誘導体を含む。従って、本発明のタンパク質は、クローン2191999タンパク質の前駆体および活性型の両方を含む。

【0034】

(2.クローン11753149.0.6)

クローン11753149.0.6は、1603bp長のポリヌクレオチド(図2;配列番号3)を含む。このクローンの同定において使用された、ディファレンシャルに発現された遺伝子フラグメントは、胎児脳組織から得られた。発現されたフラグメントはまた、胎児脳組織および視床においてもまた、観察される。クローン11753149.0.6は、344アミノ酸残基のポリペプチドをコードするORF(図2;配列番号4)を含む。このORFは、推定N末端シグナルペプチド配列および残基327~344の間のC末端膜結合配列を含む。開始コドンは、ヌクレオチド92~94に存在し、終止コドンはヌクレオチド1124~1126に存在する。PSORTは、このポリペプチドが0.8110の確実性で原形質膜に局在することを予測する。SignalPプログラムは、コードされたポリペプチドが、シグナル配列を有すること、および最も可能性のある切断部位が残基33および34の間に存在することを予測し、これは、アミノ

酸VRS - GD (すなわち、ValArgSer - GlyAsp)の間のダッシュによって表される。SIGNALPもまた、残基18と残基34との間のセグメント中に、さらなるシグナルペプチダーゼ切断部位を予測する。

#### 【0035】

核酸配列データベースの検索において、クローン11753149.0.6は、ラットニューロトリミン(neurotrimin)(ディファレンシャルに発現した神経細胞接着分子のサブファミリー)に、全配列2040bpのうち1477bpである、84%の程度で同一である(GenBank - ID: RNU16845 | acc: U16845; Struykら、J. Neurosci. 15(3)、2141 - 2156(1995))。

#### 【0036】

同様の特性および類似の特性を有すると記載される、さらなる核酸に対する類似性もまた見出された。これらの核酸には、以下が含まれる：(1)CEPU-1についてのニワトリmRNA、発生している小脳プルキンエ細胞によって発現される免疫グロブリンスーパーファミリー分子(GenBank - ID: GGCEPU1 | acc: Z72497、SpaltmannおよびBrummendorf. Neurosci. 16(5)、1770 - 1779(1996)); (2)免疫グロブリン様オピオイド結合細胞接着分子(OBCAM)サブファミリーに属する神経分泌性糖タンパク質として同定されたニワトリCEPU遺伝子(GenBank - ID: GGCEPUS | acc: AJ225897、Kimら、1999 Mol. Cells 9(3)、270 - 276); および(3)オピオイド結合タンパク質/細胞接着分子OBCAMについてのウシmRNA(GenBank - ID: BTOBCAM | acc: X12672)。

#### 【0037】

BLASTP検索は、クローン11753149.0.6によってコードされるポリペプチドが、336残基のうち、344残基を有するラットニューロトリミン前駆体(GP65)(GenBank acc: Q62718)と同一な311残基(92%)を有し、そして336残基のうち、その前駆体に対してポジティブである320残基(95%)を有することを明らかにした。これはまた、

337残基のうち、345残基を有するヒトオピオイド結合タンパク質/細胞接着分子前駆体(OBCAM)(GenBank acc:Q14982)と同一な240残基(71%)を有し、そして337残基のうち、そのOBCAMに対して277残基(82%)ポジティブな残基を有する。

#### 【0038】

クローン11753149.0.6によってコードされる本発明のニューロトリミン様タンパク質および/またはOBCAM様タンパク質は、本明細書中に記載されたORFによってコードされると開示された全長タンパク質、ならびにシグナルペプチドの除去の結果としてそこから生じる任意の成熟タンパク質を含む。クローン11753149.0.6はまた、クローン11753149.0.6のすべてのフラグメント、アナログ、ホモログ、および誘導体を含む。従って、本発明のタンパク質は、ニューロトリミンおよび/またはOBCAM様タンパク質タンパク質の前駆体および活性型の両方を含む。

#### 【0039】

(3.クローン11753149.0.37)

クローン11753149.0.37は、クローン11753149.0.6の改変体であり、ここでそのヌクレオチド配列は、より長い5'非翻訳領域(UTR)を有するが、同じオープンリーディングフレームを有する。クローン11753149.0.37ヌクレオチド配列(配列番号5)およびそれにおいてコードされる推定ポリペプチド配列(配列番号6)は、図3に示される。クローン11753149.0.37のORFは、配列番号5の番号付けスキームにおいて、ヌクレオチド501~ヌクレオチド1532の範囲にわたる。クローン11753149.0.37によってコードされるニューロトリミン様またはOBCAM様ポリペプチドの特性は、クローン11753149.0.6についての先の節に説明されたものと同じである。さらに、長い5'UTRは、種々の組織、生理学的状態、および病理学的状態の間で、クローン11753149.0.37の遺伝子産物の発現の特異性に影響を与える制御エレメントおよび/または応答エレメントを含み得る。

#### 【0040】

クローン11753149.0.37によってコードされる本発明のニューロトリミン様タンパク質および/またはOBCAM様タンパク質は、本明細書中に記載されたORFによってコードされると開示された全長タンパク質、ならびにシグナルペプチドの除去の結果としてそこから生じる任意の成熟タンパク質を含む。クローン11753149.0.37はまた、クローン11753149.0.37のすべてのフラグメント、アナログ、ホモログ、および誘導体を含む。従って、本発明のタンパク質は、ニューロトリミン様および/またはOBCAM様タンパク質の前駆体および活性型の両方を含む。

#### 【0041】

(4.クローン3883556)

クローン3883556は、1228bp長のポリヌクレオチド(配列番号7)を含み、これは、図4に示される。この配列の発現は、ヒト胎児脳において検出される。配列番号7のポリヌクレオチドは、166残基のポリペプチド(配列番号8)をコードし(図4に示される)、これは、ヌクレオチド529~531の開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド1027~1029の終止コドンで終止するORF中にある。PSORTプログラムは、0.37の確実性で、このポリペプチドが細胞外に存在することを予測する。SignalPプログラムは、このポリペプチドが、アミノ酸SHA-SE(すなわち、SerHisAla-SerGlu)間でダッシュによって表される、残基16と残基17との間の最も可能性のある切断部位を有する、シグナルペプチドを有することを予測する。

#### 【0042】

BLASTP検索は、161aaを有するZK899.1-Caenorhabditiselegansと27%の同一性および41%の類似性;ならびに主要メロゾイト表面抗原-Plasmodiumbergheiyoeelii、641aa(フラグメント)(ACC:G160082)と33%の同一性および47%の類似性を示した。

#### 【0043】

クローン3883556によってコードされる本発明のタンパク質は、本明細

書中に開示された全長タンパク質、ならびにシグナルペプチドの除去の結果としてそこから生じる任意の成熟タンパク質を含む。クローン3883556はまた、クローン3883566のすべてのフラグメント、アナログ、ホモログ、および誘導体を含む。従って、本発明のタンパク質は、3883556タンパク質の前駆体および活性型の両方を含む。

【0044】

(5. クローン4301136-1)

クローン4301136-1は、1917bpのポリヌクレオチド(配列番号9)を含み、これは、図5に示される。このクローンは、最初に、ヒト腎臓および心臓組織において同定された。配列番号9のポリヌクレオチドは、160残基を有するポリペプチド(配列番号10)をコードし(図5に示される)、これは、ヌクレオチド48~50で開始し、そしてヌクレオチド528~530の終止コドンで終止するORF中にある。PSORTプログラムは、0.3700の確実性で、4301136-1ポリペプチドが細胞外に存在することを予測する。SignalPプログラムは、このポリペプチドが、既知のシグナルペプチドを含むことは低い可能性でしかないことを予測する。その場合、シグナルペプチドについての最も可能性のある切断部位は、アミノ酸PWG-GK(すなわち、ProTrpGly-GlyLys)間でダッシュによって表される、残基23と残基24との間に存在する。

【0045】

本発明のクローン4301136-1タンパク質は、本明細書中に開示されたORFによってコードされる全長タンパク質、ならびに例えば、シグナルペプチドの除去の結果としてそこから生じる任意の成熟タンパク質を含む。クローン4301136-1はまた、クローン4301136-1のすべてのフラグメント、アナログ、ホモログ、および誘導体を含む。従って、本発明のタンパク質は、PCK1様クローン4301136-2タンパク質の前駆体および活性型の両方を含む。

【0046】

(6. 4301136-2)

クローン4301136-2は、図6に示されるように、1279bpのポリヌクレオチド(配列番号11)を含む。このクローンは、初めに胎児腎臓組織および心臓組織から単離された。このクローンはまた、正常な成人肺、骨肉種、リンパ節組織、前立腺、胸腺、および胎児脳を含む他の組織からも見出される。

【0047】

クローン4301136-2のポリヌクレオチドは、ヌクレオチド61-63における開始コドンおよびヌクレオチド544-546における終止コドンを有し、図6に示されるように、161残基のポリペプチドをコードするORF(配列番号12)を含む。PSORTプログラムは、0.3700の確実度で細胞外に局在することを予測する。SignalPプログラムは、公知のシグナルペプチドを含むポリペプチドと低い確立のみを予測した。このように、切断部位が、残基23と24との間にたいがい生じると思われる場合、アミノ酸PWG-GKの間のダッシュにより表される(すなわち、ProTrpGly-GlyLys)。

【0048】

クローン4301136-2は、本明細書中に開示されるORFによりコードされる全長タンパク質、および例えば、シグナルペプチドの除去の結果としてそれらから除去される任意の成熟タンパク質を含む。クローン4301136-2はまた、クローン4301136-2の全てのフラグメント、アナログ、ホモログおよび誘導体を含む。従って、本発明のタンパク質は、クローン4301136-2タンパク質の前駆体および活性形態の両方を含む。

【0049】

(7.4324229)

クローン4324229は、図7に示されるように、1689bpのポリヌクレオチド(配列番号13)を含む。このクローンは、次節に開示されるクローン4324229-2のヌクレオチド配列よりも5'方向および3'方向の両方に短い。このクローンはまた、以下に開示されるクローンAC012614-1.0.123のヌクレオチド配列に密接に関連する。この配列は、本来、リンパ節において同定された。クローン4324229ポリペプチドは、図7に示される

316アミノ酸残基(配列番号14)を有し、そしてヌクレオチド1147-1149における終止コドン(有する配列番号13のヌクレオチド199-201)において開始するORFによりコードされる。PSORTプログラムは、このポリペプチドが、0.4433の正確度でミトコンドリアマトリックス空間に局在することを予測する。SignalPプログラムは、この配列が、公知のシグナル配列をたがい有さないようであることを予測した。しかし、SignalPは、シグナル配列が存在する場合、切断部位が、アミノ酸TRL-QPの間のダッシュ(すなわち、TryArgLeu-GlnPro)により表される残基18と19との間に、たがい生じることを予測した。

#### 【0050】

データベース類似性検索は、クローン4324229によりコードされるタンパク質が、ヒト末梢系関連膜タンパク質(LAMP; 1996年10月3日に公開されたPCT公開第W09630052-A1号)のフラグメントに対する類似性を有することを示す。LAMPは、隣接するニューロン間の接続の形成に関与する、自己結合の、抗体様細胞表面接着タンパク質である。LAMPタンパク質、および類推してクローン4324229タンパク質は、神経成長および分化、てんかん、アルツハイマー病および骨肉腫において重要であり得る。

#### 【0051】

クローン4324229によりコードされるタンパク質はまた、ヒトダウン症候群細胞接着分子(DS-CAM2)(1571残基のタンパク質)(1998年4月30日に公開されたPCT公開第W09817795-A1号)の部分に類似する。DS-CAM2は、DS-CAM2は、Igスーパーファミリーの新規サブクラスに属する可溶性細胞外タンパク質であり、神経細胞接着分子に対して最も高い相同性を有する。DS-CAMポリペプチドは、発生および神経学的プロセスに関連する。DS-CAMポリペプチド、および類推してクローン4324229ポリペプチドは、例えば、傷害されたかまたは切断された末梢神経の修復(再生)の管状化(entubulation)方法および上記タンパク質に対するアゴニストおよびアンタゴニストを同定するためのバイオアッセイおよびプロセスにおいて使用される神経人工デバイスにおいて使用され得る。クロー

ン4324229ポリペプチドはまた、発達および神経学的異常（例えば、ダウン症候群、精神遅滞、全前脳症、脳梁の無発育または脳裂）の検出、診断および治療において使用され得る。

#### 【0052】

BLASTN相同性検索において、クローン4324229ヌクレオチド配列の895bp部分がKIAA1061タンパク質についてのヒトmRNAの配列（1999年1月17日に提出されたGenBank ID: AB028984 | acc: AB028984）に対して100%同一であることが見出された。脳に由来するKIAA1061およびその配列は、クローン4324229についての上記で同定されるORFと一致する。BLASTP相同性は、Drosophila melanogasterのFRAZZLED (ACC: Q94537) に対して測定された。

#### 【0053】

クローン4324229タンパク質は、本明細書中で開示されるORFによりコードされる全長タンパク質ならびにそれらから生じる任意の成熟タンパク質を含む。このような成熟タンパク質は、例えば、シグナルペプチドの除去の結果として形成され得る。クローン4324229はまた、クローン4324229の全てのアナログ、ホモログおよび誘導体を含み得る。従って、本発明のタンパク質は、クローン4324229タンパク質の前駆体および活性形態の両方を含む。

#### (8.4324229-2)

クローン4324229-2は、図8に示されるように、4000bpのポリヌクレオチド（配列番号15）を含む。このクローンは、上記に開示されるクローン4324229のヌクレオチド配列の5'方向および3'方向の両方の伸長を含む。このクローンはまた、次節において開示されるクローンAC0126141.0.123のヌクレオチド配列に密接に関係する。クローン4324229-2は、リンパ節において本来同定された。クローン4324229-2ヌクレオチド配列は、図8に示される842アミノ酸残基のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（配列番号16）を含む。このポリペプチドは、ヌクレオチ

ド408-410において開始するオープンリーディングフレームによりコードされ、ヌクレオチド2934-2936における終止コドンを含む。

【0054】

BLASTX分析は、クローン4324229-2タンパク質のC末端の部分が、KIAA1061と同一であることを示す。DNA Res. 6:197-205(1999); GenBank-ID: AB028984 | acc: AB028984を参照のこと。これは、細胞接着分子およびfolliculin様タンパク質に類似する。

【0055】

クローン4324229-2タンパク質は、本明細書中に開示されるORFによりコードされる全長タンパク質およびそれらから生じる成熟タンパク質を含む。このような成熟タンパク質は、例えば、シグナルペプチドの除去の結果として形成され得る。クローン4324229-2はまた、クローン4324229-2の全てのフラグメント、アナログ、ホモログおよび誘導体を含む。従って、本発明のタンパク質は、LAMP様およびDS-CAM様のクローン4324229-2タンパク質の前駆体および活性形態の両方を含む。

(9. AC012614\_1.0.123)

AC012614\_1.0.123は、図9に示される、5502ヌクレオチドの全長クローン(配列番号17)および推定815アミノ酸タンパク質の全コード配列(配列番号18)を含む。推定ORFは、ヌクレオチド420~2865にかかっている。この配列は、神経膠腫、骨芽細胞、他の癌細胞、肺癌および小腸において発現される。

【0056】

AC012614\_1.0.123は、UniGeneエントリー123420に位置し、これは、脳、胸部、腎臓、胎盤およびプールされた組織において発現される。このエントリーはさらに、第5染色体マーカーstSG63086(RH104076としても公知である)に位置する(GM99-GB4 Map情報); 位置: 510.63(cR3000); Lod スコア: 0.71; Reference Interval: D5S471-D5S393(129.

6 - 1 4 0 . 8 c M )。このマーカー情報をM I M遺伝子地図と合わせることに  
より、クローンA C 0 1 2 6 1 4 - 1 . 0 . 1 2 3が、5 q 2 1 - 5 q 3 1に位  
置することが考えられる。

【0057】

A C 0 1 2 6 1 4 \_ 1 . 0 . 1 2 3は、S i g n a l P e pおよびP S o r t  
検索プロトコルを使用して、他のデータベースに対して検索された。このタンパ  
ク質は、ミトコンドリアマトリックス空間に、たいがい位置し( 確実度 = 0 . 4  
7 1 8 )、そしてたいがい公知のN末端シグナル配列を有さない。推定分子量は  
、9 0 3 4 6 . 9ダルトンである。

【0058】

推定A C 0 1 2 6 1 4 ~ 1 . 0 . 1 2 3アミノ酸配列は、B L A S T Pを使用  
して公に利用可能なG e n B a n kデータベースにおいて検索された。8 1 5残  
基のA C 0 1 2 6 1 4 \_ 1 . 0 . 1 2 3タンパク質は、6 9 3アミノ酸のヒトK  
I A A 1 0 6 1タンパク質フラグメント( A C C : B A A 8 3 0 1 3 )と1 0 0  
%同一性を示す( 6 9 3アミノ酸のうち6 9 3 )。A C 0 1 2 6 1 4 \_ 1 . 0 .  
1 2 3タンパク質は、細胞接着タンパク質に；マウス、ラット、ツメガエルおよ  
びヒトのf o l l i s t a t i n関連タンパク質前駆体( T G F - 誘導タンパ  
ク質T S C - 3 6、種々の種における約3 0 0残基のタンパク質)に；そしてD  
r o s o p h i l a r o u n d a b o u tおよびf r a z z l e dの短いセグ  
メントに類似する。これらの遺伝子は、ニューロン発達および再生生理学に関与  
する。類推して、A C 0 1 2 6 1 4 \_ 1 . 0 . 1 2 3タンパク質およびポリペプ  
チドもまた、ニューロン発達および再生生理学に関与する。

【0059】

F r a z z l e dは、D C Cの免疫グロブリンサブファミリーのD r o s o p  
h i l aメンバーをコードし、そしてC N Sおよび運動軸索ガイダンスに必要と  
される。C e l l 8 7 : 1 9 7 - 2 0 4 ( 1 9 9 6 )。ラットC 6神経膠腫分  
泌f o l l i s t a t i n関連タンパク質( F R P )の特徴付けおよびヒトホモ  
ログのクローニングおよび配列決定は、E u r . J . B i o c h e m . 2 2 5 :  
9 3 7 - 9 4 6 ( 1 9 9 4 )に記載される。このタンパク質は、細胞増殖および

分化に対するいくつかの成長因子の作用を調節し得る。FRPは、ヘパリンに結合する。follicle-statin関連タンパク質は、分立タンパク質であり、そして1つのfollicle-statin様ドメインを有する。Flikのクローニングおよび初期の背方軸(dorsal axial)発現、ニワトリfollicle-statin関連遺伝子および背方化/神経誘発への関与についての証拠は、Dev. Biol. 178:327-342(1996)に記載される。roundaboutは、CNS正中線の軸索交差を制御し、そしてCell 92:205-215(1998)に示されるように、進化的に保存されたガイダンスレセプターをの新規サブファミリーを規定する。ヒト末梢系関連膜タンパク質(LAMP)のcDNAクローニングおよび構造分析は、Gene 170:189-195(1996)に記載される。LAMP(3つの免疫グロブリン様C2-型ドメインの含むOB CAMファミリーのタンパク質)は、選択的ニューロン成長および軸索標的化を媒介する。LAMPは、軸索の発達のガイダンスおよび末梢系における成熟回路の再構築に寄与する。このタンパク質は、海馬苔状線維突出部の正常な成長に必須である。LAMPは、GPI-Anchorにより膜に付着される。これは、辺縁神経および線維路、ならびに上丘、脊髄および小脳の単一層において発現される。ニワトリKLGに密接に関連するレセプターチロシンキナーゼ様分子をコードするヒト全長PTK7 cDNAの特徴は、J. Biochem. 119:235-239(1996)に記載される。相同性に基づいて、AC012614\_1.0.012タンパク質および各相同タンパク質または相同ペプチドは、少なくともいくつかの活性を共有し得る。

#### 【0060】

AC012614-1.0.123が位置する領域は、以下の疾患に対する感受性に関連づけられて、Man(OMIM™)遺伝子地図におけるthe Online Mendelian Inheritanceのためのthe National Center for Biotechnology Informationウェブサイト(URL:"[www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/)")に列挙される。(ここで、利用可能なOMIM™認識番号は、下線を付される):アレルギーおよび喘息;血管種;毛細管小児マンソ

ン住血吸虫 (capillary infantile Schistosoma mansoni) 感染；脊髄小脳性運動失調に対する感受性／耐性；気管支ぜん息；熱帯熱マラリア原虫寄生虫血症；角膜ジストロフィーの強度、グレーノ－I型

【0061】

【化1】

(OMIM™ 121900)

；角膜ジストロフィー、格子I型

【0062】

【化2】

(OMIM™ 122200)

；Reis-Bucklers角膜ジストロフィー；角膜ジストロフィー、Aveellino型好酸球増加症；家族性脊髄形成異常症候群；骨髓性白血病、急性弛緩性皮膚、劣性、I型；常染色体優性の非症候性感音性難聴；1拘縮性クモ指症；先天性新生児自己免疫血小板減少症；糖タンパク質Ia欠損雄性不妊症；シャルコーマリーツ－神経障害、脱髄性ガードナー症候群；腺腫性結腸ポリポーシス；結腸直腸癌；遺伝性の類線維腫疾患、

【0063】

【化3】

(OMIM™ 135290)

ターコット症候群

【0064】

【化4】

## (OMIM™ 276300)

; および弱毒性の腺腫性結腸ポリポーシス。類推によって、クローンAC012614-1.0.123は、少なくとも上記疾患の全てに関連し、そしてこれらの疾患のための治療用途を有し得る。

## 【0065】

クローンAC012614\_\_1.0.123は、細胞接着分子、*follicle-statin*、*roundabout*および*frazzled*に対する類似性を有する。これらの遺伝子は、ニューロンの発達および生殖生理学に關与する。従って、クローンAC012614-1.0.123はまた、以下のような疾患に関連するか、または以下のような疾患のための治療用途に関連する：神経外傷、神経変性障害、てんかん、精神保健状態、インビボおよびインビトロでの組織再生、および雌性生殖器系障害および妊娠。

## 【0066】

クローンAC012614\_\_1.0.123タンパク質は、本明細書中に開示されるORFによりコードされる全長タンパク質およびそれらから生じる任意の成熟タンパク質を含む。このような成熟タンパク質は、例えば、シグナルペプチドの除去の結果として形成され得た。クローンAC012614\_\_1.0.123はまた、クローンAC012614-1.0.123のラグメント、アナログ、ホモログおよび誘導体を含む。従って、本発明は、クローンAC012614\_\_1.0.123によりコードされるタンパク質の前駆体および活性形態の両方を含む。

## 【0067】

(10.4339264-2)

クローン4339264-2は、図10に示される1208bpを有するポリヌクレオチド(配列番号19)を含む。このクローンは、リンパ節から単離された。そしてこのクローンはまた、MCF-7、OVCAR-3、心臓、前立腺、子宮、乳腺、唾液腺、視床、骨髄、リンパ節、脾臓、胎児肝臓、胎児胸腺-CR

L7046、脳、胎児脳、肝臓、胎児肝臓、骨格筋、膵臓、腎臓、心臓、肺および胎盤において見出される。クローン4339264-2は、図7に示される、322アミノ酸残基のORFコードポリペプチド(配列番号20)を含む。この開始コドンは、ヌクレオチド124-126において見出され、そして終止コドンは、ヌクレオチド1090-1092において見出される。PSORTプログラムは、このタンパク質が、0.7515の正確度でミトコンドリアの内膜に位置すること、または0.6000の正確度で形質膜に位置することを予測した。SignalPプログラムは、シグナルペプチドが、アミノ酸の間のダッシュVGA-WTにより表される(すなわち、ValGlyAla-TrpThr)残基59と60との間の切断部位と共に、たいがい存在し得ることを予測する。

#### 【0068】

BLASTXおよびBLASTP検索は、このタンパク質が、ヒトEST配列によりコードされるタンパク質における同じフラグメント(1999年2月11日に公開されたPCT公開第WO9906552-A2号)に対して100%同一である84残基のフラグメントを有することを示した。さらなるBLASTN検索は、クローン4339264-2が、differentiationタンパク質(1997年9月15日に提出されたGenBank-ID:MMMYELUPRg acc:AJ001616)に関連する骨髄について、マウスmRNAに類似することを示す。この遺伝子は、骨髄分化の間の段階に特異な様式で発現されるが、リンパ球には存在しないと記載される。

#### 【0069】

BLASTP検索は、296アミノ酸のマウス骨髄上方制御タンパク質(GenBank ACC:035682)および153アミノ酸のヒトTリンパ球変異体関連タンパク質(GenBank ACC:P21145)に対する、さらなる類似性を同定した。

#### 【0070】

クローン4339264-2タンパク質は、本明細書中に開示される、ORFによりコードされる全長タンパク質、およびそれらから生じる任意の成熟タンパク質を含む。このような成熟タンパク質は、例えば、シグナルペプチドの除去の

結果として形成され得る。クローン4339264-2はまた、クローン4339264-2の全てのフラグメント、アナログ、ホモログおよび誘導体を含む。従って、本発明のタンパク質は、4339264-2の前駆体および活性形態の両方を含む(例えば、骨髄関連differentiation様クローン4339264-2)。

【0071】

(11.4357764-3)

クローン4357764-3は、図11に示される1203bpのポリヌクレオチド(配列番号21)を含む。このクローンは、リンパ節から単離された。このクローンは、図11に示される142アミノ酸残基のポリペプチドをコードするORF(配列番号22)を含む。このORFは、配列番号21のヌクレオチド587-589における開始コドンおよびヌクレオチド1013-1015における終止コドンを有する末端を伴っている。PSORTプログラムは、0.8200の正確度でこのタンパク質が細胞外に局在することを予測する。SignalPは、シグナルペプチドが、アミノ酸TRS-SEの間のダッシュにより表される(すなわち、ThrArgSer-SerGlu)残基21と22との間に見出される切断部位と共に、たいがい存在することを予測する。BLASTX分析は、クローン43577643によりコードされる、135残基を超えるポリペプチドが、Tヘルパー細胞において示差的に発現されることが報告されている(米国特許第5,721,351号;1996年9月12日に公開されたPCT公開第WO9627603-A1号)ヒト「200遺伝子」によりコードされる301残基のタンパク質と97%同一であり、そして98%陽性であることを示す。この200遺伝子タンパク質は、Igスーパーファミリークラスの新規細胞表面レセプターであることが報告されている。200遺伝子の発現は、TH2部分集団よりもTH1部分集団において何倍も高い(WO9627603-A1)。200遺伝子産物の調節は、T細胞間連疾患の範囲を寛解し得る。BLASTP検索はまた、ラットの腎臓傷害分子-1(GenBank acc:054947)およびヒトA型肝炎ウイルス細胞レセプター1(GenBank acc:043656)に対する類似性の中程度の度合いを示す。

## 【0072】

クローン4357764-3タンパク質は、本明細書中に開示される、ORFによりコードされる全長タンパク質およびそれらから生じる任意の成熟タンパク質を含む。このような成熟タンパク質は、例えば、シグナルペプチドの除去の結果として形成され得る。クローン4357764-3はまた、クローン4339264-3の全てのフラグメント、アナログ、ホモログおよび誘導体を含む。従って、本発明のタンパク質は、4357764-3の前駆体および活性形態の両方を含む。

## 【0073】

(12.4391184)

クローン4391184は、図12に示される825bpのポリヌクレオチド(配列番号23)を含む。このクローンは、リンパ節組織から単離された。クローン4391184は、図12に示される92アミノ酸残基のタンパク質をコードするORF(配列番号24)を含む。開始コドンは、ヌクレオチド494-496に存在し、そして終止コドンは、ヌクレオチド770-772に存在する。PSORTプログラムは、クローン4391184のタンパク質が、0.5690の正確度で微小体(ペルオキシソーム)に局在することを予測する。Signalソフトウェアプログラムは、示されるシグナルペプチドを含むタンパク質の低い可能性を予測する。

## 【0074】

BLASTP検索は、ヒトスーパーオキシドジスムターゼ(Cu、Zn)(GenBank ACC:Q16839)のフラグメントに対するクローン4391184の類似性を明らかにした。クローン4391184タンパク質は、本明細書中に開示される、ORFによりコードされる全長タンパク質およびそれらから生じる任意の成熟タンパク質を含む。このような成熟タンパク質は、例えば、シグナルペプチドの除去の結果として形成され得る。クローン4391184はまた、クローン4391184の全てのフラグメント、アナログ、ホモログおよび誘導体を含む。従って、本発明のタンパク質は、4391184の前駆体および活性形態の両方を含む。

## 【0075】

(13.4437909.0.4)

クローン4437909.0.4は、本来、米国仮出願シリアル番号60/128,514におけるクローン4437909として出願者により同定された。クローン4437909.0.4は、図13に示される、1099bpのポリヌクレオチド(配列番号25)を含む。このクローンは、骨原性肉種細胞株-HTB96、副腎、視床、胎児脳および胎児肺において見出されてきた。クローン4437909.0.4は、図13に示される、269アミノ酸残基のポリペプチドをコードするORF(配列番号26)を含む。このポリペプチドについての開始コドンは、配列番号25のヌクレオチド83-85に存在し、終止コドンは、ヌクレオチド890-892に存在する。PSORTプログラムは、0.7480の正確度で、4437909.0.4が微小体(ペルオキシソーム)に位置することを予測する。SignalPプログラムは、既知のシグナルペプチドが存在しないことを予測する。

## 【0076】

BLASTPおよびBLASTX検索は、4437909.0.4ポリペプチドが、255残基のヒトミクロフィブリル関連糖タンパク質4(ACC:P55083および1999年10月26日に発行された米国特許第5972654-A号)に対して55%の同一性および70%の類似性を有することを示した。このヒトミクロフィブリル関連糖タンパク質4スプライスバリエント(MAG4V)ポリペプチドおよび/またはそれらに対する抗体は、MAG4Vの発現および活性を下方制御するために使用され得るとして本願中において開示される。類推して、クローン4437909.0.4ポリペプチドおよびMAG4Vタンパク質を使用して、生殖性傷害(例えば、発情周期および精子形成の崩壊、多嚢胞性卵巣症候群、ならびに前立腺および卵巣の癌)、筋疾患(例えば、デュシェーヌ筋ジストロフィー、脂質ミオパシーおよび心筋炎)、免疫学的障害(例えば、アディソン病、喘息、貧血、および後天免疫不全症候群(AIDS))、ならびに新生物障害(例えば、骨髄腫、肉腫、白血病および肺癌)を処置し得る。

## 【0077】

BLASTX検索は、さらに、4437909.0.4タンパク質が313残基のヒト35kDaのオプソニンタンパク質P35(1996年2月13日に公開されたJP08038182-A)と48%の同一性および61%の陽性であることを示した。P35タンパク質は、感染症の予防および処置に有用であるオプソニン活性を有する。オプソニンは、食細胞による病原菌の食作用を活性化し、これは、感染症の予防および処置に有用である。類推して、クローン4437909.0.4はまた、感染症の予防および処置に利用される。さらに、4437909.0.4タンパク質は、221残基を超え、また、324残基のブタTGF- $\beta$ 1結合タンパク質(W09222319-A)に対して、52%の同一でありかつ63%類似し、そしてクローン4437909.0.4タンパク質は、さらにTGF- $\beta$ 1結合活性を有し得る。

#### 【0078】

クローン4437909.0.4タンパク質は、本明細書中に開示される、4437909.0.4ORFによりコードされる全長タンパク質およびそれらから生じる任意の成熟タンパク質を含む。このような成熟タンパク質は、例えば、シグナルペプチドの除去の結果として形成され得る。クローン4437909.0.4はまた、クローン4437909.0.4の全てのフラグメント、アナログ、ホモログおよび誘導体を含む。従って、本発明のタンパク質は、4437909.0.4の前駆体および活性形態の両方を含む。クローン4437909.0.4活性は、MAG4Vタンパク質またはオプソニンP35タンパク質により所有されるこれらの活性を含み得る。

#### 【0079】

(14.4437909.0.55)

クローン4437909.0.55は、クローン4437909.0.4の改変体であり、そしてより短い5'UTRおよびコード配列における2つの塩基の変化を有する。

#### 【0080】

クローン4437909.0.55は、図14に示される1054bp(配列番号:27)を有する。このクローンは、骨原性肉腫細胞株-HTB96、副腎

、視床、胎児脳および胎児肺において見出されてきた。このクローンは、ヌクレオチド38 - 40において開始し、そしてヌクレオチド845 - 847において終結するORFを含み、図14に示される、269アミノ酸残基のポリペプチド（配列番号28）をコードする。オープンリーディングフレームにおける変異は、2つの成熟アミノ酸残基を誘発する。クローン4437909.0.55の特性および生理学的活性は、クローン4437909.0.4について上記に要約された特性および生理学的活性と本質的に同じである。

#### 【0081】

クローン4437909.0.55タンパク質は、本明細書中に開示される、4437909.0.55ORFによりコードされる全長タンパク質およびそれらから生じる任意の成熟タンパク質を含む。このような成熟タンパク質は、例えば、シグナルペプチドの除去の結果として形成され得る。クローン4437909.0.55はまた、クローン4437909.0.55の全てのフラグメント、アナログ、ホモログおよび誘導体を含む。従って、本発明のタンパク質は、クローン4437909.0.4によりコードされる前駆体および活性形態の両方を含む。クローン4437909.0.55活性は、MAG4Vタンパク質またはオプソニンP35タンパク質により所有されるこれらの活性を含み得る。

#### 【0082】

##### （核酸）

本発明の1つの局面は、単離された核酸分子（すなわち、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29および31）であって、本発明のSECXポリペプチドをコードするものに関する。ここで、SECXポリペプチドは、以下からなる群より選択される：クローン2191999、クローン11753149.0.6、クローン11753149.0.37、クローン3883556、クローン4301136-1、クローン4301136-2、クローン4324229、クローン4324229-2、クローンAC012614\_1.0.123、クローン4339264-2、クローン4357764-3、クローン4391184、クローン4437909.0.4、クローン4437909.0.55、クローンpCDNA3.1-

TOPO - 3883556 - S54、およびクローンTA - 4437909 - S443のポリペプチド(すなわち、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28および30;表1および図1から14および18から19を参照のこと)、あるいはその生物学的活性部分、ならびにSECXコード核酸(例えば、SECX mRNA)を同定するためのハイブリダイゼーションプローブとして使用するために十分な核酸フラグメント、およびSECX核酸分子の増幅もしくは変異のためのPCRプライマーとして使用するためのフラグメント。本明細書において使用される用語「核酸分子」とは、DNA分子(例えば、cDNAまたはゲノムDNA)、RNA分子(例えば、mRNA)、ヌクレオチドアナログを用いて生成されたDNAもしくはRNAのアナログ、ならびにそれらの誘導体、フラグメントおよびホモログを含むことが意図される。この核酸分子は、一本鎖であっても二本鎖であってもよいが、好ましくは、二本鎖DNAである。本発明のSECX核酸としては、以下が挙げられる:配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29および31(表1および図1-14および18-19)、ならびにそれらの相補体、フラグメント、ホモログおよび誘導体。

#### 【0083】

「プローブ」とは、可変の長さの核酸配列をいい、好ましくは、使用に依存して、少なくとも約10ヌクレオチド(nt)、100nt、または例えば、約6,000ntの間である。プローブは、同一、類似または相補的な核酸配列の検出において使用される。より長いプローブは、通常、天然供給源または組換え供給源から入手され、非常に特異的であり、そしてオリゴマーよりもはるかに遅くハイブリダイズする。プローブは、一本鎖または二本鎖であり得、そしてPCR、メンブレンベースのハイブリダイゼーション技術またはELISAのような技術において特異性を有するように設計される。

#### 【0084】

「単離された」核酸分子は、この核酸の天然の供給源中に存在するその他の核酸分子から分離されているものである。好ましくは、「単離された」核酸は、この核酸が由来する生物のゲノムDNA中でこの核酸に天然に隣接する配列(すな

わち、この核酸の5'末端および3'末端に位置する配列)。例えば、種々の実施形態で、SECXポリペプチドの任意の1つをコードする単離された核酸分子は、ケモカインレセプター様タンパク質、セマホリンタンパク質様スプライス改変体、推定のミトコンドリアタンパク質(クローン2982339)、SLITタンパク質様スプライス改変体、推定のマイクロボディ(ペルオキシソーム)関連タンパク質(クローン3884846)、テトラスパニン様タンパク質、推定のプロリンリッチ膜タンパク質(クローン4004056)、ラミニン鎖前駆体様タンパク質、AVENAタンパク質様スプライス改変体(クローン4009334-1および4009334-2)、胎児肺関連タンパク質(クローン4035508)および骨髄性の上方制御されたタンパク質(クローン4339264)を含み、この核酸が由来する細胞((例えば、骨髄を含む)骨組織、心臓、リンパ節、膵臓、脾臓、胸腺、胎盤、腎臓、肝臓、視床、脳、下垂体、胸部、肺、唾液腺および副腎を含む組織からの成体細胞および胎児細胞)のゲノムDNA中の核酸分子に天然で隣接する核酸配列の約5kb、4kb、3kb、2kb、1kb、0.5kbまたは0.1kbより少ない核酸配列を含み得る。さらに、「単離された」核酸分子、例えば、cDNA分子は、組換え技法により産生されるとき、その他の細胞物質または培養培地を実質的に含まないか、または化学的に合成されるとき、化学物質前駆体もしくはその他の化学物質を実質的に含まないものであり得る。

#### 【0085】

本発明の核酸分子、例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29または31のヌクレオチド配列を有するSECX核酸分子、またはこれらのヌクレオチド配列の任意の相補物は、標準的な分子生物学的技法および本明細書で提供される配列情報を用いて単離され得る。ハイブリダイゼーションプローブとして、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29または31のSECX核酸配列のすべてもしくは一部分、またはこれらのヌクレオチド配列の任意の相補物を用い、上記SECX分子は、標準的なハイブリダイゼーションおよびクローニング技法(例えば、Sambrookら(編)、MOLECULAR

R CLONING: A LABORATORY MANUAL 第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、NY、1989; および Ausubel ら、(編)、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、New York、NY、1993) を用いて単離され得る。

【0086】

本発明の核酸は、標準的なPCR増幅技法に従って、テンプレートとしてcDNA、mRNAあるいはゲノムDNA、および適切なオリゴヌクレオチドプライマーを用いて増幅され得る。このように増幅された核酸は、適切なベクター中にクローン化され、そしてDNA配列分析により特徴付けられ得る。さらに、SECXヌクレオチド配列に対応するオリゴヌクレオチドは、標準的な合成技法、例えば、自動化DNA合成機を用いることにより調製され得る。

【0087】

本明細書で用いられる用語「オリゴヌクレオチド」は、一連の連結されたヌクレオチド残基をいい、このオリゴヌクレオチドは、PCR反応で用いられ得る十分な数のヌクレオチド塩基を有する。短いオリゴヌクレオチド配列は、ゲノム配列もしくはcDNA配列を基礎にし得るか、またはそれから設計され得、そして特定の細胞もしくは組織において、同一、類似もしくは相補的DNAまたはRNAを増幅し、確認し、もしくはその存在を示すために用いられる。オリゴヌクレオチドは、約10nt、50nt、または100ヌクレオチドの長さ、好ましくは約15ヌクレオチド~30ヌクレオチドの長さを有する核酸配列の部分を含む。1つの実施形態では、100ヌクレオチドより少ない長さの核酸分子を含むオリゴヌクレオチドは、さらに、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29および31の少なくとも6つの連続ヌクレオチド、またはその相補物を含み得る。オリゴヌクレオチドは、化学的に合成され得、そしてプローブとして用いられ得る。

【0088】

1つの実施形態では、本発明の単離された核酸分子は、配列番号1、3、5、

7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29または31に示されるヌクレオチド配列の相補物であるSECX核酸分子、またはこのヌクレオチド配列の一部を含む。このSECXヌクレオチド配列に相補的である核酸分子は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29または31に示されるヌクレオチド配列に十分相補的であるか、またはこのヌクレオチド配列の一部であり、所定のSECXヌクレオチド配列に対しミスマッチがないかまたはほとんどなく、それによって安定な二本鎖を形成する。

#### 【0089】

本明細書で用いる用語「相補的」は、核酸分子のヌクレオチド単位間のWatson-CrickまたはHoogsteen塩基対合をいい、そして用語「結合」は、2つのポリペプチドまたは化合物または関連ポリペプチドまたは化合物またはその組合せ間の物理的または化学的相互作用を意味する。結合は、イオンの、非イオンの、Von der Waals的、疎水的相互作用などを含む。物理的相互作用は直接的であるかまたは間接的であり得る。間接的相互作用は、別のポリペプチドまたは化合物によるか、またはその影響に起因し得る。直接的結合は、別のポリペプチドもしくは化合物によらないか、またはその影響に起因せずに生じるか、あるいはその他の実質的な化学的中間体がない相互作用をいう。

#### 【0090】

さらに、本発明の核酸分子は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29または31の核酸配列の一部のみか、またはプラスミド、例えば、実施例3に記載のpSecTag2BおよびpSecV5HisベクターのDNA挿入片のヌクレオチド配列を含み得、ここで、例えば、フラグメントは、プローブまたはプライマーまたはSECXの生物学的に活性な部分をコードするフラグメントとして用いられ得る。本発明で提供されるフラグメントは、少なくとも6の(連続する)核酸または少なくとも4の(連続する)アミノ酸として規定され、それぞれ、核酸の場合特異的ハイブリダイゼーションを、またはアミノ酸の場合エピトープの特異的認識を可能にする

に十分な長さであり、そして多くとも完全長配列より少ない特定の部分である。フラグメントは、選択される核酸またはアミノ酸配列の任意の連続する部分に由来し得る。誘導体は、直接的であるかまたは部分的置換によるかのいずれかでネイティブな化合物から形成される核酸配列またはアミノ酸配列である。アナログは、ネイティブな化合物と類似ではあるが、同一ではなく、特定の成分または側鎖に関してそれとは異なる構造を有する核酸配列またはアミノ酸配列である。アナログは、合成によるか、または異なる進化的起源に由来し得、そして野生型と比較して類似であるかまたは反対の代謝活性を有し得る。ホモログは、異なる種由来である特定の遺伝子の核酸配列またはアミノ酸配列である。

#### 【0091】

誘導体またはアナログが、以下に記載のように、改変された核酸またはアミノ酸を含む場合、誘導体およびアナログは、完全長であるかまたは完全長以外であり得る。本発明の核酸またはタンパク質の誘導体またはアナログは、種々の実施形態で、本発明の核酸またはタンパク質に、同じサイズの核酸またはアミノ酸配列に対して、またはアラインメントが当該分野で公知のコンピューター相同性プログラム（例えば以下を参照のこと）によりなされるアラインされた配列に比較するとき、少なくとも約30%、50%、70%、80%、または95%同一性（80-95%同一性が好適である）で実質的に相同である領域を含む分子であるか、またはそのコードする核酸配列が、前記のタンパク質をコードする配列の相補物に、ストリンジェントな条件下、中程度にストリンジェントな条件下、または低いストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る分子を含むが、これらに限定される訳ではない。例えば、Ausubelら、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、New York、NY、1993、および以下を参照のこと。

#### 【0092】

「相同的核酸配列」または「相同的アミノ酸配列」またはその改変体は、上記で論議されたような、ヌクレオチドレベルまたはアミノ酸レベルの相同性によって特徴付けられる配列をいう。相同的ヌクレオチド配列は、SECXポリペプチ

ドのイソ型をコードするような配列をコードする。イソ型は、RNAのオルターナティブなスプライシングの結果として同じ生物の異なる組織中で発現され得る。あるいは、イソ型は異なる遺伝子によりコードされ得る。本発明では、相同的ヌクレオチド配列は、哺乳動物を含むがそれに限定されないヒト以外の種、そしてそれ故、例えば、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、およびその他の生物のSECXポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。相同的ヌクレオチド配列はまた、本明細書に提示されるヌクレオチド配列の天然に存在する対立遺伝子改変体および変異体を含むがこれらに限定されるわけではない。しかし、相同的ヌクレオチド配列は、ヒトSECXタンパク質をコードするヌクレオチド配列を含まない。相同的核酸配列は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29または31における保存的アミノ酸置換（以下を参照のこと）、およびSECX活性を有するポリペプチドをコードするような核酸配列を含む。個々のSECXタンパク質の生物学的活性は上記に記載されている。相同的アミノ酸配列は、ヒトSECXポリペプチドのアミノ酸配列をコードしない。

#### 【0093】

SECXポリペプチドは、SECX核酸のオープンリーディングフレーム（「ORF」）によってコードされる。本発明は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29および31の核酸配列のストレッチを含む核酸配列を含み、これは、そのアミノ酸配列のORFを含み、そして配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28および30のポリペプチドをコードする。

#### 【0094】

「オープンリーディングフレーム」（「ORF」）は、潜在的にポリペプチドに翻訳され得るヌクレオチド配列に対応する。ORFを含む核酸のストレッチは、終止コドンにより中断されない。完全タンパク質のコード配列を示すORFは、ATG「開始」コドンで始まり、そして3つの終止コドン、すなわち、TAA、TAG、またはTGAの1つで停止する。本発明の目的には、ORFは、開始コドン、終止コドン、またはその両方をともなうか、またはそれらのないコード

配列の任意の部分であり得る。真実の細胞タンパク質をコードするための良好な候補として考慮されるべきORFには、最小サイズの要求（例えば、50アミノ酸またはそれ以上のタンパク質をコードするDNAのストレッチ）がしばしば設定される。

#### 【0095】

ヒトSECX遺伝子のクローニングから決定されるヌクレオチド配列は、例えば他の組織からの他の細胞型におけるSECX相同体、および他の哺乳動物からのSECX相同体の同定および/またはクローニングにおける使用のために設計されたプローブおよびプライマーの生成を可能にする。代表的には、このプローブ/プライマーは、実質的に精製されたオリゴヌクレオチドを含む。代表的には、このオリゴヌクレオチドは、ストリンジェントな条件下で、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29および31の少なくとも約12、25、50、100、150、200、250、300、350または400の連続的なセンス鎖ヌクレオチド配列にハイブリダイズするヌクレオチド配列、または実施例3に記載の、例えば、pSecTag2BおよびpSecV5HisベクターのようなプラスミドのDNA挿入片のヌクレオチド配列；またはSECXヌクレオチドのアンチセンス鎖ヌクレオチド配列もしくは当該分野で公知のプラスミドのDNA挿入片のアンチセンス鎖SECXヌクレオチド配列；またはSECXヌクレオチドの天然に存在する変異体、または当該分野で公知のプラスミドベクターのDNA挿入片の天然に存在する変異体の領域を含む。

#### 【0096】

ヒトSECXヌクレオチド配列を基にするプローブを用いて、転写物、またはこのタンパク質もしくは相同体タンパク質をコードするゲノム配列を検出し得る。種々の実施形態において、このプローブは、それに結合した標識基をさらに含み、例えば、この標識基は、放射線同位体、蛍光化合物、酵素、または酵素補因子であり得る。このようなプローブは、例えば、被験体からの細胞のサンプル中のSECXをコードする核酸のレベルを測定することにより、例えば、SECX mRNAレベルを検出することかまたはゲノムSECX遺伝子に変異したかま

たは欠失したかどうかを検出して、SECXタンパク質を誤発現する細胞または組織を同定するための診断試験キットの一部として用いられ得る。

【0097】

「SECXの生物学的に活性な部分を有するポリペプチド」は、特定の生物学的アッセイで測定したとき、用量依存性であるかまたは用量依存性でない、成熟形態を含む、本発明のポリペプチドの活性に類似の（必ずしも同一である必要はない）活性を示すポリペプチドをいう。「SECXの生物学的に活性な部分」をコードする核酸フラグメントは、SECXの生物学的活性を有するポリペプチドをコードするSECXの部分を単離すること（ここで、SECXタンパク質の生物学的活性は上記にセクション1～14で記載されている）、（例えば、インビトロの組換え発現により）SECXタンパク質のコードされた部分を発現すること、およびSECXのコードされた部分の活性を評価することにより調製され得る。例えば、SECXの生物学的に活性な部分をコードする核酸フラグメントは、例えば、配列番号2のクローン2191999のアミノ酸23～178のような成熟ポリペプチド、ならびにデフォルトパラメーターを使用したPSORTおよびSignalPのようなコンピューターソフトウェアプログラムを利用することにより上記で規定されるような成熟ポリペプチドを含む。別の実施形態では、成熟ポリペプチドドメインを含むSECXの生物学的に活性な部分をコードする核酸フラグメントは、このようなドメイン（例えば、配列番号8のアミノ酸残基17～166により示されるヒトクローン383556成熟ポリペプチドドメインをコードする配列番号7の少なくとも核酸577～1026）をコードするDNAを含む。

【0098】

（SECX改変体）

本発明はさらに、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29および31の少なくとも1つに示されるSECXヌクレオチド配列とは異なるが、遺伝コードの縮重に起因し、そしてそれ故、上記のヌクレオチド配列のいずれかによってコードされるのと同じSECXタンパク質をコードする任意の1つ以上の核酸分子を包含する。別の実施形態では

、本発明の単離されたSECX核酸分子は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、および30に示されるアミノ酸配列のいずれか1つを有するタンパク質をコードするヌクレオチド配列を有する。

#### 【0099】

これらのヒトSECXヌクレオチド配列、またはプラスミドもしくはベクターのDNA挿入片のSECXヌクレオチド配列に加えて、SECXのアミノ酸配列中の変化をもたらすDNA配列多形性が集団（例えば、ヒト集団）内に存在し得ることが当業者に認識され得る。SECX遺伝子におけるこのような遺伝的多形性は、天然の対立遺伝子の変動に起因して集団内の個体間で存在し得る。本明細書で用いられる用語「遺伝子」および「組換え遺伝子」は、SECXタンパク質、好ましくは哺乳動物SECX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核酸分子をいう。このような天然の対立遺伝子変動は、代表的には、SECX遺伝子のヌクレオチド配列において1 - 5%の分散を生じ得る。天然の対立遺伝子変動の結果であり、そしてSECXの機能的活性を変えないSECX中のこのようなヌクレオチド変動および得られるアミノ酸多形性のいずれかおよびすべては、本発明の範囲内にあることが意図される。

#### 【0100】

さらに、他の種からのSECXタンパク質をコードし、そしてそれ故、本明細書に開示されるヒト配列とは異なるヌクレオチド配列を有する核酸分子が、本発明の範囲内に含まれることが意図される。本発明のSECX cDNAの天然の対立遺伝子改変体および相同体に相当する核酸分子は、ヒトcDNA、またはその一部分を、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、標準的なハイブリダイゼーション技法によるハイブリダイゼーションプローブとして用い、本明細書に開示されたヒトSECX核酸に対するそれらの相同性を基に単離され得る。例えば、可溶性のヒトSECX cDNAは、ヒトの膜結合SECXに対するその相同性を基に単離され得る。同様に、膜結合ヒトSECX cDNAは、可溶性ヒトSECXに対するその相同性を基に単離され得る。

#### 【0101】

対立遺伝子改変体は、単一ヌクレオチド多形性(「SNP」)により異なるヌクレオチド配列を含む。SNPは、クローン4437909.0.4および4437909.0.55、またはクローン4301136-1および4301136-2に示されるように、コードされたアミノ酸配列を変化させうる。あるいは、SNPは、コード領域中のコドンの「変動する(wobble)」部分に存在し得、従って、クローン4437909.0.4およびTA-4437909-S443に示されるように、コードされたポリペプチド配列の変化を伴わずに、「サイレント」なままである。

#### 【0102】

従って、別の実施形態では、本発明の単離された核酸分子は、長さが少なくとも6ヌクレオチドであり、そしてストリンジェントな条件下で、少なくとも1つのSECXヌクレオチド配列を含む核酸分子にハイブリダイズする。別の実施形態では、この核酸は、長さが少なくとも10、25、50、100、250、500または2000ヌクレオチドである。別の実施形態では、本発明の単離された核酸分子はコード領域にハイブリダイズする。本明細書で用いられる用語「ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする」は、その条件下で、互いに少なくとも60%相同性であるヌクレオチド配列が、代表的には互いにハイブリダイズしたままである、ハイブリダイゼーションおよび洗浄のための条件を記載することを意図する。

#### 【0103】

相同体(すなわち、ヒト以外の種に由来するSECXタンパク質をコードする核酸)または他の関連配列(例えばパラログ)は、核酸ハイブリダイゼーションおよびクローニングの分野において周知の方法を用い、プローブとして特定のヒト配列のすべてまたは一部分との、低、中程度または高ストリンジェンシーハイブリダイゼーションにより得られ得る。

#### 【0104】

本明細書で用いられる語句「ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件」は、その条件下で、プローブ、プライマーまたはオリゴヌクレオチドが、その標的配列にハイブリダイズするが、他の配列にはハイブリダイズしない条件をい

う。ストリンジェントな条件は配列依存性であり、そして異なる状況で異なる。より長い配列は、より短い配列より高い温度で特異的にハイブリダイズする。一般に、ストリンジェントな条件は、規定されたイオン強度およびpHで、特定の配列の熱融解点(T<sub>m</sub>)より約5℃低いように選択される。このT<sub>m</sub>は、標的配列に相補的なプローブの50%が、平衡状態で標的配列にハイブリダイズする(規定されたイオン強度、pHおよび核酸濃度下)温度である。標的配列は一般に過剰で存在するので、T<sub>m</sub>では、50%のプローブが平衡状態で占有されている。代表的には、ストリンジェントな条件は、pH7.0~8.3で、塩濃度が約1.0Mナトリウムイオン未満、代表的には約0.01~1.0Mナトリウムイオン(または他の塩)、そして短いプローブ、プライマーまたはオリゴヌクレオチド(例えば、10nt~50nt)について温度が少なくとも約30℃、そしてより長いプローブ、プライマーおよびオリゴヌクレオチドについて少なくとも約60℃であるような条件である。ストリンジェントな条件はまた、ホルムアミドのような、脱安定化材の添加で達成され得る。

#### 【0105】

ストリンジェントな条件は、当業者に公知であり、そしてAusubelら(編)、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、N.Y.(1989)、6.3.1-6.3.6に見出され得る。好ましくは、この条件は、代表的には、互いに少なくとも約65%、70%、75%、85%、90%、95%、98%、または99%相同な配列が、互いにハイブリダイズしたままであるような条件である。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の非制限的な例は、65℃における、6×SSC、50mM Tris-HCl(pH7.5)、1mM EDTA、0.02%PVP、0.02%Ficoll、0.02%BSA、および500mg/ml変性サケ精子DNA、次いで50℃における0.2×SSC、0.01%BSA中の1回以上の洗浄である。SECXヌクレオチド配列にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする本発明の単離された核酸分子は、天然に存在する核酸分子に相当する。本明細書で用いられる「天然に存在する」核酸分子は、天然にある(例えば、天然のタンパク質をコードする)ヌクレオ

チド配列を有するRNAまたはDNA分子をいう。

【0106】

第2の実施形態では、少なくとも1つのSECX核酸分子、またはそのフラグメント、アナログまたは誘導体に、中程度のストリンジェンシーの条件下で、ハイブリダイズ可能である核酸配列が提供される。中程度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件の非制限的な例は、55 における、6×SSC、5×デンハート溶液、0.5% SDSおよび100mg/ml 変性サケ精子DNA中のハイブリダイゼーション、次いで37 における1×SSC、0.1% SDS中における1回以上の洗浄である。用いられ得る中程度のストリンジェンシーの他の条件は、当該分野で周知である。例えば、Ausubelら(編)、1993、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、NY、およびKriegler、1990、GENE TRANSFER AND EXPRESSION、A LABORATORY MANUAL、Stockton Press、NYを参照のこと。

【0107】

第3の実施形態では、低ストリンジェンシーの条件下で、少なくとも1つのSECX核酸分子、そのフラグメント、アナログまたは誘導体にハイブリダイズ可能である核酸が提供される。低ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件の非制限的な例は、40 における、35%ホルムアミド、5×SSC、50mM Tris-HCl (pH7.5)、5mM EDTA、0.02% PVP、0.02% Ficoll、0.2% BSA、100mg/ml 変性サケ精子DNA、10% (wt/vol) 硫酸デキストラン中のハイブリダイゼーション、次いで50 における2×SSC、25mM Tris-HCl (pH7.4)、5mM EDTA、および0.1% SDS中の1回以上の洗浄である。用いられ得る低ストリンジェンシーの他の条件は(例えば、クロススピーシーズハイブリダイゼーションについて用いられるように) 当該分野で周知である。例えば、Ausubelら(編)、1993、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、N

Y、およびKriegler、1990、GENE TRANSFER AND EXPRESSION、A LABORATORY MANUAL、Stockton Press、NY；ShiloおよびWeinberg、1981、Proc Natl Acad Sci USA 78:6789-6792を参照のこと。

【0108】

(保存的変異)

集団中に存在し得るSECX配列の天然に存在する対立遺伝子改変体に加えて、変化が、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29および31の少なくとも1つのSECXヌクレオチド配列中に変異により導入され得、それによってSECXタンパク質の機能的能力を改変することなく、コードされたSECXタンパク質のアミノ酸中の変化に至ることを当業者はさらに認識する。例えば、「非必須」アミノ酸残基におけるアミノ酸置換に至るヌクレオチド置換が、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、および30の配列、または当該分野で公知のプラスミドまたはベクターのDNA挿入片のSECXヌクレオチド配列中に作製され得る。「非必須」アミノ酸残基は、生物学的活性を改変することなく、SECXの野生型配列から改変され得る残基であるのに対し、「必須」アミノ酸残基は、生物学的活性に必要である。例えば、本発明のSECXタンパク質間で保存されているアミノ酸残基は、特に改変されにくいことが予測される。

【0109】

本発明の別の局面は、活性に必須ではないアミノ酸残基中の変化を含むSECXタンパク質をコードする核酸分子に関する。このようなSECXタンパク質は、アミノ酸配列において、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、および30とは異なり、なお生物学的活性を保持する。1つの実施形態では、単離された核酸分子は、タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含み、ここで、このタンパク質は、少なくとも1つのSECXアミノ酸配列に少なくとも約45%相同であるアミノ酸配列を含む。好

ましくは、この核酸分子によりコードされるタンパク質は、少なくとも1つのSECXポリペプチドに少なくとも約60%相同であり、より好ましくは少なくとも約70%相同であり、少なくとも約80%相同であり、少なくとも約90%相同であり、そして最も好ましくはその所定のSECXポリペプチドに少なくとも約95%相同である。

#### 【0110】

所定のSECXタンパク質に相同であるSECXタンパク質をコードする単離された核酸分子は、1つ以上のアミノ酸置換、付加または欠失がコードされたタンパク質中に導入されるように、相当するSECXヌクレオチド配列中に1つ以上のヌクレオチド置換、付加または欠失を導入することにより作製され得る。

#### 【0111】

変異は、標準的な技法、例えば、部位特異的変異誘発およびPCR媒介変異誘発により、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29および31中に導入され得る。好ましくは、保存的アミノ酸置換は、1つ以上の予測された非必須アミノ酸残基において作製される。

「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が、類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置換されるものである。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは当該分野で規定されている。これらのファミリーは、塩基性側鎖をもつアミノ酸（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖をもつアミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖をもつアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖をもつアミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、分岐側鎖をもつアミノ酸（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）、および芳香族側鎖をもつアミノ酸（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を含む。従って、SECX中の予測された非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリーからの別のアミノ酸残基で置換される。あるいは、別の実施形態では、変異は、SECXコード配列のすべてまたは一部分に沿って、例えば、飽和変異誘発によりランダムに導入され得、そして得られる変異体をS

SECX生物学的活性についてスクリーニングして、活性を保持する変異体を同定し得る。変異誘発の後、コードされたSECXタンパク質は、当該分野で公知の任意の組換え技法により発現され得、そしてタンパク質の活性が測定され得る。

#### 【0112】

1つの実施形態では、変異体SECXタンパク質は、(1)他のSECXタンパク質、他の細胞表面タンパク質、またはその生物学的に活性な部分とタンパク質：タンパク質相互作用を形成する能力、(2)変異体SECXタンパク質とSECXリガンドとの間の複合体形成；(3)細胞内標的タンパク質またはその生物学的に活性な部分に結合する変異体SECXタンパク質の能力；(例えばアビジンタンパク質)についてアッセイされ得る。

#### 【0113】

(アンチセンス)

本発明の別の局面は、SECX核酸分子、またはそのフラグメント、アナログもしくは誘導体にハイブリダイズし得るかまたは相補的である単離されたアンチセンス核酸分子に関する。「アンチセンス」核酸は、タンパク質をコードする「センス」核酸に相補的であるヌクレオチド配列、例えば、二本鎖cDNA分子のコード配列に相補的であるか、またはmRNA配列に相補的であるヌクレオチド配列を含む。特定の局面では、SECXコード鎖全体のうちの少なくとも約10、25、50、100、250または500ヌクレオチドに相補的、またはその一部分にのみ相補的な配列を含むアンチセンス核酸分子が提供される。SECXタンパク質のフラグメント、相補体、誘導体およびアナログをコードする核酸分子、またはSECX核酸配列に相補的なアンチセンス核酸がさらに提供される。

#### 【0114】

1つの実施形態では、アンチセンス核酸分子は、SECXをコードするヌクレオチド配列のコード鎖の「コード領域」に対するアンチセンスである。用語「コード領域」は、アミノ酸残基(例えば、図1~14および18~19に示されるORF)に翻訳されるコドンを含むヌクレオチド配列の領域をいう。別の実施形態では、このアンチセンス核酸分子は、SECXをコードするヌクレオチド配列のコード鎖の「非コード領域」に対するアンチセンスである。用語「非コード領

域」は、アミノ酸に翻訳されない、コード領域に隣接する5'および3'配列をいう(すなわち、5'および3'非翻訳領域ともいう)。

#### 【0115】

本明細書に開示されるSECXをコードするコード鎖配列(例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29および31)が与えられれば、本発明のアンチセンス核酸は、WatsonおよびCrickまたはHoogsteen塩基対合の規則に従って設計され得る。このアンチセンス核酸分子は、SECX mRNAの全コード領域に相補的であり得るが、より好ましくは、SECX mRNAのコード領域または非コード領域の一部に対してのみアンチセンスであるオリゴヌクレオチドである。例えば、このアンチセンスオリゴヌクレオチドは、SECX mRNAの翻訳開始部位を取り囲む領域に相補的であり得る。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、例えば、長さが約5、10、15、20、25、30、35、40、45または50ヌクレオチドであり得る。本発明のアンチセンス核酸は、当該分野で公知の手順を用いる化学的合成反応または酵素的連結反応を用いて構築され得る。例えば、アンチセンス核酸(例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド)は、天然に存在するヌクレオチド、または分子の生物学的安定性を増大するため、もしくはアンチセンス核酸とセンス核酸との間に形成される二本鎖の物理的安定性を増大するために設計された種々に改変されたヌクレオチド(例えば、ホスホロチオエート誘導体およびアクリジン置換されたヌクレオチドが用いられ得る)を用いて化学的に合成され得る。

#### 【0116】

アンチセンス核酸を生成するために用いられ得る改変されたヌクレオチドの例としては、以下が挙げられる: 5-フルオロウラシル、5-ブロモウラシル、5-クロロウラシル、5-ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4-アセチルシトシン、5-(カルボキシヒドロキシルメチル)ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン、ジヒドロウラシル、イノシン、5-カルボキシメチルアミノメチルウラシル、-D-ガラクトシルキューオシン、N6-イソペンテニルアデニン、1-メチルグアニン、1-メチルイノシン、

2, 2 - ジメチルグアニン、2 - メチルアデニン、2 - メチルグアニン、3 - メチルシトシン、5 - メチルシトシン、N6 - アデニン、7 - メチルグアニン、5 - メチルアミノメチルウラシル、5 - メトキシアミノメチル - 2 - チオウラシル、5 - D - マンノシルキューオシン、5' - メトキシカルボキシメチルウラシル、5 - メトキシウラシル、2 - メチルチオ - N6 - イソペンテニルアデニン、ウラシル - 5 - オキシ酢酸 (v)、ワイブトキシソシン (wybutoxosin)、プソイドウラシル、キューオシン、2 - チオシトシン、5 - メチル - 2 - チオウラシル、2 - チオウラシル、4 - チオウラシル、5 - メチルウラシル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸 (v)、5 - メチル - 2 - チオウラシル、3 - (3 - アミノ - 3 - N - 2 - カルボキシプロピル)ウラシル、(acp3)w、および2, 6 - ジアミノプリン。あるいは、このアンチセンス核酸は、核酸がアンチセンス配向にサブクローン化された発現ベクターを用いて生物学的に産生され得る (すなわち、挿入された核酸から転写されたRNAは、以下のサブセクションでさらに記載されるように、目的の標的核酸に対してアンチセンス配向である)。

#### 【0117】

代表的には、本発明のアンチセンス核酸分子は、それらがSECXタンパク質をコードする細胞mRNAおよび/またはゲノムDNAとハイブリダイズするか、またはそれに結合するように被検体に投与されるか、またはインサイチュで生成され、それによって、例えば、転写および/または翻訳を阻害することによりタンパク質の発現を阻害する。このハイブリダイゼーションは、従来のヌクレオチド相補性により、安定な二本鎖を形成するか、または、例えば、DNA二本鎖に結合するアンチセンス核酸分子の場合、二重らせんの主溝における特異的相互作用を通じてであり得る。本発明のアンチセンス核酸分子の投与の経路の例は、組織部位における直接注入を含む。あるいは、アンチセンス核酸分子は、改変されて、選択された細胞を標的にし、次いで全身的に投与される。例えば、全身投与には、アンチセンス分子は、それらが選択された細胞表面上に発現されたレセプターまたは抗原に特異的に結合するように改変され得る。例えば、これは、このアンチセンス核酸分子を、細胞表面レセプターまたは抗原に結合するペプチド

または抗体に連結することによる。このアンチセンス核酸分子はまた、本明細書に記載のベクターを用いて細胞に送達され得る。アンチセンス分子の十分な細胞内濃度を達成するために、アンチセンス核酸分子が強力な p o l I I I または p o l I I I I プロモーターの制御下に配置されるベクター構築物が好適である。

【0118】

なお別の実施形態では、本発明のアンチセンス核酸分子は、アノマー核酸分子である。アノマー核酸分子は、相補的RNAと特異的な二本鎖ハイブリッドを形成し、そこでは、通常の ユニットとは反対に、鎖は互いに平行に走る (G a u l t i e r ら、(1987) N u c l e i c A c i d s R e s 15 : 6625 - 6641)。このアンチセンス核酸分子はまた、2' - o - メチルリボヌクレオチド (I n o u e ら (1987) N u c l e i c A c i d s R e s 15 : 6131 - 6148)、またはキメラRNA - DNAアナログ (I n o u e ら、(1987) F E B S L e t t 215 : 327 - 330) を含む得る。

【0119】

(リボザイムおよびPNA成分)

核酸改変は、非制限的な例として、改変された塩基、および糖リン酸骨格が改変または誘導体化されている核酸を含む。これらの改変は、少なくとも一部分、改変された核酸の化学的安定性を、それらが、例えば、被験体における治療的適用にアンチセンス結合性核酸として用いられ得るように増大するために実施される。

【0120】

1つの実施形態では、本発明のアンチセンス核酸はリボザイムである。リボザイムは、それらに対してリボザイムが相補的領域を有する一本鎖核酸、例えばmRNAを切断し得るリボヌクレアーゼ活性をもつ触媒的RNA分子である。従って、リボザイム(例えば、ハンマーヘッドリボザイム(H a s e l h o f f およびG e r l a c h (1988) N a t u r e 334 : 585 - 591に記載されている))は、SECX mRNA転写物を触媒的に切断し、それによってSECX mRNAの翻訳を阻害するために用いられ得る。SECXをコードする

核酸に特異性を有するリボザイムは、本明細書に開示のSECX cDNAのヌクレオチド配列(すなわち、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29および31)に基づいて設計され得る。例えば、Tetrahymena L-19 IVS RNAの誘導体を、活性部位のヌクレオチド配列が、SECXをコードするmRNAにおいて切断されるべきヌクレオチド配列に相補的であるように構築し得る。例えば、Cechら、米国特許第4,987,071号;およびCechら、米国特許第5,116,742号を参照のこと。あるいは、SECX mRNAは、RNA分子のプールから特異的リボヌクレアーゼ活性を有する触媒的RNAを選択するために用いられ得る。例えば、Bartelら(1993) Science 261:1411-1418を参照のこと。

#### 【0121】

あるいは、SECX遺伝子発現は、SECX遺伝子の調節領域(例えば、SECXプロモーターおよび/またはエンハンサー)に相補的であるヌクレオチド配列を標的にし、標的細胞中のSECX遺伝子の転写を妨害する三重らせん構造を形成することによって阻害され得る。一般に、Helene(1991) Anticancer Drug Des. 6:569-84; Heleneら(1992) Ann. N.Y. Acad. Sci. 660:27-36; およびMaher(1992) Bioassays 14:807-15を参照のこと。

#### 【0122】

種々の実施形態では、SECXの核酸は、塩基部分、糖部分またはリン酸骨格で改変され、例えば、分子の安定性、ハイブリダイゼーション、または溶解性を改善し得る。例えば、核酸のデオキシリボースリン酸骨格を改変してペプチド核酸を生成し得る(Hyrupら(1996) Bioorg Med Chem 4:5-23を参照のこと)。本明細書で用いる用語「ペプチド核酸」または「PNA」は、デオキシリボースリン酸骨格がプソイドペプチド(pseudopeptide)骨格で置換され、かつ4つの天然のヌクレオ塩基のみが保持されている、核酸模倣物、例えば、DNA模倣物をいう。PNAの中性の骨格は、低いイオン強度条件下で、DNAおよびRNAへの特異的ハイブリダイゼーションを可

能にすることが示されている。PNAオリゴマーの合成は、Hyrupら(1996)上述; Perry-O'Keefeら(1996)PNAS 93:14670-675に記載のような、標準的な固相ペプチド合成プロトコルを用いて実施され得る。

#### 【0123】

SECXのPNAは、治療適用および診断適用で用いられ得る。例えば、PNAは、例えば、転写または翻訳抑止(arrest)を誘導すること、または複製を阻害することにより、遺伝子発現の配列特異的調節のためのアンチセンスまたはアンチ遺伝子剤として用いられ得る。SECXのPNAはまた、例えば、PNA特異的PCRクランピングによる、例えば、遺伝子中の1塩基対変異の分析に; 他の酵素、例えば、S1ヌクレアーゼと組み合わせて用いる場合、人工の制限酵素として(Hyrup B.(1966)上述); またはDNA配列およびハイブリダイゼーションのプロブまたはプライマーとして(Hyrupら(1966)上述; Perry-O'Keefe(1996)上述)用いられ得る。

#### 【0124】

別の実施形態では、SECXのPNAは、例えば、それらの安定性または細胞の取り込みを増大するために、PNAに親油性基または他の補助基を結合することによるか、PNA-DNAキメラの形成によるか、またはリポソームの使用もしくは当該分野で公知の薬物送達の他の技法によって改変され得る。例えば、PNAとDNAの有利な性質を組み合わせ得る、SECXのPNA-DNAキメラが生成され得る。このようなキメラは、PNA部分の高い結合親和性および特異性を提供しながら、DNA認識酵素、例えば、RNaseHおよびDNAポリメラーゼをDNA部分と相互作用させる。PNA-DNAキメラは、塩基スタッキング、ヌクレオ塩基間の結合の数、および配向の点から選択された適切な長さのリンカーを用いて連結され得る(Hyrup(1996)上述)。PNA-DNAキメラの合成は、Hyrup(1966)上述およびFinnら(1996)Nucl Acids Res 24:3357-63に記載のように実施され得る。例えば、DNA鎖を、標準的なホルホルアミダイトカップリング化学を用いて固体支持体上で合成し得、そして改変ヌクレオシドアナログ、例えば、5'

- (4 - メトキシトリチル) アミノ - 5' - デオキシ - チミジンホスホルアミダイトを、PNAとDNAの5'末端との間に用い得る (Magら (1989) *Nucl Acid Res* 17:5973-88)。次いで、PNAモノマーを段階的様式でカップリングし、5' PNAセグメントと3' DNAセグメントをもつキメラ分子を生成する (Finnら (1996) 上述)。あるいは、キメラ分子は、5' DNAセグメントと3' PNAセグメントを有して合成され得る。Petersenら (1975) *Bioorg Med Chem Lett* 5:1119-11124を参照のこと。

#### 【0125】

他の実施形態では、このオリゴヌクレオチドは、ペプチド (例えば、インビボで宿主細胞レセプターを標的にするため)、または細胞膜を横切る輸送を容易にする薬剤 (例えば、Letsingerら、1989、*Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86:6553-6556; Lemaitreら、1987、*Proc. Natl. Acad. Sci.* 84:648-652; PCT公報番号WO88/09810を参照のこと) もしくは血液脳関門を横切る輸送を容易にする薬剤 (例えば、PCT公報番号WO89/10134を参照のこと) のような他の付属基を含み得る。さらに、オリゴヌクレオチドは、ハイブリダイゼーショントリガー切断剤 (例えば、Krolら、1988、*Bio Techniques* 6:958-976を参照のこと) または挿入剤 (例えば、Zon、1988、*Pharm. Res.* 5:539-549を参照のこと) を用いて改変され得る。この目的のために、このオリゴヌクレオチドは、例えば、ペプチド、ハイブリダイゼーショントリガー架橋剤、輸送剤、ハイブリダイゼーショントリガー切断剤などの他の分子に連結され得る。

#### 【0126】

##### (SECXタンパク質)

本発明の新規タンパク質は、その配列が図1~14および18~19に提供されるSECXタンパク質 (配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、および30) を含む。本発明はまた、なおそのSECX活性および生理学的機能を維持するタンパク質、またはその機能

的フラグメントをコードしながら、その任意の残基が図1～14および18～19に示される対応する残基から変化し得る、変異体または改変体タンパク質を含む。この変異体または改変体タンパク質において、20%までまたはそれ以上の残基がそのように変化し得る。

#### 【0127】

一般に、SECX様機能を保持するSECX改変体は、配列中の特定位置の残基が他のアミノ酸により置換され、そしてさらに、親タンパク質の2つの残基間にさらなる残基を挿入する可能性、および親配列から1つ以上の残基を欠失する可能性を含む。任意のアミノ酸置換、挿入または欠失は、本発明に包含される。好適な状況では、この置換は、上記で規定されるような保存的置換である。

#### 【0128】

本発明の1つの局面は、単離されたSECXタンパク質、およびその生物学的に活性な部分、またはその誘導體、フラグメント、アナログもしくは相同体に関する。抗SECX抗体を惹起するための免疫原としての使用に適するポリペプチドフラグメントもまた提供される。1つの実施形態では、ネイティブSECXタンパク質が、標準的なタンパク質精製技法を用いる適切な精製スキームにより、細胞または組織供給源から単離され得る。別の実施形態では、SECXタンパク質は、組換えDNA技法により生産される。組換え発現の代替えとして、SECXタンパク質またはポリペプチドは、標準的なペプチド合成技法を用いて化学的に合成され得る。

#### 【0129】

「単離された」または「精製された」タンパク質または生物学的に活性なその部分は、SECXタンパク質が由来する細胞または組織供給源からの細胞材料または他の夾雑タンパク質を実質的に含まないか、化学的に合成されたとき、化学的前駆体または他の化学物質を実質的に含まない。用語「細胞材料を実質的に含まない」は、SECXタンパク質が、単離されるかまたは組換えにより産生された細胞の細胞成分から分離されているこのタンパク質の調製物を含む。1つの実施形態では、用語「細胞材料を実質的に含まない」は、約30%（乾燥重量による）より少ない非SECXタンパク質（本明細書ではまた「夾雑タンパク質」と

呼ばれる)、より好ましくは約20%より少ない非SECタンパク質、なおより好ましくは約10%より少ない非SECタンパク質、そして最も好ましくは約5%より少ない非SECタンパク質を有する、SECタンパク質の調製物を含む。このSECタンパク質または生物学的に活性なその部分が組換えにより産生されるとき培養培地を実質的に含まないこともまた好適である。すなわち、培養培地は、タンパク質調製物の容量の約20%より少ないか、より好ましくは約10%より少ないか、そして最も好ましくは約5%より少ない。

#### 【0130】

用語「化学的前駆体または他の化学物質を実質的に含まない」は、タンパク質の合成において含まれる化学的前駆体または他の化学物質からこのタンパク質が分離されているSECタンパク質の調製物を含む。1つの実施形態では、用語「化学的前駆体または他の化学物質を実質的に含まない」は、化学的前駆体または非SEC化学物質を約30%(乾燥重量による)より少く、より好ましくは化学的前駆体または非SEC化学物質を約20%より少なく、なおより好ましくは化学的前駆体または非SEC化学物質を約10%より少なく、そして最も好ましくは化学的前駆体または非SEC化学物質を約5%より少なく有するSECタンパク質の調製物を含む。

#### 【0131】

SECタンパク質の生物学的に活性な部分は、完全長のSECタンパク質より少ないアミノ酸配列を含み、そしてSECタンパク質の少なくとも1つの活性を示す、SECタンパク質のアミノ酸配列(例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、および30に示されるアミノ酸配列)に十分に相長的であるか、またはそれに由来するアミノ酸配列を含むペプチドを含む。代表的には、生物学的に活性な部分は、SECタンパク質の少なくとも1つの活性をとまなうドメインまたはモチーフを含む。SECタンパク質の生物学的に活性な部分は、例えば、10、25、50、100またはそれ以上のアミノ酸の長さのポリペプチドであり得る。

#### 【0132】

本発明のSECタンパク質の生物学的活性な部分は、上記セクション1-1

4で同定された構造的ドメインの少なくとも1つを含み得ることが理解されるべきである。SECXタンパク質の代替の生物学的に活性な部分は、SECXタンパク質の細胞外ドメインを含み得る。SECXタンパク質の別の生物学的に活性な部分は、SECXタンパク質の膜貫通ドメインを含み得る。本発明のSECXタンパク質のなお別の生物学的に活性な部分は、SECXタンパク質の細胞内ドメインを含み得る。

【0133】

さらに、このタンパク質の他の領域が欠失した他の生物学的に活性な部分が、組換え技法により調製され得、ネイティブなSECXタンパク質の1つ以上の機能的活性について評価され得る。

【0134】

ある実施形態では、このSECXタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、および30に示される任意の1つ以上のアミノ酸配列を有する。他の実施形態では、このSECXタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、および30のいずれか1つに実質的に相同であり、そして以下に詳細に記載されるように、天然の対立遺伝子変動または変異誘発に起因してアミノ酸配列がなお異なる所定のSECXタンパク質の機能的活性を保持する。従って、別の実施形態では、このSECXタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、および30のアミノ酸配列のいずれか1つに少なくとも約75%相同であるアミノ酸配列を含み、そしてSECXタンパク質の機能的活性を保持するタンパク質である。

【0135】

本発明はさらに、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29および31のいずれか1つ以上のヌクレオチド配列を含む核酸分子にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列を有する核酸分子によりコードされる、SECXタンパク質、またはその誘導體、フラグメント、アナログもしくは相同体の特徴とする。

## 【0136】

(2つ以上の配列間の相同性の決定)

2つのアミノ酸配列または2つの核酸の相同性のパーセントを決定するために、これらの配列を最適な比較の目的のためにアラインする(例えば、第2のアミノ酸または核酸配列との最適アラインメントのために第1のアミノ酸または核酸配列の配列中にギャップを導入し得る)。次いで、対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置でアミノ酸またはヌクレオチドを比較する。第1の配列中の位置が第2の配列中の対応する位置と同じアミノ酸残基またはヌクレオチドで占められるとき、この分子はその位置で相同である(すなわち、本明細書で用いるとき、アミノ酸または核酸「相同性」は、アミノ酸または核酸「同一性」と等価である)。

## 【0137】

核酸配列相同性は、2つの配列間の同一性の程度で決定され得る。この相同性は、GCGプログラムパッケージで提供されるGAPソフトウェアのような当該分野で公知のコンピュータプログラムを用いて決定され得る。NeedlemanおよびWunsch 1970 J Mol Biol 48:443-453を参照のこと。GCG GAPソフトウェアを核酸配列比較のために以下の設定を用い: 5.0のGAP作成ペナルティおよび0.3のGAP伸長ペナルティ、上記で言及した類似の核酸配列のコード領域は、好ましくは、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29および31の任意の1つ以上で示されたDNA配列のCDS(すなわちコードする)部分と、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性の程度を示す。

## 【0138】

用語「配列同一性」は、2つのポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列が、比較の特定の領域に亘って残基ごとを基礎に同一である程度をいう。用語「配列同一性の百分率」は、その比較の領域に亘り最適に配列された配列を比較すること、両方の配列において同一の核酸塩基(例えば、核酸の場合、A、T、C、G、U、またはI)が存在する位置の数を決定し、一致した位置の数を生成するこ

と、比較領域中の位置の総数（すなわち、ウィンドウサイズ）で一致した位置の数を除すること、およびこの結果に100を乗じ、配列同一性の百分率を得ることにより算出される。本明細書で用いる場合、用語「実質的に同一」は、ポリヌクレオチド配列の特徴を示し、ここで、このポリヌクレオチドは、比較領域に亘って参照配列と比較した場合、少なくとも80%の配列同一性、好ましくは少なくとも85%の配列同一性そしてしばしば90~95%の配列同一性、より通常は少なくとも99%の配列同一性を有する配列を含む。ポリペプチド配列中のアミノ酸残基を比較するとき、同様の計算が用いられる。

### 【0139】

（キメラおよび融合タンパク質）

本発明はまた、SECXキメラまたは融合タンパク質を提供する。本明細書で用いられるとき、SECX「キメラタンパク質」または「融合タンパク質」は、非SECXポリペプチドと作動可能に連結されたSECXポリペプチドを含む。「SECXポリペプチド」は、SECXに対応するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいうが、その一方、「非SECXポリペプチド」は、このSECXタンパク質に実質的に相同ではないタンパク質に対応するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいう（例えば、SECXタンパク質とは異なり、しかも同一かまたは異なる生物に由来するタンパク質）。SECX融合タンパク質の中で、SECXポリペプチドは、SECXタンパク質のすべてか、またはその一部分に対応し得る。1つの実施形態では、SECX融合タンパク質は、SECXタンパク質の少なくとも1つの生物学的に活性な部分を含む。別の実施形態では、SECX融合タンパク質は、SECXタンパク質の少なくとも2つの生物学的に活性な部分を含む。なお別の実施形態では、SECX融合タンパク質は、SECXタンパク質の少なくとも3つの生物学的に活性な部分を含む。融合タンパク質において、用語「作動可能に連結される」は、SECXポリペプチドおよび非SECXポリペプチドが互いにインフレームで融合されることを示すことが意図される。非SECXポリペプチドは、SECXポリペプチドのN末端またはC末端に融合され得る。

### 【0140】

例えば、1つの実施形態では、SECX融合タンパク質は、目的の活性に関与することが知られる第2のタンパク質の細胞外ドメインに作動可能に連結されたSECXドメインを含む。このような融合タンパク質はさらに、SECX活性を調節する化合物のためのスクリーニングアッセイにおいて利用され得る（このようなアッセイは以下に詳細に記載される）。

#### 【0141】

1つの実施形態では、この融合タンパク質は、GST-SECX融合タンパク質であり、ここではSECX配列が、GST（すなわち、グルタチオンS-トランスフェラーゼ）配列のC末端に融合される。このような融合タンパク質は、組換えSECXの精製を容易にし得る。

#### 【0142】

別の実施形態では、この融合タンパク質は、そのN末端に異質シグナル配列を含むSECXタンパク質である。例えば、ネイティブなSECXシグナル配列（すなわち、上記セクション1-14に記載のような、ほぼアミノ酸1~26）を除去し、別のタンパク質からのシグナル配列で置き換えられ得る。特定の宿主細胞（例えば、哺乳動物宿主細胞）では、SECXの発現および/または分泌は、異質シグナル配列の使用により増大され得る。

#### 【0143】

なお別の実施形態では、この融合タンパク質は、SECX-免疫グロブリン融合タンパク質であり、ここでは主に細胞外ドメインを含むSECX配列が、免疫グロブリンタンパク質ファミリーのメンバーに由来する配列に融合される。本発明のこのSECX-免疫グロブリン融合タンパク質は、薬学的組成物中に取り込まれ、そして被験体に投与されて、細胞の表面上でSECXリガントとSECXタンパク質との間の相互作用を阻害し、それによってインビボのSECX媒介シグナル伝達を抑制し得る。このSECX-免疫グロブリン融合タンパク質を用い、SECX同族リガンドの生体利用性に影響を与え得る。SECXリガント/SECX相互作用の阻害は、増殖障害および分化障害の両方の処置、および細胞生存を調節（例えば、促進または阻害）することに、治療的に有用であり得る。さらに、本発明のこのSECX-免疫グロブリン融合タンパク質は、被験体中で抗

SECX抗体を産生するための免疫原として用いられ得、SECXリガンドを精製し、そしてSECXリガンドとのSECXの相互作用を阻害する分子を同定するスクリーニングアッセイで用いられ得る。

【0144】

本発明のSECXキメラまたは融合タンパク質は、標準的な組換えDNA技術により産生され得る。例えば、異なるポリペプチド配列をコードするDNAフラグメントを、従来の技術に従って、例えば、連結のための平滑末端または粘着(stagger)末端、適切な末端を提供するための制限酵素消化、必要に応じて粘着(cohesive)末端のフィルイン、所望しない連結を避けるためのアルカリホスファターゼ処理、および酵素的連結を採用することにより、インフレーションと一緒に連結する。別の実施形態では、融合遺伝子を、自動化DNA合成機を含む従来技術により合成し得る。あるいは、遺伝子フラグメントのPCR増幅を、キメラ遺伝子配列を生成するために次いでアニールおよび再増幅され得る、2つの連続遺伝子フラグメント間の相補的突出を生じるアンカープライマーを用いて実施し得る(例えば、Ausbelら(編)CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、1992を参照のこと)。さらに、融合部分(例えば、GSTポリペプチド)をすでにコードした多くの発現ベクターが市販されている。SECXをコードする核酸は、この融合部分がSECXタンパク質にインフレーション連結されるように、このような発現ベクター中にクローン化され得る。

【0145】

本発明はまた、種々のSECXポリペプチド由来のシグナル配列を提供する。このシグナル配列は、例えば、上記の、SECXポリペプチドのためのSignalPソフトウェアプログラムにより推定されるようなSECXポリペプチドについて同定されるシグナルペプチドを含むポリペプチドを含む。これらのシグナル配列は、所望の細胞内または細胞外(細胞からの分泌が所望される場合)位置に連結されたポリペプチド配列を指向するために有用である。いくつかの実施形態では、このシグナル配列は、連結されたポリペプチドを所望の細胞内区画に指向させるのに十分であるSECXシグナル配列の一部を含む。

## 【0146】

(SECXアゴニストおよびアンタゴニスト)

本発明はまた、SECXアゴニスト(模倣物)として、またはSECXアンタゴニストとしてのいずれかで機能するSECXタンパク質の改変体に関する。SECXタンパク質の改変体、例えば、SECXタンパク質の離散した点変異または短縮型が、変異誘発により生成され得る。SECXタンパク質のアゴニストは、天然に存在する形態のSECXタンパク質と実質的に同じ生物学的活性、またはその生物学的活性のサブセットを保持し得る。SECXタンパク質のアンタゴニストは、天然に存在する形態のSECXタンパク質の1つ以上の活性を、例えば、SECXタンパク質を含む細胞シグナル伝達カスケードの下流または上流メンバーに競合的に結合することにより阻害し得る。従って、特異的生物学的効果が、限られた機能の改変体を用いた処理により惹起され得る。1つの実施形態では、このタンパク質の天然に存在する形態の生物学活性のサブセットを有する改変体を用いた被験体の処置は、SECXタンパク質の天然に存在する形態を用いた処置に対して被験体におけるより少ない副作用を有する。

## 【0147】

SECXアゴニスト(模倣物)として、またはSECXアンタゴニストのいずれかとして機能するSECXタンパク質の改変体は、SECXタンパク質アゴニストまたはアンタゴニスト活性のためのSECXタンパク質の変異体、例えば短縮型変異体のコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることにより同定され得る。1つの実施形態では、SECX改変体の多彩なライブラリーは、核酸レベルのコンビナトリアル変異誘発により生成され、そして多彩な遺伝子ライブラリーによりコードされる。SECX改変体の多彩なライブラリーは、例えば、合成オリゴヌクレオチドの混合物を、潜在的なSECX配列の変性(degenerate)セットが、個々のポリペプチドとして、あるいは、その中にSECX配列のセットを含む(例えば、ファージディスプレイのための)より大きな融合タンパク質のセットとして発現可能であるような遺伝子配列中に、酵素的に連結することにより、産生され得る。変性オリゴヌクレオチド配列から潜在的なSECX改変体のライブラリーを産生するために用いられ得る種々の方法がある

。縮重遺伝子配列の化学的合成は、自動化DNA合成機中で実施され得、次いでこの合成遺伝子は、適切な発現ベクター中に連結される。遺伝子の縮重セットの使用は、1つの混合物において、潜在的なSECX配列の所望のセットをコードする配列のすべての供給量を可能にする。縮重オリゴヌクレオチドを合成する方法は当該分野で公知である(例えば、Narang(1983)Tetrahedron 39:3; Itakuraら(1984)Annu Rev Biochem 53:323; Itakuraら(1984)Science 198:1056; Ikeら(1983)Nucl Acid Res 11:477を参照のこと)。

#### 【0148】

(ポリペプチドライブラリー)

さらに、SECXタンパク質コード配列のフラグメントのライブラリーを用いて、SECXタンパク質の改変体のスクリーニングおよび引き続き選択のためのSECXフラグメントの多彩な集団を生成し得る。1つの実施形態では、コード配列フラグメントのライブラリーは、SECXコード配列の二本鎖PCRフラグメントを、1分子あたり約1つのみのニックが生じる条件下で、ヌクレアーゼを用いて処理すること、二本鎖DNAを変性させること、異なるニック産物からのセンス/アンチセンス対を含み得る二本鎖DNAを形成するためにこのDNAを再生すること、S1ヌクレアーゼを用いた処理により再形成された二本鎖から一本鎖部分を除去すること、および得られるフラグメントライブラリーを発現ベクター中に連結することにより生成され得る。この方法により、SECXタンパク質の種々のサイズのN末端および内部フラグメントをコードする発現ライブラリーが派生され得る。

#### 【0149】

点変異または短縮により作成されたコンビナトリアルライブラリーの遺伝子産物をスクリーニングするため、選択された性質を有する遺伝子産物のcDNAライブラリーをスクリーニングするためのいくつかの技術が当該分野で公知である。このような技術を、SECXタンパク質のコンビナトリアル変異誘発により生成された遺伝子ライブラリーの迅速スクリーニングに適用可能である。大きな遺

伝子ライブラリーをスクリーニングするための、高スループット分析に適した最も広く用いられる技術は、代表的には、遺伝子ライブラリーを複製可能な発現ベクター中にクローニングすること、得られるベクターのライブラリーで適切な細胞を形質転換すること、およびこのコンビナトリアル遺伝子を、所望の活性の検出が、その産物が検出された遺伝子をコードするベクターの単離を容易にする条件下で発現することを含む。ライブラリー中の機能的変異体の頻度を増大する新規技術であるリクルーシブアンサンブル (recursive ensemble) 変異誘発 (REM) (ライブラリーにおいて機能的な変異体の頻度を増幅する新しい技術) を、スクリーニングアッセイと組み合わせて用い、SECX 改変体を同定し得る (Arkin および Yourvan (1992) PNAS 89 : 7811 - 7815 ; Delgrave ら (1993) Protein Engineering 6 : 327 - 331)。

#### 【0150】

1つの実施形態では、細胞を基礎にしたアッセイを開発して、多彩な SECX ライブラリー (例えば、変異体 SECX ポリペプチドのライブラリー) を分析し得る。例えば、発現ベクターのライブラリーを、通常、SECX 依存様式 (例えば、シグナル伝達複合体による) で特定のリガンドまたはレセプターに応答する細胞株中にトランスフェクトし得る。次いでトランスフェクトされた細胞を、推定の SECX 相互作用体と接触させ、そしてシグナル伝達複合体によるシグナル伝達に対する変異体 SECX の発現の影響を、例えば、細胞活性または細胞生存を測定することにより検出し得る。次いで、プラスミド DNA が、阻害、あるいは例えばサイトカイン誘導の能力を与える細胞から回収され、そして個々のクローンがさらに特徴付けられ得る。

#### 【0151】

(抗 SECX 抗体)

本発明は、本発明の任意のポリペプチドに免疫特異的に結合する、 $F_{ab}$  または  $(F_{ab})_2$  のような抗体または抗体フラグメントを包含する。

#### 【0152】

単離された SECX タンパク質、またはその部分もしくはフラグメントは、ポ

リクローナル抗体およびモノクローナル抗体調製のための標準的な技術を用いて、SECXに結合する抗体を生成するための免疫原として用いられ得る。完全長のSECXタンパク質が用いられ得るか、あるいは、本発明は、免疫原としての使用のためのSECXの抗原性ペプチドフラグメントを提供する。SECXの抗原性ペプチドは、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28および30で示されるアミノ酸配列の少なくとも4アミノ酸残基を含み、そしてこのペプチドに対して惹起された抗体がSECXと特異的な免疫複合体を形成するように、SECXのエピトープを含む。好ましくは、この抗原性ペプチドは、少なくとも6、8、10、15、20、または30のアミノ酸残基を含む。より長い抗原性ペプチドが、使用および当業者に周知の方法に依存して、より短い抗原性ペプチドよりも時に好適である。

#### 【0153】

本発明の特定の実施形態では、抗原性ペプチドにより包含される少なくとも1つのエピトープは、タンパク質の表面上に位置するSECXの領域、例えば、親水性領域である。ヒトSECXタンパク質配列の疎水性分析は、SECXポリペプチドのどの領域が特に親水性であり、そしてそれ故、抗体産生を標的にするために有用な表面残基をコードするようであることを示す。抗体産生を標的にする手段として、親水性および疎水性の領域を示すヒドロパシー(hydrophathy)プロットを、例えば、フーリエ変換を用いるか用いないかのいずれかの、Kyte DoolittleまたはHopp Woods法を含む、当該分野で周知の任意の方法により生成し得る。例えば、HoppおよびWoods、1981、Proc. Nat. Acad. Sci. USA 78:3824-3828; KyteおよびDoolittle 1982、J. Mol. Biol. 157:105-142を参照のこと(それらの全体が本明細書に参考として援用される)。

#### 【0154】

本明細書で開示されるように、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28および30のSECXタンパク質配列、またはその誘導體、フラグメント、アナログもしくはホモログを、これらの

タンパク質成分に免疫特異的に結合する抗体の生成における免疫原として利用され得る。本明細書で用いる用語「抗体」は、免疫グロブリン分子、および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、すなわち、SECXのような抗原に特異的に結合（免疫反応）する抗原結合部位を含む分子をいう。このような抗体は、制限されずに、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、単鎖抗体、 $F_{ab}$  および  $F_{(ab')_2}$  フラグメント、および  $F_{ab}$  発現ライブラリーを含む。特定の実施形態では、ヒトSECXタンパク質に対する抗体が開示される。当該分野で公知の種々の手順が、SECXタンパク質配列、またはその誘導體、フラグメント、アナログもしくはホモログに対するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体の産生のために用いられ得る。これらのタンパク質のいくつかを以下で論議する。

#### 【0155】

ポリクローナル抗体の産生のために、種々の適切な宿主動物（例えば、ウサギ、ヤギ、マウスまたはその他の哺乳動物）を、ネイティブタンパク質、またはその合成改変体、または前述の誘導體での注射により免疫化し得る。適切な免疫原調製物は、例えば、組換えにより発現されたSECXタンパク質または化学的に合成されたSECXポリペプチドを含有し得る。この調製物は、アジュバントをさらに含み得る。免疫学的応答を増大するために用いられる種々のアジュバントとしては、制限されないが、フロイントの（完全および不完全）アジュバント、ミネラルゲル（例えば、水酸化アルミニウム）、表面活性物質（例えば、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、オイルエマルジョン、ジニトロフェノールなど）、*Bacille Calmette - Guerin* および *Corynebacterium parvum* のようなヒトアジュバント、または類似の免疫刺激剤が挙げられる。所望の場合、SECXに対して指向される抗体分子は、哺乳動物（例えば、血液）から単離され、そしてさらに、IgG画分を得るためのプロテインAクロマトグラフィーのような、周知の技術により精製され得る。

#### 【0156】

本明細書で用いられる場合、用語「モノクローナル抗体」または「モノクロー

ナル抗体組成物」は、SECXの特定のエピトープと免疫反応し得る抗原結合部位の特定の1種のみを含む抗体分子の集団をいう。従って、代表的には、モノクローナル抗体組成物は、それと免疫反応する特定のSECXタンパク質に対し、単一の結合親和性を示す。特定のSECXタンパク質、またはその誘導体、フラグメント、アナログもしくはホモログに対して指向されるモノクローナル抗体の調製には、連続的な細胞株培養による抗体分子の産生のために提供する任意の技術が利用され得る。このような技術としては、制限されないが、ハイブリドーマ技術(Kohler & Milstein, 1975 Nature 256:495-497を参照のこと); トリオーマ技術; ヒトB細胞ハイブリドーマ技術(Kozborら, 1983 Immunol Today 4:72参照のこと)およびヒトモノクローナル抗体を産生するためのEBVハイブリドーマ技術(Coleら, 1985 MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, Alan R. Liss, Inc. 77-96頁を参照のこと)を含む。ヒトモノクローナル抗体が、本発明の実施において利用され得、そしてヒトハイブリドーマを用いることによるか(Coleら, 1983. Proc Natl Acad Sci USA 80:2026-2030を参照のこと)、またはインビトロでヒトB細胞をエプスタイン-バーウイルスで形質転換することにより(Coleら, 1985 MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, Alan R. Liss, Inc. 77-96頁を参照のこと)産生され得る。上記の引用の各々は、それらの全体が参考として本明細書に援用される。

#### 【0157】

本発明によれば、技術は、SECXタンパク質に特異的な単鎖抗体の産生のために適合され得る(例えば、米国特許第4,946,778号を参照のこと)。さらに、方法論は、F<sub>ab</sub>発現ライブラリーの構築のために適合され(例えば、Huseら, 1989 Science 246:1275-1281を参照のこと)、SECXタンパク質、またはその誘導体、フラグメント、アナログもしくはホモログに対し、所望の特異性を有するモノクローナルF<sub>ab</sub>フラグメントの迅速かつ有効な同定を可能にする。非ヒト抗体は、当該分野で周知の技術により「

ヒト化」され得る。例えば、米国特許第5,225,539号を参照のこと。SECXタンパク質に対するイディオタイプを含む抗体フラグメントが、当該分野で公知の技術により産生され得、この技術としては、制限されないが：(i)抗体分子のペプシン消化により産生される $F_{(ab')_2}$ フラグメント；(ii) $F_{(ab')_2}$ フラグメントのジスルフィド架橋を還元することにより生成される $F_{ab}$ フラグメント；(iii)抗体分子のパパインおよび還元剤での処理により生成される $F_{ab}$ フラグメントおよび(iv) $F_v$ フラグメントが挙げられる。

【0158】

さらに、ヒトおよび非ヒト部分の両方を含むキメラ抗体およびヒト化モノクローナル抗体のような、組換え抗SECX抗体（これらは、標準的組換えDNA技術を用いて作製され得る）は、本発明の範囲内である。このようなキメラ抗体およびヒト化モノクローナル抗体は、当該分野で公知の組換えDNA技術により生成され得る。この技術は例えば、以下に記載の方法を用いる：国際出願番号PCT/US86/02269；欧州特許出願第184,187号；同第171,496号；同第173,494号；PCT国際公開番号WO 86/01533；米国特許第4,816,567号；同第5,225,539号；欧州特許出願番号125,023号；Better $\bar{r}$ (1988)Science 240:1041~1043；Liu $\bar{r}$ (1987)PNAS 84:3439~3443；Liu $\bar{r}$ (1987)J Immunol. 139:3521~3526；Sun $\bar{r}$ (1987)PNAS 84:214~218；Nishimura $\bar{r}$ (1987)Cancer Res 47:999~1005；Wood $\bar{r}$ (1985)Nature 314:446~449；Shaw $\bar{r}$ (1988)J Natl Cancer Inst 80:1553~1559；Morrisson(1985)Science 229:1202~1207；Oi $\bar{r}$ (1986)BioTechniques 4:214；Jones $\bar{r}$ (1986)Nature 321:552~525；Verhoeyan $\bar{r}$ (1988)Science 239:1534；ならびにBeidler $\bar{r}$ (1988)J Immunol 141:4053~4060。上記引用の各々は、それらの全体において参考として本明細書中に援用される。

## 【0159】

1つの実施形態において、所望の特異性を保有する抗体のスクリーニングのための方法論としては、当該分野内で公知の酵素結合抗体免疫吸着アッセイ（ELISA）および他の免疫学的に媒介された技術を含むが、これに限定されない。特定の実施形態において、SECタンパク質の特定のドメインに対して特異的である抗体の選抜は、このようなドメインを所有しているSECタンパク質のフラグメントに結合するハイブリドーマの生成により容易にされる。SECタンパク質、またはそれらの誘導体、フラグメント、アナログまたはホモログ内の上記ドメインについて特異的である抗体がまた、本願明細書において提供される。

## 【0160】

抗SEC抗体は、SECタンパク質の局在化および/または定量化に関する当該分野で公知の方法において用いられ得る（例えば、適切な生理学的なサンプル内のSECタンパク質のレベルを測定する使用のために、診断的方法における使用のために、タンパク質の画像化における使用のために、など）。所定の実施形態において、SECタンパク質、またはそれらの誘導体、フラグメント、アナログまたはホモログの抗体（抗体由来の結合ドメインを含む）は、薬理的に活性な化合物 [本明細書中、以降において「治療剤」] として利用される。

## 【0161】

抗SEC抗体（例えば、モノクローナル抗体）は、標準的な技術（例えばアフィニティークロマトグラフィまたは免疫沈降）によって、SECを単離するために用いられ得る。抗SEC抗体は、細胞からの天然のSEC、そして宿主細胞において発現される組換え的に産生されたSECの精製を容易にし得る。さらに、抗SEC抗体が、（例えば、細胞の溶解産物または細胞上清における）SECタンパク質を検出するために用いられ、SECタンパク質の発現の量およびパターンを評価し得る。抗SEC抗体は、例えば、所定の治療レジメンの有効性を決定するために、臨床試験の手順の一部として組織におけるタンパク質レベルを診断的にモニターするために用いられ得る。検出は、抗体を検出可能物質に連結する（すなわち、物理的に連結する）ことにより容易になり得る。

。検出可能物質の例としては、種々の酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光材料、生物発光材料および放射性物質が挙げられる。適切な酵素の例としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 $\alpha$ -ガラクトシダーゼまたはアセチルコリンエステラーゼが挙げられる；適切な補欠分子族複合体の例としては、ストレプトアビジン/ビオチンおよびアビジン/ビオチンが挙げられる；適切な蛍光物質の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミン(dichlorotriazinylamine)フルオレセイン、ダンシルクロリドまたはフィコエリトリンが挙げられる；発光材料の例としては、ルミノールが挙げられる；生物発光材料の例としては、ルシフェラーゼ、ルシフェリンおよびエクオリンが挙げられる；そして、適切な放射性物質の例としては $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{35}\text{S}$ または $^3\text{H}$ が挙げられる。

#### 【0162】

(SECX組換え発現ベクターおよび宿主細胞)

本発明の別の局面は、SECXタンパク質、またはそれらの誘導體、フラグメント、アナログもしくはホモログをコードする核酸を含む、ベクター、好ましくは、発現ベクターに関する。本明細書において使用される場合、用語「ベクター」は、それに連結された別の核酸を輸送し得る核酸分子をいう。1つの型のベクターは、「プラスミド」である。これはさらなるDNAセグメントが連結され得る環状の二本鎖DNAループをいう。別の型のベクターは、ウイルス性ベクターであり、ここでさらなるDNAセグメントが、ウイルスゲノムに連結され得る。特定のベクターは、ベクターが導入される宿主細胞中で自律性複製し得る(例えば、細菌性の複製起点を有する細菌ベクター、およびエピソーム性哺乳動物ベクター)。他のベクター(例えば、非エピソーム性哺乳動物ベクター)は、宿主細胞への導入の際、宿主細胞のゲノムに組み込まれ、そして、これにより宿主ゲノムとともに複製される。さらに、特定のベクターは、それらが作動可能に連結される遺伝子の発現を指向し得る。このようなベクターは、本明細書において「発現ベクター」といわれる。一般に、組換えDNA技術における有用な発現ベクターは、しばしばプラスミドの形態である。本願明細書において、「プラスミド」

および「ベクター」は、プラスミドが最も一般的に用いられる形態のベクターであるので、交換可能に使用され得る。しかし、本発明は、等価の機能を果たす、ウイルス性ベクター（例えば、複製欠損レトロウィルス、アデノウィルス、およびアデノ随伴ウィルス）のような、このような他の形態の発現ベクターを含むことを意図される。

#### 【0163】

本発明の組換え発現ベクターは、宿主細胞における核酸の発現に適切な形態の本発明の核酸を含む。これは、組換え発現ベクターが、発現されるべき核酸配列に作動可能に連結される、発現に用いられるべき宿主細胞に基づいて選択される、1つ以上の調節配列を含むことを意味する。組換え発現ベクター内で、「作動可能に連結する」とは、目的のヌクレオチド配列が、（例えば、インビトロの転写/翻訳系において、またはベクターが宿主細胞に導入される場合は、宿主細胞において）ヌクレオチド配列の発現を可能にする様式で調節配列に連結されるという意味を意図する。用語「調節配列」は、プロモーター、エンハンサーおよび他の発現制御エレメント（例えば、ポリアデニル化シグナル）を含むことを意図する。このような調節配列は、例えば、Goeddel; GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185、Academic Press、San Diego、Calif. (1990)に記載されている。調節配列は、多くの型の宿主細胞においてヌクレオチド配列の構成的発現を指向する配列、および特定の宿主細胞のみにおいてヌクレオチド配列の発現を指向する配列（例えば、組織特異的調節配列）を含む。発現ベクターの設計が形質転換されるべき宿主細胞の選択、所望のタンパク質の発現のレベルなどのような因子に依存し得ることは当業者に理解される。本発明の発現ベクターは、宿主細胞中に導入され得、それにより、本明細書に記載される核酸によりコードされるタンパク質またはペプチド（融合タンパク質またはペプチドを含む）（例えば、SECXタンパク質、またはSECXの変異形態、融合タンパク質など）を生成し得る。

#### 【0164】

本発明の組換え発現ベクターは、原核生物細胞または真核生物細胞における、

SECX発現のために設計され得る。例えば、SECXは、細菌細胞（例えば、*E. coli*）、昆虫細胞（バキュロウイルス発現ベクターを用いる）、酵母細胞または哺乳動物細胞において発現され得る。適切な宿主細胞は、Goeddel; GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185、Academic Press、San Diego、Calif. (1990)においてさらに議論される。あるいは、組換え型発現ベクターは、例えば、T7プロモーター調節配列およびT7ポリメラーゼを用いて、インビトロで転写および翻訳され得る。

#### 【0165】

原核生物におけるタンパク質の発現は、最も頻繁には、融合タンパク質または非融合タンパク質のいずれかの発現を指向する構成的プロモーターまたは誘導性プロモーターを含むベクターを有する*E. coli*において実行される。融合ベクターは、そこにコードされるタンパク質に、通常、組換えタンパク質のアミノ末端に、多数のアミノ酸を付加する。このような融合ベクターは、代表的には、以下の3つの目的のために役立つ：(1)組換えタンパク質の発現を増加させること；(2)組換えタンパク質の可溶性を増加させること；および(3)アフィニティー精製においてリガンドとして作用することによって、組換えタンパク質の精製の際に補助すること。しばしば、融合発現ベクターにおいて、タンパク質分解の切断部位が、融合部分の結合部に導入され、そしてこの組換えタンパク質により、融合タンパク質の精製の後に融合部分から組換えタンパク質を分離することが可能になる。このような酵素、およびその同族の認識配列は、Xa因子、トロンピン、およびエンテロキナーゼを含む。代表的な融合発現ベクターとしては、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、またはプロテインAを、それぞれ、標的の組換えタンパク質に融合するpGEX (Pharmacia Biotech Inc.; SmithおよびJohnson (1988) Gene 67:31-40)、pMAL (New England Biolabs, Beverly, Mass.)およびpRIT5 (Pharmacia, Piscataway, N.J.)が挙げられる。

#### 【0166】

適切な誘導性非融合E. coli発現ベクターの例には、pTrc (Amrannら(1988) Gene 69:301-315)およびpET 11d (Studierら、GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990) 60-89)が挙げられる。

【0167】

E. coliにおける組換えタンパク質発現を最大化するための1つの戦略は、組換えタンパク質をタンパク質分解的に切断する能力が損なわれた宿主細菌中でタンパク質を発現することである。Gottesman, GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990) 119-128を参照のこと。別の戦略は、各アミノ酸についての個々のコドンが、E. coliにおいて優先的に利用されるコドンであるように発現ベクター中に挿入される核酸の核酸配列を変更することである(Wadara(1992) Nucleic Acids Res. 20:2111-2118)。本発明の核酸配列のこのような変更は、標準的なDNA合成技術によって実行され得る。

【0168】

別の実施形態において、SECX発現ベクターは、酵母発現ベクターである。酵母S. cerevisiaeにおける発現のためのベクターの例には、pYepSec1 (Baldariら、(1987) EMBO J 6:229-234)、pMFa (KurjanおよびHerskowitz、(1982) Cell 30:933-943)、pJRY88 (Schultzら、(1987) Gene 54:113-123)、pYES2 (Invitrogen Corporation, San Diego, Calif.)、およびpicZ (Invitrogen Corp., San Diego, Calif.)が挙げられる。

【0169】

あるいは、SECXは、バキュロウイルス発現ベクターを使用して、昆虫細胞中で発現され得る。培養昆虫細胞（例えば、SF9細胞）中でのタンパク質の発現のために利用可能なバキュロウイルスベクターとしては、pAcシリーズ（Smithら（1983）Mol Cell Biol 3:2156-2165）およびpVLシリーズ（LucklowおよびSummers（1989）Virology 170:31-39）が挙げられる。なお別の実施形態において、本発明の核酸は、哺乳動物発現ベクターを使用して、哺乳動物細胞中で発現される。哺乳動物発現ベクターの例としては、pCDM8（Seed（1987）Nature 329:840）およびpMT2PC（Kaufmanら（1987）EMBO J 6:187-195）が挙げられる。哺乳動物細胞中で使用される場合、発現ベクターの制御機能は、しばしば、ウイルスの調節エレメントによって提供される。例えば、一般に使用されるプロモーターは、ポリオマー、アデノウイルス2、サイトメガロウイルス、およびシミアンウイルス40に由来する。原核生物細胞および真核生物細胞の両方のための他の適切な発現系については、例えば、Sambrookら、MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL. 第2版、Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989の第16章および第17章を参照のこと。

#### 【0170】

別の実施形態において、組換え哺乳動物発現ベクターは、特定の細胞型（例えば、組織特異的調節エレメントを使用して核酸を発現する）中で優先的に核酸の発現を指向し得る。組織特異的調節エレメントは、当該分野で公知である。適切な組織特異的なプロモーターの非限定的な例には、アルブミンプロモーター（肝臓特異的；Pinkertら（1987）Genes Dev 1:268-277）、リンパ特異的プロモーター（CalameおよびEaton（1988）Adv Immunol 43:235-275）、特に、T細胞レセプターのプロモーター（WinotoおよびBaltimore（1989）EMBO J 8:729-733）および免疫グロブリンのプロモーター（Baner

jiら(1983)Cell 33:729-740; QueenおよびBaltimore(1983)Cell 33:741-748)、ニューロン特異的プロモーター(例えば、ニューロフィラメントプロモーター; ByrneおよびRuddle(1989)PNAS 86:5473-5477)、膵臓特異的プロモーター(Edlundら(1985)Science 230:912-916)、ならびに乳腺特異的プロモーター(例えば、ミルク乳清プロモーター; 米国特許第4,873,316号および欧州出願公開第264,166号)が挙げられる。発生的に調節されるプロモーターもまた含まれる(例えば、マウスホックス(murine hox)プロモーター(KesselおよびGruss(1990)Science 249:374-379)および -フェトプロテインプロモーター(CampesおよびTilghman(1989)Genes Dev 3:537-546)。

【0171】

本発明はさらに、アンチセンス方向で発現ベクターにクローニングされた本発明のDNA分子を含む組換え発現ベクターを提供する。すなわち、そのDNA分子は、SECX mRNAに対するアンチセンスであるRNA分子の発現(DNA分子の転写によって)を可能にする様式で調節配列に作動可能に連結される。調節配列は、種々の細胞型においてアンチセンスRNA分子の連続的な発現を指向する、アンチセンス方向でクローニングされた核酸に作動可能に連結される調節配列(ウイルスプロモーターおよび/もしくはエンハンサー)が選択され得、例えば、アンチセンスRNAの構成的発現、組織特異的発現、または細胞特異的発現を指向する、ウイルスプロモーターおよび/またはエンハンサー、あるいは調節配列が、選択され得る。アンチセンス発現ベクターは、組換えプラスミド、ファージミド、または弱毒化されたウイルスの形態であり得、ここではアンチセンス核酸は、高効率調節領域の制御下で産生され、その活性は、ベクターが導入される細胞型によって決定され得る。アンチセンス遺伝子を使用する遺伝子発現の調節の議論については、Weintraubら、「Antisense RNA as a molecular tool for genetic analysis」、Reviews - Trends in Genetics、

第1巻(1)1986を参照のこと。

【0172】

本発明の別の局面は、本発明の組換え発現ベクターが導入された宿主細胞に関する。用語「宿主細胞」および「組換え宿主細胞」は、本明細書中で、交換可能に使用される。このような用語は、特定の対象の細胞をいうのみでなく、そのような細胞の子孫または潜在的な子孫をいうことが理解される。変異または環境的影響のいずれかに起因して、特定の改変が次の世代において生じ得るので、このような子孫は、実際、親の細胞と同一でないかもしれないが、なお、本明細書中で使用されるような用語の範囲内に含まれる。

【0173】

宿主細胞は、任意の原核生物細胞または真核生物細胞であり得る。例えば、SEXタンパク質は、細菌細胞(例えば、E. coli)、昆虫細胞、酵母または哺乳動物細胞(例えば、チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)またはCOS細胞)で発現され得る。他の適切な宿主細胞は、当業者に公知である。

【0174】

ベクターDNAは、従来の形質転換またはトランスフェクション技術を介して原核生物細胞または真核生物細胞中に導入され得る。本明細書中で使用される場合、用語「形質転換」および「トランスフェクション」とは、外来性の核酸(例えば、DNA)を宿主細胞に導入するための当該分野で認識される種々の技術をいうことを意図し、これらには、リン酸カルシウムまたは塩化カルシウム共沈殿、DEAEデキストラン媒介トランスフェクション、リポフェクション、またはエレクトロポレーションが含まれる。宿主細胞を形質転換またはトランスフェクションするための適切な方法は、Sambrookら(MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL. 第2版、Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989)および他の実験室マニュアルに見出され得る。

【0175】

安定な哺乳動物細胞のトランスフェクションのために、使用される発現ベクターおよびトランスフェクション技術に依存して、細胞のほんの一部のみが外来DNAをそのゲノムに組み込み得ることが知られている。これらの要素を同定および選択するために、選択マーカー（例えば、抗生物質に対する耐性）をコードする遺伝子が、一般的には目的の遺伝子とともに宿主細胞に導入される。種々の選択マーカーには、薬物（例えば、G418、ハイグロマイシン、およびメトトレキサート）に対する耐性を付与するものが含まれる。選択マーカーをコードする核酸は、SECXをコードするベクターと同じベクター上で宿主細胞に導入され得るか、あるいは別々のベクター上で導入され得る。導入された核酸で安定にトランスフェクトされた細胞は、薬物選択によって同定され得る（例えば、選択マーカー遺伝子を取り込んだ細胞は生存し、一方他の細胞は死滅する）。

#### 【0176】

本発明の宿主細胞（例えば、培養物中の原核生物宿主細胞および真核生物宿主細胞）は、SECXタンパク質を産生（すなわち、発現）するために使用され得る。従って、本発明はさらに、本発明の宿主細胞を使用して、SECXタンパク質を産生するための方法を提供する。1つの実施形態において、本発明の方法は、SECXタンパク質が産生されるような適切な培地中で、本発明の宿主細胞（ここに、SECXをコードする組換え発現ベクターが導入された）を培養する工程を包含する。別の実施形態において、方法はさらに、培地または宿主細胞からSECXを単離する工程を包含する。

#### 【0177】

（トランスジェニック動物）

本発明の宿主細胞はまた、非ヒトトランスジェニック動物を作製するために使用され得る。例えば、1つの実施形態において、本発明の宿主細胞は、SECXコード配列が導入された、受精した卵母細胞または胚性幹細胞である。次いで、このような宿主細胞は、外因性のSECX配列がそのゲノムに導入された非ヒトトランスジェニック動物、または内因性のSECX配列が変更された相同組換え動物を作製するために使用され得る。このような動物は、SECXの機能および/または活性を研究するため、ならびにSECX活性のモジュレーターを同定お

よび/または評価するために有用である。本明細書中で使用される場合、「トランスジェニック動物」とは、非ヒト動物であり、好ましくは哺乳動物であり、より好ましくは、ラットまたはマウスのような齧歯類であり、その動物の1つ以上の細胞が、導入遺伝子を含む。トランスジェニック動物の他の例としては、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ヤギ、ニワトリ、両生類などが挙げられる。導入遺伝子は、細胞(この細胞からトランスジェニック動物が発生する)のゲノムに組み込まれかつ成熟動物のゲノムに残存する、外因性のDNAであり、それによって、トランスジェニック動物の1つ以上の細胞型または組織においてコードされた遺伝子産物の発現を指示する。本明細書中で使用される場合、「相同組換え動物」とは、非ヒト動物であり、好ましくは哺乳動物であり、より好ましくはマウスであり、ここで内因性のSECX遺伝子は、内因性の遺伝子と、その動物の発生の前にその動物の細胞(例えば、その動物の胚細胞)に導入された外因性のDNA分子との間の相同組換えによって変更されている。

#### 【0178】

本発明のトランスジェニック動物は、SECXをコードする核酸を、例えば、マイクロインジェクション、レトロウイルス感染によって、受精した卵母細胞の雄性前核に導入すること、および卵母細胞が偽妊娠した雌性養育動物(foster animal)中で発生することを可能にすることによって作製され得る。ヒトのSECX cDNAは、非ヒト動物のゲノムに導入遺伝子として導入され得る。あるいは、ヒトのSECX遺伝子の非ヒトホモログ(例えば、マウスのSECX遺伝子)は、ヒトのSECX cDNAに対するハイブリダイゼーションに基づいて単離され得(以下にさらに記載される)、そして導入遺伝子として使用され得る。イントロン配列およびポリアデニル化シグナルもまた導入遺伝子中に含まれ得、その導入遺伝子の発現の効率を増大させ得る。組織特異的調節配列(単数または複数)は、特定の細胞に対して、SECXタンパク質の発現を指示するように、SECX導入遺伝子に作動可能に連結され得る。胚の操作およびマイクロインジェクションを介するトランスジェニック動物(特に、マウスのような動物)を生成するための方法は、当該分野で慣習的になっており、そして例えば、米国特許第4,736,866号;同第4,870,009号;および同

第4, 873, 191号; ならびにHogan 1986、MANIPULATING THE MOUSE EMBRYO, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. に記載されている。同様の方法は、他のトランスジェニック動物の作製のために使用される。トランスジェニック創始 (founder) 動物は、そのゲノムにおけるSECX導入遺伝子の存在および/またはその動物の組織または細胞中のSECX mRNAの発現に基づいて同定され得る。次いで、トランスジェニック初代動物は、導入遺伝子を有するさらなる動物を繁殖させるために使用され得る。さらに、SECXをコードする導入遺伝子を有するトランスジェニック動物は、さらに、他の導入遺伝子を有する他のトランスジェニック動物に繁殖させられ得る。

【0179】

相同組換え動物を作製するために、SECX遺伝子の少なくとも一部を含むベクターを調製する。この遺伝子に、欠失、付加、または置換が導入されて、それによってそのSECX遺伝子に変更されている(例えば、機能的に破壊される)。SECX遺伝子はヒト遺伝子(例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29および31のcDNA)であり得るが、より好ましくは、ヒトのSECX遺伝子の非ヒトホモログである。例えば、配列番号29のヒトのSECX遺伝子のマウスホモログは、マウスゲノムにおいて内因性のSECX遺伝子を変更するのに適切な相同組換えベクターを構築するために使用され得る。1つの実施形態において、そのベクターは、相同組換えに際して、その内因性のSECX遺伝子が、機能的に破壊されるように設計される(すなわち、機能的タンパク質をもはやコードしない; 「ノックアウト」ベクターともいわれる)。

【0180】

あるいは、このベクターは、相同組換えに対して、内因性SECX遺伝子を変更されるか、あるいはさもなければ、変更されるが、なお機能的タンパク質をコードするように、設計され得る(例えば、上流の調節領域が変更され、それによって内因性SECXタンパク質の発現を変更し得る)。相同組換えベクターにお

いて、SECX遺伝子の変更された部分は、SECX遺伝子のさらなる核酸によって、その5'末端および3'末端で隣接され、相同組換えが、ベクターによって保有される外因性SECX遺伝子と胚幹細胞中の内因性SECX遺伝子との間で起こることを可能にする。さらなる隣接するSECX核酸は、内因性遺伝子との首尾よい相同組換えのために十分な長さである。典型的に、数キロベースの隣接するDNA(5'末端および3'末端の両方における)が、ベクターに含まれる。例えば、相同組換えベクターの記述についてThomasら(1987)Cell 51:503を参照のこと。このベクターは、(例えば、エレクトロポレーションによって)胚幹細胞株に導入され、そして導入されたSECX遺伝子が内因性SECX遺伝子と相同組換えした細胞が、選択される(例えば、Liら(1992)Cell 69:915を参照のこと)。

#### 【0181】

次いで、選択された細胞が、動物(例えば、マウス)の胚盤胞へ注入され、凝集キメラを形成する。例えば、Bradley(1987)のTERATOCA RCINOMAS AND EMBRYONIC STEM CELLS: A PRACTICAL APPROACH、Robertson編、IRL、Oxford、113頁~152頁を参照のこと。次いで、キメラ胚が、適切な偽妊娠雌性養育動物に移植され得、そしてその胚は分娩に到る。その生殖細胞中に相同組換えされたDNAを保有する子孫が、動物を繁殖させるために使用され得、この動物の全ての細胞は、導入遺伝子の生殖系列伝達による、相同組換えされたDNAを含む。相同組換えベクターおよび相同組換え動物を構築するための方法が、さらに以下に記載される; Bradley(1991)Curr Opin Biotechnol 2:823-829; PCT国際公開番号: WO90/11354; WO91/01140; WO92/0968; およびWO/93/04169。

#### 【0182】

別の実施形態において、導入遺伝子の調節された発現を可能にする選択された系を含む非ヒトトランスジェニック動物が産生され得る。このような系の1つの例は、バクテリオファージP1のcre/loxPリコンビナーゼ系である。c

re/loxPリコンビナーゼ系の記述については、例えば、Laksor(1992)PNAS 89:6232-6236を参照のこと。リコンビナーゼ系の別の例は、Saccharomyces cerevisiaeのFLPリコンビナーゼ系である(O'Gormanら(1991)Science 251:1351-1355)。cre/loxPリコンビナーゼ系が導入遺伝子の発現を調節するために使用される場合、Creリコンビナーゼおよび選択されたタンパク質の両方をコードする導入遺伝子を含む動物が必要となる。このような動物は、例えば、2種のトランスジェニック動物(一方は選択されたタンパク質をコードする導入遺伝子を含み、他方はリコンビナーゼをコードする導入遺伝子を含む)を交配することによる「二重の」トランスジェニック動物の構築によって提供され得る。

#### 【0183】

本明細書中に記載されるトランスジェニック非ヒト動物のクローンがまた、Wilmutら(1997)Nature 385:810-813に記載される方法に従って、産生され得る。簡単には、トランスジェニック動物からの細胞(例えば、体細胞)は単離および誘導され、増殖サイクルから脱し、そしてG<sub>0</sub>期に入り得る。次いで、静止性細胞が、例えば、電気パルスの使用を介して、その静止性細胞が単離される同種の動物から摘出された卵母細胞へ融合され得る。次いで、この再構築された卵母細胞は培養され、その結果、これは桑実胚または未分化胚芽細胞に発達し、次いで、偽妊娠雌性養育動物に移される。この雌性養育動物から生まれた子孫は、その細胞(例えば、その体細胞)が単離された動物のクローンである。

#### 【0184】

(薬学的組成物)

本発明のSECX核酸分子、SECXタンパク質、および抗SECX抗体(これはまた、本明細書中で、「活性な化合物」ともいわれる)、ならびにそれらの誘導體、フラグメント、アナログ、およびホモログが、投与に適した薬学的組成物に組み込まれ得る。このような組成物は、典型的に、核酸分子、タンパク質または抗体、および薬学的に受容可能なキャリアを含む。本明細書中で使用される

場合、「薬学的に受容可能なキャリア」は、薬学的な投与に適合した、任意および全ての溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤 (delaying agent) などを含むことが意図される。安定なキャリアは、Remington's Pharmaceutical Sciences (当該分野の標準的参考文献) (本明細書中に参考として援用される) の最新版に記載される。このようなキャリアまたは希釈剤の好ましい例としては、水、生理食塩水、finger 溶液、デキストロース溶液、および5%ヒト血清アルブミンが挙げられるが、これらに限定されない。リポソームおよび非水性ビヒクル (例えば、不揮発性油) もまた、使用され得る。薬学的に活性な物質のためのこのような媒体および薬剤の使用は、当該分野で周知である。任意の従来の媒体または薬剤が活性な化合物と不適合である範囲を除いて、組成物におけるその使用が考慮される。補助活性化合物もまた、組成物へ組み込まれ得る。

#### 【0185】

本発明の薬学的組成物は、その意図される投与の経路と適合するように処方される。投与の経路の例には、非経口 (例えば、静脈、皮内、皮下) 投与、経口 (例えば、吸入) 投与、経皮 (局所的) 投与、経粘膜 (transmucosal) 投与、および直腸投与が挙げられる。非経口適用、皮内適用または皮下適用のために使用される溶液または懸濁液は、以下の成分を含み得る：注射用水、生理食塩水溶液、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒のような、滅菌希釈剤；ベンジルアルコールまたはメチルパラベンのような、抗菌剤；アスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウムのような、抗酸化剤；エチレンジアミン四酢酸のような、キレート剤；酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩のような、緩衝液、および塩化ナトリウムまたはデキストロースのような、張度の調節のための薬剤。pHは、塩酸または水酸化ナトリウムのような酸または塩基で調整され得る。非経口調製物は、アンプル、使い捨てシリンジ、あるいはガラスまたはプラスチックから作製される多用量のバイアル中に入れられ得る。

#### 【0186】

注入使用に適した薬学的組成物は、滅菌水性溶液 (ここで、水溶解性) または

分散液、および滅菌の注入可能な溶液または分散液の即座の調製のための滅菌粉末を含む。静脈投与において、適切なキャリアには、生理食塩水、静菌水、Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) またはリン酸塩緩衝化生理食塩水 (PBS) が挙げられる。全ての場合において、組成物は、滅菌性でなければならず、そして容易な注入性 (syringability) が存在する程度に流動性であるべきである。これは、製造および保存の条件下で安定でなければならず、そして、細菌および真菌のような微生物の汚染行為に対して保護されるべきである。このキャリアは、例えば、以下を含む溶媒または分散媒であり得る：水、エタノール、ポリオール (例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど) ならびにそれらの適切な混合物。適切な流動性が、例えば、レシチンのようなコーティング剤の使用によって、分散液の場合に、要求される粒子サイズを維持することによって、および界面活性剤を使用することによって維持され得る。微生物の作用の防止は、種々の抗菌剤および抗真菌剤 (例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなど) によって達成され得る。多くの場合、組成物中に等張剤 (例えば、砂糖、ポリアルコール (例えば、マンニトール (mannitol)、ソルビトール) 塩化ナトリウム) を含むことが好ましい。注入可能組成物の長時間吸収は、組成物に吸収を遅らせる薬剤 (例えば、アルミニウムモノステアレートおよびゼラチン) を含ませることによってもたらされ得る。

#### 【0187】

滅菌注射可能溶液は、必要量のこの活性化化合物 (例えば、SECXタンパク質あるいは抗SECX抗体) を、適切な溶媒中に、上記で列挙される成分の1つまたは組み合わせと共に組み込み、必要な場合、続いて濾過滅菌することによって調製され得る。一般的に、分散液は、活性化化合物を、塩基性分散媒および上記で列挙される成分から必要とされる他の成分を含む滅菌ビヒクル中へ組み込むことによって調製される。滅菌注射可能液剤の調製のための滅菌散剤の場合において、調製方法は、減圧乾燥および凍結乾燥であり、これにより、活性成分および既に滅菌濾過されたその液剤からの任意のさらなる所望の成分の粉末を得る。

## 【0188】

経口組成物は、一般的に、不活性希釈剤または食用キャリアを含む。これらは、ゼラチンカプセルに封入され得るか、または錠剤へと圧縮され得る。経口治療投与の目的のために、この活性化合物は、賦形剤とともに組み込まれ得、そして錠剤、トローチ剤、またはカプセル剤の形態で使用され得る。経口組成物はまた、マウスウォッシュとしての使用のために流体キャリアを使用して調製され得、ここで、この流体キャリア中のこの化合物は、経口的に適用され、そしてさっと動かされ、そして吐き出されるか、または飲み込まれる。薬学的に適合性の結合剤、および/またはアジュバント材料が、この組成物の一部として含まれ得る。錠剤、丸剤、カプセル剤、トローチ剤などが、任意の以下の成分または同様の性質を有する化合物を含み得る：結合剤（例えば、微結晶セルロース、ガムトラガントまたはゼラチン）；賦形剤（例えば、デンプンまたはラクトース）、崩壊剤（例えば、アルギン酸）、Primogel、またはコーンスターチ）；滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウムまたはSterotes）；滑り剤（glidant）（例えば、コロイド状二酸化ケイ素）；甘味剤（例えば、スクロースまたはサッカリン）；あるいは香味剤（例えば、ペパーミント、サリチル酸メチル、またはオレンジフレーバー）。

## 【0189】

吸入による投与について、この化合物は、適切な噴霧剤（例えば、二酸化炭素のような気体）を含む圧縮容器またはディスペンサー、あるいは噴霧器から、エアロゾル噴霧の形態で送達される。

## 【0190】

全身的投与はまた、経粘膜手段または経皮手段により得る。経粘膜投与または経皮投与について、浸透される障壁に適切な浸透剤が、処方物において使用される。このような浸透剤は、一般的に、当該分野で公知であり、そして、例えば、経粘膜投与については、界面活性剤、胆汁酸塩、およびフシジン酸誘導体が挙げられる。経粘膜投与は、鼻噴霧または坐剤の使用を介して達成され得る。経皮投与については、この活性化合物は、当該分野で一般的に公知である軟膏剤、軟膏、ゲル、またはクリーム剤へ処方される。

## 【0191】

この化合物はまた、直腸送達のための坐剤（例えば、ココアバターおよび他のグリセリドのような従来の坐剤ベースと共に）または貯留（*retention*）浣腸の形態で調製され得る。

## 【0192】

1つの実施形態において、この活性化合物は、身体からの迅速な排出に対してこの化合物を保護するキャリアを用いて調製され（例えば、制御放出処方物）、これには、移植片およびマイクロカプセル化された送達系が挙げられる。酢酸エチレンビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸のような、生分解性、生体適合性ポリマーが使用され得る。このような処方物の調製のための方法は、当該業者には明らかである。これらの材料はまた、Alza Corporation and Nova Pharmaceuticals, Inc. から市販され、手に入れることができる。リポソーム懸濁液（ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体を感染させた細胞へ標的化されるリポソームを含む）がまた、薬学的に受容可能なキャリアとして使用され得る。これらは、例えば米国特許第4,522,811号に記載されるような、当業者に公知の方法に従って調製され得る。

## 【0193】

投与の容易さおよび投薬量の均一性のために、投薬単位形態で、経口組成物または非経口組成物を処方することが、特に有益である。本明細書で使用される投薬単位形態は、処置される被験体のための単位投薬量として適切な物理的に個々の単位をいい；各単位は、必要とされる薬学的キャリアと関連して所望の治療的效果を生じるように計算された、所定量の活性化合物を含む。本発明の投薬単位形態についての詳細は、この活性化合物、および達成される特定の治療効果、ならびに個体の処置のためのこのような活性化合物を調合する当該分野に固有の特徴によって決定されるか、あるいはこれらに直接依存する。

## 【0194】

本発明の核酸分子は、ベクターに挿入され得、そして遺伝子治療ベクターとして使用され得る。遺伝子治療ベクターは、被験体へ、例えば静脈注射、局所投与

(米国特許第5,328,470号を参照のこと)によって、または定位注射(例えば、Chenら(1994)PNAS 91:3054-3057を参照のこと)によって送達され得る。遺伝子治療ベクターの薬学的調製物には、受容可能な希釈剤中の遺伝子治療ベクターが挙げられ得、または遺伝子送達ビヒクルが組み込まれる除放性マトリックスが挙げられ得る。あるいは、完全な遺伝子送達ベクターが組換え細胞からインタクトで産生され得(例えば、レトロウイルスベクター)、薬学的調製物は、遺伝子送達系を産生する1以上の細胞を含み得る。

#### 【0195】

薬学的組成物は、投与のための使用説明書と共の容器、包装、またはディスペンサーに含まれ得る。

#### 【0196】

(発明の使用および方法)

本明細書中で記載される核酸分子、タンパク質、タンパク質相同体、および抗体は、細胞外ドメインおよび膜貫通ドメインを含み、それ故、以下の1つ以上の方法において使用され得る：(a)スクリーニングアッセイ；(b)検出アッセイ(例えば、染色体マッピング、組織タイピング、法医学生物学)；(c)予測医学(例えば、診断アッセイ、予後アッセイ、臨床試験モニタリング、および薬理ゲノミクス)；ならびに(d)処置の方法(例えば、治療および予防)。SECXタンパク質は、他の細胞性タンパク質と相互作用し、従って、以下のために使用され得る：(i)各タンパク質活性の調節；(ii)細胞増殖の制御；(iii)細胞分化の制御；および(iv)細胞生存の制御。

#### 【0197】

本発明の単離された核酸分子は、以下にさらに説明されるように、SECXタンパク質(例えば、遺伝子治療用途における宿主細胞中の組換え発現ベクター)を発現するため、SECX mRNA(例えば、生物学的サンプルにおいて)またはSECX遺伝子における遺伝子損傷を検出するため、ならびにSECX活性を調節するために使用され得る。さらに、SECXタンパク質は、SECX活性または発現を調節する薬物または化合物をスクリーニングするために、ならびにSECXタンパク質の不十分なもしくは過剰な産生によって、あるいはSECX

野生型タンパク質と比較して減少したもしくは異常な活性を有するSECXタンパク質形態の産生によって特徴付けられる障害（例えば、ガンまたはプレ克蘭プシア（preclampsia）のような増殖性障害あるいは上記1～14節に記載される任意の疾患または障害）を処置するために使用され得る。さらに、本発明の抗SECX抗体が、SECXタンパク質を検出して単離するため、およびSECX活性を調節するために使用され得る。

#### 【0198】

本発明は、さらに、上述のスクリーニングアッセイによって同定される新規の薬剤、および本明細書中で記載されるような処置のためのそれらの使用に関する。

#### 【0199】

（スクリーニングアッセイ）

本発明は、調節因子、すなわち、SECXタンパク質に結合するか、あるいは例えば、SECXの発現またはSECXの活性に対して刺激効果または阻害効果を有する、候補または試験化合物または薬剤（例えば、ペプチド、ペプチド模倣物、小分子または他の薬物）を同定するための方法（本明細書中において「スクリーニングアッセイ」とも称される）を提供する。

#### 【0200】

1実施形態において、本発明は、SECXタンパク質またはポリペプチド、あるいはその生物学的に活性な部分の膜結合形態に結合するか、または膜結合形態の活性を調節する、候補化合物もしくは試験化合物をスクリーニングするためのアッセイを提供する。本発明の試験化合物は、当該分野において公知のコンビナトリアルライブラリー法における多数のアプローチの任意のものを使用して得られ得、これには、以下が挙げられる：生物学的ライブラリー；空間的にアクセス可能な平行固相もしくは溶液相ライブラリー；逆重畳を要する合成ライブラリー法；「1ビーズ1化合物」ライブラリー法；およびアフィニティークロマトグラフィー選択を使用する合成ライブラリー法。生物学的ライブラリーアプローチはペプチドライブラリーに限定されるが、他の4つのアプローチは、ペプチド、非ペプチドオリゴマーもしくは化合物の小分子ライブラリーに適用可能である（L

am(1997)Anticancer Drug Des 12:145)。

【0201】

分子ライブラリーの合成のための方法の例は、当該分野において、例えば以下に見出され得る：DeWittら(1993)Proc Natl Acad Sci U.S.A.90:6909；Erbら(1994)Proc Natl Acad Sci U.S.A.91:11422；Zuckermannら(1994)J Med Chem 37:2678；Choら(1993)Science 261:1303；Carrellら(1994)Angew Chem Int Ed Engl 33:2059；Carellら(1994)Angew Chem Int Ed Engl 33:2061；およびGallopら(1994)J Med Chem 37:1233。

【0202】

化合物のライブラリーは、溶液中で(例えば、Houghten(1992)BioTechniques 13:412~421)、あるいはビーズ上(Lam(1991)Nature 354:82~84)、チップ上(Fodor(1993)Nature 364:555~556)、細菌(Ladner 米国特許第5,223,409号)、孢子(Ladner USP'409)、プラスミド(Cullら(1992)Proc Natl Acad Sci USA 89:1865~1869)またはファージ上(ScottおよびSmith(1990)Science 249:386~390；Devlin(1990)Science 249:404~406；Cwirllaら(1990)Proc Natl Acad Sci U.S.A.87:6378~6382；Felici(1991)J Mol Biol 222:301~310；Ladner上記)において示され得る。

【0203】

1実施形態において、アッセイは細胞ベースのアッセイであり、ここで、SECタンパク質、またはその生物学的に活性な部分の膜結合形態を細胞表面上に発現する細胞が、試験化合物と接触され、そしてこの試験化合物が、SECタンパク質に結合する能力が、決定される。例えば、細胞は、哺乳動物起源または

酵母細胞であり得る。この試験化合物がSECタンパク質に結合する能力の決定は、例えば、その試験化合物を放射性同位体標識または酵素標識とカップリングさせて、この試験化合物のSECタンパク質またはその生物学的に活性な部分に対する結合が複合体におけるその標識化合物を検出することによって検出され得ることによって、達成され得る。例えば、試験化合物は、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、または $^3\text{H}$ で直接的または間接的のいずれかで標識され得、そしてその放射性同位体が、放射線放射の直接の計数により、またはシンチレーション計数により、検出され得る。あるいは、試験化合物は、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、またはルシフェラーゼで酵素的に標識され得、そしてこの酵素的標識が、適切な基質の生成物への転換を決定することにより、検出され得る。1実施形態において、このアッセイは、SECタンパク質、またはその生物学的に活性な部分の膜結合形態をその細胞表面上に発現する細胞を、SECと結合する公知の化合物と接触させて、アッセイ混合物を形成する工程、このアッセイ混合物を試験化合物に接触させる工程、ならびにこの試験化合物がSECタンパク質と相互作用する能力を決定する工程を包含し、ここでこの試験化合物がSECタンパク質と相互作用する能力を決定する工程が、この試験化合物がSEC、またはその生物学的に活性な部分と、公知の化合物と比較して優先的に結合する能力を決定する工程を包含する。

#### 【0204】

別の実施形態において、アッセイは、細胞ベースのアッセイであり、SECタンパク質またはその生物学的に活性な部分の膜結合形態を細胞表面上で発現する細胞を、試験化合物と接触させる工程、ならびにこの試験化合物が、SECタンパク質またはその生物学的に活性な部分の活性を調節（例えば、刺激または阻害）する能力を決定する工程を包含する。この試験化合物がSEC、またはその生物学的に活性な部分の活性を調節する能力の決定は、例えば、SECタンパク質が、SEC標的分子に結合またはこれら標的分子と相互作用する能力を決定することによって、達成され得る。本明細書中において使用する場合には、「標的分子」とは、SECタンパク質が自然に結合または相互作用する分子であり、例えば、SEC相互作用タンパク質を発現する細胞の表面の分子、第

二の細胞の表面上の分子、細胞外の環境の分子、細胞膜の内部表面と会合する分子、または細胞質分子である。SECX標的分子は、本発明の非SECX分子またはSECXタンパク質またはポリペプチドであり得る。1実施形態において、SECX標的分子は、シグナル伝達経路の構成要素であり、これは、細胞膜を通過して細胞内への細胞外シグナル（例えば、化合物が膜結合SECX分子に結合することにより発生するシグナル）の伝達を促進する。その標的は、例えば、触媒活性を有する第二の細胞内タンパク質または下流シグナル分子のSECXとの会合を容易にするタンパク質であり得る。

#### 【0205】

SECXタンパク質がSECX標的分子に結合するかまたはその標的分子と相互作用する能力の決定は、直接の結合を決定するための上記方法の1つにより、達成され得る。1実施形態において、SECXタンパク質がSECX標的分子に結合するかまたはその標的分子と相互作用する能力の決定は、その標的分子の活性を決定することにより、達成され得る。例えば、この標的分子の活性は、その標的の細胞第二メッセンジャー（すなわち、細胞内 $Ca^{2+}$ 、ジアシルグリセロール、 $IP_3$ など）の誘導を検出すること、適切な基質の標的の触媒活性/酵素活性を検出すること、レポーター遺伝子（検出可能なマーカー（例えば、ルシフェラーゼ）をコードする核酸に作動的に連結されたSECX応答性調節エレメントを含む）の誘導を検出すること、または細胞応答（例えば、細胞生存度、細胞分化、または細胞増殖）を検出することにより、決定され得る。

#### 【0206】

なお別の実施形態において、本発明のアッセイは、無細胞アッセイであり、SECXタンパク質またはその生物学的に活性な部分を試験化合物に接触させる工程、ならびにその試験化合物がSECXタンパク質またはその生物学的に活性な部分と結合する能力を決定する工程を包含する。この試験化合物の、SECXタンパク質への結合は、上記のように、直接的または間接的にのいずれかで決定され得る。1実施形態において、このアッセイは、SECXタンパク質またはその生物学的に活性な部分を、SECXに結合する公知の化合物に接触させて、アッセイ混合物を形成する工程、このアッセイ混合物を試験化合物に接触させる工程

、ならびにその試験化合物がSECタンパク質と相互作用する能力を決定する工程を包含し、ここで、この試験化合物がSECタンパク質と相互作用する能力を決定する工程は、この試験化合物が、公知の化合物と比較して、SEC、またはその生物学的に活性な部分と優先的に相互作用する能力を決定する工程を包含する。

#### 【0207】

別の実施形態において、アッセイは、無細胞アッセイであり、SECタンパク質またはその生物学的に活性な部分を試験化合物と接触させる工程、ならびにその試験化合物がSECタンパク質またはその生物学的に活性な部分の活性を調節（例えば、刺激または阻害）する能力を決定する工程を包含する。この試験化合物がSECの活性を調節する能力の決定は、例えば、SECタンパク質が、SEC標的分子に結合する能力を、直接的結合の決定のための上記方法の1つによって決定することにより、達成され得る。代替の実施形態において、この試験化合物がSECの活性を調節する能力の決定は、SECタンパク質が、SEC標的分子をさらに調節する能力を決定することにより、達成され得る。例えば、この標的分子の適切な基質に対する触媒活性/酵素活性は、上に記載のように決定され得る。

#### 【0208】

なお別の実施形態において、無細胞アッセイは、SECタンパク質またはその生物学的に活性な部分を、SECに結合する公知の化合物に接触させてアッセイ混合物を形成する工程、このアッセイ混合物を試験化合物と接触させる工程、ならびにこの試験化合物がSECタンパク質と相互作用する能力を決定する工程を包含し、ここで、この試験化合物がSECタンパク質と相互作用する能力の決定は、SECタンパク質が、SEC標的分子と優先的に結合するか、またはその標的分子の活性を優先的に調節する能力を決定する工程を包含する。

#### 【0209】

本発明の無細胞アッセイは、SECの、可溶性の形態または膜結合形態の両方の使用に受け入れられる。膜結合形態のSECを含む無細胞アッセイの場合には、SECの膜結合形態が溶液中に維持されるように、可溶化剤を利用する

ことが望ましくあり得る。このような可溶化剤の例には、非イオン性界面活性剤が挙げられ、例えば、*n*-オクチルグルコシド、*n*-ドデシルグルコシド、*n*-ドデシルマルトシド、オクタノイル-N-メチルグルカミド、デカノイル-N-メチルグルカミド、Triton(登録商標)X-100、Triton(登録商標)X-114、Thesit(登録商標)、イソトリデシルポリ(エチレングリコールエーテル)<sub>n</sub>(Isotridecypoly(ethylene glycol ether)<sub>n</sub>、N-ドデシル-N,N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルホネート、3-(3-コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ-1-プロパンスルホネート(3-(3-cholamidopropyl)dimethylamminiol-1-propane sulfonate)(CHAPS)、または3-(3-コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ-2-ヒドロキシ-1-プロパンスルホネート(3-(3-cholamidopropyl)dimethylamminiol-2-hydroxy-1-propane sulfonate)(CHAPSO)である。

#### 【0210】

本発明の上記アッセイ方法の1つより多い実施形態において、SECX、またはその標的分子のいずれかを固定して、そのタンパク質の一方または両方の非複合形態からの複合形態の分離を促進し、そしてそのアッセイの自動化に適用させることが、望ましくあり得る。試験化合物の、SECXへの結合、または候補化合物の存在下および非存在下での、SECXの標的分子との相互作用は、これらの反応物を収容するために適切な任意の容器内で、達成され得る。このような容器の例には、マイクロタイタープレート、試験管、および微小遠心管が挙げられる。1実施形態において、そのタンパク質の一方または両方がマトリックスに結合することを可能にするドメインの付加する融合タンパク質が、提供され得る。例えば、GST-SECX融合タンパク質またはGST標的融合タンパク質は、グルタチオンセファロースビーズ(Sigma Chemical, St. Louis, MO)またはグルタチオン誘導体化マイクロタイタープレート上に吸着され得、次いでこれらは、試験化合物と合わせられるか、あるいは試験化合物および吸着されない標的タンパク質、またはSECXタンパク質のいずれかと合わ

せられ、そしてこの混合物が、複合体形成に貢献する条件下（例えば、塩およびpHに関して生理学的条件）でインキュベートされる。インキュベーションに続いて、ビーズまたはマイクロタイタープレートウェルを洗浄して、結合していないあらゆる成分を除去し、ビーズの場合にはマトリックスを固定し、例えば上記のように、複合体を直接的または間接的のいずれかで決定する。あるいは、複合体がマトリックスから解離され得、そしてSECXの結合レベルまたは活性レベルを、標準的な技術を使用して決定し得る。

#### 【0211】

タンパク質をマトリックスに固定するための他の技術がまた、本発明のスクリーニングアッセイにおいて使用され得る。例えば、SECX、またはその標的分子のいずれかが、ビオチンとストレプトアビジンとの結合を利用して、固定され得る。ビオチニル化SECX、または標的分子は、当該分野において周知の技術を使用して、ビオチンNHS（N-ヒドロキシスクシンイミド）から調製され得（例えば、ビオチニル化キット、Pierce Chemicals、Rockford、Ill.）、そしてストレプトアビジン被覆した96ウェルのプレート（Pierce Chemical）のウェルに固定され得る。あるいは、SECX、または標的分子と反応性であるがSECXタンパク質のその標的分子への結合を妨害しない抗体が、SECXタンパク質の標的分子への結合を妨害せず、そのプレートのウェルに誘導体化され得、そして結合していない標的またはSECXが、抗体の結合によってウェル内にトラップされ得る。このような複合体を検出するための方法には、GST固定複合体に関しての上記のものに加えて、SECX、または標的分子と反応性の抗体を使用する、複合体の免疫検出、ならびにSECX、または標的分子に関する酵素活性の検出に依存する酵素結合アッセイが挙げられる。

#### 【0212】

別の実施形態において、SECX発現のモジュレーターは、細胞を候補化合物と接触させ、そして細胞中のSECX mRNAまたはタンパク質の発現を決定する方法において同定される。候補化合物の存在下でのSECX mRNAまたはタンパク質の発現レベルは、候補化合物の非存在下でのSECX mRNAま

たはタンパク質の発現レベルと比較される。次いで、候補化合物は、この比較に基づいて、SECX発現のモジュレーターとして同定され得る。例えば、SECX mRNAまたはタンパク質の発現が候補化合物の非存在下より、その存在下における方が大きい(統計的に有意に大きい)場合、この候補化合物は、SECX mRNAまたはタンパク質の発現の刺激物質として同定される。あるいは、SECX mRNAまたはタンパク質の発現が候補化合物の非存在下よりその存在下の方が少ない(統計的に有意に少ない)場合、この候補化合物は、SECX mRNAまたはタンパク質の発現のインヒビターとして同定される。細胞中のSECX mRNAまたはタンパク質の発現レベルは、SECX mRNAまたはタンパク質を検出するために本明細書中に記載の方法によって決定され得る。

#### 【0213】

本発明のなお別の局面において、SECXタンパク質は、ツーハイブリッドアッセイまたはスリーハイブリッドアッセイにおいて「ベイトタンパク質」として使用されて(例えば、米国特許第5,283,317号; Zervosら(1993) Cell 72:223-232; Maduraら(1993) J Biol Chem 268:12046-12054; Bartelら(1993) BioTechniques 14:920-924; Iwabuschら(1993) Oncogene 8:1693-1696; および Brent WO94/10300を参照のこと)、SECX(「SECX結合タンパク質」または「SECX-bp」)に結合するか、またはこれと相互作用し、そしてSECX活性を調節する他のタンパク質を同定し得る。このようなSECX結合タンパク質はまた、例えば、SECX経路の上流または下流エレメントとしてSECXタンパク質によるシグナル伝達に関与するようである。

#### 【0214】

ツーハイブリッドシステムは、分離可能なDNA結合ドメインおよび活性化ドメインからなる、大部分の転写因子のモジュラー的性質に基づく。簡潔には、このアッセイは、2つの異なるDNA構築物を利用する。一方の構築物においては、SECXをコードする遺伝子が公知の転写因子(例えば、GAL-4)のDNA結合ドメインをコードする遺伝子に融合される。他方の構築物においては、D

NA配列のライブラリー由来の、未同定タンパク質（「プレイ」または「サンプル」）をコードするDNA配列が、公知の転写因子の活性化ドメインをコードする遺伝子に融合される。「ベイト」および「プレイ」タンパク質がインビボで相互作用して、SECX依存性複合体を形成し得る場合、この転写因子のDNA結合ドメインおよび活性化ドメインは、非常に近くにある。近位にあることにより、転写因子に応答性の転写調節部位に作動可能に連結されたレポーター遺伝子（例えば、LacZ）の転写を可能にする。レポーター遺伝子の発現が検出され得、そして機能的転写因子を含む細胞コロニーは、単離され得、そしてSECXと相互作用するタンパク質をコードするクローニングされた遺伝子を得るために使用され得る。

#### 【0215】

本発明は、上記のスクリーニングアッセイにより同定される新規な薬剤および上記の処置のためのこの薬剤の使用に関する。

#### 【0216】

（検出アッセイ）

本明細書中で同定されるcDNA配列のタンパク質またはフラグメント（および対応する完全な遺伝子配列）は、ポリヌクレオチド試薬として多くの方法で使用され得る。例えば、これらの配列を使用して、（i）染色体上にそれぞれの遺伝子をマッピングし得；従って遺伝病と関連する遺伝子領域を位置決定し得る；（ii）微量の生物学的サンプルから個体を同定し得る（組織型決定）；および（iii）生物学的サンプルの法医学的識別を助け得る。これらの適用は、以下の節において記載される。

#### 【0217】

（染色体マッピング）

一旦遺伝子の配列（または配列の一部）が単離されると、この配列を用いて染色体上に遺伝子の位置をマッピングし得る。このプロセスは、染色体マッピングとよばれる。従って、本明細書中に記載のSECX配列の一部またはフラグメントを用いて、それぞれ、SECX遺伝子の位置を染色体上にマッピングし得る。SECX配列を染色体にマッピングすることは、これらの配列と、疾患と関連

する遺伝子とを相関付ける際の重要な第一歩である。

#### 【0218】

簡潔には、SECX遺伝子は、SECX配列からPCRプライマー（好ましくは、15～25bpの長さ）を調製することにより染色体にマッピングし得る。SECX配列のコンピューター分析を用いて、ゲノムDNAにおける1つを超えるエクソンにまたがらないプライマーを迅速に選択し得、従って、増幅プロセスを複雑にし得る。次いで、これらのプライマーは、個々のヒト染色体を含む体細胞ハイブリッドのPCRスクリーニングのために使用され得る。SECX配列に対応するヒト遺伝子を含むハイブリッドのみが増幅されたフラグメントを生じる。

#### 【0219】

体細胞ハイブリッドは、異なる哺乳動物由来の体細胞（例えば、ヒトおよびマウス細胞）を融合することにより調製される。ヒトおよびマウスのハイブリッドが増殖および分裂するにつれ、それらは、無作為な順序で徐々にヒト染色体を失うが、マウス染色体を維持する。マウス細胞は増殖できないが、ヒト細胞は増殖できる培地を使用することにより、それらは特定の酵素を失うので、必要な酵素をコードする遺伝子を含む1つのヒト染色体が維持される。種々の培地を使用することによって、ハイブリッド細胞株のパネルが確立され得る。パネルにおける各細胞株は、単一のヒト染色体または少数のヒト染色体いずれかおよびマウス染色体の完全なセットを含み、これにより、個々の遺伝子を特定のヒト染色体にマッピングすることが容易に可能になる（D'Eustachioら（1983）*Science* 220:919-924）。ヒト染色体のフラグメントのみを含む体細胞ハイブリッドはまた、転座および欠失を伴うヒト染色体を使用することにより生成され得る。

#### 【0220】

体細胞ハイブリッドのPCRマッピングは、特定の染色体に特定の配列を割り当てるためには迅速な手順である。1つのサーマルサイクラーを用いて一日に3つ以上の配列が割り当てられ得る。SECX配列を使用して、オリゴヌクレオチドプライマーを設計すると、下位位置決定（sublocalization）

は、特定の染色体由来のフラグメントのパネルを用いて達成され得る。

#### 【0221】

中期染色体スプレッドに対するDNA配列の蛍光インサイチュハイブリダイゼーション(FISH)をさらに使用して、一工程で正確な染色体位置を提供し得る。染色体スプレッドは、コルセミド(染色体紡錘体を破壊する)のような化学物質により分裂が中期においてブロックされた細胞を使用して行われ得る。この染色体は、トリプシンで短時間処理され得、次いで、ギムザ染色され得る。薄いバンドおよび濃いバンドのパターンが各染色体で発生し、その結果、この染色体は、個々に同定され得る。FISH技術は、500または600塩基ほどの長さのDNA配列と共に使用され得る。しかし、1,000塩基より大きなクローンは、簡単な検出に十分なシグナル強度で、独特の染色体位置に結合する可能性がより高い。好ましくは、1,000塩基、そしてより好ましくは、2,000塩基が妥当な時間量で良好な結果を得るために十分である。この技術の総説については、Vermaら、HUMAN CHROMOSOMES: A MANUAL OF BASIC TECHNIQUES (Pergamon Press, New York 1988)を参照のこと。

#### 【0222】

染色体マッピングの試薬は、単一の染色体またはその染色体上の単一部位を印付けするために個々に使用され得るか、または試薬のパネルは複数部位および/または複数染色体を印付けするために使用され得る。遺伝子の非コード領域に対応する試薬は、実際に、マッピング目的のために好ましい。コード鎖は、遺伝子ファミリー内に保存されており、従って、染色体マッピングの間に交叉ハイブリダイゼーションの機会が増大する可能性が高い。

#### 【0223】

一旦配列が正確な染色体位置にマッピングされると、その配列の染色体上の物理的位置は、遺伝子マップデータと相関し得る。このようなデータは、例えば、McKusick, MENDELIAN INHERITANCE IN MAN (Johns Hopkins University Welch Medical Libraryを通じてオンラインで入手可能)において見いだされ

る。次いで、同じ染色体領域にマッピングされる遺伝子と疾患との間の関係は、例えば、Egelandら(1987)Nature, 325:783-787に記載される連鎖分析(物理的に隣接する遺伝子の同時遺伝)によって同定され得る。

#### 【0224】

さらに、SECX遺伝子と関連する疾患に罹患した個体と、この疾患に罹患していない個体との間のDNA配列における差異が決定され得る。罹患した個体のいくらかまたは全てにおいて変異が認められるが、非罹患個体のいずれにおいても認められない場合、この変異は特定の疾患の候補薬剤である可能性が高い。罹患個体と非罹患個体の比較は、一般に、染色体における構造的変化(例えば、染色体スプレッドから可視であるか、またはそのDNA配列に基づいたPCRを用いて検出可能な欠失または転座)を最初に探すことを包含する。最終的に、いくらかの個体に由来する遺伝子の完全な配列決定を行って、変異の存在を確認し、かつ多型に由来する変異を区別する。

#### 【0225】

(組織型決定(tissue typing))

本発明のSECX配列はまた、わずかな生物学的サンプルから個体を識別するために使用され得る。この技術において、個体のゲノムDNAは、1つ以上の制限酵素で消化され、そして同定のために独特のバンドを生成するためにサザンブロット上でプローブされる。本発明の配列は、RFLP(米国特許第5,272,057号に記載の「制限フラグメント長多型」)のためのさらなるDNAマーカーとして有用である。

#### 【0226】

さらに、本発明の配列を用いて、個体のゲノムの選択された部分について実際の塩基ごとにDNA配列を決定する代替的技術を提供し得る。従って、本明細書中に記載のSECX配列を用いて、配列の5'末端および3'末端から2つのPCRプライマーを調製し得る。次いで、これらのプライマーを使用して、個体のDNAを増幅し得、そしてこれを逐次的に配列決定し得る。

#### 【0227】

このように調製された個体由来の対応するDNA配列のパネルは、各個体が、対立遺伝子差異に起因するこのようなDNA配列の独特のセットを有するので、唯一の個体識別を提供し得る。本発明の配列は、個体由来および組織由来の配列のこのような識別を得るために使用され得る。本発明のSECX配列は、ヒトゲノムの部分を独特に表す。対立遺伝子のバリエーションは、これらの配列のコード領域においてある程度生じ得、そして非コード領域においてより大きな程度に生じる。個々のヒト間での対立遺伝子のバリエーションは、各500塩基につき約1回の頻度で生じる。対立遺伝子のバリエーションの多さは、制限フラグメント長多型(RFLP)を含む単一ヌクレオチド多型(SNP)に起因する。

#### 【0228】

本明細書中で記載の配列の各々は、標準物質(これに対して個体からのDNAが識別の目的で比較され得る)として使用され得る。より多くの多型が非コード領域で生じるので、個体を区別するために、それほど多くの配列が必要であるわけではない。配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、および31のいずれか1つ以上の非コード配列は、おそらく10~1,000プライマーのパネルを用いてポジティブな個体識別を不自由なく提供し得る。これらのプライマーは、各々が100塩基の増幅された非コード配列を生じる。推定コード配列が使用される場合、ポジティブな個体識別に関するプライマーのより多くの適切な数は、500~2,000である。

#### 【0229】

SECX配列のさらなる用途は、生物学的サンプルにおける細胞型または組織型を同定することである。上記で議論したように、種々のSECX遺伝子は1つ以上の細胞型において発現される。従って、1つ以上のSECX遺伝子に由来するRNA分子の存在に基づいて細胞型が同定され得る。種々のSECX遺伝子の組織分布は、図20~23および実施例8~11において示され、そして以下で議論される。

#### 【0230】

(法医学的生物学におけるSECX配列の使用)

DNAに基づく識別技術はまた、法医学的生物学において使用され得る。法医

学的生物学は、例えば、犯罪者をポジティブに識別するための手段として、犯罪現場で見いだされた生物学的証拠の遺伝子型決定を利用する科学分野である。このような識別を行うために、PCR技術を用いて非常に少量の生物学的サンプル（例えば、犯罪現場で見いだされた毛髪もしくは皮膚のような組織、または血液、唾液もしくは精液のような体液）から得られたDNA配列を増幅し得る。次いで、増幅された配列は標準物質と比較され、それによって、生物学的サンプルの起源の識別を可能にし得る。

#### 【0231】

本発明の配列を使用して、ヒトゲノムにおける特定の遺伝子座に標的化され得るポリヌクレオチド試薬（例えば、PCRプライマー）を提供し得る。このPCRプライマーは、例えば、別の「識別マーカ―」（すなわち、特定の個体に独特な別のDNA配列）を提供することにより、DNAベースの法医学的識別の信頼性を増大し得る。上記のように、実際の塩基配列情報は、制限酵素で生成したフラグメントにより形成されるパターンに対する正確な代替手段として識別のために使用され得る。SECX遺伝子の非コード領域に標的化される配列は、より多くの多型が非コード領域に生じ、このことにより、この技術を使用して個体を区別することがより容易になるので、この用途のために特に適切である。ポリヌクレオチド試薬の例としては、SECX配列またはその部分（例えば、本明細書中に記載のSECX配列の非コード領域に由来するフラグメント）が挙げられ得、この部分は、少なくとも20塩基、好ましくは少なくとも30塩基の長さを有する。

#### 【0232】

本明細書中に記載のSECX配列は、ポリヌクレオチド試薬（例えば、インサイチュハイブリダイゼーション技術において使用され得る標識プローブまたは標識可能プローブ）を提供して、特定の組織（例えば、脳組織など）を同定するためにさらに使用され得る。これは、法医学的病理学者に未知の起源の組織が提示された場合に非常に有用である。このようなSECXプローブのパネルを使用して、種により、および/または起源の型により組織を同定し得る。

#### 【0233】

このように、これらの試薬（例えば、SECXプライマーまたはプローブ）を用いて、組織培養物を夾雑物質についてスクリーニングし得る（すなわち、培養物中の異なる型の細胞の混在についてのスクリーニング）。

#### 【0234】

（治療剤の生物学的効果の決定）

本発明の種々の実施形態において、適切なインビトロまたはインビボアッセイを利用して、特定の治療剤の効果およびその投与が罹患組織の処置を示すか否かを決定する。

#### 【0235】

種々の特定の実施形態において、インビトロアッセイが患者の障害に關与する代表的な細胞型で行われ、所定の治療剤がこの細胞型に対して所望の効果を発揮したか否かを決定し得る。治療において使用する化合物は、ヒト被験体において試験する前に適切な動物モデル系において試験され得る。これらの動物モデル系としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：ラット、マウス、ニワトリ、ウシ、サル、ウサギなど。同様に、インビボ試験については、当該分野で公知の任意の動物モデル系が、ヒト被験体に対する投与の前に使用され得る。

#### 【0236】

（悪性疾患）

SECXタンパク質は、細胞膜に位置し、そして細胞の増殖および分化の調節に關与すると考えられている。従って、本発明の治療剤は、細胞の過剰増殖および/または細胞増殖の制御の欠損（例えば、癌、悪性疾患および腫瘍）に關連する疾患または障害の治療的処置または予防的処置において有用であり得る。そのような過剰増殖障害の総説について、例えば、Fishmanら、1985、MEDICINE、第2版、J. B. Lippincott Co., Philadelphia、PAを参照のこと。

#### 【0237】

本発明の治療剤を、悪性疾患および關連する障害の処置または予防における効力について、当該分野内において公知の任意の方法によってアッセイし得る。そのようなアッセイとしては、形質転換された細胞または患者の腫瘍由来の細胞を

利用するインビトロアッセイ、ならびに癌または悪性疾患の動物モデルを使用するインビボアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。可能性のある有効な治療剤は、例えば、コントロールと比較して、培養物中での腫瘍由来細胞または形質転換細胞の増殖を阻害するか、または動物モデルにおいて腫瘍の後退を生じる治療剤である。

#### 【0238】

本発明の実施において、一旦、悪性疾患または癌が、活性を調節すること（すなわち、阻害するか、アンタゴナイズするか、またはアゴナイズする）による処置に対して感受性であることが示されると、引き続いて、その癌または悪性疾患が、タンパク質機能を調節するように作用する治療剤の投与によって処置または予防され得る。

#### 【0239】

（前悪性状態）

癌または悪性疾患の治療または予防処置において有効な本発明の治療剤はまた、前悪性状態の処置および/または前悪性から新生物状態もしくは悪性疾患状態への進行を防ぐための処置のために投与され得る。そのような予防的用途または治療的用途が、先行する新生物または癌への進行が知られているか、またはそれが疑われる状態（特に、過形成、化生、または最も特に、異形成からなる非新生物細胞増殖が生じた場合）において、示される。そのような異常な細胞増殖の総説について、例えば、RobbinsおよびAngell、1976、BASIC PATHOLOGY、第2版、W.B.Saunders Co.、Philadelphia、PAを参照のこと。

#### 【0240】

過形成は、細胞の構造または機能における有意な変化なしに、組織または器官における細胞数の増加を含む、制御された細胞の増殖の形態である。例えば、子宮内膜の過形成は、しばしば子宮内膜癌に進行することが実証されている。化生は、成熟した細胞または十分に分化した細胞の1つの型が、成熟した細胞の別の型に置換する、制御された細胞増殖の形態である。化生は、上皮組織細胞または結合組織細胞において生じ得る。異形成は、一般に癌の前駆体であると考えられ

、そして上皮において主に見出される。異形成は、非新生物細胞増殖の最も無秩序な形態であり、個々の細胞の均一性および細胞の構築上の配向の損失を含む。異形成は、慢性の刺激または炎症が存在する場所で特徴的に生じ、そしてしばしば、頸部、気道、口腔、および胆嚢において見出される。

#### 【0241】

あるいは、または過形成、化生、または異形成として特徴付けられる異常な細胞増殖の存在に加えて、患者由来の細胞サンプル内で、インビボまたはインビトロのいずれかにおいて示される形質転換表現型または悪性疾患表現型の1つ以上の特徴の存在が、上記のタンパク質の活性を調節する能力を有する治療剤の予防的/治療的投与の望ましさの指標である。形質転換された表現型の特徴としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：(i)形態学的変化；(ii)よりゆるい、下層への付着；(iii)細胞間接触阻止の喪失；(iv)足場依存性の喪失；(v)プロテアーゼ放出；(vi)増加した糖輸送；(vii)減少した血清要求性；(viii)胎児抗原の発現；(ix)250kDa細胞表面タンパク質の消滅など。例えば、Richardsら1986、MOLECULAR PATHOLOGY、W.B.Saunders Co、Philadelphia、PAを参照のこと。

#### 【0242】

本発明の特定の実施形態において、悪性疾患についての以下の1つ以上の素因を示す患者が、治療剤の有効量の投与によって処置される：(i)悪性疾患に関連する染色体転座（例えば、慢性骨髄性白血病についてのフィラデルフィア染色体(bcr/abl)および濾胞性リンパ腫についてのt(14;18)など）；(ii)家族性ポリープ症またはガードナー症候群（結腸癌の可能性のある前兆）；(iii)未確認の重大性の単クローン性高ガンマグロブリン血症（多発性骨髄腫の可能性のある前駆体）；ならびに(iv)メンデル（遺伝子）遺伝パターンを示す癌または前癌疾患（例えば、結腸の家族性ポリープ症、ガードナー症候群、遺伝性外骨腫症、多発性内分泌腺腫症(polyendocrine adenomatosis)、ポイツ-ジェガーズ症候群、フォン・レックリングハウゼン病の神経線維腫症、アミロイド産生および褐色細胞腫をともなう甲

状腺髄様癌腫 (medullary thyroid carcinoma)、網膜芽細胞腫、頸動脈小体腫瘍、皮膚の黒色癌、眼内の黒色癌、色素性乾皮症、毛細血管拡張性運動失調、チェディアック - 東症候群、白子症、ファンコーニ再生不良性貧血およびブルーム症候群) を有する人の一親等。

【0243】

別の実施形態において、本発明の治療剤が、ヒト患者に投与されて、乳癌、結腸癌、肺癌、膵臓癌、または子宮癌、あるいは黒色腫または肉腫の進行を妨げる。

【0244】

(過剰増殖性障害および異常増殖性 (dysproliferative) 障害)

本発明の1つの実施形態において、治療剤が、過剰増殖性障害または良性の異常増殖性障害の治療的処置または予防的処置において投与される。過剰増殖性疾患または障害の処置または予防における本発明の治療剤の効力が、当該分野において公知の任意の方法によってアッセイされ得る。そのようなアッセイとしては、インビトロの細胞増殖アッセイ、過剰増殖性疾患または障害の動物モデルを使用するインビトロまたはインビボアッセイなどが挙げられる。可能性のある効果的な治療剤は、例えば、コントロールとの比較において、培養物中の細胞増殖を促進し得るか、あるいは動物モデルにおける増殖または細胞増殖を生じ得る。

【0245】

本発明の特定の実施形態は、肝硬変 (癒痕が、通常の肝臓再生プロセスを上回る状態) ; 癒痕プロセスが通常の再生を妨げる、皮膚の傷を生じるケロイド (過形成性癒痕) 形成の処置 ; 乾癬 (皮膚の過剰な増殖および適切な細胞運命の決定の遅延によって特徴付けられる一般的な皮膚の状態) ; 良性腫瘍 ; 線維性嚢状態および組織肥厚 (例えば、良性膵臓肥厚) の処置または予防に関する。

【0246】

(神経変性障害)

SECXタンパク質は、細胞成熟の脱調節およびアポトーシス (この両方が神経変性疾患の特徴である) に関係し得る。従って、本発明の治療剤 (限定される

ことはないが、特に上記のタンパク質の活性を調節（または供給）する治療剤）が、神経変性疾患の処置または予防において効果的であり得る。神経変性障害に關与する上記のタンパク質の活性を調節する本発明の治療剤を、そのような神経変性疾患または障害を処置または予防することにおける効力について、当該分野において公知の任意の方法によってアッセイし得る。そのようなアッセイとしては、調節された細胞成熟もしくはアポトーシスの阻害についてのインビトロアッセイ、または神経変性疾患または障害の動物モデルを使用するインビボアッセイ、あるいは以下に記載するいずれかのアッセイが挙げられる。可能性のある効果的な治療剤は、例えば限定されないが、コントロールと比較して、調節された細胞成熟を促進し、培養物中の細胞アポトーシスを防ぎ、あるいは動物モデルにおける神経変性を減少する。

#### 【0247】

一旦、神経変性疾患または障害が、調節活性による処置に対して感受性であることが示されると、その神経変性疾患または障害が、活性を調節する治療剤の投与によって処置または予防され得る。そのような疾患としては、加齢に關与する全ての変性性障害（特に、変形性関節症および神経変性障害）が挙げられる。

#### 【0248】

（器官移植に關連する障害）

SECXは、器官移植に關連する障害（特に、限定されないが、器官拒絶反応）に關係し得る。本発明の治療剤（特に、活性を調節（または供給）する治療剤）は、器官移植に關連する疾患または障害の処置または予防において効果的であり得る。本発明の治療剤（特に、上記タンパク質のレベルまたは活性を調節する治療剤）は、このような器官移植に關連する疾患および障害の処置または予防における効力について、当該分野で公知の任意の方法によってアッセイされ得る。このようなアッセイとしては、下記のような細胞培養モデルを使用するインビトロアッセイ、または器官移植に關連する疾患および障害の動物モデルを使用するインビボアッセイが挙げられる（例えば、以下を参照のこと）。潜在的に効果的な治療剤は、例えば、限定されないが、コントロールに対して比較して、動物モデルにおける免疫拒絶応答を減少する。

## 【0249】

従って、一旦、器官移植に関連する疾患および障害が、活性の調節による処置に対して感受性であることが示されると、このような疾患または障害は、活性を調節する治療剤の投与によって処置または予防され得る。

## 【0250】

(心臓血管疾患)

SECXは、アテローム性動脈硬化症のプラーク形成を含む、心臓血管障害に関係し得る。心臓血管疾患(脳血栓症または脳出血を含む)、虚血性心疾患または虚血性腎疾患、末梢血管疾患、または他の主要な血管の血栓症、および他の疾患(真性糖尿病、高血圧、甲状腺機能不全、コレステロールエステル貯蔵病、全身性エリテマトーデス、ホモシステイン症(homocysteinemia)、および家族性のタンパク質または脂質プロセッシング疾患などを含む)のような疾患は、アテローム性動脈硬化症に直接的または間接的のいずれかで関連する。従って、本発明の治療剤(特に、活性または形成を調節(または供給)する治療剤)は、アテローム性動脈硬化症に関連する疾患または障害の処置または予防に有効であり得る。本発明の治療剤(特に、レベルまたは活性を調節する治療剤)は、このような疾患および障害の処置または予防における効力について、当該分野で公知の任意の方法(以下に記載の方法を含む)によってアッセイされ得る。

## 【0251】

広範な動物モデルおよび細胞培養モデルが、アテローム性動脈硬化症に関与するプロセスについて存在する。動物モデルの限定的かつ非排他的な列挙としては、以下が挙げられる: 早発性アテローム性動脈硬化症についてのノックアウトマウス(KurabayashiおよびYazaki, 1996, Int. Angiol. 15: 187-194)、アテローム動脈硬化症のトランスジェニックマウスモデル(Kappelら, 1994, FASEB J. 8: 583-592)、動物モデルのアンチセンスオリゴヌクレオチド処置(Callow, 1995, Curr. Opin. Cardiol. 10: 569-576)、アテローム性動脈硬化症についてのトランスジェニックウサギモデル(Taylor, 1997, Ann. N. Y. Acad. Sci. 811: 146-152)、高

コレステロール血症動物モデル (Rosenfeld, 1996, Diabetes Res. Clin. Pract. 30 (補遺): 1-11)、高脂血症マウス (Paigenら、1994、Curr. Opin. Lipidol. 5: 258-264)、および動物におけるリポキシゲナーゼの阻害 (Sigalら、1994、Ann. N.Y. Acad. Sci. 714: 211-224)。さらに、インビトロ細胞モデルとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: 低密度リポタンパク質に曝露された単球 (Frostegardら、1996、Atherosclerosis 121: 93-103)、クローン化された血管平滑筋細胞 (Suttlesら、1995、Exp. Cell Res. 218: 331-338)、内皮細胞由来の化学誘引物質に曝されたT細胞 (Katzら、1994、J. Leukoc. Biol. 55: 567-573)、培養されたヒト大動脈内皮細胞 (Farberら、1992、Am. J. Physiol. 262: H1088-1085)、および泡沫細胞培養物 (Libbyら、1996、Curr Opin Lipidol 7: 330-335)。潜在的に効果的な治療剤は、例えば、限定されないが、コントロールと比較して、細胞培養モデルにおける泡沫細胞形成、またはアテローム性動脈硬化症の高コレステロール血症マウスモデルにおけるアテローム性動脈硬化症のプラーク形成を減少する。

#### 【0252】

従って、一旦、アテローム性動脈硬化症に関連する疾患または障害が、活性または形成の調節による処置に対して感受性であることが示されると、この疾患または障害は、活性を調節する治療剤の投与によって処置または予防され得る。

#### 【0253】

(サイトカインおよび細胞増殖/分化活性)

本発明のSECタンパク質は、サイトカイン活性、細胞増殖活性(誘導するか、または阻害するかのいずれか)、または細胞分化活性(誘導するか、または阻害するかのいずれか)を示し得るか、あるいは特定の細胞集団における他のサイトカインの産生を誘導し得る。全ての既知のサイトカインを含む、現在までに発見された多くのタンパク質因子は、因子依存性の1以上の細胞増殖アッセイに

において活性を示し、従って、これらのアッセイは、サイトカイン活性の簡便な確認法として役立つ。本発明のタンパク質の活性は、以下を含むが、これらに限定されない細胞株についての多くの慣用的な因子依存性細胞増殖アッセイのいずれか1つによって確認される：32D、DA2、DA1G、T10、B9、B9/11、BaF3、MC9/G、M+(preB M+)、2E8、RB5、DA1、123、T1165、HT2、CTLL2、TF-1、Mo7eおよびCMK。

#### 【0254】

本発明のタンパク質の活性は、数ある方法でもとりわけ、以下の方法によって測定され得る：以下に記載されるアッセイを含むが、これらに限定されない、T細胞増殖または胸腺細胞増殖についてのアッセイ：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY, Coliganら編、Green Publishing Associates and Wiley-Interscience (第3章および第7章)；Takaiら、J Immunol 137:3494-3500、1986；Bertagnoliら、J Immunol 145:1706-1712、1990；Bertagnoliら、Cell Immunol 133:327-341、1991；Bertagnoliら、J Immunol 149:3778-3783、1992；Bowmanら、J Immunol 152:1756-1761、1994。

#### 【0255】

脾細胞、リンパ節細胞または胸腺細胞のサイトカイン産生および/または増殖についてのアッセイとしては、KruisbeekおよびShevach: Current Protocols in Immunology. Coliganら編、第1巻、3.12.1-14頁、John Wiley and Sons, Toronto 1994；およびSchreiber: CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、第1巻、6.8.1-8頁、John Wiley and Sons, Toronto 1994に記載のアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。

## 【0256】

造血細胞およびリンパ球産生細胞の増殖および分化についてのアッセイとしては、以下によって記載されるアッセイが挙げられるが、これらに限定されない：Bottomlyら：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、第1巻、6.3.1-6.3.12頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991；deVriesら、J Exp Med 173:1205-1211, 1991；Moreauら、Nature 336:690-692, 1988；Greenbergerら、Proc Natl Acad Sci U.S.A. 80:2931-2938, 1983；Nordanら：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、第1巻、6.6.1-5頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991；Smithら、Proc Natl Acad Sci U.S.A. 83:1857-1861, 1986；Measurement of human Interleukin 11 - Bennettら：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、第1巻、6.15.1頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991；Ciarlettaら：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、第1巻、6.13.1頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991。

## 【0257】

抗原に対するT細胞クローン応答についてのアッセイ（とりわけ、増殖およびサイトカイン産生を測定することによって、APC-T細胞相互作用に影響し、そしてT細胞の効果を指向するタンパク質を同定する）としては、以下に記載されるアッセイが挙げられるが、これらに限定されない：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、Green Publishing Associates and Wiley-Interscience（第3章、第6章および第7章）；Weinbergerら、Proc Natl Acad Sci USA 77:6091-6095

, 1980; Weinbergerら、Eur J Immun 11:405-411, 1981; Takaiら、J Immunol 137:3494-3500, 1986; Takaiら、J Immunol 140:508-512, 1988。

【0258】

(免疫刺激活性または免疫抑制活性)

本発明のSECタンパク質はまた、免疫刺激活性または免疫抑制活性(アッセイが本明細書中に記載される活性を含むが、これらに限定されない)を示し得る。タンパク質は、種々の免疫不全および免疫障害(重症複合型免疫不全(SCID)を含む)の処置(例えば、Tリンパ球および/またはBリンパ球の成長および増殖の(上方または下方)調節、ならびにNK細胞および他の細胞集団の細胞溶解活性の誘発)において有用であり得る。これらの免疫不全は、遺伝性であり得るか、またはウイルス(例えば、HIV)および細菌感染または真菌感染によって引き起こされ得るか、あるいは自己免疫障害から生じ得る。より詳細には、ウイルス感染、細菌感染、真菌感染または他の感染によって引き起こされる感染性疾患は、本発明のタンパク質を使用して処置可能であり得、この感染としては、HIV、肝炎ウイルス、ヘルペスウイルス、ミコバクテリア、リーシュマニア種、マラリア種による感染、およびカンジダ症のような種々の真菌感染が挙げられる。もちろん、この点に関して、本発明のタンパク質はまた、免疫系に対するブーストが、一般に所望され得る(すなわち、癌の処置において)場合に有用であり得る。

【0259】

本発明のタンパク質を使用して処置され得る自己免疫障害としては、例えば、以下が挙げられる: 結合組織疾患、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ、自己免疫性肺炎、ギヤン-バレー症候群、自己免疫性甲状腺炎、インスリン依存性真性糖尿病、重症筋無力症、対宿主性移植片病および自己免疫性炎症性眼疾患。本発明のこのようなタンパク質はまた、喘息(特に、アレルギー性喘息)または他の呼吸系障害のような、アレルギー反応およびアレルギー状態の処置に有用であり得る。免疫抑制が所望される他の状態(例えば、器官移

植を含む)もまた、本発明のタンパク質を使用して処置可能であり得る。

#### 【0260】

本発明のタンパク質を使用して、多くの方法で、免疫応答することもまた可能であり得る。下方調節は、すでに進行中の免疫応答を阻害またはブロックする形態であり得るか、免疫応答の誘導を妨げることを含み得る。活性化T細胞の機能は、T細胞応答を抑制することによってか、またはT細胞における特異的寛容を誘導することによってか、あるいはその両方によって阻害され得る。T細胞応答の免疫抑制は、一般に、抑制剤に対するT細胞の連続的曝露を必要とする、能動的な非抗原特異的プロセスである。寛容(T細胞における非応答性またはアネルギー(energy)を誘導することを含む)は、一般的に抗原特異的であり、そして寛容化剤に対する曝露が停止した後で持続するという点で免疫抑制と識別可能である。操作的には、寛容は、寛容化剤の非存在下における特異的抗原に対する再曝露の際に、T細胞応答の欠如によって実証され得る。

#### 【0261】

1以上の抗原機能(Bリンパ球抗原機能(例えば、B7のような)を含むが、限定されない)を下方調節するか、または妨げる(例えば、活性化T細胞による高レベルのリンホカイン合成を妨げる)ことは、組織、皮膚および器官の移植の状況、ならびに対宿主性移植片病(GVHD)において有用である。例えば、T細胞機能のブロックは、組織移植における組織破壊の減少を生じるはずである。代表的に、組織移植において、移植片の拒絶は、T細胞によるその外来としての認識、それに続く移植片を破壊する免疫反応を介して開始される。移植前に免疫細胞上でB7リンパ球抗原のその天然のリガンドとの相互作用を阻害またはブロックする分子(例えば、B7-2活性を有するペプチドの可溶性モノマー形態単独、あるいは別のBリンパ球抗原(例えば、B7-1、B7-3)またはブロッキング抗体の活性を有するペプチドのモノマー形態との組み合わせ)の投与は、対応する同時刺激シグナルの移行を伴わずに、免疫細胞上でその分子の天然のリガンドへの結合を導き得る。このような形態でBリンパ球抗原機能をブロックすることは、免疫細胞(例えば、T細胞)によるサイトカイン合成を妨げ、従って、免疫抑制剤として作用する。さらに、同時刺激の欠如はまた、T細胞を活

性化して、それによって被験体において寛容を誘導するのに十分であり得る。Bリンパ球抗原ブロッキング試薬による長期の寛容の誘導は、これらのブロッキング試薬の繰り返しの投与の必要性を回避し得る。被験体において十分な免疫抑制または寛容を達成するために、Bリンパ球抗原の機能をブロックすることもまた必要であり得る。

#### 【0262】

器官移植片拒絶またはGVHDの予防における特定のブロッキング試薬の効力は、ヒトにおける効力を予測する動物モデルを使用して評価され得る。使用され得る適切な系の例としては、ラットにおける同種異系の心臓移植片およびマウスにおける異種ランゲルハンス島細胞移植片が挙げられ、その両方は、Lenschowら、*Science* 257:789-792(1992)およびTurkaraら、*Proc Natl Acad Sci USA*, 89:11102-11105(1992)に記載されるようなインビボでのCTLA4Ig融合タンパク質の免疫抑制効果を試験するために使用されている。さらに、GVHDのマウスモデル(Paul編、*FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY*、Raven Press、New York、1989、846~847頁を参照のこと)は、その疾患の発症に対する、インビボでのBリンパ球抗原機能のブロックの効果を決定するために使用され得る。

#### 【0263】

ブロッキング抗原機能はまた、自己免疫疾患の処置に治療的に有用であり得る。多くの自己免疫疾患は、自己組織に対して反応性であり、そしてその疾患の病理に関係するサイトカインおよび自己抗体の産生を促進する、T細胞の不適切な活性化の結果である。自己反応性T細胞の活性化の予防は、疾患の症状を軽減し得るか、または排除し得る。Bリンパ球抗原のレセプター：リガンド相互作用を破壊することによってT細胞の同時刺激をブロックする試薬の投与は、T細胞の活性化を阻害し、そしてその疾患プロセスに関係し得る自己抗体またはT細胞誘導性サイトカインの産生を妨げるために使用され得る。さらに、ブロッキング試薬は、疾患の長期の軽減を導き得る自己反応性T細胞の抗原特異的寛容を誘導し得る。自己免疫障害の予防または軽減におけるブロッキング試薬の効力は、ヒト

自己免疫疾患のよく特徴付けられた多くの動物モデルを使用して決定され得る。例としては、マウス実験用自己免疫脳炎、MRL/lpr/lprマウスまたはNZBハイブリッドマウスにおける全身性エリテマトーデス、マウス自己免疫コラーゲン関節炎、NODマウスおよびBBラットにおける真性糖尿病、ならびにマウス実験用重症筋無力症が挙げられる(Paul編、FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY、Raven Press、New York、1989、840~856頁を参照のこと)。

【0264】

免疫応答を上方調節する手段として、抗原機能(好ましくは、Bリンパ球抗原機能)の上方調節もまた、治療に有用であり得る。免疫応答の上方調節は、既存の免疫応答を増強するか、または初期免疫応答を誘発する形態であり得る。例えば、Bリンパ球抗原機能の刺激を介して免疫応答を増強することは、ウイルス感染の場合において有用であり得る。さらに、全身性ウイルス疾患(例えば、インフルエンザ、感冒および脳炎)は、Bリンパ球抗原の刺激形態の全身性投与によって軽減され得る。

【0265】

あるいは、抗ウイルス免疫応答は、患者からT細胞を除去し、本発明のペプチドを発現するか、または本発明の可溶性ペプチドの刺激形態を伴うかのいずれかの、ウイルス抗原でパルスしたAPCで、このT細胞をインビトロで同時刺激し、そして患者にこのインビトロ活性化T細胞を再導入することによって、感染患者において増強され得る。抗ウイルス免疫応答を増強する別の方法は、患者から感染細胞を単離し、本明細書中に記載されるような本発明のタンパク質をコードする核酸を、この感染細胞にトランスフェクトして(その結果、これらの細胞がその表面上にこのタンパク質の全てまたは一部を発現する)、そしてこのトランスフェクト細胞を患者に再導入することである。ここで、この感染細胞は、インビボでT細胞に対して同時刺激シグナルを送達し、それによってT細胞を活性化することが可能である。

【0266】

別の適用では、抗原機能(好ましくはBリンパ球抗原機能)の上方調節または

増大が腫瘍免疫の誘導において有用であり得る。本発明の少なくとも1つのペプチドをコードする核酸をトランスフェクトされた腫瘍細胞（例えば、肉腫、黒色腫、リンパ腫、白血病、神経芽細胞腫、癌腫）を、被験体中の腫瘍特異的寛容を克服するために被験体に投与し得る。所望であれば、腫瘍細胞はトランスフェクトされてペプチドの組み合わせを発現し得る。例えば、患者から得られた腫瘍細胞に、B7-2-様活性を有するペプチド単独、またはB7-1-様活性および/またはB7-3-様活性を有するペプチドを組み合わせで発現する発現ベクターを用いて、エクスピボでトランスフェクトし得る。このトランスフェクトされた腫瘍細胞は、患者に戻され、トランスフェクトされた細胞の表面上にペプチドの発現を生じる。あるいは、遺伝子治療技法を用いて、インスピボのトランスフェクションのために腫瘍細胞を標的化し得る。

#### 【0267】

腫瘍細胞の表面上のB細胞リンパ球抗原の活性を有する本発明のペプチドの存在は、T細胞に対して必要な同時刺激シグナルを提供し、トランスフェクトされた腫瘍細胞に対するT細胞媒介免疫応答を誘導する。さらに、MHCクラスIまたはMHCクラスII分子を欠くか、または十分な量のMHCクラスIまたはMHCクラスII分子を再発現しない腫瘍細胞は、MHCクラスI鎖タンパク質および<sub>2</sub>マイクログロブリンタンパク質、またはMHCクラスII鎖タンパク質およびMHCクラスII鎖タンパク質のすべてまたは一部（例えば、細胞質-ドメイン短縮化部分）をコードする核酸でトランスフェクトされ得、それによって細胞表面上にMHCクラスIまたはMHCクラスIIタンパク質を発現する。Bリンパ球抗原（例えば、B7-1、B7-2、B7-3）の活性を有するペプチドと組み合わせた適切なクラスIまたはクラスII MHCの発現は、トランスフェクトされた腫瘍細胞に対するT細胞媒介性免疫応答を誘導する。必要に応じて、不変鎖（invariant chain）のようなMHCクラスII関連タンパク質の発現をブロックするアンチセンス構築物をコードする遺伝子もまた、Bリンパ球抗原の活性を有するペプチドをコードするDNAで同時トランスフェクトし、腫瘍関連抗原の提示を促進し、そして腫瘍特異的免疫を誘導し得る。従って、ヒト被験体におけるT細胞媒介免疫応答の誘導は、被験体におけ

る腫瘍特異的寛容を十分に克服し得る。

【0268】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法により測定され得る：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY、Coliganら編、Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience(第3章、第7章)；Herrmannら、Proc Natl Acad Sci USA 78:2488-2492、1981；Herrmannら、J Immunol 128:1968-1974、1982；Handaら、J Immunol 135:1564-1572、1985；Takaiら、J Immunol 137:3494-3500、1986；Takaiら、J Immunol 140:508-512、1988；Herrmannら、Proc Natl Acad Sci USA 78:2488-2492、1981；Herrmannら、J Immunol 128:1968-1974、1982；Handaら、J Immunol 135:1564-1572、1985；Takaiら、J Immunol 137:3494-3500、1986；Bowmanら、J Virology 61:1992-1998；Takaiら、J Immunol 140:508-512、1988；Bertagnolliら、Cell Immunol 133:327-341、1991；Brownら、J Immunol 153:3079-3092、1994に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない、胸腺細胞または脾細胞の細胞傷害性のための適切なアッセイ。

【0269】

T細胞依存性免疫グロブリン応答およびアイソタイプスイッチングのための(特に、T細胞依存性抗体応答を調節し、そしてTh1/Th2プロフィールに影響するタンパク質を同定する)アッセイとしては、Maliszewski、J Immunol 144:3028-3033、1990；ならびにMondおよびBrunswick、CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY、Coliganら編、第1巻、3.8.1.-3.8.16

、John Wiley and Sons、Toronto 1994に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

【0270】

混合リンパ球反応(MLR)アッセイ(特に、優先的にTh1およびCTL応答を生成するタンパク質を同定するアッセイ)としては、CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience(第3章、第7章); Takaiら、J Immunol 137:3494-3500、1986; Takaiら、J Immunol 140:508-512、1988; Bertagnolliら、J Immunol 149:3778-3783、1992に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

【0271】

樹状細胞依存性アッセイ(特に、ナイーブなT細胞を活性化する樹状細胞により発現されるタンパク質を同定するアッセイ)としては、Gueryら、J Immunol 134:536-544、1995; Inabaら、J Exp Med 173:549-559、1991; Macatoniaら、J Immunol 154:5071-5079、1995; Porgadorら、J Exp Med 182:255-260、1995; Nairら、J Virol 67:4062-4069、1993; Huangら、Science 264:961-965、1994; Macatoniaら、J. Exp Med 169:1255-1264、1989; Bhardwajら、J Clin Investig 94:797-807、1994; および Inabaら、J Exp Med 172:631-640、1990に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

【0272】

リンパ球生存/アポトーシスのためのアッセイ(特に、スーパー抗原誘導後にアポトーシスを妨げるタンパク質およびリンパ球ホメオスタシスを調節するタンパク質を同定する)としては、Darzynkiewiczら、Cytomet

ry 13:795-808、1992; Gorczyca<sup>ら</sup>、Leukemia 7:659-670、1993; Gorczyca<sup>ら</sup>、Cancer Res 53:1945-1951、1993; Itoh<sup>ら</sup>、Cell 66:233-243、1991; Zacharchuk、J Immunol 145:4037-4045、1990; Zama<sup>ら</sup>、Cytometry 14:891-897、1993; Gorczyca<sup>ら</sup>、Internat J Oncol 1:639-648、1992に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

### 【0273】

T細胞の拘束および発生の初期段階に影響するタンパク質のアッセイとしては、Antica<sup>ら</sup>、Blood 84:111-117、1994; Fine<sup>ら</sup>、Cell Immunol 155:111-122、1994; Galy<sup>ら</sup>、Blood 85:2770-2778、1995; Toki<sup>ら</sup>、Proc Nat Acad Sci USA 88:7548-7551、1991に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

### 【0274】

(造血調節活性)

本発明のSECXタンパク質は、造血の調節において、そして結果として骨髄細胞不全またはリンパ球細胞不全の処置において有用であり得る。コロニー形成性細胞または因子依存性細胞株を支援する周縁の生物学的活性でさえ、造血を調節することにおける、例えば、単独またはその他のサイトカインとの組み合わせで、赤血球系前駆体細胞の成長および増殖を支援することにおける関与を示し、それによって、例えば、種々の貧血を処置することにおけるか、または赤血球系前駆体細胞および/または赤血球細胞の産生を刺激するための照射/化学的療法と組み合わせた使用のための有用性; 例えば、結果として骨髄抑制を防ぐかまたは処置するための化学的療法と組み合わせる有用な、骨髄細胞(例えば、顆粒球および単球/マクロファージ)の成長および増殖を支持する(すなわち伝統的なCSF活性)ことにおける有用性; 巨核球そして結果として血小板の成長および増殖を支持し、それによって血小板減少症のような種々の血小板障害の予防また

は処置を可能にすること、そして一般に、血小板輸血に代わる使用か、またはそれへの優待のための有用性；および/または上記の任意および全ての造血幹細胞に成熟し得、そしてそれ故、種々の幹細胞障害（再生不良性貧血および発作性夜行性ヘモグロビン尿を含むがこれらに限定されない、通常、移植で処置されるような障害）における治療有用性を見出す、造血幹細胞の成長および増殖を支持することにおける有用性、ならびに正常細胞または遺伝子治療のために遺伝子操作された細胞として、インビボまたはエキソビボ（すなわち、骨髄移植または末梢前駆体細胞移植（同種または異種）と組み合わせた）のいずれかで、照射/化学的療法後に幹細胞区画を再増殖させることにおける有用性を示す。

【0275】

本発明のタンパク質の活性は、特に、以下の方法により測定され得る。種々の造血株の増殖および分化の適切なアッセイは上記で引用される。さらに、胚幹細胞分化のアッセイ（特に、胚分化造血に影響するタンパク質を同定するアッセイ）としては、Johanssonら、Cellular Biology 15 : 141 - 151、1995；Kellerら、Mol. Cell. Biol. 13 : 473 - 486、1993；McClanahanら、Blood 81 : 2903 - 2915、1993に記載のアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。

【0276】

幹細胞生存および分化のアッセイ（特にリンパ-造血を調節するタンパク質を同定するアッセイ）としては、Methylcellulose colony forming assays、CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 265 - 268頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y. 1994、Freshney；Hirayamaら、Proc Natl Acad Sci USA 89 : 5907 - 5911、1992；CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 23 - 39頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y. 1994、McNieceおよびBridgeli；Nebenら、Exp Hemato

1 22:353-359、1994; CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 1-21頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y. 1994、Ploemacher; CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 163-179頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y. 1994、Sponceretら; CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 139-162頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y. 1994、Sutherlandに記載のアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。

【0277】

(組織増殖活性)

本発明のSECXタンパク質はまた、骨、軟骨、腱、靭帯および/または神経組織成長または再生のために使用される組成物、ならびに創傷治癒および組織修復および組織置換のために使用される組成物、そして火傷、切開および潰瘍の処置における有用性を有し得る。

【0278】

本発明のタンパク質は、骨が正常に形成されない状況で軟骨および/または骨増殖を誘導し、ヒトおよびその他の動物における骨折および軟骨損傷または欠損の治癒における適用を有する。本発明のタンパク質を採用するこのような調製物は、閉鎖骨折整復および開放骨折整復における予防的使用、そしてまた人工関節の改善された固定における使用を有し得る。骨形成剤により誘導されたデノボ骨形成は、先天的、外傷誘導、または腫瘍切除誘導脳顔面頭蓋欠陥の修復に寄与し、そしてまた美容成形手術に有用である。

【0279】

本発明のタンパク質はまた、歯周病の処置において、およびその他の歯修復プロセスで用いられ得る。このような薬剤は、骨形成性細胞を誘因するか、骨形成性細胞の増殖を刺激するか、骨形成性細胞の前駆体の分化を誘導する環境を提供し得る。本発明のタンパク質はまた、骨および/または軟骨修復の刺激によるか

、または炎症プロセスにより媒介される組織破壊の炎症またはプロセス（コラゲナーゼ活性、破骨細胞活性など）をブロックすることによるような、骨粗鬆症または変形性関節炎の処置で有用であり得る。

【0280】

本発明のタンパク質に寄与し得る組織再生活性の別のカテゴリーは、腱/靭帯形成である。このような組織が通常形成されない状況で、腱/靭帯様組織またはその他の組織形成を誘導する本発明のタンパク質は、ヒトおよびその他の動物における、腱または靭帯断裂、変形およびその他の腱または靭帯欠陥の治療における適用を有する。腱/靭帯様組織誘導性タンパク質を採用するこのような調製物は、腱または靭帯組織への損傷を防ぐことにおける予防的使用、ならびに腱または靭帯の骨またはその他の組織の改善された固定、および腱または靭帯組織への欠陥を修復することにおける使用を有し得る。本発明の組成物により誘導されるデノボの腱/靭帯様組織形成は、先天的、外傷誘導、またはその他の起源のその他の腱または靭帯欠陥の修復に寄与し、そしてまた腱または靭帯の付着または修復のための美容成形手術で有用である。本発明の組成物は、腱形成性細胞または靭帯形成性細胞を誘引するか、腱形成性細胞または靭帯形成性細胞の増殖を刺激するか、腱形成性細胞または靭帯形成性細胞の前駆体の分化を誘導するか、または組織修復を行うためにインビボに戻すためにエキソビボで腱/靭帯の細胞または前駆体の増殖を誘導する環境を提供し得る。本発明の組成物はまた、腱炎、毛根管症候群およびその他の腱または靭帯欠陥の処置において有用であり得る。この組成物はまた、当該分野で周知であるキャリアとしては、適切なマトリックスおよび/または金属イオン封鎖剤が挙げられ得る。

【0281】

本発明のタンパク質はまた、ニューロン細胞の増殖のため、および神経および脳組織の再生のために、すなわち、中枢神経系疾患および末梢神経系疾患および神経障害、ならびにニューロン細胞または神経組織への変性、死滅または外傷を含む機械的および外傷障害の処置のために有用であり得る。より詳細には、タンパク質は、末梢神経損傷、末梢神経障害および局所神経障害のような末梢神経系の疾患、ならびにアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、筋萎縮

側索硬化症、およびシャイ - ドレーガー症候群のような中枢神経系の疾患の処置で用いられ得る。本発明に従って処置され得るさらなる症状は、脊髄障害、頭部外傷および発作のような脳血管性疾患のような機械的および外傷的障害を含み得る。化学的療法またはその他の医療治療から生じる抹消神経障害もまた、本発明のタンパク質を用いて治療可能であり得る。

【0282】

本発明のタンパク質はまた、圧迫性潰瘍、血管不全に関連する潰瘍、手術または外傷創傷などを含むがこれらに限定されない非治癒創傷のより良好な、またはより迅速な閉鎖を促進するために有用であり得る。

【0283】

本発明のタンパク質がまた、器官（例えば、脾臓、肝臓、腸、腎臓、皮膚、内皮を含む）、筋肉（平滑筋、骨格筋または心筋）および血管（血管内皮を含む）組織のようなその他の組織の生成または再生に、またはこのような組織を含む細胞の増殖を促進するために活性を示し得ることが予想される。所望の効果の一部は、繊維症瘢痕の阻害または調整によってであり得、正常組織を再生させる。本発明のタンパク質はまた、血管形成活性を示し得る。

【0284】

本発明のタンパク質はまた、腸の保護または再生のため、および肺若しくは肝臓の繊維症、種々の組織における再灌流傷害、および全身サイトカイン損傷から生じる症状の処置のために有用であり得る。本発明のタンパク質はまた、前駆体組織または細胞から上記の組織の分化を促進若しくは阻害するため；または上記の組織の増殖を阻害するために有用であり得る。

【0285】

本発明のタンパク質の活性はまた、特に、以下の方法により測定され得る：組織生成活性のためのアッセイとしては、国際特許公開番号WO95/16035（骨、軟骨、腱）；国際特許公開番号WO95/05846（神経、ニューロン）；国際特許公開番号WO91/07491（皮膚、内皮）に記載されるアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。創傷治癒活性のためのアッセイとしては、Eaglst einおよびMenz、J. Invest. Dermat

ol 71:382-84(1978)によって改変されるような、Winter、EPIDERMAL WOUND HEALING、71-112頁(MaibachおよびRovee編)、Year Book Medical Publishers、Inc.、Chicagoに記載のアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。

【0286】

(アクチビン/インヒビン活性)

本発明のSECXタンパク質はまた、アクチビン関連活性またはインヒビン関連活性を示し得る。インヒビンは、卵胞刺激ホルモン(FSH)の放出を阻害するその能力によって特徴付けられ、一方、アクチビンは、卵胞刺激ホルモン(FSH)の放出を刺激するその能力によって特徴付けられる。従って、本発明のタンパク質は、単独またはインヒビンファミリーのメンバーとのヘテロ二量体において、雌性哺乳動物における受胎能を減少し、そして雄性哺乳動物における精子形成を減少するインヒビンの能力に基づく避妊薬として有用であり得る。他のインヒビンの十分な量の投与は、これら哺乳動物における不妊症を誘導し得る。あるいは、本発明のタンパク質は、ホモ二量体としてか、またはインヒビンb群の他のタンパク質サブユニットとのヘテロ二量体として、下垂体前葉の細胞からのFSH放出を刺激するアクチビン分子の能力に基づいて、受胎能誘導治療として有用であり得る。例えば、米国特許第4,798,885号を参照のこと。本発明のタンパク質はまた、ウシ、ヒツジ、およびブタのような家畜の一生の生殖効率を増加するように、性的に未熟な哺乳動物における受胎能の開始の促進のために有用であり得る。

【0287】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法によって測定され得る：  
 アクチビン/インヒビン活性のアッセイとしては、以下に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない：Valeら、Endocrinology 91:562~572、1972；Lingら、Nature 321:779~782、1986；Valeら、Nature 321:776~779、1986；Masonら、Nature 318:659~663、1985；

Forager, Proc Natl Acad Sci USA 83:3091~3095, 1986。

【0288】

(走化性/ケモキネシス活性)

本発明のタンパク質は、哺乳動物細胞(例えば、単球、線維芽細胞、好中球、T細胞、肥満細胞、好酸球、上皮細胞および/または内皮細胞を含む)についての走化性またはケモキネシス活性(例えば、ケモカインとして作用する)を有し得る。走化性およびケモキネシスタンパク質を使用して、所望の細胞集団を所望の作用部位に動員または誘引し得る。走化性またはケモキネシスタンパク質は、組織に対する創傷および他の外傷の処置、ならびに局所的感染の処置において、特に利点を提供する。例えば、リンパ球、単球または好中球の、腫瘍または感染部位への誘引は、腫瘍または感染因子に対する改善された免疫応答を生じ得る。

【0289】

タンパク質またはペプチドは、それが直接的または間接的に、特定の細胞集団の指向された方向付けまたは移動を刺激し得る場合、そのような細胞集団について走化性活性を有する。好ましくは、タンパク質またはペプチドは、指向された細胞の移動を直接刺激する能力を有する。特定のタンパク質が細胞の集団について走化性活性を有するか否かは、細胞の走化性についての任意の公知のアッセイにおいて、そのようなタンパク質またはペプチドを使用することによって、容易に決定され得る。

【0290】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法によって測定され得る。走化性活性についてのアッセイ(走化性を誘導するか、または妨げるタンパク質を同定する)は、細胞の膜を横切った移動を誘導するタンパク質の能力、ならびに1つの細胞集団の別の細胞集団に対する接着を誘導するタンパク質の能力を測定するアッセイからなる。移動および接着についての適切なアッセイとしては以下に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない: CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY、Coliganら編(第6.12章、MEASUREMENT OF ALPHA AND BETA

CHEMOKINES 6.12.1~6.12.28); Taubら、J Clin Invest 95:1370~1376、1995; Lindら、APMIS 103:140~146、1995; Mullerら、Eur J Immunol 25:1744~1748; Gruberら、J Immunol 152:5860~5867、1994; Johnstonら、J Immunol 153:1762~1768、1994。

#### 【0291】

(うっ血活性および血栓崩壊活性)

本発明のタンパク質はまた、うっ血活性または血栓崩壊活性を示し得る。結果として、そのようなタンパク質は、種々の凝固障害(血友病のような遺伝性疾患を含む)の処置において有用であること、または凝固、および外傷、外科手術もしくは他の原因によって生じる創傷の処置における他のうっ血事象を促進することが予測される。本発明のタンパク質はまた、血栓症の溶解または形成阻害のため、ならびにそこから生じる状態(例えば、心臓血管および中枢神経系血管の梗塞(例えば、発作))の処置および予防のために有用であり得る。

#### 【0292】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法によって測定され得る：

うっ血および血栓崩壊活性のアッセイとしては、以下に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない：Linnettら、J. Clin. Pharmacol. 26:131~140、1986; Burdickら、Thrombosis Res. 45:413~419、1987; Humphreyら、Fibrinolysis 5:71~79(1991); Schaub、Prostaglandins 35:467~474、1988。

#### 【0293】

(レセプター/リガンド活性)

本発明のタンパク質はまた、レセプター、レセプターリガンドまたはレセプター/リガンド相互作用のインヒビターもしくはアゴニストとしての活性を実証し得る。そのようなレセプターおよびリガンドの例としては、限定することなく、サイトカインレセプターおよびそのリガンド、レセプターキナーゼおよびそのリ

ガンド、レセプターホスファターゼおよびそのリガンド細胞間相互作用に關与するレセプターおよびそのリガンド（限定することなく、細胞接着分子（例えば、セレクチン、インテグリンおよびそのリガンド）、ならびに抗原提示、抗原認識および細胞免疫応答および体液免疫応答の發生に關与するレセプター/リガンド対を含む）が挙げられる。レセプターおよびリガンドはまた、關連するレセプター/リガンド相互作用の可能性のあるペプチドまたは低分子インヒビターのスクリーニングにおいて有用である。本發明のタンパク質（限定することなく、レセプターおよびリガンドのフラグメントを含む）が、それ自体で、レセプター/リガンド相互作用のインヒビターとして有用であり得る：

本發明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法によって測定され得る。レセプター - リガンド活性の適切なアッセイとしては、限定することなく、以下に記載されるものが挙げられる：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY、Coliganら編、Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience（第7.28章、Measurement of Cellular Adhesion under static conditions 7.28.1-7.28.22）、Takaiら、Proc Natl Acad Sci USA 84：6864～6868、1987；Biererら、J. Exp. Med. 168：1145～1156、1988；Rosensteinら、J. Exp. Med. 169：149～160 1989；Stoltenborgら、J. Immunol. Methods 175：59～68、1994；Stittら、Cell 80：661～670、1995。

#### 【0294】

（抗炎症活性）

本發明のタンパク質はまた、抗炎症活性を示し得る。抗炎症活性は、炎症応答に關与する細胞に対する刺激を提供すること（細胞間相互作用（例えば、細胞接着）を阻害するか、または促進することによって）によってか、炎症プロセスに關与する細胞の走化性を阻害するか、または促進することによってか、細胞の血管外遊出を阻害するか、または促進することによってか、あるいは炎症応答をより

直接的に阻害するか、もしくはより促進する他の因子の産生を刺激するか、または抑制することによって、達成され得る。そのような活性を示すタンパク質を使用して、炎症状態（慢性状態または急性状態を含む）（限定することなく、感染に関連する炎症（例えば、敗血症性ショック、敗血症または全身性炎症応答症候群（SIRS））、虚血 - 灌流損傷、内毒素の致死性、関節炎、補体媒介性激症拒絶症、腎炎、サイトカイン誘導性肺損傷またはケモカイン誘導性肺損傷、炎症性腸疾患、クローン病、またはTNFもしくはIL-1のようなサイトカインの過剰産生より生じるものが挙げられる）を処置し得る。本発明のタンパク質はまた、抗原性物質または抗原性材料に対する、アナフィラキシーおよび過敏症の処置のためにも、有用であり得る。

#### 【0295】

##### （腫瘍阻害活性）

腫瘍の免疫学的処置または予防について上記に記載された活性に加えて、本発明のタンパク質は、他の抗腫瘍活性を示し得る。タンパク質は、直接的または間接的（例えば、ADCCを介して）腫瘍増殖を阻害し得る。タンパク質は、腫瘍組織または腫瘍前駆体組織に作用することによって、腫瘍増殖を支持するために必要な組織の形成を阻害することによって（例えば、新脈管形成を阻害することによって）、腫瘍増殖を阻害する他の因子、物質または細胞型の産生を生じることによって、あるいは腫瘍増殖を促進する因子、物質または細胞型を、抑制、除去または阻害することによって、その腫瘍阻害活性を示し得る。

#### 【0296】

##### （他の活性）

本発明のタンパク質はまた、以下のさらなる活性または効果の1つ以上を示し得る：限定はされないが、細菌、ウイルス、真菌および他の寄生生物を含む感染因子の、増殖、感染または機能を阻害するか、あるいは死滅させること；身体的特徴（限定することなく身長、体重、髪の色、目の色、皮膚、赤肉に対する脂肉の比、または他の組織色素沈着、あるいは器官または身体部分のサイズまたは形状（例えば、胸部増大または減少、骨の形態または形状の変化）が挙げられる）を生じること（抑制することまたは増強すること）；バイオリズムあるいはサー

カディアンサイクルまたはサーカディアンリズムを生じること；雄性被験体または雌性被験体の受胎能を生じること；食事脂肪、脂質、タンパク質、炭水化物、ビタミン、ミネラル、補因子または他の栄養因子もしくは栄養成分の、代謝、異化作用、同化作用、プロセッシング、利用、貯蔵または除去を生じること；行動的特徴（食欲、性欲、ストレス、認識（認識障害を含む）、うつ病（抑うつ障害を含む）および狂暴症を含むが、これらに限定されない）を生じること；鎮痛性効果または他の疼痛減少効果を提供すること；造血系列以外の系列における胚性幹細胞の分化および増殖を促進すること；ホルモン活性または内分泌活性；酵素の場合、酵素の欠損を矯正すること、および欠損関連疾患を処置すること；過剰増殖障害（例えば、乾癬）の処置；免疫グロブリン様活性（例えば、抗原または補体に結合する能力）；ならびにワクチン組成物において抗原として作用し、そのようなタンパク質または別の物質あるいはそのようなタンパク質と交差反応する実体に対する免疫応答を惹起する能力。

#### 【0297】

（予測医療）

本発明はまた、診断アッセイ、予後アッセイ、薬理ゲノム学（*pharmacogenomics*）およびモニタリング臨床試験が、予後（予測）の目的に使用され、これによって個体を予防的に処置する、予測医療の分野に関する。従って、本発明の1つの局面は、SECXタンパク質および/または核酸の発現、ならびにSECXの活性を、生物学的サンプル（例えば、血液、血清、細胞、組織）の関連で決定し、これによって、個体が、異常なSECXの発現または活性に関連する疾患または障害に罹患するかどうか、あるいは障害を発症するリスクがあるかどうかを決定するための診断アッセイに関する。本発明はまた、個体が、SECXのタンパク質、核酸の発現または活性と関連した障害を発症するリスクがあるかどうかを決定するための予後的（または予測的）アッセイを提供する。例えば、SECXの遺伝子における変異が、生物学的サンプルにおいてアッセイされ得る。このようなアッセイは、予後的または予測的な目的に使用され得、これによってSECXのタンパク質、核酸の発現または活性によって特徴付けられるかまたは関連した障害の発病の前に個体を予防的に処置する。

## 【0298】

本発明の別の局面は、個体におけるSECXのタンパク質、核酸の発現あるいはSECXの活性を決定するための方法を提供し、これによって、その個体についての適切な治療的または予防的試薬（本明細書において「薬理ゲノム学」とよばれる）を選択する。薬理ゲノム学は、個体の遺伝型（例えば、特定の試薬に対して応答する個体の能力を決定するために試験された個体の遺伝型）に基づいて個体の治療的または予防的処置のための試薬（例えば、薬物）の選択を可能にする。

## 【0299】

本発明のなお別の局面は、臨床試験におけるSECXの発現または活性に対する試薬（例えば、薬剤、化合物）の影響をモニタリングすることに関する。

## 【0300】

これらおよび他の試薬は、以下の節でさらに詳細に記載される。

## 【0301】

（診断アッセイ）

生物学的サンプルにおけるSECXの存在または非存在を検出するための例示的な方法は、試験被験体から生物学的サンプルを得る工程、およびその生物学的サンプルをSECXのタンパク質またはSECXタンパク質をコードする核酸（例えば、mRNA、ゲノムDNA）を検出し得る化合物もしくは薬剤と接触させ、その結果、SECXの存在が、その生物学的サンプルにおいて検出される、工程を包含する。SECXの核酸またはタンパク質の存在を検出する技術は、検出されるSECXの核酸またはタンパク質の相対的または絶対的な濃度を定量するために、当該分野において公知の方法により改変され得る。方法としては、例えば、ノーザンブロットハイブリダイゼーションもしくはサザンブロットハイブリダイゼーション（上記）またはSECXの核酸レベルを測定するための定量的PCR（下記）、ならびにSECXのポリペプチドレベルを測定するためのELISAアッセイおよび抗体プルダウンアッセイのような抗体検出（下記）が挙げられる。

## 【0302】

SECXのmRNAもしくはゲノムDNAを検出するための薬剤は、SECX mRNAもしくはゲノムDNAにハイブリダイズし得る、標識された核酸プローブである。この核酸プローブは、例えば、全長のSECXの核酸もしくはその部分の核酸（例えば、少なくとも、15、30、50、100、250もしくは500ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドであり、ストリンジェントな条件下でSECXのmRNAまたはゲノムDNAと特異的にハイブリダイズするに十分である核酸）であり得る。ハイブリダイゼーションシグナルの存在または非存在は、所定のプローブを使用して、このプローブに相補的な核酸の存在または非存在を明らかにする。ハイブリダイゼーションシグナルは、定量されて、プローブされている核酸の絶対的または相対的な量を測定し得る。本発明の診断アッセイにおける使用のための他の適切なプローブは、本明細書において記載されている。

### 【0303】

SECXのタンパク質を検出するための薬剤は、SECXのタンパク質に結合し得る抗体であり、好ましくは、検出可能な標識を有する抗体である。抗体は、ポリクローナルであり得るか、またはより好ましくはモノクローナル抗体であり得る。インタクトな抗体またはそのフラグメント（例えば、FabまたはF(ab')<sub>2</sub>）が使用され得る。用語「標識（された）」とは、プローブまたは抗体に関して、検出可能な物質をそのプローブもしくは抗体にカップリングさせる（すなわち、物理的に連結する）ことによってそのプローブまたは抗体を直接標識すること、ならびに、直接標識された別の試薬との反応性によってそのプローブもしくは抗体の間接的な標識をすることを包含することが意図される。間接的な標識の例としては、蛍光標識された二次抗体を用いた一次抗体の検出、および蛍光標識されたストレプトアビジンを用いて検出され得るようにDNAプローブのビオチンを用いた末端標識が挙げられる。用語「生物学的サンプル」とは、被験体から単離された、組織、細胞および生物学的流体ならびに被験体に存在する組織、細胞および流体を含むことが意図される。すなわち、本発明の検出方法を用いて、SECXのmRNA、タンパク質またはゲノムDNAを、生物学的サンプル中で、インビトロおよびインビボで検出し得る。例えば、SECXのmRNA

の検出のためのインビトロ技術としては、ノーザンハイブリダイゼーションおよびインサイチュハイブリダイゼーションが挙げられる。SECXのタンパク質の検出のためのインビトロ技術としては、酵素連結免疫吸着アッセイ(ELISA)、ウェスタンブロット、免疫沈降および免疫蛍光が挙げられる。SECXのゲノムDNAを検出するためのインビトロ技術としては、サザンハイブリダイゼーションが挙げられる。さらに、SECXのタンパク質の検出のためのインビボ技術としては、標識された抗SECX抗体を被験体に導入することが挙げられる。例えば、その抗体は、放射性マーカーを用いて標識され得る。被験体における放射性マーカーの存在および位置は、標準的な画像化技術によって検出され得る。

#### 【0304】

1つの実施形態において、この生物学的サンプルは、その試験被験体からのタンパク質分子を含む。あるいは、その生物学的サンプルは、その試験被験体からのmRNA分子またはその試験被験体からのゲノムDNA分子を含み得る。好ましい生物学的サンプルは、被験体から従来的手段によって単離された末梢血白血球サンプルである。

#### 【0305】

別の実施形態において、この方法はさらに、コントロール被験体からコントロール生物学的サンプルを得る工程、そのコントロールサンプルを、SECXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAを検出し得る化合物もしくは薬剤と接触させ、その結果、SECXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAの存在がその生物学的サンプルにおいて検出される、工程、およびそのコントロールサンプルにおけるSECXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAの存在と、その試験サンプルにおけるSECXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAの存在とを比較する工程を包含する。

#### 【0306】

本発明はまた、生物学的サンプルにおけるSECXの存在を検出するためのキットを包含する。例えば、このキットは、以下を備え得る：生物学的サンプルにおいてSECXのタンパク質またはmRNAを検出し得る、標識された化合物もしくは薬剤；そのサンプルにおいてSECXの量を決定するための手段；および

そのサンプル中のSECXの量を標準と比較するための手段。この化合物または薬剤は、適切な容器内に包装され得る。このキットは、さらに、SECXのタンパク質または核酸を検出するためにキットを用いるための指示書を備え得る。

### 【0307】

#### ( 予後アッセイ )

本明細書において記載された診断方法をさらに利用して、SECXの異常発現または異常活性に関連した疾患もしくは障害を有するかまたはその発症の危険にある被験体を同定し得る。例えば、本明細書に記載されるアッセイ（例えば、上述の診断アッセイまたは下記のアッセイ）を利用して、SECXのタンパク質、核酸の発現または活性に関連する障害（例えば、癌または線維症障害）あるいは、上記の個々の節1 - 14に記載されるような、SECX特異的疾患を有するかまたはその発症の危険にある被験体を同定し得る。あるいは、この予後アッセイを利用して、疾患または障害を有するかまたはその発症の危険にある被験体を同定し得る。従って、本発明は、SECXの異常発現または異常活性に関連する疾患もしくは障害を同定するための方法を提供する。ここで、試験サンプルは、被験体から得られ、そしてSECXのタンパク質または核酸（例えば、mRNA、ゲノムDNA）が検出され、ここで、SECXのタンパク質または核酸の存在は、SECXの異常発現または異常活性に関連する疾患または障害を有するかまたはその発症の危険にある被験体についての診断指標である。本明細書において使用される「試験サンプル」とは、目的の被験体から得られた生物学的サンプルをいう。例えば、試験サンプルは、生物学的流体（例えば、血清）、細胞サンプル、または組織であり得る。

### 【0308】

さらに、本明細書に記載される予後アッセイを使用して、被験体が薬剤（例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、ペプチド模倣物、タンパク質、ペプチド、核酸、低分子、または他の薬物候補）が投与されてSECXの異常発現または異常活性に関連する疾患または障害を処置し得るか否かを決定し得る。例えば、そのような方法を用いて、被験体が障害（例えば、癌または子癇前症（preclampsia））あるいは、上記の個々の節1 - 14に記載されるような、SECX

特異的疾患)のための薬剤を用いて有効に処置され得るか否かを決定し得る。従って、本発明は、SECXの異常発現または異常活性に関連する障害のための薬剤を用いて被験体が有効に処置され得るか否かを決定するための方法を提供する。ここで、試験サンプルが得られ、そしてSECXのタンパク質または核酸が検出される(例えば、ここで、SECXのタンパク質または核酸の存在は、SECXの異常発現または異常活性に関連する障害を処置するための薬剤をその被験体に投与し得ることについての診断指標である)。

### 【0309】

本発明の方法はまた、SECXの遺伝子における遺伝的損傷を検出し、それによって、その損傷遺伝子を有する被験体が異常な細胞増殖および/または分化によって特徴付けられる障害についての危険にあるか否かを決定するためにも使用され得る。種々の実施形態において、この方法は、その被験体からの細胞のサンプルにおいて、SECXのタンパク質をコードする遺伝子の統合性に影響を与える変更の少なくとも1つによって特徴付けられる遺伝的損傷、あるいはSECXの遺伝子の誤発現の存在または非存在を検出する工程を包含する。例えば、そのような遺伝的損傷は、以下の少なくとも1つの存在を確認することによって検出され得る：(1) SECXの遺伝子からの1つ以上のヌクレオチドの欠失；(2) SECXの遺伝子への1つ以上のヌクレオチドの付加；(3) SECXの遺伝子の1つ以上のヌクレオチドの置換、(4) SECXの遺伝子の染色体再配置；(5) SECXの遺伝子のメッセンジャーRNA転写物のレベルにおける変更、(6) SECXの遺伝子の異常改変(例えば、ゲノムDNAのメチル化パターンの異常改変)、(7) SECXの遺伝子のメッセンジャーRNA転写物の非野生型スプライシングパターンの存在、(8) SECXのタンパク質の非野生型レベル、(9) SECXの遺伝子の対立遺伝子の欠失、ならびに(10) SECXのタンパク質の不適切な翻訳後修飾。本明細書において記載されるように、当該分野において、多数の公知のアッセイ技術が存在し、これらは、SECXの遺伝子における遺伝的損傷を検出するために使用され得る。好ましい生物学的サンプルは、従来手段によって被験体から単離された末梢血白血球サンプルである。しかし、有核細胞を含む任意の生物学的サンプルが使用され得、これには、例えば、

頬粘膜細胞が挙げられる。

【0310】

特定の実施形態において、損傷の検出は、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）（例えば、米国特許第4,683,195号および同4,683,202号を参照のこと）（例えば、アンカーPCRまたはRACE PCR）、あるいは、連結連鎖反応（LCR）（例えば、Landegranら（1988）Science 241:1077-1080；およびNakazawaら（1994）PNAS 91:360-364）を参照のこと）におけるプローブ/プライマーの使用を包含する。後者は、SECXの遺伝子における点変異を検出するために特に有用であり得る（Abravayaら（1995）Nucleic Acids Res 23:675-682を参照のこと）。この方法は、患者から細胞のサンプルを収集する工程、核酸（例えば、ゲノム、mRNAまたはその両方）をそのサンプルの細胞から単離する工程、SECXの遺伝子に特異的にハイブリダイズする1つ以上のプライマーと、その核酸サンプルとをSECXの遺伝子のハイブリダイゼーションおよび増幅が（存在する場合）生じるような条件下で、接触させる工程、ならびに増幅産物の存在もしくは非存在を検出する工程、またはその増幅産物の大きさを検出する工程およびその長さをコントロールサンプルと比較する工程を包含し得る。PCRおよび/またはLCRは、本明細書に記載される変異を検出するために使用される技術のいずれかとともに予備的増幅工程として使用されるために所望されることが予想される。

【0311】

代替的な増幅方法としては、以下が挙げられる：自己維持配列複製（Guatelliら、1990、Proc Natl Acad Sci USA 87:1874-1878）、転写増幅系（Kwoh、ら、1989、Proc Natl Acad Sci USA 86:1173-1177）、Q-レプリカーゼ（Lizardiら、1988、BioTechnology 6:1197）、または他の任意の核酸増幅方法、それに続いて、当業者に周知の技術を用いたその増幅された分子の検出。これらの検出スキームは、そのような分子が非常に極少数で存在する場合、核酸分子の検出のために特に有用である。

## 【0312】

代替の実施形態において、サンプル細胞からのSECXの遺伝子における変異は、制限酵素切断パターンにおける変更によって同定され得る。例えば、サンプルおよびコントロールのDNAが単離され、増幅され(必要に応じて)、1つ以上の制限エンドヌクレアーゼを用いて消化され、そしてフラグメント長の大きさがゲル電気泳動によって決定され、そして比較される。サンプルDNAとコントロールDNAとの間のフラグメント長の大きさにおける差違は、そのサンプルDNAにおける変異を示す。さらに、配列特異的なリボザイムの使用(例えば、米国特許第5,493,531号を参照のこと)を使用して、リボザイム切断部位の発生または喪失によって特異的な変異の存在についてスコア付けし得る。

## 【0313】

他の実施形態において、SECXにおける遺伝的変異は、サンプル核酸およびコントロール核酸(例えば、DNAまたはRNA)を、数百または数千のオリゴヌクレオチドプローブを含む高密度アレイに対してハイブリダイズさせることによって同定され得る(Croninら(1996)Human Mutation 7:244-255; Kozalら(1996)Nature Medicine 2:753-759)。例えば、SECXにおける遺伝的変異は、Croninら、上記のように光生成DNAプローブを含む二次元アレイにおいて同定され得る。手短には、第一のプローブハイブリダイゼーションアレイを用いて、サンプルおよびコントロールにおける長いストレッチのDNAを通じて走査して、連続的に重複するプローブの線形アレイを作成することによってその配列の間の塩基変化を同定し得る。この工程は、点変異の同定を可能にする。この工程に続いて、検出される全ての改変体または変異体に相補的な、より小さな特化されたプローブアレイを用いて、特定の変異の特徴付けを可能にする第二のハイブリダイゼーションアレイがある。各変異アレイは、一方が野生型遺伝子に対して相補的であり、そして他方が変異遺伝子に対して相補である並行プローブセットから構成される。

## 【0314】

なお別の実施形態において、当該分野で公知の種々の配列決定反応のいずれか

を使用して、SECX遺伝子を直接配列決定し得、そしてサンプルのSECX配列と対応する野生型(コントロール)配列とを比較することによって、変異を検出し得る。配列決定反応の例としては、MaximおよびGilbert(1977)PNAS 74:560またはSanger(1977)PNAS 74:5463によって開発された技術に基づくものが挙げられる。診断アッセイを実施する場合、種々の自動化配列決定手順のいずれかを利用し得ることもまた意図される(Naeveら、(1995)BioTechniques 19:448)。これらには、質量分析法による配列決定法(例えば、PCT国際公開番号WO 94/16101;Cohenら(1996)Adv Chromatogr 36:127-162;およびGriffinら(1993)Appl Biochem Biotechnol 38:147-159を参照のこと)が含まれる。

#### 【0315】

SECX遺伝子における変異を検出するための他の方法としては、切断薬剤からの保護を使用して、RNA/RNAもしくはRNA/DNAのヘテロ二重鎖におけるミスマッチ塩基を検出する方法が挙げられる(Myersら(1985)Science 230:1242)。一般に、「ミスマッチ切断」の当該分野の技術は、野生型のSECX配列を含む(標識された)RNAまたはDNAを、組織サンプルから得られた潜在的な変異体RNAまたはDNAとハイブリダイズさせることによって形成されるヘテロ二重鎖を提供する工程によって始まる。この二本鎖の二重鎖を、二重鎖の一本鎖領域(例えば、そのコントロールとサンプルの鎖との間の塩基対ミスマッチに起因して存在するもの)を切断する薬剤を用いて処理する。例えば、RNA/DNA二重鎖を、RNaseを用いて処理し得、そしてDNA/DNAハイブリッドを、そのミスマッチ領域を酵素的に消化することに対して、S1ヌクレアーゼを用いて処理し得る。他の実施形態において、DNA/DNAまたはRNA/DNAのいずれかの二重鎖を、ミスマッチ領域を消化するために、ヒドロキシルアミンまたは四酸化オスミウム、およびピペリジンを用いて処理し得る。次いで、そのミスマッチ領域の消化後、得られた材料を変性ポリアクリルアミドゲル上で、大きさで分離して、変異の部位を決定する

。例えば、Cottonら(1988) Proc Natl Acad Sci USA 85:4397; Saleebaら(1992) Methods Enzymol 217:286-295を参照のこと。1つの実施形態において、コントロールのDNAまたはRNAは、検出のために標識され得る。

#### 【0316】

なお別の実施形態において、ミスマッチ切断反応は、二本鎖DNAにおけるミスマッチ塩基対を認識する1つ以上のタンパク質(いわゆる「DNAミスマッチ修復」酵素)を、細胞のサンプルから得られたSECX cDNAにおける点変異を検出およびマッピングするために規定された系において使用する。例えば、E. coliのmutY酵素は、G/AミスマッチでAを切断し、そしてHeLa細胞からのチミジンDNAグリコシラーゼは、G/TミスマッチでTを切断する(Hsuら(1994) Carcinogenesis 15:1657~1662)。例示的な実施形態に従って、SECX配列(例えば、野生型SECX配列)に基づくプローブは、試験細胞由来のcDNAまたは他のDNA産物にハイブリダイズされる。二重鎖は、DNAミスマッチ修復酵素を用いて処理され、そしてその切断産物(もしあれば)は、電気泳動プロトコルなどから検出され得る。例えば、米国特許第5,459,039号を参照のこと。

#### 【0317】

他の実施形態において、電気泳動の移動度における変化は、SECX遺伝子における変異を同定するために使用される。例えば、一本鎖配座多型(SSCP)は、変異体と野生型核酸との間の電気泳動の移動度における差異を検出するために使用され得る(Oritaら(1989) Proc Natl Acad Sci USA:86:2766、またCotton(1993) Mutat Res 285:125~144; Hayashi(1992) Genet Anal Tech Appl 9:73~79を参照のこと)。サンプルおよびコントロールSECX核酸の一本鎖DNAフラグメントは、変性され、そして再生される。一本鎖核酸の二次構造は、配列に従って変化し、電気泳動の移動度において得られる変化は、1つの塩基変化の検出さえも可能にする。DNAフラグメントは、標識され得るか、または標識されたプローブを用いて検出され得る。ア

ッセイの感度は、二次構造が、配列中の変化に対してより感受的である、(DNAよりもむしろ)RNAを使用することによって増強され得る。1つの実施形態において、本発明の方法は、ヘテロ二重鎖分析を利用して、電気泳動の移動度における変化に基づいて二本鎖のヘテロ二重鎖分子を分離する(Keenら(1991) Trends Genet 7:5)。

【0318】

なお別の実施形態において、一定勾配の変性剤を含有するポリアクリルアミドゲルにおける変異体または野生型フラグメントの移動は、変性勾配ゲル電気泳動(DGGE)を使用してアッセイされる(Myersら(1985) Nature 313:495)。DGGEが分析の方法として使用される場合、DNAは、例えば、PCRにより約40bpの高融点GCリッチDNAのGCクランプを付加することによって、完全には変性されないことを確実に改変される。さらなる実施形態において、温度勾配は、コントロールおよびサンプルDNAの移動度における差異を同定するために、変性剤勾配の代わりに使用される(RosenbaumおよびReissner(1987) Biophys Chem 265:12753)。

【0319】

点変異を検出するための他の技術の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：選択的オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション、選択的増幅、または選択的プライマー伸長。例えば、オリゴヌクレオチドプライマーは、既知の変異が中心的に配置されるように調製され得、次いで、完全なマッチが見出される場合にのみハイブリダイゼーションを許容する条件下で標的DNAにハイブリダイズされる(Saikiら(1986) Nature 324:163)；Saikiら(1989) Proc Natl Acad Sci USA 86:6230)。このような対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドは、このオリゴヌクレオチドがハイブリダイズ膜に付着され、そして標識された標的DNAとハイブリダイズされる場合に、PCR増幅された標的DNAまたは多くの異なる変異にハイブリダイズされる。

【0320】

あるいは、選択的PCR増幅に依存する対立遺伝子特異的増幅技術は、本発明と合わせて使用され得る。特異的増幅についてのプライマーとして使用されるオリゴヌクレオチドは、分子の中心において(その結果、増幅は、差次的ハイブリダイゼーションに依存する)(Gibbsら(1989)Nucleic Acids Res 17:2437~2448)か、あるいは適切な条件下でミスマッチが妨げられ得るかまたはポリメラーゼ伸長を減少し得る、1つのプライマーの3'の最末端で、目的の変異を保有し得る(Prossner(1993)Tibtech 11:238)。さらに、変異の領域において新規な制限部位を導入することは、切断に基づく検出を行うために望ましくあり得る(Gaspariniら(1992)Mol Cell Probes 6:1)。特定の実施形態において、増幅はまた、増幅用Taqリガーゼを使用して実施され得ることが予測される(Barany(1991)Proc Natl Acad Sci USA 88:189)。このような場合において、連結は、5'配列の3'末端に完全なマッチが存在する場合にのみ生じ、増幅の存在または非存在を探索することによって、特定の部位で既知の変異の存在を検出することを可能にする。

#### 【0321】

本明細書中に記載される方法は、例えば、本明細書中に記載される少なくとも1つのプローブ核酸または抗体試薬を含む、予めパッケージングされた診断キットを利用することによって実施され得、これは、例えば、SECX遺伝子を含む疾患または疾病の症状または家族病歴を示す患者を診断するための臨床的設定において簡便に使用され得る。

#### 【0322】

さらに、SECXが発現される任意の細胞型または組織(好ましくは、末梢白血球)は、本明細書中に記載される予後アッセイにおいて利用され得る。しかし、有核細胞を含む任意の生物学的サンプル(例えば、頬粘膜細胞を含む)が、使用され得る。

#### 【0323】

(薬理ゲノム学(Pharmacogenomics))

S E C X 活性（例えば、S E C X 遺伝子発現）に対する刺激性または阻害性の影響を有する因子、すなわちモジュレーターは、本明細書中に記載されるスクリーニングアッセイによって同定されるように、異常な S E C X 活性に関連する障害（例えば、癌または妊娠性障害、あるいは上記個々の節 1 ~ 14 に記載されるような、S E C X に特異的な疾患）を処置（予防的または治療的に）するために個体に投与され得る。このような処置と合わせて、個体の薬理ゲノム学（すなわち、個体の遺伝子型と外来化合物または薬物に対するその個体の応答との間の関係についての研究）が、考慮され得る。治療剤の代謝における差異は、薬理的に活性な薬物の用量と血中濃度との間の関係を変更することによって、重篤な毒性または治療の失敗を導き得る。従って、個体の薬理ゲノム学は、個体の遺伝子型の考慮に基づく予防的または治療的処置のために有効な薬剤（例えば、薬物）の選択を許容する。このような薬理ゲノム学は、さらに、適切な投薬量および治療剤レジメンを決定するために使用され得る。従って、S E C X タンパク質の活性、S E C X 核酸の発現、あるいは個体における S E C X 遺伝子の変異含量が決定されて、それによって個体の治療的または予防的処置のために適切な薬剤を選択し得る。

#### 【0324】

薬理ゲノム学は、罹患された人において変更された薬物の性質および異常な作用に起因する、薬物に反応する臨床的に有意な遺伝性変更を扱う。例えば、Eichelbaum、Clin Exp Pharmacol Physiol, 1996, 23: 983 ~ 985 および Linder、Clin Chem, 1997, 43: 254 ~ 266 を参照のこと。一般に、2つの型の薬理ゲノム学状態が、区別され得る。薬物が身体に作用する方法を変更する1つの因子として伝達される遺伝的状态（変更された薬物作用）、または身体が薬物に作用する方法を変更する1つの因子として伝達される遺伝的状态（変更された薬物代謝）。これらの薬理ゲノム学状態は、稀な欠損としてか、または多型としてのいずれかで生じ得る。例えば、グルコース - 6 - リン酸デヒドロゲナーゼ（G6PD）欠損は、一般的な遺伝性酵素病であり、この主な臨床的合併症は、酸化剤薬物（抗マラリア剤、スルホンアミド、鎮痛薬、ニトロフラン）の摂取およびソラマメの

消費後の溶血である。

#### 【0325】

例示的な実施形態として、薬物代謝酵素の活性は、薬物作用の強度および持続期間の両方の主要な決定因子である。薬物代謝酵素（例えば、N - アセチルトランスフェラーゼ2（NAT2）およびシトクロムP450酵素CYP2D6およびCYP2C19）の遺伝的多型の発見は、幾人かの患者が予期される薬物効果を得ないか、または標準的かつ安全な用量の薬物を摂取した後に過大な薬物応答および深刻な毒性を示すことに関する説明を提供した。これらの多型は、集団において2つの表現型（高い代謝能を持つ人（*extensive metabolizer*）（EM）および低い代謝能を持つ人（*poor metabolizer*）（PM））で表現される。PMの罹患率は、異なる集団の間で異なる。例えば、CYP2D6をコードする遺伝子は高度に多型であり、そしていくらかの変異がPMにおいて同定されており、この全ては機能的CYP2D6の非存在に至る。CYP2D6およびCYP2C19の低い代謝能を持つ人は、彼らが標準的な用量を受けの場合に、かなり頻繁に過大な薬物応答および副作用を経験する。代謝産物が活性な治療的部分である場合、そのCYP2D6形成代謝産物であるモルヒネによって媒介されるコデインの鎮痛効果について実証されるように、PMは治療的応答を示さない。他の極端なものは、標準的な用量に応答しない、いわゆる超迅速な代謝能を持つ人である。最近、超迅速な代謝の基準となる分子は、CYP2D6遺伝子増幅に起因していることが同定されている。

#### 【0326】

従って、SECXのタンパク質の活性、SECXの核酸の発現、あるいは個体におけるSECXの遺伝子の変異内容を決定して、それによって、その個体の治療的または予防的処置のために適切な薬剤を選択し得る。さらに、薬理ゲノム学の研究を使用して、個体の薬物応答性の表現型の同定に対して薬物代謝酵素をコードする多型対立遺伝子の遺伝子型を適用し得る。この知見は、用量または薬物選択に適用される場合、有害な反応または治療の失敗を回避し得、従って、被験体をSECXの調節因子（例えば、本明細書中に記載される例示的なスクリーニングアッセイの1つによって同定される調節因子）を用いて処置する場合に治療

的または予防的効率を増強し得る。

【0327】

(臨床試験の間の効果のモニタリング)

S E C Xの発現または活性(例えば、異常な細胞増殖および/または分化を調節する能力)に対する薬剤(例えば、薬物、化合物)の影響をモニタリングすることは、基本的な薬物スクリーニングにおいてのみならず、臨床試験においてもまた適用され得る。例えば、本明細書中に記載されるようなスクリーニングアッセイによって決定される薬剤が、S E C Xの遺伝子発現、タンパク質レベルを増加するため、またはS E C X活性をアップレギュレートする効力を、減少したS E C Xの遺伝子発現、タンパク質レベル、またはダウンレギュレートしたS E C Xの活性を示す被験体の臨床試験においてモニターし得る。あるいは、スクリーニングアッセイによって決定される薬剤が、S E C Xの遺伝子発現、タンパク質レベルを減少、またはS E C Xの活性をダウンレギュレートする効力を、増加したS E C Xの遺伝子発現、タンパク質レベル、またはアップレギュレートしたS E C Xの活性を示す被験体の臨床試験においてモニターし得る。このような臨床試験において、S E C Xの発現または活性、および好ましくは、例えば、細胞性増殖障害、または上記個々の節1~14に記載するような、S E C Xに特異的な疾患に関連した他の遺伝子が、「リードアウト(読み出し)(read out)」、すなわち、特定の細胞の免疫応答のマーカースとして使用され得る。

【0328】

例えば、限定の目的ではないが、S E C Xを含む遺伝子(これは、S E C X活性(例えば、本明細書中に記載されるようなスクリーニングアッセイにおいて同定される)を調節する薬剤(例えば、化合物、薬物または低分子)を用いる処置によって、細胞内で調節される)が、同定され得る。従って、細胞性増殖障害に対する薬剤の効果を研究するために、例えば、臨床試験において、細胞が単離され得、そしてRNAが調製され得、そしてS E C Xおよびこの障害に関連する他の遺伝子の発現のレベルについて分析され得る。遺伝子発現のレベル(すなわち、遺伝子発現パターン)は、本明細書中に記載されるように、ノーザンブロット分析もしくはRT-PCRによるか、あるいは産生されるタンパク質の量を測定

することによるか、本明細書中に記載されるような方法の1つによるか、あるいはSECXまたは他の遺伝子の活性のレベルを測定することによって、定量され得る。この様式で、この遺伝子発現パターンは、この薬剤に対する細胞の生理学的応答の指標であるマーカーとして作用し得る。従って、この応答状態は、この薬剤を用いる個体の処置の前、および処置の間の種々の時点で、決定され得る。

#### 【0329】

1つの実施形態において、本発明は、薬剤（例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、タンパク質、ペプチド、ペプチド模倣物、核酸、低分子、または本明細書中に記載されるスクリーニングアッセイによって同定される他の薬物候補物）を用いる、被験体の処置の効力をモニタリングするための方法を提供し、これは、以下の工程を包含する：(i) 薬剤の投与の前に、被験体から投与前サンプルを得る工程；(ii) この投与前サンプルにおいて、SECXのタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現のレベルを検出する工程；(iii) この被験体から1つ以上の投与後サンプルを得る工程；(iv) この投与後サンプルにおいて、SECXのタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現または活性のレベルを検出する工程；(v) この投与前サンプルにおけるSECXのタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現または活性のレベルを、この投与後サンプルにおけるSECXのタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現または活性のレベルと比較する工程；ならびに(vi) 従って、この被験体に対する薬剤の投与を変更する工程。例えば、この薬剤の増加した投与は、検出されるよりも高いレベルにSECXの発現または活性を増加するために（すなわち、この薬剤の効力を増加するために）望ましくあり得る。あるいは、この薬剤の減少した投与は、検出されるよりも低いレベルにSECXの発現または活性を減少するために（すなわち、この薬剤の効力を減少するために）望ましくあり得る。

#### 【0330】

（処置の方法）

本発明は、異常なSECXの発現または活性に関連する障害の危険性のある（または感受性）か、またはこの障害を有する被験体を処置する予防的および治療的の両方の方法を提供する。

## 【0331】

(障害)

(その疾患または障害に罹患していない被験体と比較して)増加したレベルまたは生物学的活性によって特徴付けられる疾患および障害は、活性を拮抗する(すなわち、低減または阻害する)治療剤を用いて処置され得る。活性を拮抗する治療剤は、治療的または予防的な様式で、投与され得る。利用され得る治療剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない:(i)上記ペプチド、またはそのアナログ、誘導体、フラグメントもしくはホモログ;(ii)上記ペプチドに対する抗体;(iii)上記ペプチドをコードする核酸;(iv)アンチセンス核酸および「機能不全性」である(すなわち、上記ペプチドに対するコード配列のコード配列内の異種挿入に起因する)核酸の投与が、相同組換えによって上記ペプチドの内因性機能を「ロックアウトする」ために利用される(例えば、Capecchi、1989、Science 244:1288~1292を参照のこと);または(v)上記ペプチドとその結合パートナーとの間の相互作用を変化させる、調節因子(すなわち、インヒビター、アゴニストおよびアンタゴニスト(本発明のさらなるペプチド模倣物または本発明のペプチドに対して特異的な抗体を含む))。

## 【0332】

(その疾患または障害に罹患していない被験体と比較して)減少したレベルまたは生物学的活性によって特徴付けられる疾患および障害は、活性を増加させる(すなわち、活性に対するアゴニストである)治療剤を用いて処置され得る。活性をアップレギュレートする治療剤は、治療的または予防的な様式で、投与され得る。利用され得る治療剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない:上記ペプチド、またはそのアナログ、誘導体、フラグメントもしくはホモログ;あるいはバイオアベイラビリティを増加させるアゴニスト。

## 【0333】

増加したレベルまたは減少したレベルは、ペプチドおよび/またはRNAを定量することによって、容易に検出され得る。この定量は、患者の組織サンプルを(例えば、生検組織から)入手し、そしてそのサンプルを、その発現したペプチ

ド（または上記ペプチドのmRNA）のRNAレベルまたはペプチドレベル、構造および/または活性をインビトロでアッセイすることによる。当該分野において周知の方法としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：イムノアッセイ（例えば、ウェスタンブロット分析、ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）ポリアクリルアミドゲル電気泳動が後に続く免疫沈降、免疫細胞化学などによる）および/またはmRNAの発現を検出するためのハイブリダイゼーションアッセイ（例えば、ノーザンアッセイ、ドットブロット、インサイチュハイブリダイゼーションなど）。

#### 【0334】

（予防的方法）

1つの局面において、本発明は、被験体において異常なSECXの発現または活性と関連する疾患または状態を、SECXの発現または少なくとも1つのSECX活性を調節する薬剤をこの被験体に投与することによって予防するための方法を提供する。異常なSECXの発現または活性によって引き起こされるかまたはこれらに起因する、疾患にかかる危険がある被験体は、例えば、本明細書中に記載の診断アッセイまたは予後アッセイのいずれか、またはそれらの組み合わせによって、同定され得る。予防薬剤の投与は、疾患または障害が予防されるか、あるいはその進行を遅らせられるように、このSECX異常の特徴である症状の発現の前に行い得る。このSECX異常の型に依存して、例えば、SECXアゴニスト薬剤またはSECXアンタゴニスト薬剤が、その被験体を処置するために使用され得る。その適切な薬剤は、本明細書中に記載のスクリーニングアッセイに基づいて決定され得る。本発明の予防方法は、以下の小区分において、さらに議論される。

#### 【0335】

（治療方法）

本発明の別の局面は、治療目的のためのSECX発現または活性を調節する方法に関する。本発明の調節方法は、細胞を、その細胞に関するSECXタンパク質活性の活性のうちの1つ以上を調節する薬剤と接触させる工程を包含する。SECXタンパク質活性を調節する薬剤は、核酸またはタンパク質、SECXタン

パク質の天然に存在する同族リガンド、ペプチド、SECXペプチド模倣物、または他の低分子のような、本明細書中に記載されるような薬剤であり得る。1つの実施形態において、この薬剤は、SECXタンパク質活性のうちの1つ以上を刺激する。このような刺激薬剤の例としては、活性なSECXタンパク質、およびその細胞に導入されたSECXをコードする核酸分子が挙げられる。別の実施形態において、この薬剤は、SECXタンパク質活性のうちの1つ以上を阻害する。このような阻害薬剤の例としては、アンチセンスSECX核酸分子、および抗SECX抗体が挙げられる。これらの調節方法は、インビトロで（例えば、その薬剤とともにその細胞を培養することによって）、あるいはインビボで（例えば、被験体にその薬剤を投与することによって）実施され得る。このように、本発明は、SECXのタンパク質または核酸分子の、異常な発現または異常な活性によって特徴付けられる、疾患または障害に罹患した個体を処置する方法を提供する。1つの実施形態において、この方法は、SECXの発現または活性を調節する（例えば、アップレギュレートまたはダウンレギュレートする）薬剤（例えば、本明細書中に記載のスクリーニングアッセイによって同定される薬剤）あるいはそのような薬剤の組み合わせを投与する工程を包含する。別の実施形態において、この方法は、SECXのタンパク質または核酸分子を、低減したかまたは異常な、SECXの発現または活性を補償するための治療として、投与する工程を包含する。

#### 【0336】

SECX活性の刺激は、SECXが異常にダウンレギュレートされている状況、および/またはSECX活性の増加が有益な効果を有するようである状況において、望ましい。このような状況の1つの例は、被験体が、異常な細胞増殖および/または細胞分化によって特徴付けられる障害（例えば、癌）を有する場合である。このような状況の別の例は、被験体が妊娠疾患（例えば、プレクランプシア（preclampsia））を有する場合である。本発明の他の疾患としては、上記個々の節1～14に記載されるような、SECXに特異的な疾患が挙げられる。

#### 【0337】

本発明はさらに、以下の実施例によって例示されるが、これらは、限定として解釈されるべきではない。本出願を通じて引用される全ての参考文献、特許および公開された特許出願の内容が、本明細書によって参考として援用される。

#### 【0338】

(実施例)

(実施例1. 発現ベクターpCEP4/Secの調製)

オリゴヌクレオチドプライマーのpSec-V5-His順方向5'-CTCGTCCCTCG AGGGTAAGCCTATCC CTAAC-3' (配列番号32) およびpSec-V5-His逆方向5'-CTCGTCCGGGC CCTGATCAGCGGGTTTAAA C-3' (配列番号33) を、pcDNA3.1-V5His (Invitrogen, Carlsbad, CA) 発現ベクター由来のフラグメントを増幅するように設計した。PCR産物を、XhoIおよびApaIで消化し、そしてIg リーダー配列 (Invitrogen, Carlsbad, CA) を含むXhoI/ApaI消化pSec Tag2 Bベクターに結合させた。生じたベクターのpSec V5 Hisの正確な構造を、DNA配列分析によって確認した。このベクターpSec V5 Hisを、PmeIおよびNheIで消化し、そしてPmeI-NheIフラグメントを、BamHI/KlenowおよびNheI処理ベクターpCEP4 (Invitrogen, Carlsbad, CA) に結合させた。生じたベクターをpCEP4/Secと名づけた。

#### 【0339】

(実施例2. 11753149の分子クローニング)

本実施例において、クローニングを、残基32~326からのクローン11753149cDNAについて記載する。このクローン11753149cDNAは、残基327で開始すると予測される膜結合ドメインを有しない、予測された成熟タンパク質をコードする。

#### 【0340】

オリゴヌクレオチドプライマーを、上記の11753149配列をPCR増幅するように設計した。順方向プライマーは、インフレームBglII制限部位(

下線) :

【0341】

【化5】

11753149 SECF: 5'-CTCGTC

AGATCT CGC AGC GGA GAT GCC ACC TTC CCC AAA G-3' (SEQ ID NO:34)

を含み、そして逆方向プライマーは、インフレーションXhoI制限部位(下線) :

【0342】

【化6】

11753149 SECR: 5'-CTCGTC

CTCGAG CCT CCT CGA CGT GCC GTT GCT CAC CTC G-3' (SEQ ID NO:35)

を含む。

【0343】

3つの分離PCR反応を、5ngのヒト胎児脳cDNAテンプレート、ヒト精巢、ヒト胎児脳、ヒト乳房およびヒト骨格筋由来のcDNAの等量から合わされた5ngのcDNAの合計、および5ngのヒト精巢cDNAテンプレートを用いて始めた。この反応混合物は、11753149SECFおよび11753149SECRプライマーの各々1μM、5マイクロモルのdNTP(Clontech Laboratories, Palo Alto CA)および1μLの50X Advantage-HF 2ポリメラーゼ(Clontech Laboratories, Palo Alto CA)の50μLの反応容量を含んだ。以下の反応条件を使用した:

- a) 96 3分
- b) 96 30秒変性
- c) 60 30秒、プライマーアニーリング
- d) 72 2分伸長

工程(b)~(d)を35回繰り返す。

【0344】

e) 72 5分最終伸長。

【0345】

予測された885bp増幅産物を、すべてのサンプルにおけるアガロースゲル電気泳動によって検出した。ヒト胎児脳由来のフラグメントを、アガロースゲルから精製し、そしてpCR2.1ベクター(Invitrogen, Carlsbad, CA)に結合させた。クローン化挿入物を配列決定しかつ11753149の予測された成熟形態をコードするORFとして確認した。この構築物は、TA-11753149-S263Dと呼ばれる。このクローン化配列を、予測された配列と100%同一であると決定した。

【0346】

(実施例3. ヒト胚腎臓293細胞におけるh11753149の発現)

ヒトクローン11753149配列を含むBglII-XhoIフラグメントを、11753149-pCR2.1から単離し、そしてベクターpCEP4/Secにサブクローン化し、発現ベクターpCEP4/Sec-11753149を生成した。pCEP4/Sec-11753149ベクターを、Lipofectamine Plus™試薬(Life Technologies, Rockville, MD)を用いて製造者指示に従って293細胞にトランスフェクトした。細胞ペレットおよび上清をトランスフェクションの72時間後収集し、そして抗V5抗体を用いるウエスタンブロット(還元条件)によるh11753149発現を調査した。図15は、h11753149が、64kDaのまわりで広く分布し35kDaにおいてマイナーバンドを有する293細胞によって分泌されるタンパク質として発現されることを示す。11753149のクローン化フラグメントの予測された分子量は、約32kDaである。図15中の約35kDaで観測される、低強度バンドは、改善されてない遺伝子産物の予測された分子量に密接に対応する。プログラムPROSITEは、このフラグメントにおける潜在的N-グリコシル化部位を予測する。組み換え11753149タンパク質の様々なグリコシル化は、図15中の64kDaのまわりで観測されるタンパク質の広い分布を説明する。

【0347】

(実施例4.3883556の分子クローニング)

この実施例は、クローン3883556の予測された全長タンパク質についてのcDNAコードのクローニングを記載する。以下のオリゴヌクレオチドプライマーを、全長ORFをPCR増幅するように設計した。下流クローニングの目的のために、順方向プライマーは、インフレーション BamHI 制限部位を含み、そして逆方向プライマーは、インフレーション XhoI 制限部位を含む。制限部位配列に下線をひき、そして順方向プライマーはまた、最適化 Kozak 配列 (イタリック) を含む。使用したプライマー配列は、

【0348】

【化7】

3883556 F-TOPO-F: GGA TCC ACC ATG AAT TTT CTG AAA TTA ATT GCT GTG TTT  
ATA G-3' (SEQ ID NO:36)

および

【0349】

【化8】

3883556 F-TOPO-R: 5'-CTC GAG ATT CAG CAG CTC CAG ACT  
CCC CCA TCC ATG-3' (SEQ ID NO:37)

である。

【0350】

PCR反応を、5 ngのヒト胎児脳cDNAテンプレートを使用して開始した。この反応混合物は、3883556 F-TOPO-Fプライマーおよび3883556 F-TOPO-Rプライマーの各々1 μM、5マイクロモルのdNTP (Clontech Laboratorys, Palo Alto CA) および1 μlの50 X Advantage-HF 2ポリメラーゼ (Clontech Laboratories, Palo Alto CA) の50 μLの反応容量を含んだ。以下の反応条件を使用した:

a) 96 3分

- b) 96 30秒変性  
 c) 60 30秒、プライマーアニーリング  
 d) 72 2分伸長

工程 (b) ~ (d) を35回繰り返す。

【0351】

- e) 72 5分最終伸長。

【0352】

予測された498bp増幅産物を、アガロースゲル電気泳動によって検出した。このフラグメントを、アガロースゲルから精製し、そしてpCDNA3.1-TOPO-V5Hisベクター (Invitrogen, Carlsbad, CA) に製造者推奨に従って結合させた。クローン化挿入物を配列決定しかつ1つの塩基対変更を有する、3883556の予測された成熟形態をコードするORFとして確認した。この構築物は、pCDNA3.1-TOPO-3883556-S54 (配列番号29) (図18に示される) と呼ばれる。この変更を確認するために、独立したPCR反応を上記の同一条件およびパラメーターを使用して胎児脳テンプレート上で開始した。第2PCR中で得られた単位複製配列を配列決定しそしてこの変更を再び検出した。この変更されたヌクレオチドは、クローン3883556の元の配列と比較して、図18に示される変更されたタンパク質配列 (配列番号30) を与えた。変更された塩基および変更されたアミノ酸残基は、図18中で下線を引いた。

【0353】

(実施例5. 4437909の分子クローニング)

この実施例は、クローン4437909について開示された配列のクローニングを記載する。クローン4437909の残基31~269をコードするセグメントを、クローニングのために選択した。以下のオリゴヌクレオチドプライマーを、cDNAをPCR増幅するために設計した。下流のクローニングの目的のために、正方向プライマーは、インフレイムBgl II制限部位を含み、そして逆方向プライマーは、インフレイムXho I制限部位を含む。制限部位の配列に下線が引かれる。使用されるプライマーは、以下である：4437909-F：

【0354】

【化9】

5'-AGATC TCAGA GAGCG CCTGC CCGGG GAACC-3'

(配列番号38) および4437909 - R :

【0355】

【化10】

5'-CTCGA GGCGG TCCTC CCGGA CCGGC CGGAT C-3'

(配列番号39)。

【0356】

PCR反応を、5 ngの総cDNAを、鋳型として等量のヒト胎児脳、精巢、乳房および骨格筋と組み合わせて用いて設定した。反応混合物は、1 μMの4437909 4437909 - Fおよび4437909 - Rプライマーの各々、5 μMのdNTP (Clontech Laboratories、Palo Alto CA) および1 μLの50×Advantage - HF2ポリメラーゼ (Clontech Laboratories、Palo Alto CA) (50マイクロリットル容量中) を含んだ。以下の反応条件を使用した：

- a) 96 3分間
  - b) 96 30秒間変性
  - c) 60 30秒間、プライマーアニーリング
  - d) 72 2分間伸長
- 工程 (b) ~ (d) を35回繰り返す
- e) 72 5分間最終伸長。

【0357】

約717 kbpの予測した増幅産物を、アガロースゲル電気泳動により検出した。このフラグメントをアガロースゲルから単離し、製造者の指示に従って、ベ

クターpCR2.1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) に連結した。クローニングしたインサートを、ベクター特異的M13正方向プライマー、およびM13逆方向プライマー、次いで以下の遺伝子特異的プライマーを使用して、配列決定した：4437909 S1: 5' GAGGACGGCTCCGTGAAC - 3' (配列番号40), 4437909 S2: 5' -GTTCA CGGAGCCGTCCTC - 3' (配列番号41), 4437909 S3: 5' -CAGCGGCATGAGGTTTCAACC - 3' (配列番号42), および4437909 S4: 5' -GGTGAACCTCATGCCGCTG - 3' (配列番号43)。

#### 【0358】

この構築物をTA-4437909-S443と呼ぶ。クローンTA-4437909-S443中のコード配列は、クローン4437909.0.4 (図13; 配列番号25) に与えられるクローンと1bpだけ異なる。クローンTA-4437909-S443 (配列番号31) の配列は、図19に示され、そして変異塩基に下線が引かれている。しかし、この塩基の変化は、サイレントであり、クローン4437909.0.4 (図13) から予測したポリペプチド配列 (配列番号26) を変化しない。

#### 【0359】

(実施例6. ヒト胚腎臓293細胞におけるh4437909の発現)

ヒト4437909配列を含むBglII-XhoIフラグメントは、プラスミド4437909-pCR2.1から単離され、そしてベクターpCEP4/Secにサブクローニングされ、発現ベクターpCEP4/Sec-4437909を産生する。このpCEP4/Sec-4437909ベクターを、Lipofectamine Plus™試薬を使用し、製造業者の指示に従って (Gibco/BRL, Life Technologies, Inc., Rockville, MD) 293細胞内にトランスフェクトした。細胞ペレットおよび上清を、トランスフェクションの72時間後に収集し、そして抗V5抗体を用いるウェスタンブロット (還元条件) によって、h4437909発現について試験した。図16は、h4437909が、16、40、および70kDaの3つの

離散性分泌タンパク質バンドとして、293細胞中で発現されたことを示す。予測した分子量は、27064Daである。残基118に予測されるN-グリコシル化部位が存在する。従って、約40kDaのバンドが、pCEP4/Sec-4437909によってコードされる、タンパク質の完全な大きさのモノマー形態に対応すると考えられる。

#### 【0360】

(実施例7.発現ベクターpETMY-h4437909を使用する組換えE.coli細胞中でのh4437909の発現)

ベクターpRSETA(Invitrogen Inc., Carlsbad, CA)は、XhoIおよびNcoI制限酵素で消化した。使用されるオリゴヌクレオチドリンカーは、Linker1:5'-CATGGTCAGCCTAC-3'(配列番号44)およびLinker2:5'-TCGAGTAGGCTGAC-3'(配列番号:45)を含む。Linker1およびLinker2を、37℃でアニールし、そしてpRSETAで処理したXhoI-NcoIに結合した。得られたベクターを、制限分析および塩基配列決定によって確認し、そしてpETMYとして命名した。このBamHIおよびXhoIフラグメント(上を参照のこと)を、BamHIおよびXhoI制限酵素で消化されたpETMYに結合した。この制限ベクターを、pETMY-4437909と命名した。このベクターにおいて、h4437909を、6xHis標識およびT7エピトープにN-末端で融合した。次いで、プラスミドpETMY-4437909の発現を、E.coli発現宿主BL21(DE3,pLys)(Novagen, Madison, WI)に形質転換した。タンパク質4437909を、製造業者の指示に従って誘導した。誘導後、全ての細胞を採取し、そしてタンパク質を、抗HisGly抗体(Invitrogen, Carlsbad, CA)を使用するウエスタンブロットによって分析した。図17は、h4437909がE.coli細胞において34kDaタンパク質として発現されたことを示す。ここことは、pETMY-4437909によってコードされるタンパク質について予測される27064Daの分子量にほぼ対応する。

#### 【0361】

(実施例8.3883556核酸の定量的発現)

クローン3883556の定量的発現を、Perkin-Elmer Biosystems ABI PRISM(登録商標)7700配列決定システムで実施されるリアルタイム定量PCR(TAQMAN(登録商標))によって、41個の正常サンプルおよび55個の腫瘍サンプル中で評価した(表2を参照のこと)。

【0362】

第1に、96RNAサンプルをアクチンに正規化し、そしてGAPDH.RNA(約50ng総RNAまたは約1ngポリA+RNA)を、TAQMAN(登録商標)Reverse Transcription Reagents Kit(PE Biosystems, Foster City, CA; cat #N808-0234)および製造者のプロトコールに従ったランダムな6量体を使用してcDNAに変換した。反応を、20 $\mu$ l中で実施し、そして30分間48 $^{\circ}$ でインキュベートした。次いで、cDNA(5 $\mu$ l)を、製造業者の指示に従って、アクチンおよびGAPDH TAQMAN(登録商標)Assay Reagents(PE Biosystems; cat.#'s4310881Eおよび4310884Eの各々)およびTAQMAN(登録商標)universal PCR Master Mix(PE Biosystems; cat#4304447)を使用するTAQMAN(登録商標)反応のために、分離プレートに移した。反応を、以下のパラメータを使用して25 $\mu$ l中で実施した:50 $^{\circ}$ で2分;95 $^{\circ}$ で10分;95 $^{\circ}$ で15秒/60 $^{\circ}$ で1分(40秒)。結果を、ログスケールを使用するCT値(所与のサンプルは、蛍光の閾値レベル通過するサイクル)として記録し、2つのサンプル間のRNA濃度の差は、2のCT乗(すなわち2<sup>-CT</sup>)として示した。アクチンおよびGAPDHについて得られたCTの平均値は、RNAサンプルを正規化するために使用した。最も高いCT値を発生するRNAサンプルは、さらなる希釈を必要としないが、他の全てのサンプルは、-アクチン/GAPDHの平均CT値に従うサンプルと比較して希釈した。

【0363】

正規化RNA (5  $\mu$ l) を、cDNAに転換し、製造者の指示に従って、One Step RT-PCR Master Mix Reagents (PE Biosystems; cat. #4309169) および遺伝子特異的プライマーを使用するTAQMAN (登録商標) によって分析した。プローブおよびプライマーを、インプットとして3352358の配列を使用する、Perkin Elmer Biosystem's Primer Express Softwareパッケージ (Apple Computer's Macintosh Power PC用のバージョンI) に従って、各アッセイに対して設定した。使用したプライマーは、Ag45 (F) : 5' - TCCCTGGGA A ATGTCACACA - 3' (配列番号46) およびAg45 (R) : 5' - TTCCTGGTGCCAAAGAATGA G - 3' (配列番号47) であり、そして標識化プローブは、Ag45 (P) : TET - 5' - AGAACAT CAA TCTTCCTTCC CCACTCCTGA G3' - TAM (配列番号48) であった。

#### 【0364】

デフォルトの設定を、反応条件に対して使用し、そして以下のパラメータを、プライマーを選択する前に設定した：プライマーの濃度 = 250 nM、プライマーの融点 ( $T_m$ ) 範囲 = 58 ~ 60、プライマーの最適  $T_m$  = 59、プライマーの最大差 = 2、プローブは、5' Gを有さず、プローブ  $T_m$  は、プライマー  $T_m$  よりも10 高くなければならず、アンプリコンサイズ = 75 bp ~ 100 bp。選択されるプローブおよびプローブ (以下を参照のこと) は、Synthegen (Houston, TX, USA) によって合成された。プローブを、未反応の色素を除去するために2回HPLC精製し、プローブの5' 末端および3' 末端へのレポーター色素およびクエンチャー色素のカップリングを立証するために、マススペクトルによって評価した。正方向プライマーおよび逆方向プライマーの最終濃度は、各々900 nMであり、そしてプローブの濃度は、200 nMであった。

#### 【0365】

PCR条件：各組織および各細胞株由来の正規化RNAを、96ウエルPCR

プレート(Perkin Elmer Biosystems)の各ウエルにスポットした。2つのプローブ(配列プローブで多重化された配列特異的プローブおよび別の遺伝子特異的プローブ)を含むPCRカクテルを、PE Biosystems 770の1×TaqMan™PCR Master Mix(5mMのMgCl<sub>2</sub>、dNTP(dA、G、C、U(1:1:1:2の比))、0.25U/ml AmpliTaq Gold™(PE Biosystems)、および0.4U/μlのRNaseインヒビター、および0.25U/μlの逆転写酵素を含む)を用いて設定した。逆転写を、48℃で30分間実施し、次いで以下のPCR増幅サイクルを実施した:95℃で10分、次いで90℃で15秒間、60℃で1分間を40サイクル。

#### 【0366】

TaqManパネルを、図20、パネルA、BおよびCに示す。高いレベルの発現の組織としては、胎児脳、小脳、海馬、視床下部、肝臓、腎臓、乳癌、および子宮が挙げられる。これらの結果は、3883556標的にする治療学的標識が、脳腫瘍、好ましくは、星状細胞腫および神経膠腫;選択される腎細胞のような癌および卵巣癌を含むことを示唆する。

#### 【0367】

#### 【表2】

表2. RNAの組織源

1 内皮細胞	49 腎臓癌/腎臓-786-0
2 内皮細胞 (処置)	50 腎臓癌/腎臓-A498
3 脾臓	51 腎臓癌/腎臓-RXF 393
4 脾臓癌 CAPAN 2	52 腎臓癌/腎臓-ACHN
5 脂肪	53 腎臓癌/腎臓-UO-31
6 副腎	54 腎臓癌/腎臓-TK-10
7 甲状腺	55 肝臓
8 唾液腺	56 肝臓(胎児)
9 下垂体	57 肝臓癌 (胚芽細胞腫) HepG2
10 脳 (胎児)	58 肺
11 脳 (全体)	59 肺 (胎児)
12 脳 (扁桃)	60 肺癌 (小細胞)-LX-1
13 脳 (小脳)	61 肺癌 (小細胞)-NCI-H69
14 脳 (海馬)	62 肺癌 (小細胞変異)-SHP-77
15 脳 (視床下部)	63 肺癌 (大細胞)-NCI-H460
16 脳 (黒質)	64 肺癌 (非小細胞)-A549
17 脳 (視床)	65 肺癌 (非小細胞)-NCI-H23
18 脊髄	66 肺癌 (非小細胞)-HOP-62
19 CNS癌(膠芽/星状)-U87-MG	67 肺癌 (非小細胞)-NCI-H522
20 CNS 癌 (膠芽/星状)-U-1 18-MG	68 肺癌 (扁平)-SW 900
21 CNS 癌 (星状)-SW1783	69 肺癌 (扁平)-NCI-H596
22 CNS 癌*(神経; met)SK-N-AS	70 乳腺
23 CNS 癌 (星状)-SF-539	71 乳癌 * (胞水)-MCF-7
24 CNS 癌 (星状)-SNB-75	72 乳癌 * (胞水) MDA-MB-231
25 CNS 癌 (膠芽)-SNB-19	73 乳癌 * (胞水)-T47D
26 CNS 癌 (膠芽)-U251	74 乳癌 BT-549
27 CNS 癌 (膠芽)-SF-295	75 乳癌 MDA-N
28 心臓	76 卵巢
29 骨格筋	77 卵巢癌-OVCAR-3
30 骨髄	78 卵巢癌-OVCAR-4
31 胸腺	79 卵巢癌-OVCAR-5
32 脾臓	80 卵巢癌-OVCAR-8
33 リンパ節	81 卵巢癌-IGROV-1
34 大腸(上行)	82 卵巢癌*(腹水) SK-OV-3
35 胃	83 子宮筋層
36 小腸	84 子宮
37 大腸癌/GI 路-SW480	85 胎盤
38 大腸癌*/GI路-(SW480met)SW620	86 前立腺
39 大腸癌/GI 路-HT29	87 前立腺癌 * (骨 met) PC-3
40 大腸癌/GI 路-HCT-116	88 精巣
41 大腸癌/GI 路-CaCo-2	89 黒色腫/皮膚-Hs688 (A). T
42 大腸癌/GI 路-HCT-15	90 黒色腫*/皮膚-(met) Hs688 (B). T
43 大腸癌/GI 路-HCC-2998	91 黒色腫/皮膚-UACC-62
44 胃癌*/GI路-(肝臓met)NCI-N87	92 黒色腫/皮膚-M14
45 膀胱	93 黒色腫/皮膚-LOX IMVI
46 気管	94 黒色腫*/皮膚-(met) SK-MEL-5
47 腎臓	95 黒色腫/皮膚-SK-MEL-28
48 腎臓 (胎児)	96 黒色腫/皮膚-UACC-257

(実施例9. 4324229核酸の定量発現分析)

クローン4324229の定量発現により、実施例8に記載されるようなリアルタイム定量PCR (TAQMAN (登録商標)) によって正常および腫瘍を評

価した。使用されるクローン特異的プライマーは、Ab10(F): 5' - GCCTGGCTCCTGGATAGACA - 3' (配列番号49) およびAb10(R): 5' - CACGAGCAGCTGTTCCAGAC - 3' (配列番号50) であり、そして標識化プローブは、Ab10(P): - FAM - 5' - TGGCGGCACATTCACCTGCA G - 3' - TAMRA (配列番号51) であった。この組織源を表2に列挙する。

#### 【0368】

この結果を、図21、パネルA、BおよびCに示す。とりわけ、高レベルの発現を示す組織は、肺(NCI-H460)である。この結果は、4324229を標識するための治療学的な表示が、選択された肺癌、乳癌および卵巣癌を含むことを示唆する。

#### 【0369】

(実施例10 4339264核酸の定量発現分析)

クローン4339264の定量発現を、実施例8に記載されるようにリアルタイム定量PCR(TAQMAN(登録商標))によって正常および腫瘍を評価した。使用されるクローン特異的プライマーは、Ag120(F): 5' - AAA GGCGGAGGAAAGAAGTACTC - 3' (配列番号52) およびAg120(R): FAM - 5' - GCTCCCGTTCCCTCTCCA - 3' (配列番号53) であり、そして標識化プローブは、Ag120(P): FAM - 5' - CCTCTTTGTTCTTCTTGCCC GAGTTTCTTT - 3' - TAMRA (配列番号54) であった。

#### 【0370】

組織源を、表2に列挙する。結果を、図22、パネルA、BおよびCに示す。最も高い発現を、前立腺癌(骨met)PC-3に示した。高レベルの発現を示す他の組織は、脂肪、大腸癌(HCT-116)、腎臓癌(A498)、肺癌(S.CEEL変異)SHP-77、肺癌(大細胞)NCI-H460、卵巣、精巣および黒色腫(LOX IMVI)が挙げられる。さらに、この結果は、クローン4339264が、正常の脳または神経膠腫と比較した場合、星状細胞腫において下方制御されていることを示唆する。従って、4339264の発現を回

復することは、星状細胞腫の処置に有用であり得る。これは、多膜貫通パンパク質であるので、いくつかの種類の遺伝子治療が、必要である。

#### 【0371】

(実施例11.4391184核酸の定量発現分析)

クローン4391184の定量発現を、実施例8に記載されるようにリアルタイム定量PCR (TAQMAN (登録商標)) によって正常および腫瘍を評価した。使用されるクローン特異的プライマーは、Ab11 (F) ; 5' - TGGAA GTCCCTCGGTAAAGGA - 3' (配列番号55) および Ab11 (R) : 5' - AGGACACCTG TGCCCTGTCT - 3' (配列番号56) であり、そして標識化プローブは、AB11 (P) : FAM - 5' - CCCG CCTTGC CATTCCCTTC A - 3' - TAMRA (配列番号57) であった。

#### 【0372】

組織源を、表2に列挙する。この結果を、図23、パネル(A)、(B)および(C)に示す。最も高い発現を、前立腺癌(骨転位)PC-3に示す。高レベルの発現を示す他の組織は、脂肪、大腸癌(HCT-116)、腎臓癌(A498)、肺癌(S.CEEL変異)SHP-77、肺癌(大細胞)NCI-H460、卵巣、精巣および黒色腫(LOX IMVI)が挙げられる。さらに、この結果は、クローン4391184が、正常の脳または神経膠腫と比較した場合、星状細胞腫において下方制御されていることを示唆する。従って、4339264の発現を回復することは、星状細胞腫の処置に有用であり得る。これは、多膜貫通パンパク質であるので、いくつかの種類の遺伝子治療が、必要である。

#### 【0373】

クローン4391184は、造血器官、骨髄、胸腺、脾臓およびリンパ節で上方制御される。これによって、化学療法処置後のタンパク質薬物として有用な造血活性を有し得る。これは、標的試薬の全身送達を排除する。特異的な送達が達成され得る場合、標的試薬が、乳癌および選択された黒色腫を処置するのに有用であり得る。

#### 【0374】

(実施例12. 本発明のクローンの染色体位置を同定する放射ハイブリッドマッピング)

ヒト染色体マーカーを用いる放射ハイブリッドマッピングを、本発明に記載の多数のクローンについて実施した。これらの結果を得るために使用した手順は、Steenら(A Hiht-Density Integrated Genetic Linkage and Radiation Hybrid Map of the Laboratory Rat, Genome Research 1999 (1999年5月21日発行)第9巻: AP1-AP8、1999)に類似する。無作為化した放射により誘導したヒト染色体フラグメントを含む93細胞クローンのパネルを、96ウェルプレート内で、所定のクローンを独特の様式で同定するよう設計したPCRプライマーを使用して、スクリーニングした。これらの結果を表3に示す。この表は、クローン番号、クローンが見出される染色体、マーカー遺伝子から捜査されたクローンまでのcRでの距離、およびマーカー遺伝子の同一性を提供する。

【0375】

【表3】

表3. 本発明のクローンに対する放射ハイブリッドマッピングの結果

クローン番号	染色体番号	距離, cR	マーカー遺伝子
4339264	19	6.4	W1-5264
		311.50	IB11264
4437909	9	1.41	W1-6494
		426.40	CHLC.GCT3G05

(等価物)

本発明の特定の実施形態に関する前述の詳細な説明から、SECX遺伝子についての特有のヌクレオチド、ポリペプチド、およびそれらの使用方法が記載されていることは明らかである。特定の実施形態が、本明細書中で詳細に開示されたが、これは例示目的のためのみに例としてなされ、そして上記の添付した特許請求の範囲に関して制限することを意図されない。特に、種々の置換、変更、および改変が、特許請求の範囲によって規定される本発明の精神および範囲から逸脱

することなく本発明に対してなされ得ることは、本発明者らによって意図される。例えば、SECXヌクレオチドもしくはポリペプチドまたはそれらの使用方法の選択は、本明細書中に記載される実施形態の見識を有する当業者に慣用的事象であるとみなされる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、クローン2191999のIL-17様核酸配列（配列番号1）およびそれによってコードされるポリペプチド（配列番号2）を提供する。

【図2】

図2は、クローン11753149.0.6の核酸配列（配列番号3）およびそれによってコードされるポリペプチド（配列番号4）を提供する。

【図3】

図3は、クローン11753149.0.37の核酸配列（配列番号5）およびそれによってコードされるポリペプチド（配列番号6）を提供する。

【図4】

図4は、クローン3883556の核酸配列（配列番号7）およびそれによってコードされるポリペプチド（配列番号8）を提供する。

【図5】

図5は、クローン4301136-1の核酸配列（配列番号9）およびそれによってコードされるポリペプチド（配列番号10）を提供する。

【図6】

図6は、クローン4301136-2の核酸配列（配列番号11）およびそれによってコードされるポリペプチド（配列番号12）を提供する。

【図7】

図7は、クローン4324229の核酸配列（配列番号13）およびそれによってコードされるポリペプチド（配列番号14）を提供する。

【図8】

図8は、クローン4324229-2の核酸配列（配列番号15）およびそれによってコードされるポリペプチド（配列番号16）を提供する。

**【図9】**

図9は、クローンAC012614\_\_1.0.123の核酸配列（配列番号17）およびそれによってコードされるポリペプチド（配列番号18）を提供する。

**【図10】**

図10は、クローン4339264-2の核酸配列（配列番号19）およびそれによってコードされるポリペプチド（配列番号20）を提供する。

**【図11】**

図11は、クローン4357764-3の核酸配列（配列番号21）およびそれによってコードされるポリペプチド（配列番号22）を提供する。

**【図12】**

図12は、クローン4391184の核酸配列（配列番号23）およびそれによってコードされるポリペプチド（配列番号24）を提供する。

**【図13】**

図13は、クローン4437909.0.4の核酸配列（配列番号25）およびそれによってコードされるポリペプチド（配列番号26）を提供する。

**【図14】**

図14は、クローン4437909.0.55の核酸配列（配列番号27）およびそれによってコードされるポリペプチド（配列番号28）を提供する。

**【図15】**

図15は、293細胞によって分泌されたh11753149タンパク質のウェスタンブロットの表示である。

**【図16】**

図16は、293細胞によって分泌されたh4437909タンパク質のウェスタンブロットの表示である。

**【図17】**

図17は、E.coli細胞によって発現されたh4437909タンパク質のウェスタンブロットの表示である。

**【図18】**

図18は、クローンpCDNA3.0-TOPO-38835556-S54の核酸配列(配列番号29)およびそれによってコードされるポリペプチド(配列番号30)を提供する。

【図19】

図19は、クローンTA-4437909-S443の核酸配列(配列番号31)を提供する。

【図20】

図20は、3883556の組織発現についてのTaqManの結果の組織記載的な表示であり、ここで、表2において列挙される種々の細胞型からの結果が、パネルA、B、およびCにおいて示される。

【図21】

図21は、4324229の組織発現についてのTaqManの結果の組織記載的な表示であり、ここで、表2において列挙される種々の細胞型からの結果が、パネルA、B、およびCにおいて示される。

【図22】

図22は、4339264の組織発現についてのTaqManの結果の組織記載的な表示であり、ここで、表2において列挙される種々の細胞型からの結果が、パネルA、B、およびCにおいて示される。

【図23】

図23は、4391184の組織発現についてのTaqManの結果の組織記載的な表示であり、ここで、表2において列挙される種々の細胞型からの結果が、パネルA、B、およびCにおいて示される。

## 【図1】

70-2191999 (IL17様) の配列

翻訳 読み = タンパク質 - スレオキド 65 ~ 598

1 AATTCGGTACGAGGCTGGGGTTCAGGCCGGCAGCAGCTGCAGGCT  
 46 GACCTTGCAGCTTGGCGGAATGGACTGGCCTCACAACCTGCTGTT  
 MetAspTrpProHisAsnLeuLeuPh  
 91 TCTTCTTACCATTTCCATCTTCCTGGGGCTGGGCAGCCAGGAGCC  
 eLeuLeuThrIleSerIlePheLeuGlyLeuGlySerGlnGluPr  
 136 CCAAAGCAAGAGGAAGGGGCAAGGGCGGCTGGGCCCTGGCCTG  
 cGlnLysGlnGluGluGlyAlaArgAlaAlaTrpAlaLeuAlaTr  
 181 GCCTCACCAGGTGCCACTGGACCTGGTGTACCGATGAAACCGTA  
 pProHisGlnValProLeuAspLeuValSerArgMetLysProTy  
 226 TGCCCGCATGGAGGAGTATGAGAGGAACATCGAGGAGATGGTGGC  
 rAlaArgMetGluGluTyrGluArgAsnIleGluGluMetValAl  
 271 CCAGCTGAGGAACAGCTCAGAGCTGGCCCAGAGAAAGTGTGAGGT  
 aGlnLeuArgAsnSerSerGluLeuAlaGlnArgLysCysGluVa  
 316 CAACTTGCAGCTGTGGATGTCCAACAAGAGGAGCCTGTCTCCCTG  
 lAsnLeuGlnLeuTrpMetSerAsnLysArgSerLeuSerProTr  
 361 GGGCTACAGCATCAACCACGACCCAGCCGTATCCCCGTGGACCT  
 pGlyTyrSerIleAsnHisAspProSerArgIleProValAspLe  
 406 GCCGGAGGCACGGTGCCTGTGTCTGGGCTGTGTGAACCCCTTAC  
 uProGluAlaArgCysLeuCysLeuGlyCysValAsnProPheTh  
 451 CATGCAGGAGGACCGCAGCATGGTGAGCGTGCCGGTGTTCAGCCA  
 rMetGlnGluAspArgSerMetValSerValProValPheSerGl  
 496 GGTTCCTGTGGCGCCGCGCCTCTGCCCCCACC GCCCCGCACAGG  
 nValProValArgArgLeuCysProProProProArgThrGl  
 541 GCCTTGCCGCCAGCGCGCAGTCATGGAGACCATCGCTGTGGGCTG  
 yProCysArgGlnArgAlaValMetGluThrIleAlaValGlyCy  
 586 CACCTGCATCTTCTGAATCACCTGGCCCAGAAGCCAGGCCAGCAG  
 sThrCysIlePhe  
 631 CCCGAGACCATCCTCCTTGCACCTTGTGCCAAGAAAGGCCTATG  
 676 AAAAGTAAACACTGACTTTTGAAGCAAAAAAACCACAGGAAGCT  
 721 TCGGCTGGGTTCCAGACACATGGAAAACAGACTTCCTGTGCCAGC  
 766 GCATGCTGATCCCTTCAGCAGCCGCTTCTCCACCCTTGGGGCTGC  
 811 TCTCCAGCACCTGGCAGTGTCCAGAGCGGATAGGGGCGCCGTGTT  
 856 TGGTGAATGAGTGCACAGACGCCTCTAGGGGAGCCCAAGATCTG  
 901 CCTCCTGCCTCCCTCTATTATGCCTTCATAGGTGGGTGAGAACA  
 946 AGAATTCCTTATCAACCTCCCGGTCCCCACTGCCAATCACCCA  
 991 CCTCCATTCTACCTCTACAGCTGCCCCCTATCCCCAAAGTCCT  
 1036 GAAATTTTGTGGTTCACCTGCTCCAGGAGGCAGAGTTCCCATG  
 1081 AAGGGTATTAAACGTCCTACTACACTGC

## 【図2】

70-11753149.0.6 の配列

翻訳されたタンパク質 - アミノ酸 92~1123

1 CAAGCTTGAGAGCAACACAATCTATCAGGAAAGAAAGAAAGAAAA  
 46 AAACCGAACCTGACAAAAAAGAAGAAAAAGAAGAAAAA  
 91 CATGAAAACCATCCAGCCAAAAATGCACAATCTCTCTTTGGGC  
 MetLysThrIleGlnProLysMetHisAsnSerIleSerTrpAl  
 136 AATCTTCACGGGGCTGGCTGCTCTGTGTCTCTTCCAAGGAGTGCC  
 aIlePheThrGlyLeuAlaAlaLeuCysLeuPheGlnGlyValPr  
 181 CGTGCGCAGCGGAGATGCCACCTTCCCCAAGCTATGGACAACGT  
 oValArgSerGlyAspAlaThrPheProLysAlaMetAspAsnVa  
 226 GACGGTCCGGCAGGGGAGAGCGCCACCCTCAGGTGCACTATTGA  
 lThrValArgGlnGlyGluSerAlaThrLeuArgCysThrIleAs  
 271 CAACCGGGTCACCCGGGTGGCCTGGCTAAACCGCAGCACCATCCT  
 pAsnArgValThrArgValAlaTrpLeuAsnArgSerThrIleLe  
 316 CTATGCTGGGAATGACAAGTGGTGCCTGGATCCTCGCGTGGTCCT  
 uTyrAlaGlyAsnAspLysTrpCysLeuAspProArgValValLe  
 361 TCTGAGCAACACCCAAACGCAGTACAGCATCGAGATCCAGAACGT  
 uLeuSerAsnThrGlnThrGlnTyrSerIleGluIleGlnAsnVa  
 406 GGATGTGTATGACGAGGGCCCTTACACCTGCTCGGTGCAGACAGA  
 lAspValTyrAspGluGlyProTyrThrCysSerValGlnThrAs  
 451 CAACCACCCAAAGACCTCTAGGGTCCACCTCATTGTGCAAGTATC  
 pAsnHisProLysThrSerArgValHisLeuIleValGlnValSe  
 496 TCCCAAATTTGTAGAGATTTCTTCAGATATCTCCATTAATGAAGG  
 rProLysIleValGluIleSerSerAspIleSerIleAsnGluGl  
 541 GAACCAATATTAGCCTCACCTGCATAGCAACTGGTAGACCAGAGCC  
 yAsnAsnIleSerLeuThrCysIleAlaThrGlyArgProGluPr  
 586 TACGGTFACTTGGAGACACATCTCTCCCAAAGCGGTGGCTTTGT  
 oThrValThrTrpArgHisIleSerProLysAlaValGlyPheVa  
 631 GAGTGAAGACGAATACTTGGAAATTCAGGGCATCACCCGGGAGCA  
 lSerGluAspGluTyrLeuGluIleGlnGlyIleThrArgGluGl  
 676 GTCAGGGGACTACGAGTGCAGTGCCTCCAATGACGTGGCCGCGCC  
 nSerGlyAspTyrGluCysSerAlaSerAsnAspValAlaAlaPr

## 【図2-1】

(続き)

721 CGTGGTACGGAGAGTAAAGGTCACCGTGAACCTATCCACCATACAT  
 oValValArgArgValLysValThrValAsnTyrProProTyrIl  
 766 TTCAGAAGCCAAGGGTACAGGTGTCCCGTGGGACAAAAGGGGAC  
 eSerGluAlaLysGlyThrGlyValProValGlyGlnLysGlyTh  
 811 ACTGCAGTGTGAAGCCTCAGCAGTCCCCTCAGCAGAATTCAGTG  
 rLeuGlnCysGluAlaSerAlaValProSerAlaGluPheGlnTr  
 856 GTACAAGGATGACAAAAGACTGATTGAAGGAAAGAAAGGGGTGAA  
 pTyrLysAspAspLysArgLeuIleGluGlyLysLysGlyValLy  
 901 AGTGGAAAACAGACCTTTCCTCTCAAACTCATCTTCTCAATGT  
 sValGluAsnArgProPheLeuSerLysLeuIlePhePheAsnVa  
 946 CTCTGAACATGACTATGGGAACTACACTTGCCTGGCCTCCAACAA  
 lSerGluHisAspTyrGlyAsnTyrThrCysValAlaSerAsnLy  
 991 GCTGGGCCACACCAATGCCAGCATCATGCTATTTGGTCCAGGGCG  
 sLeuGlyHisThrAsnAlaSerIleMetLeuPheGlyProGlyAl  
 1036 CGTCAGCGAGGTGAGCAACGGCACGTCGAGGAGGGCAGGCTGCGT  
 aValSerGluValSerAsnGlyThrSerArgArgAlaGlyCysVa  
 1081 CTGGCTGCCGCCTCTTCTGGTCTTGCACCTGCTTCTCAAATTTTG  
 lTrpLeuProProLeuLeuValLeuHisLeuLeuLeuLysPhe  
 1126 ATGTGAGTGCCACTTCCCCACCCGGGAAAGGCTGCCGCCACCACC  
 1171 ACCACCAACACAACAGCAATGGCAACACCGACAGCAACCAATCAG  
 1216 ATATATACAAATGAAATTAGAAGAAACACAGCCTCATGGGACAGA  
 1261 AATTTGAGGGAGGGGAACAAGAATACTTTGGGGGAAAAGAGTT  
 1306 TTAAAAAAGAAATTGAAAATTGCCTTGCAGATATTTAGGTACAAT  
 1351 GGAGTTTTCTTTCCCAAACGGGAAGAACACAGCACACCCGGCTT  
 1396 GGACCCACTGCAAGCTGCATCGTGCAACCTCTTTGGTGCCAGTGT  
 1441 GGGCAAGGGCTCAGCCTCTCTGCCCACAGAGTGCCCCACGTGGA  
 1486 ACATTCGAGCTGGCCATCCCAAATTCATCAGTCCATAGAGAC  
 1531 GAACAGAATGAGACCTTCCGGCCCAAGCGTGGCGCTGCCGGGCACT  
 1576 TTGGTAGACTGTGCCACCACGGCGTGTG

## 【図3】

70-11753149. D. 37 の配列

翻訳された92197質 - 7レム:3 - スクレオド<sup>TM</sup> 501~1532

1 GCCAGGGAATGCCAGGGGAAAGGGATTTTCTGATACTCAGAAGA  
 46 CTCAGAGACTGTCAGTTTAAAAAATGAAAGTAATATAGAAGGGGC  
 91 AAAGTGGCATTATCATTCTATCTCTCCAGGCTCCTGTCTCTTTA  
 136 ATCAGCTAGCCTGATTTGCCAGTAAATGATTCTGAGAGTGTGT  
 181 GTGCGTGTGTGTGTGTGTGTGTGCCCGCGCGTGTGTGTAGCT  
 226 CTGTCAATCCTTGGATTAGAACCAATGATTGCAGCTTGTAAGAGG  
 271 GCTGTCCAGGGCCAGATTGTACAATGTGTCTCAGTCCAGAGTAT  
 316 GAGTGGAGATAATTACGGAGAAGTCATACTCTCTCACACCCTCGG  
 361 CTTTCTTGTGTGTCTTCCAGCAAACAGTGGATTAAATCTCCT  
 406 TGCACAAGCTTGAGAGCAACACAATCTATCAGGAAAGAAGAAAG  
 451 AAAAAACCGAACCTGCAAAAAAGAAGAAAAAGAAGAAAGAAAA  
 496 AAATCATGAAAACCATCCAGCCAAAAATGCACAATCTATCTCTT  
 541 MetLysThrIleGlnProLysMetHisAsnSerIleSerT  
 586 GGGCAATCTTCACGGGGCTGGCTGTCTGTCTCTTCCAAGGAG  
 rpAlaIlePheThrGlyLeuAlaAlaLeuCysLeuPheGlnGlyV  
 631 TGCCCGTGGCGCAGCGGAGATGCCACCTTCCCAAAGCTATGGACA  
 alProValArgSerGlyAspAlaThrPheProLysAlaMetAspA  
 676 ACGTGACGGTCCGGCAGGGGAGAGCGCCACCCTCAGGTGCACTA  
 snValThrValArgGlnGlyGluSerAlaThrLeuArgCysThrI  
 721 TTGACAACCGGGTCACCCGGGTGGCCTGGCTAAACCGCAGCACCA  
 leAspAsnArgValThrArgValAlaTrpLeuAsnArgSerThrI  
 766 TCCTCTATGCTGGGAATGACAAGTGGTGCCTGGATCCTCGCGTGG  
 leLeuTyrAlaGlyAsnAspLysTrpCysLeuAspProArgValV  
 811 TCCTTCTGAGCAACCCAAACCGCAGTACAGCATCGAGATCCAGA  
 alLeuLeuSerAsnThrGlnThrGlnTyrSerIleGluIleGlnA  
 856 ACGTGGATGTGTATGACGAGGGCCCTTACACCTGCTCGGTGCAGA  
 snValAspValTyrAspGluGlyProTyrThrCysSerValGlnT  
 901 CAGACAACCACCCAAAGACCTCTAGGGTCCACCTCATTGTGCAAG  
 hrAspAsnHisProLysThrSerArgValHisLeuIleValGlnV  
 946 TATCTCCCAAATGTAGAGATTCTTCCAGATATCTCCATTAATG  
 alSerProLysIleValGluIleSerSerAspIleSerIleAsnG  
 991 AAGGGAACAATATTAGCCTCACCTGCATAGCAACTGGTAGACCAG  
 luGlyAsnAsnIleSerLeuThrCysIleAlaThrGlyArgProG  
 AGCCTACGGTACTTGGAGACACATCTCTCCCAAAGCGGTGGCT  
 luProThrValThrTrpArgHisIleSerProLysAlaValGlyP

## 【図3-1】

(続き)

1036 TTGTGAGTGAAGACGAATACTTGGAAATTCAGGGCATCACCCGGG  
 heValSerGluAspGluTyrLeuGluIleGlnGlyIleThrArgG  
 1081 AGCAGTCAGGGGACTACGAGTGCAGTGCCTCCAATGACGTGGCCG  
 luGlnSerGlyAspTyrGluCysSerAlaSerAsnAspValAlaA  
 1126 CGCCCGTGGTACGGAGAGTAAAGGTCACCGTGAACCTATCCACCAT  
 laProValValArgArgValLysValThrValAsnTyrProProT  
 1171 ACATTTCAGAAGCCAAGGTTACAGGTGTCCCGTGGGACAAAAGG  
 yrIleSerGluAlaLysGlyThrGlyValProValGlyGlnLysG  
 1216 GGCACTGCAGTGTGAAGCCTCAGCAGTCCCCTCAGCAGAATTCC  
 lyThrLeuGlnCysGluAlaSerAlaValProSerAlaGluPheG  
 1261 AGTGGTACAAGGATGACAAAAGACTGATTGAAGGAAAGAAAGGGG  
 lnTrpTyrLysAspAspLysArgLeuIleGluGlyLysLysGlyV  
 1306 TGAAAGTGGAAAACAGACCTTTCCTCTCAAACCTCATCTTCTCA  
 alLysValGluAsnArgProPheLeuSerLysLeuIlePhePheA  
 1351 ATGTCTCTGAACATGACTATGGGAACCTACACTTGCCTGGCCCTCCA  
 snValSerGluHisAspTyrGlyAsnTyrThrCysValAlaSerA  
 1396 ACAAGCTGGGCCACACCAATGCCAGCATCATGCTATTTGGTCCAG  
 snLysLeuGlyHisThrAsnAlaSerIleMetLeuPheGlyProG  
 1441 GCGCCGTCAGCGAGGTGAGCAACGGCACGTCGAGGAGGGCAGGCT  
 lyAlaValSerGluValSerAsnGlyThrSerArgArgAlaGlyC  
 1486 GCGTCTGGCTGCGCCTCTTCTGGTCTTGCACCTGCTTCTCAAAT  
 ysValTrpLeuProProLeuLeuValLeuHisLeuLeuLeuLysP  
 1531 TTTGATGTGAGTGCCACTTCCCCACCCGGAAAGGCTGCCGCCAC  
 he  
 1576 CACCACCACCAACACAACAGCAATGGCAACACCCGACAGCAACCAA  
 1621 TCAGATATATACAAATGAAATTAGAAGAAACACAGCCTCATGGGA  
 1666 CAGAAATTTGAGGGAGGGGAACAAAGAATACTTTGGGGGAAAAG  
 1711 AGTTTTAAAAAAGAAATTGAAAATTGCCTTGAGATATTTAGGTA  
 1756 CAATGGAGTTTTCTTTTCCCAAACGGGAAGAACACAGCACACCCG  
 1801 GCTTGGACCCACTGCAAGCTGCATCGTGCAACCTCTTTGGTGCCA  
 1846 GTGTGGGCAAGGGCTCAGCCTCTCTGCCACAGAGTGCCCCCACG  
 1891 TGGAACATTCTGGAGCTGGCCATCCCAAATTCATCAGTCCATAG  
 1936 AGACGAACAGAAATGAGACCTTCCGGCCCAAGCGTGGCGCTGCGGG  
 1981 CACTTTGGTAGACTGTGCCACCACGGCGTGTG

## 【図4】

クローン 3882556 の配列

翻訳されたタンパク質 - スクレオキド 529 ~ 1026

1 GCTCTTCCTGAAGGAAGATCCAGTGGCATAATCTCCATGGCTGCCA  
 46 GACAGAGTAGAGAAATGGAACCTTATCGGTGTCTCTTCAGAAGTTT  
 91 TGTTACAAATATCCAGAAATATTCTATAATCTAATCAGCAGATT  
 136 ATGAATATATGCATTAGACTTTAGTTTTGGTGCAATCACATGAAT  
 181 TCCATTTTGTGGAGTAAGAGGTGACTGGGGTATAGGGTACAACCC  
 226 ATAGCCATCCATGTTTCATCTTTGTTTTGAATATAATTGGCTAGAA  
 271 GATATACATATATCTATGTAACCTCCTCTAGCATCCTCCAGTATG  
 316 GAGGCTGCATTAAGACTGCATGAAGGAGAGGGAGAGAAGGGAGAA  
 361 ACAGAGCAGCTGGACAAGAGGACAGGTATAGGGAATAAGGGAGAA  
 406 GCCAGTAAGGCAGGAAAGACCCCTCCGTGACAAAGGGGCAGGGAAC  
 451 AGAACTCAAACATTTAATGGCAGGTAACCCAGGTTAGAATGGTAA  
  
 496 ATTGAAAGGTGAATATAAAGGGAGAATGGTGAATGAATTTTCTG  
 MetAsnPheLeu  
  
 541 AAATTAATTGCTGTGTTTTATAGTTTTTAGCCATGCATCGGAATCA  
 LysLeuIleAlaValPheIleValPheSerHisAlaSerGluSer  
  
 586 CCTCAGGACTCCACTCCCAATCAATTATATATCTGGGGGAGGACC  
 ProGlnAspSerThrProAsnGlnLeuTyrIleTrpGlyArgThr  
  
 631 AAGCGTTGGTATTTTTTCAGAAGCTCCACTGGTGATTCTGACAGC  
 LysAlaLeuValPhePheArgSerSerThrGlyAspSerAspSer  
  
 676 ACAGCTAGGATTAAGAACTGATCAATGGGAACGGCATGCCTGTT  
 ThrAlaArgIleLysLysLeuIleAsnGlyAsnGlyMetProVal  
  
 721 GCAGAGGAGCTTCCCTGGGAAATGTCACACACAGAACATCAATCT  
 AlaGluGluLeuProTrpGluMetSerHisThrGluHisGlnSer  
  
 766 TCCTTCCCCACTCCTGAGATCCCTCATCTTTGGCACCAGGAACA  
 SerPheProThrProGluIleProHisSerLeuAlaProGlyThr  
  
 811 GTTGCAATTAGTAAACCCCTGGTTCCTGCTGCTCACAATCGCA  
 ValAlaIleSerLysProTrpPheProAlaValSerGlnIleAla  
  
 856 AGAGTCCAACGTGTGGATATAAAGTTTTGTTTCATGGGAGGATCTT  
 ArgValGlnArgValAspIleAsnPheCysSerTrpGluAspLeu  
  
 901 TCTCCAGTGGAAAAGCAACTGGGAAAAGCAGGACACACTGCACA  
 SerProSerGlyLysAlaThrGlyLysSerArgThrHisCysThr  
  
 946 GTGACTGCAGTTTCATCCAATGCCACCACCCATGCAGGCATAAAT  
 ValThrAlaValSerSerAsnAlaThrThrHisAlaGlyIleAsn  
  
 991 AATGAACATGGATGGGGAGTCTGGAGCTGCTGAATTGAGGAAGA  
 AsnGluHisGlyTrpGlySerLeuGluLeuLeuAsn  
  
 1036 AAGAACACAGAAATAAAATTCTCACAAGGTTACCATTAAAGCTA  
 1081 GAGGAGACCACACCCTGTGTGTCCACAAAGATACAGAGCCAGG  
 1126 CCGGGTTCAGCCATGCTGGTTCATCTGCTCTATATAATACAATTAT  
 1171 TTAGAGATGGTGGGTAGAGAACAACCTACAGAAAAAAAAAAAAAAAA  
 1216 AAAAAAAAAAAAAA

## 【図5】

70-43D1136-1の配列

翻訳されたタンパク質 - スクレイド 410 ~ 889

1 AC GCGTCACATAAAGGAAAGATACGTTTAAATCATCTTTACAAGT  
 46 GCGTCCTTG TACCTTTCGGGATAACCTGTACTGATTTCTCTGCAG  
 91 GACCTTTTCAAAGAATCCTCTTCAAGAGAGAAACAAATTTTAGGC  
 136 TGACGACTTCACGGAGAGGCAGGTTCTGCTGTTGCCAATGAACGA  
 181 GAACCTTCTACTAGGCTGGCGGCATGCAGAGCCCACGTCTGTCAG  
 226 CTGCCACCTTCGTAAGCAGACAGTTTCACATGCATGAGCTCGAGT  
 271 GGCTAGAACTTCAAACTGTGCTCAGGTTTTTGTGTTTGGAAGTTA  
 316 TAAAAAGTTGCTCACAACAATAGTTATTGCCTTTTATATCTTT  
 361 TATGTTAGTCTACTAGTCAGCATTCTGCCCAAATGGAAAGCCAC  
  
 406 TCCCATGGGAAGGGAGGGGTAGCAGCTGGGAGTCTGCTCTTCCA  
 MetGlyArgGluGlyValAlaAlaGlySerLeuLeuPheG1  
  
 451 GCTGGGGGCCCTCCCACCCCATGGGGAGGAAAGACGTCAAGCTC  
 nLeuGlyAlaLeuProProProTrpGlyGlyLysThrSerSerSe  
  
 496 CAGCCACTGGCCCCGGTGGGTCCCAAAGCCCCACCCCTCATGCTC  
 rSerHisTrpProArgTrpValProLysProHisProSerCysSe  
  
 541 TCCTCTGGTCACCTCTATTTACGCTCACATGCCCTTCTCTGTCCT  
 rProLeuValThrSerIleTyrAlaHisMetProLeuProValLe  
  
 586 TCACCTGCACGTCACCAGCAGGTCCCGCCAACCCCAAATCTATCT  
 uHisLeuHisValThrSerArgSerArgGlnProGlnIleTyrLe  
  
 631 GGTGAAAACCTGGAGAACAAGAGCGGAGTCTAAGAGAGATGTAAA  
 uValLysThrTrpArgThrArgAlaGluSerLysArgAspValAs  
  
 676 TGAAAACACAGATCAACAGACACACCAGAAGGGGAAGCGTTGTTTC  
 nGluAsnThrAspGlnGlnThrHisGlnLysGlySerValValSe  
  
 721 CGCGGGGAAAGGAGATGGAAAGGGGAAGAGAAGTGAAGAATTCTG  
 rAlaGlyLysGlyAspGlyLysGlyLysArgSerGluGluPheCy  
  
 766 CGCCGAAGCTCGGGTGGTGTGTTGCTCAACTGCTTTACTCATT  
 sAlaArgSerSerGlyTrpCysLeuLeuAsnCysPheThrHisPh  
  
 811 TAACCCTTTCACCTATCCTGGGAGAAACCCAGGCTTGTCACCTTT  
 eAsnProPheThrTyrProGlyArgAsnProGlyLeuSerProPh  
  
 856 TCATGTTGGGTGTTTGTGTTATTGGCCTCTTAAGTGAGAATTGAT  
 eHisValGlyLeuPheValTyrTrpProLeuLys  
  
 901 CCGTGAAGGAAACAGACAGGAGGAGGTCAGATTGCGAATACCTG  
 946 GGGCTTCCTAGGGTCCAGTCCGGCAGTTACCGCACCTGCCTTAC  
 991 CGGTGAACCTTTAGCCAGCTGAACAACCACCAAAGCGCCCTGCAG

## 【図5-1】

(続き)

1036 AGACAAGTCATCCAGCCCTCTGGCATGTCCTGGTAGCCCGGGCA  
1081 CCAGCCGCTGCGGCTTGTGAGGGGCACCATGCTCCACCCACGGG  
1126 GACCTTACAGTTGGAAAAAGAAGAGGAAAACTAATTCCTTCG  
1171 GTAACAGTTTATTTTCATTTTGGGAAAGGCAAACCACTACCTG  
1216 GAACTCGGTGCCCTCCGTGGTTAACTTTCCTATTTGCTTGTGATT  
1261 TAAAGGCTGTTCTGGGTCAGGGGGGAAAAGGTGTCCTTCGGTA  
1306 GGGAAATATAACGTGGTGATAACCTGTCACTAGGCAGAAGCATC  
1351 CACTCTGCAGGGACAGTGGCCCTCAGGAAAGCCCGCCGCTCCTG  
1396 GCCAAGGCCTCTCTGCAGACTCCACGGGGGCTCACCTCTGCCGT  
1441 CAGGCGACTCTGAAATCCGACATTTCTCCCTTAAAGTCTCAACA  
1486 GACACAAGAGAAGTTTCCATCAAGCAAGCACTGACATATTTATAT  
1531 TAAAAAATAGTGCAAAATCTCAACATTTATATAAATAACTCTAAA  
1576 CCCCTGCTTTGTAATTTTTTCTTTACAAGGTAATACACACTTTC  
1621 TGACTTGGCACTCAAAAATGCCATTTTTTCTCTCTCTAGTTCA  
1666 GAAAACAACTTTTTTTTTAAATAGGCCTCTTCTAATACAAAATA  
1711 CTCCTGCCCTCGCACATACAGTTTCTCTTATCTTATATATATTTA  
1756 TATATATAATATTGCAGATCTTAAACAAAGGTTTGTGCAAATA  
1801 TGTCTTTAAAGTTAAGTGAAATATCATAAACAAAAGAAAATAAG  
1846 CATTCACGCACGCAGCTCAACTAGAAACAAGAAAGACTACTGTAG  
1891 AAATTTTTTTCTTTTGCCTTCAAGAC

## 【図6】

70-4301136-2の配列

翻訳されたタンパク質 - スクロイド 410 ~ 892

```

1  ACGCGTCACATAAAGGAAAGATACGTTTTAATCATCTTTACAAGT
46  GCGTCCTTGTACCTTTCGGGATAACCTGTACTGATTTCTCTGCAG
91  GACCTTTTCAAAGAATCCTCTTCAAGAGAGAAAACAAATTTTAGGC
136 TGACGACTTCACGGAGAGGCAGGTTCTGCTGTGCAATGAACGA
181 GAACTTTCTACTAGGCTGGCCGCATGCAGAGCCACGTCGTCTGTCAG
226 CTGCCACCTTCGTAAAGCACACGTTTACATGCATGAGCTCGAGT
271 GGCTAGAACTTCAAACTGTGCTCAGGTTTTGTTTTGGAGTTA
316 TAAAAAAGTTGCTCACAACAATAGTTATTGCCTTTTATATCTTT
361 TATGTTAGTCTACTAGTCAGCATTCTGCCCAAATGGAAAGCCAC

406  TCCCATGGGAAGGGAGGGGTAGCAGCTGGGAGTCTGCTCTTCCA
      MetGlyArgGluGlyValAlaAlaGlySerLeuLeuPheG1

451  GCTGGGGGCCCTCCCACCCCATGGGGAGGAAAGACGTCAAGCTC
      nLeuGlyAlaLeuProProProTrpGlyGlyLysThrSerSerSe

496  CAGCCACTGGCCCCGGTGGGTCCCAAAGCCCCACCCCTCATGCTC
      rSerHisTrpProArgTrpValProLysProHisProSerCysSe

541  TCCTCTGGTCACTCTATTTACGCTCACATGCCCTTCCTGTCTCT
      rProLeuValThrSerIleTyrAlaHisMetProLeuProValLe

586  TCACCTGCACGTCACCAGCAGGTCCCGCCAACCCCAATCTATCT
      uHisLeuHisValThrSerArgSerArgGlnProGlnIleTyrLe

631  GGTGAAAACCTGGAGAACAAGAGCGGAGTCTAAGAGAGATGTAAA
      uValLysThrTrpArgThrArgAlaGluSerLysArgAspValAs

676  TGAAAACACAGATCAACAGACACACCAGAAGGGAAGCGTTGTTTC
      nGluAsnThrAspGlnGlnThrHisGlnLysGlySerValValSe

721  CGCGGGGAAAGGAGATGGAAAGGGGAAGAGAAGTGAAGAATTCTG
      rAlaGlyLysGlyAspGlyLysGlyLysArgSerGluGluPheCy

766  CGCCCGAAGCTCGGGTTGGTGTGCTCACTGCTTTACTCATT
      sAlaArgSerSerGlyTrpCysLeuLeuAsnCysPheThrHisPh

811  TAACCCTTTCACCTATCCTGGGAGAAACCCAGGCTTGTCACCTTT
      eAsnProPheThrTyrProGlyArgAsnProGlyLeuSerProPh

856  TCATGTTGGGTTGTTTATTGGCCTCTTAAGTGAGAATTGATCCGT
      eHisValGlyLeuPheIleGlyLeuLeuSerGluAsn

901  GAAGGGAAACAGACAGGAGGAGGTCAGATTGCCAATACCTGGGGC
946  TTCCTAGGGTCCAGTGCAGGAGTACCGCACCTGCCTTCAACCGGT
991  GAACCTTAGCCAGCTGAACAACCACCAAGCGCCTGCAGAGAC
1036 AAGTCATCGAGCCCTCTGGCATGTCCCTGGTAGCCCGGGCACCAG
1081 CCGCTGCGGCTTGTGAGGGGCACCATGCTCCACCCACGGGGACC
1126 TTCACAGTTGGAAAAAGAAGAGGAAAAACTAATTCCTTCGGTAA
1171 CAGTTTATTTTCAATTTTGGGAAAGGCAAACCACTACCTGGAAC
1216 TCGGTGCCTGNGANNCTTANNNTNCTNNTNCTNAGNCNNAATNNGNNA
1261 NNNNTNNNNNANNCTTNNNA

```



## 【図7-1】

(続き)

811 TATCCAGAGAGCCAGGCACAGGAGCCTGGAGTGGCAGCCAGCCTA  
 TyrProGluSerGlnAlaGlnGluProGlyValAlaAlaSerLeu  
 856 AGATGCCATGCTGAGGGCATTCCCATGCCCAGAATCACTTGGCTG  
 ArgCysHisAlaGluGlyIleProMetProArgIleThrTrpLeu  
 901 AAAAACGGCGTGGATGTCTCAACTCAGATGTCCAAACAGCTCTCC  
 LysAsnGlyValAspValSerThrGlnMetSerLysGlnLeuSer  
 946 CTTTTAGCCAATGGGAGCGAACTCCACATCAGCAGTGTTCGGTAT  
 LeuLeuAlaAsnGlySerGluLeuHisIleSerSerValArgTyr  
 991 GAAGACACAGGGGCATACACCTGCATTGCCAAAAATGAAGTGGGT  
 GluAspThrGlyAlaTyrThrCysIleAlaLysAsnGluValGly  
 1036 GTGGATGAAGATATCTCCTCGCTCTTCATTGAAGACTCAGCTAGA  
 ValAspGluAspIleSerSerLeuPheIleGluAspSerAlaArg  
 1081 AAGACCCTTGCAAACATCCTGTGGCGAGAGGAAGGTACCAAGCTT  
 LysThrLeuAlaAsnIleLeuTrpArgGluGluGlyThrLysLeu  
 1126 CATTGTTTTGCGTCATGCCTGTGATCACGTGTGTTTGGTTCTATG  
 HisCysPheAlaSerCysLeu  
 1171 ATGGGCCGTCTTCCATGATCTGCCACCAGCTTCCCACACAAAG  
 1216 CAGCCCTATGGGAGCAGGAAGTCAATGTCAAATCAAGTGGCATA  
 1261 TGCATTGAATCAAATTTAAAATGTACTCCTGTCTTTAATGAGAAA  
 1306 TTTTTAAATGCAAAGCTTTCATTAAAAGTGGCTTGTAACTCTGC  
 1351 TGAAGCAGAACAGTTGGTAAGGGTTCCTGGTCAGATCTGGGCCTT  
 1396 AAACTTTTTTCCAGTAGCTGACTGGTGTGGGTTTAGTGTTTTGC  
 1441 CTATCTTGTGTGGTTTTAAAAGACAAAACAAGTTGTAGATCTCT  
 1486 ACTAGATAGTCACTGTACCTTAAATATGCTTTGATTGAGGAAAAC  
 1531 CCGAGGAAAAGCTGCCATGATTTCGCCAATGTATATTTTTAAA  
 1576 TGTATAGATGTTTAGAABACATATTTATCAAGCAAATCTTTAGTAA  
 1621 GTTGAGCCATATGAAGTTGCCATTTTGTGCATCAAAGTGGTCTA  
 1666 AGATTGACAATTCATATGGCTGA

【図8】

70-2 4324229-2 の配列

```

1  GGAGAGGGCTGCATTGCTGTGCTCACTGACCTTCTTTTATGCTGGCCCTTGGTTCCAGAATGGCACATCATTCCTCGTTT
81  TTGGCCCTCCAGCTGAACACCTGTTCTCTGTGGCACTGACTCCTCTTCCATAGGGACATCATACACAGTCCGCTTAT
161  CTGAGGTTGTGCAAGAGGGATGGAGGAGAAAACATGGAGAATCCCTGGCAGATTTCCCCAGGACGAGAGAAGGATATC
241  CAATTGCTCATCAGGGAAGGTGCTAGTGTCTCCAGCCAGACGCCCTCAGAGGCCGGTGTCAAGTCTCCCTCACCTCTGTG
321  ATGTGAAGTCACTCGTTCATGACCTGGGCAAGCAGAGGGTTCAGAGGGGCRGATGGAGCACTCTGGCCTGATGAAGACT
CATCAAAATGAACCAGGAGGCTTTGGCTGCATCTCACACTGCTCCGAGCCTCCCTGCCGCTGCCTGGGATGGATGG
401  MetLysProGlyGlyPheTrpLeuHisLeuThrLeuLeuGlyAlaSerLeuProAlaAlaLeuGlyTrpMetA
ACCCAGGAACAGCAGAGGCCCGGATGTGGGTGTGGGGAGTCCACAGCCAGAGGAGCCCAAGCTTGAAGTCCACAGA
481  spProGlyThrSerArgGlyProAspValGlyValGlyGluSerGlnAlaGluGluProArgSerPheGluValThrArg
AGAGAAGGGCTTTCCAGCCACACAGCTGCTGGCCTCTCCGGAAGAAGTTCAGAGCCGAGGGAGCCGCTGCGTCT
561  ArgGluGlyLeuSerSerHisAsnGlnLeuLeuAlaSerCysGlyLysLysPheCysSerArgGlySerArgCysValLe
CAGCAGGAAGACAGGGGAGCCCAATCCAGTCCCTGGAGGCATGCAGGCCAGCTACGTCCCTGTGTGGCCTCTGATG
641  uSerArgLysThrGlyGluProGluCysGlnCysLeuGluAlaCysArgProSerTyrValProValCysGlySerAspG
GGAGGTTTTATGAAACCCTGTAACTCCACCCGTGCTGCTCCCTCCGGAAGAGGATCACCCGTCATCCACAGCAAG
721  lyArgPheTyrGluAsnHisCysLysLeuHisArgAlaAlaCysLeuLeuGlyLysArgIleThrValIleHisSerLys
GACTGTTCTCAAAGGTGACACGTGCACCATGGCCGGCTACGCCCGCTGAAGAATGCTCCTTGGCACTCCAGACCCG
801  AspCysPheLeuLysGlyAspThrCysThrMetAlaGlyTyrAlaArgLeuLysAsnValLeuLeuAlaLeuGlnThrAr
TCTGCAGCCACTCCAAAGAGGAGACAGCAGACAGACCCCTGCTCCCAAGAGCCCTCCTGGTGGATCTCTGTCTCAGG
881  gLeuGlnProLeuGlnGluGlyAspSerArgGlnAspProAlaSerGlnLysArgLeuLeuValGluSerLeuPheArgA
ACTTAGATGCAGATGGCAATGGCCACCTCAGCAGCTCCAACTGGCTCAGCATGTGCTGAAGAAGCAGGACCTGGATGA
961  spLeuAspAlaAspGlyAsnGlyHisLeuSerSerSerGluLeuAlaGlnHisValLeuLysLysGlnAspLeuAspGlu
GACTACTTGGTTGCTCACCAGGTGACCTCTCTCGATTGACGATTACACAGTGCAGCTCCCTGACCCCTCCGCGGAT
1041  AspLeuLeuGlyCysSerProGlyAspLeuLeuArgPheAspAspTyrAsnSerAspSerSerLeuThrLeuArgGluPh
CTACATGGCCTTCAAAGTGGTTCAGTCTAGCCTCGCCCCGAGGACAGGGTCAAGTGTGACCAAGTGCAGCTGGGCTGA
1121  eTyrMetAlaPheGlnValValGlnLeuSerLeuAlaProGluAspArgValSerValThrThrValGlyLeuS
GCACAGTGTGACCTGCGCCGCTCCATGGAGACTGAGGCCACCAATCATCTGGAAGCCAAAGGGCTCACCCGAACTTC
1201  erThrValLeuThrCysAlaValHisGlyLeuArgProProIleIleTrpLysArgAsnGlyLeuThrLeuAsnPhe
CTGGACTTGGAGAGCATCAATGACTTTGGAGAGGATGATCCCTGTACATCCCAAGGTGACCCACTCCACATGGGCA
1281  LeuAspLeuGluAspIleAsnAspPheGlyGluAspAspSerLeuTyrIleThrLysValThrThrIleHisMetGlyAs
TTACACTGGCATGCTTCCGGCCACAGCAGCTGTTCCAGACCCAGTCTCCAGGTGAATGTGCCCCAGTCTATCCGG
1361  nTyrThrCysHisAlaSerGlyHisGluGlnLeuPheGlnThrHisValLeuGlnValAsnValProProValIleArgV
TCTATCCAGAGAGCCAGCCACAGGAGCCTGGAGTGGCAGCCAGCCTAAGATGCCATGTGAGGGCATTCCTCATGCCA
1441  alTyrProGluSerGlnAlaGlnGluProGlyValAlaAlaSerLeuArgCysHisAlaGluGlyIleProMetProArg
ATCACTTGGCTGAAAACCGCGTGGATGTCTCACTCAGATGTCCAAACAGCTCTCCCTTTTAGCCAAATGGAGCCAACT
1521  IleThrTrpLeuLysAsnGlyValAspValSerThrGlnMetSerLysGlnLeuSerLeuLeuAlaAsnGlySerGluLe
CCACATCAGCAGTGTTCGGTATGAAGACACAGGGGCATACCTGCATTGCCAAAATGAAGTGGGTGTGATGAAGATA
1601  uHisIleSerSerValArgTyrGluAspThrGlyAlaTyrThrCysIleAlaLysAsnGluValGlyValAspGluAspI
TCTCTCGCTCTTCAATGAAGACTCAGCTAGAAGACCCCTGCAAAACATCCTGTGGCGAGAGGAGGCTCAGCGTGGGA
1681  leSerSerLeuPheIleGluAspSerAlaArgLysThrLeuAlaAsnIleLeuTrpArgGluGluGlyLeuSerValGly
AACATGTTCTATGCTCTCCGACGACGGTATCATGTCATCCATCTGTGGACTGTGAGATCCAGAGGCACCTCAAACC
1761  AsnMetPheTyrValPheSerAspAspGlyIleIleValIleHisProValAspCysGluIleGlnArgHisLeuLysPr
CAGCGAAAAGATTTTCATGAGCTATGAAGAAATCTGTCTCAAAGAGAAAAAATGCAACCCAGCCCTGCCAGTGGTAT
1841  oThrGluLysIlePheMetSerTyrGluGluIleCysProGlnArgGluLysAsnAlaThrGlnProCysGlnTrpValS
CTGACGTCATGTCGCGAACCGGTACATCTATGTGGCCAGCCAGCAGTGCAGCAGTCCCTTGGTCCGACATCCAGCC
1921  erAlaValAsnValArgAsnArgTyrIleTyrValAlaGlnProAlaLeuSerArgValLeuValValAspIleGlnAla
CAGAAAGTCTTACAGTCCNTAGTGTGGACCCCTGCGCGCTAAGCTGTCTATGACAAGTCAATGACCAAGTGTGGT
2001  GlnLysValLeuGlnSerIleGlyValAspProLeuProAlaLysLeuSerTyrAspLysSerHisAspGlnValTrpVa
CCTGAGCTGGGGGACGTGCACAAGTCCGACCAAGTCTCCAGGTGATCACAGAAGCCAGCACCAGCCAGGACAGCACC
2081  lLeuSerTrpGlyAspValHisLysSerArgProSerLeuGlnValIleThrGluAlaSerThrGlyGlnSerGlnHisL
TCATCCGCACACCCTTTCAGGAGTGGATGATTTCTTCTTCCCAACAACTCATCATCAACCACATCAGTTGGC
2161  euIleArgThrProPheAlaGlyValAspAspPhePheIleProProThrAsnLeuIleIleAsnHisIleArgPheGly
TTCATCTCAACAAGTCTGATCCTGAGTCCACAAGTGGACTGGAAACAATGATGCCCTCAAGACCTCGCCCTGCA
2241  PheIlePheAsnLysSerAspProAlaValHisLysValAspLeuGluThrMetMetProLeuLysThrIleGlyLeuHi
CCACCATGGCTGGTCCCGCCAGCTGCTCGTGCAGTGTCCAGACTCTGTGCTTGGCCCAATGGTATTAACAGGACCC
2321  shHisIleGlyCysValProGlnAlaMetAlaHisThrHisLeuGlyGlyTyrPhePheIleGlnCysArgGlnAspSerF
CCGCTCTGCTGCCGACAGCTGCTCGTGCAGTGTCCAGACTCTGTGCTTGGCCCAATGGTATTAACAGGACCC
2401  roAlaSerAlaAlaArgGlnLeuLeuValAspSerValThrAspSerValLeuGlyProAsnGlyAspValThrGlyThr
CCACACATCCCCCGACGGCGCTTATAGTCAAGTGTGCAGTGCAGCAGCCCTGGCTGCAGTGCAGGATCAACAGT
2481  ProHisThrSerProAspGlyArgPheIleValSerAlaAlaAlaAspSerProTrpLeuHisValGlnGluIleThrVa
GCGGGCGAGATCCAGACCTGATGACCTGCAATAAATCGGGATCTCAGACTTGGCCTTCCAGCCTCTTCACTG
2561  lArgGlyGluIleGlnThrLeuTyrAspLeuGlnIleAsnSerGlyIleSerAspLeuAlaPheGlnArgSerPheThrG
AAAGCAATCAATCAACATCTACCGGCTCTGCACACGGAGCCGACCTGCTGTCTCGAGCTGTCCACGGGAGGTTG
2641  luserAsnGlnTyrAsnIleTyrAlaAlaLeuHisThrGluProAspLeuLeuPheLeuGluLeuSerThrGlyLysVal

```

【図 8 - 1】

(続き)

2721 GGCATGCTGAAGAACTTAAAGGAGCCACCCGACGGCCAGCTCAGCCCTGGGGGGTACCCACAGAATCATGAGGGACAG  
 GlyMetLeuLysAsnLeuIysGluProProAlaGlyProAlaGlnProTrpGlyGlyThrHisArgIleMetArgAspSe  
 TGGGCTGTTTGGACAGTACCTCCTCACACCCAGCCGAGAGTCACTGTTCTCATCATGGGAGACAAAACACGCTGCGGT  
 2801 rGlyLeuPheGlyGlnTyrLeuLeuThrProAlaArgGluSerLeuPheLeuIleAsnGlyArgGlnAsnThrLeuArgC  
 GTGAGGTGTTCAGGTATAAAGGGGGGACCACAGTGGTGGTGGGTGAGGTATGAAAGGCCCAAGACAGAGCCCTGGGC  
 2881 ysGluValSerGlyIleLysGlyGlyThrThrValValTrpValGlyGluVal  
 2961 CAAGGAACACCCCTAGTCTGACACTGACGCTCAAGCAGGTACGCTGTACATTTTACAGACAAAAGCAAACCTGT  
 3041 ACTGGCTTTGGTGGTTCACACTGGTCTCCTTGCAGTTTCTAGTATAAGGTATGGCTGTCTACCAAGATTGGGGTTTT  
 3121 TCGTTAGGAAGTATGATTTATGCCTTGAGCTACGATGAGAACATATGCTGCTGTGTAAGGGATCATTTCTGTGCCAAGC  
 3201 TGCACACCGAGTACCTGGGGACATCMTGGAAACCAAGGGATCCTGTCTCCAAGCAGACACCTCTGTCACTGCGCTTAC  
 3281 ATAGTCATTGTCCCTTACTGCCAGACCCAGCCAGACTTTGCCCTGACGGAGTGGCCCGGAAGCAGAGGCCGACCGAGGC  
 3361 AGGGCCCTCCCTCCGAACCTGAAAGCCCATCGTCTCCGCTGGGACCCATCTTCTCCCTCCGACGCTCTTCTGCTTT  
 3441 TCTTCCATTTGACTTGTGTAAAGCCTGAGGGAGAGCCACRAGACTTACTGCATCTTGGGGATGGGGAATCACTCAC  
 3521 TTTATTTGGAAATTTTGTATTAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA  
 3601 ACTATATCCTTCCCTGCTTACGCGAGTCTCGGGGGTGGTCCACACCCACATCCCAAGCCAGAAAGAACCAATGGTCA  
 3681 TCTGAGAACTAGCCCTGTGCACTATTGCCACCCCTGCTTCTCCAGAGCCAGACCAGGCCACCTCATCCGTAAGGACTG  
 3761 TCTCTGTGTTGGGACCCCAAAAACAGAAACAAGTTCTGTGTGCTCCTTTCAGCACAGAAGGGAGACATCTCATTAGTC  
 3841 AGGTCTGGTACCCAGATTACGGGACAGACTGGGCTTGCCTGGCAAGTATGGGTGGCCCTCCAGGCTCAATGCAGAAACCC  
 3921 CAAGGACACGAGTGGGGCCAGGTGAGTTCCTGAACTATACCTTTTCAAACAGATTTTGTTCCTTACCTGTGGCCAT  
 4001 CCACTCCTCTCTGGTACCCCATCCCGCATCAGCACTGCAGAGAGAACACATTTCCGGGAGGGTTTTCTTACCACATTC  
 4081 CCCAATCAATACACACACTGCGAGAACCCAGAACAGAAAGGCCACAGGCTGGCACTACTGCATCTCCTTATGTCTCA  
 4161 GGTGTGGTGACTCTCACATGGGCATCGAAGAAGTACAACCCACATAGCCCTCTGGAGACCGCTAGATCAGAGACTCAG  
 4241 CAAAAACAGGCTCGCCTTCCCTCTCCACATATGAGTGGAACTTACATGTGTCTGCTTGAATGATCATTTTGCAGCC  
 4321 ACACGGGTGGGAGAGGTGGTCTCACACAGACGCTCTTGGCTAATTTGGCCACCTTCACTACTGCATGACAGGATTT  
 4401 TCCATTGCCATTAGGAATGAATCTTTCAAGGAGAGAAACCCTAGACTCTGTGTCACTCTCAACACACACAGCTCCTT  
 4481 TCACCTCTGCTGACTGCCAAGCCACCTGCATCCCCCGCCAGATCTCATGAGATCAATCACTTGTATGTCTCACGAA  
 4561 CTGGTCCACCAAAGCCTGTCCCTGTAACTCCTAGGGGTGGCCCTAGACAGGTACGTCGTTTTTATTTTAAAGAT  
 4641 ATGCTATGTAGATATAAGTTGAGGAAGCTCACCTCAAAGCCTAGAATGCAAGTTTACAGTAGCTGGGATGCTAGATGA  
 4721 CCCATCTCACCCCTTTTTTTTTCTGCTCAATATCTGTATATGTTATGTTTACTCCCAATCTCCCATTTTTACCTAA  
 4801 AATTCTCAACTTTTATAAACTTTTTTTTGGAAAAATTTCCATTGTATCAGCCCTGACAGAAAGAGTCTCTGAGCCT  
 4881 AAAGGAGGAAAGTCCCAACCACTACCAGACCAGAACACAGCCCTCTGGGACGAGGATTCCTAAGTCAAAGACAGT  
 4961 TTGACCCAAACTGGCCTTTTAAATAAATCAGGAGTGCAGAGTCAACTTCTGACGACCTGCTCTCTCCCACTGTCCCT  
 5041 TCCATCTTGGAAATGTGTCTAAAAAAGCATAGCTGCCCTTTGCTGTCTCAGAGTGCATTTCTGGAGACGGCAGGCTTAG  
 5121 GTCTCACTGACAGCATGCCAGACAACTGAATCGAAGCAGCCCTGAAGCCTAGGTCAGGGTTTCAGGAGTCCAGCCCA  
 5201 GGAGGCAAAAGTCAACAATGACAGGAGGTAAATGCCCTTTGGCAGGAAACCAATAGATTTGGTGGGGAGTCCAGG  
 5281 GTGGGAGGAGAAGGAG  
 5361 GGACACAGTTGGAAAGCCACTGGGAGGAAATGCCCTCACTACAGGGGGGCTCTGTAGCAAGCCAGCCGGTATCCTCC  
 5441 TAATGAACCCACAAGGTCATTCACACTGATATCTTAGCTATTAAGAAGTACTGACTTTACCAAAAAGATCATCAGA  
 5521 AAGCTATTTATATAAACCCCTCAGTCATTTGAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA



【図 9 - 1】

(続き)

1761 CACCTCAAACCCCGAAGGATTTTCATGAGCTATGAAGAAATCTGTCTCAAAGAGAAAAAATGCAACCCAGCCCTG  
HisLeuLysProThrGluLysIlePheMetSerTyrGluGluIleCysProGlnArgGluLysAsnAlaThrGlnProCys

1841 CCAGTGGGTATCTGCAGTCAATGTCCGGAACCGGTACATCTATGTGGCCAGCCAGCACTGAGCAGAGTCCCTGTGGTCG  
sGlnTrpValSerAlaValAsnValArgAsnArgTyrIleTyrValAlaGlnProAlaLeuSerArgValLeuValValA

1921 ACATCCAAAGCCAGAAAGTCCACAGTCCATAGGTGTGGACCCCTCTGCCGGCTAAGCTGTCCCTATGACAAGTCAATGAC  
spIleGlnAlaGlnLysValLeuGlnSerIleGlyValAspProLeuProAlaLysLeuSerTyrAspLysSerHisAsp

2001 CAAAGTGGGTCTGAGCTGGGGGACGTGCACAAGTCCCGACCAAGTCTCCAGGTGATCAGAGAAGCCAGCACCCGCCA  
GlnValTrpValLeuSerTrpGlyAspValHisLysSerArgProSerLeuGlnValIleThrGluAlaSerThrGlyGln

2081 GAGCCAGCACCTCATCCGCACACCCCTTTGCAGGAGTGGATGATTCTTCATCCCCCAACAACTCATCAACCCACA  
nSerGlnHisLeuIleArgThrProPheAlaGlyValAspAspPhePheIleProProThrAsnLeuIleIleAsnHisI

2161 TCAGGTTTGGCTTCATCTTCAACAGTCTGATCTGCAGTCCACAAGGTGGACCTGGAAACAATGATGCCCTCAAGACC  
IleArgPheGlyPheIlePheAsnLysSerAspProAlaValHisLysValAspLeuGluThrMetMetProLeuLysThr

2241 ATCCGGCTGCACCACCATGGCTGCGTGCCTCCAGGCCATGCGCACACCCACCTGGGCGGCTACTTCTTCATCCAGTCCG  
IleGlyLeuHisHisHisGlyCysValProGlnAlaMetAlaHisThrHisLeuGlyGlyTyrPhePheIleGlnCysAr

2321 ACAGGACAGCCCCGCTCTGCTGCCGACAGTGTCTCGTTGACAGTGTACAGACTCTGTGCTTGGCCCAATGGTGTG  
gGlnAspSerProAlaSerAlaAlaArgGlnLeuLeuValAspSerValThrAspSerValLeuGlyProAsnGlyAspV

2401 TAACAGGACACCCACACACATCCCCGACGGGCGCTTCATAGTCAAGTCTGCAGCTGACAGCCCTGGCTGCAGTGCAG  
alThrGlyThrProHisThrSerProAspGlyArgPheIleValSerAlaAlaAlaAspSerProTrpLeuHisValGln

2481 GAGATCACAGTGCAGGGCCAGATCCAGACCTGTATGACCTGCAATAAACTCGGGCATCTCAGACTTGGCCCTTCCAGCG  
GluIleThrValArgGlyGluIleGlnThrLeuTyrAspLeuGlnIleAsnSerGlyIleSerAspLeuAlaPheGlnAr

2561 CTCCTTCACTGAAAGCAATCAATACAACTCTACCGGCTCTGCACAGGAGCCGACCTGTGTTCCTGGAGCTGTCCA  
gSerPheThrGluSerAsnGlnTyrAsnIleTyrAlaAlaLeuHisThrGluProAspLeuLeuPheLeuGluLeuSerT

2641 CGGGGAAGGTGGCATGCTGAAGAACTTAAGGAGCCACCCGCGGGCCAGCTCAGCCCTGGGGGGTACCACAGAATC  
hrGlyLysValGlyMetLeuLysAsnLeuLysGluProProAlaGlyProAlaGlnProTrpGlyGlyThrHisArgIle

2721 ATGAGGGACAGTGGGCTGTTTGGACAGTACCTCCTCACACCAGCCGAGAGTCACTGTTCCCTCATCAATGGGAGACAAA  
MetArgAspSerGlyLeuPheGlyGlnTyrLeuLeuThrProAlaArgGluSerLeuPheLeuIleAsnGlyArgGlnAs

2801 CACGCTGCGGTGTGAGGTGTCAAGTATAAAGGGGGGACCAAGTGGTGTGGGTGAGGTATGAAGGGCCAGAGCA  
nThrLeuArgCysGluValSerGlyIleLysGlyGlyThrThrValValTrpValGlyGluVal

2881 GAGCCCTGGGCAAGGAACACCCCTAGTCCCTGACACTGCAGCCTCAAGCAGGTACCGTGTACATTTTACAGACAAAAG  
2961 CAAAACCTGTACTCGCTTTGTGGTTCAACACTGGTCTCCTTGCAAGTTTCTAGTATAAGGTATGCGCTGTACCAAGA  
3041 TTGGGGTTTTTTTCGTTAGGAAGTATGATTTATGCTTGGCTACGATGAGAACATAATGCTGCTGTGTAAGGGATCATT  
3121 CTGTGCCAAGCTGCACACCGAGTGACCTGGGGACATCATGGAACCAAGGGATCCTGCTCTCCAAGCAGACACCTCTGTCA  
3201 GTTGCCTTCACATAGTCAATGTCCCTTACTGCCAGACCCGCGCCAGACTTTGCCCTGACGGAGTGGCCCGGAAGCAGAGGC  
3281 CGACCAGGAGCAGGGGCTCCCTCCCGAACTGAAAGCCCATCCGCTCCTCGCGTGGGACCGCATCTTCTCCCTCGCAGCTG  
3361 CTTCTGCTTTTCTTCCATTGACTGTCTGTAAGCCTGAGGGAGAGCCAACAAGACTTACTGCATCTTGGGGGNTGGGG  
3441 AATCACTCACTTTATTTTGGAAATTTTGTATAAAAAAATTTTATAATCTCAAATGCTAGTAAGCAGAAAGATGCTC  
3521 TCCGAGGTCCAATATATCCTCCCTGCTTAGGCCGAGTCTCGGGGGTGGTCAACACCCACATCCACAGCCAGAAAG  
3601 AACAAATGGTCATCTGAGAATACTGGCCCTGTGACTATTGCCACCTGCTTCTCCAAGAGCAGACCCAGGCCACTCATCC  
3681 GTAAGSACTCGGTTCTGTGTTGGGACCCCAAAAACCAAGAACTTCTGTGTGCTCCTTTTCAGCACAGAGGGAGACA  
3761 TCTCMTTAGTCAGGTCTGTAACCCAGATTCAAGGACACTGGGCTGCTGCGCAAGGTATGGGTGGCCTCCAGGCTCAA



## 【図10】

クローン4339264-2の配列

翻訳されたタンパク質 - スケレチド124~1089

1 CTTTGCTTCAGCCGCAGTCGCCACTGGCTGCCTGAGGTGCTCTTA  
 46 CAGCCTGTCCAAGTGTGGCTTAATCCGTCTCCACCACCAGATCT  
  
 91 TTCTCCGTGGATTCCTCTGCTAAGACCGCTGCCATGCCAGTGACC  
 MetProValThr  
  
 136 GTAACCCGCACCACCATCACAACCACCACGACGTCATCTTCGGGC  
 ValThrArgThrThrIleThrThrThrThrThrSerSerSerGly  
  
 181 CTGGGGTCCCCCATGATCGTGGGGTCCCCTCGGGCCCTGACACAG  
 LeuGlySerProMetIleValGlySerProArgAlaLeuThrGln  
  
 226 CCCCTGGGTCTCCTTCGCCTGCTGCAGCTGGTGTCTACCTGCGTG  
 ProLeuGlyLeuLeuArgLeuLeuGlnLeuValSerThrCysVal  
  
 271 GCCTTCTCGCTGGTGGCTAGCGTGGGCGCCTGGACGGGGTCCATG  
 AlaPheSerLeuValAlaSerValGlyAlaTrpThrGlySerMet  
  
 316 GGCAACTGGTCCATGTTACCTGGTGCTTCTGCTTCTCCGTGACC  
 GlyAsnTrpSerMetPheThrTrpCysPheCysPheSerValThr  
  
 361 CTGATCATCCTCATCGTGGAGCTGTGCGGGCTCCAGGCCCGCTTC  
 LeuIleIleLeuIleValGluLeuCysGlyLeuGlnAlaArgPhe  
  
 406 CCCCTGTCTTGGCGCAACTTCCCCATCACCTTCGCCTGCTATGCC  
 ProLeuSerTrpArgAsnPheProIleThrPheAlaCysTyrAla  
  
 451 GCCCTCTTCTGCCTCTCGGCCTCCATCATCTACCCACCACCTAT  
 AlaLeuPheCysLeuSerAlaSerIleIleTyrProThrThrTyr  
  
 496 GTCCAGTTCCTGTCCCACGGCCGTTCCGCGGACCACGCCATCGCC  
 ValGlnPheLeuSerHisGlyArgSerArgAspHisAlaIleAla  
  
 541 GCCACCTTCTTCTCCTGCATCGCGTGTGTGGCTTACGCCACCGAA  
 AlaThrPhePheSerCysIleAlaCysValAlaTyrAlaThrGlu  
  
 586 GTGGCCTGGACCCGGGCCCGGCCGCGAGATCACTGGCTATATG  
 ValAlaTrpThrArgAlaArgProGlyGluIleThrGlyTyrMet  
  
 631 GCCACCGTACCCGGGCTGCTGAAGGTGCTGGAGACCTTCGTTGCC  
 AlaThrValProGlyLeuLeuLysValLeuGluThrPheValAla  
  
 676 TGCATCATCTTCGCGTTCATCAGCGACCCCAACCTGTACCAGCAC  
 CysIleIlePheAlaPheIleSerAspProAsnLeuTyrGlnHis

## 【図10-1】

(続き)

721 CAGCCGGCCCTGGAGTGGTGCCTGGCGGTGTACGCCATCTGCTTC  
GlnProAlaLeuGluTrpCysValAlaValTyrAlaIleCysPhe

766 ATCCTAGCGGCCATCGCCATCCTGCTGAACCTGGGGGAGTGCACC  
IleLeuAlaAlaIleAlaIleLeuLeuAsnLeuGlyGluCysThr

811 AACGTGCTACCCATCCCCTTCCCCAGCTTCCTGTGGGGCTGGCC  
AsnValLeuProIleProPheProSerPheLeuSerGlyLeuAla

856 TTGCTGTCTGTCTCCTCTATGCCACCGCCCTTGTTCTCTGGCCC  
LeuLeuSerValLeuLeuTyrAlaThrAlaLeuValLeuTrpPro

901 CTCTACCAGTTCGATGAGAAGTATGGCGCCAGCCTCGGCGCTCG  
LeuTyrGlnPheAspGluLysTyrGlyGlyGlnProArgArgSer

946 AGAGATGTAAGCTGCAGCCGCAGCCATGCCTACTACGTGTGTGCC  
ArgAspValSerCysSerArgSerHisAlaTyrTyrValCysAla

991 TGGGACCGCCGACTGGCTGTGGCCATCCTGACGGCCATCAACCTA  
TrpAspArgArgLeuAlaValAlaIleLeuThrAlaIleAsnLeu

1036 CTGGCGTATGTGGCTGACCTGGTGCACCTCGCCACCTGGTTTTT  
LeuAlaTyrValAlaAspLeuValHisSerAlaHisLeuValPhe

1081 GTCAAGGTCTAAGACTCTCCAAGAGGCTCCCGTTCCTCTCCAA  
ValLysVal

1126 CCTCFTTGTTCTTCTTGCCCGAGTTTTCTTTATGGAGTACTTCTT

1171 TCCFCCGCCTTTCCTCTGTTTTCTCTTCCTGTCTCCC

## 【図11】

70-3 4357764-3 の配列

翻訳読み取 = タンパク質 - ヌクレオチド 587 ~ 1012 ...

1 GGAAGAAGAAGGAGGAGGAGGAGAAGGAGAAGAAGAAGGAGAAGA  
 46 ACGCAAGACTTCGTCTCAAAAAAAAAAGAAGAAAAATTTAAATAC  
 91 ATTTAAAAAAGAAGGTTGCATGCTGTGGAGCAACCAGACAATTGT  
 136 GATGAAATGTGAAGCACAAGGCACCAGCTGTGACGTGTTTTTGCC  
 181 AAGAAGTCAAACCACGTTCCAACCTAAACCTCTAGAGCAAACCTTC  
 226 ATTTTCAGCAAATTCGAAGAAAAGAGGAATAATGTAAATGACCCC  
 271 ACAGGGAAACAGACAAACCCCTGAATGTGGAGCATTTCACAGGACA  
 316 AAACCTGGACAGACATCGGAACACTTACAGGATGTGTGTAGTGTG  
 361 GCATGACAGAGAACCTTTGGTTTCCTTTAATGTGACTGTAGACCTG  
 406 GCAGTGTACTATAAGAATCACTGGCAATCAGACACCCGGGTGTG  
 451 CTGAGCTGGCACTCAGTGGGGCGGCTACTGCTCATGTGATTGTG  
 496 GAGTAGACAGTTGGAAGAAGTACCCAGTCCATTTGGAGAGTTAAA  
 541 ACTGTGCCTAACAGAGGTGTCTCTGACTTTTCTCTGCAAGCTC  
  
 586 CATGTTTTACATCTTCCCTTTGACTGTGTCTGCTGCTGCTGCT  
 MetPheSerHisLeuProPheAspCysValLeuLeuLeuLeuLe  
  
 631 GCTACTACTTACAAGGTCCTCAGAAGTGAATACAGAGCGGAGGT  
 uLeuLeuLeuThrArgSerSerGluValGluTyrArgAlaGluVa  
  
 676 CGGTCAGAATGCCTATCTGCCCTGCTTCTACACCCAGCCGCCCC  
 lGlyGlnAsnAlaTyrLeuProCysPheTyrThrProAlaAlaPr  
  
 721 AGGGAACCTCGTGCCCGTCTGCTGGGGCAAAGGAGCCTGTCCTGT  
 oGlyAsnLeuValProValCysTrpGlyLysGlyAlaCysProVa  
  
 766 GTTTGAATGTGGCAACGTGGTGCTCAGGACTGATGAAAGGGATGT  
 lPheGluCysGlyAsnValValLeuArgThrAspGluArgAspVa  
  
 811 GAATTATTGGACATCCAGATACTGGCTAAATGGGGATTTCCGCAA  
 lAsnTyrTrpThrSerArgTyrTrpLeuAsnGlyAspPheArgLy  
  
 856 AGGAGATGTGTCCCTGACCATAGAGAATGTGACTCTAGCAGACAG  
 sGlyAspValSerLeuThrIleGluAsnValThrLeuAlaAspSe  
  
 901 TGGGATCTACTGCTGCCGGATCCAAATCCCAGGCATAATGAATGA  
 rGlyIleTyrCysCysArgIleGlnIleProGlyIleMetAsnAs  
  
 946 TGAAAAATTTAACCTGAAGTTGGTCATCAAACCAGGTGAGTGGAC  
 pGluLysPheAsnLeuLysLeuValIleLysProGlyGluTrpTh  
  
 991 ATTTGCATGCCATCTTTATGAATAAGATTTATCTGTGGATCATAT  
 rPheAlaCysHisLeuTyrGlu  
  
 1036 TAAAGGTACTGATTGTTCTCATCTCTGACTTCCCTAATTATAGCC  
 1081 CTGGAGGAGGGCCACTAAGACCTAAAGTTAACAGGCCCCATTGG  
 1126 TGATGCTCAGTGATATTTAACACCTTCTCTGTTTTAAACTCA  
 1171 TGGGTGTGCCCTGGGCGTGGTGGCTCACACCTCT

## 【図12】

70-24391184の配列

翻訳された9187塩基 - スケッチド 494~769

1 TCTAGAACATTCTCCAGCCCTTTTTTCTTTTGCTCTTTTATGAC  
 46 ATTGACATGAAGAGTCCGGGCCAGTTGTTCTGGATTGTCTGATT  
 91 GCTTCTCCCTGGTTGGAGTCAGGTGGAACAGCTCTGGCAGGAACG  
 136 CCCCCCGGGCAATGCAGAGTCCCTCCTCCAGGAGGCACTTAGTGT  
 181 CCATGCGTCACCTTGCTGGTGATGCTTCACTGGATCACTTGGTTC  
 226 CGGGGTTGTCCGCACGTCTCCCTGTAGTGCAGGTGCTCCTTCCTC  
 271 TTTCCAATTAGCCTGTGGGATGGGACTTGGAAGCTGTGTCTGTT  
 316 TGCTCCACTGGCAACCTTTTCTTCAATGACTTAAGCTGGTGTTTT  
 361 GCCATTTTCCATACTCTATCATGGGGAGTGTTCAGTATCGGCATC  
 406 TAGAGATCTCCCCTGGCCCCATCACAGCTAGAGCTATGCTGTCCC  
  
 451 CTTTCAGGGACATCTTGTAAATTTATCCACCCAGCCCCCACTGAT  
 Me  
  
 496 GGACATAAAGGCTGTCTCCCATCATCTCCTGCTACTACAGACAG  
 tAspIleLysAlaValSerProSerSerProAlaThrThrAspSe  
  
 541 CACTGCAGGGACTGTCTGCTGTGTTTTTTTAAGGCATGGGTACT  
 rThrAlaGlyThrValLeuLeuCysPhePheLysAlaTrpValLe  
  
 586 CCAGAAGCAGTTGCTCAGCTGCACCCCCAAGGTTGAGTGGAAGTC  
 uGlnLysGlnLeuLeuSerCysThrProLysValGluTrpLysSe  
  
 631 CCTCGGTAAAGGAGGAGGAGAGAGTGTGAAGGGAATGGCAAGGCG  
 rLeuGlyLysGlyGlyGlyGluSerValLysGlyMetAlaArgAr  
  
 676 GGGAGGGAGACAGGGCACAGGTGTCCTGGCAACAGCAGATGGGAA  
 gGlyGlyArgGlnGlyThrGlyValLeuAlaThrAlaAspGlyLy  
  
 721 ACAGGTCTGGCTAAGGTACCAGAAGCCAACAAGTCCCAGAAAGGT  
 sGlnValTrpLeuArgTyrGlnLysProThrSerProArgLysVa  
  
 766 CAAGTGACTTTCCCAAGGTCACACAGCAAGTTGATGGCAGAGCTG  
 lLys  
  
 811 GGTACAGGACTCAGA

## 【図13】

70-2 4437909.0.4 の配列

翻訳単位=タンパク質-ヌクレオチド 83~889

1 CTAGAATTCAGCGCCGCTGAATTCCTAGTGCAGAGTGAGCAAGGG  
 46 CCGCCTCATCCAGCTTCTCTCTGAGAGCCAGGGCCACATGGCTCA  
 MetAlaHi  
 91 CCTGGTGAAGTCCGTCAGCGACATCCTGGATGCCCTGCAGAGGGA  
 sLeuValAsnSerValSerAspIleLeuAspAlaLeuGlnArgAs  
 136 CCGGGGGCTGGGCCCGCCCGCAACAAGGCCGACCTTCAGAGAGC  
 pArgGlyLeuGlyArgProArgAsnLysAlaAspLeuGlnArgAl  
 181 GCCTGCCCGGGAAACCCGGCCCCGGGGCTGTGCCACTGGCTCCCG  
 aProAlaArgGlyThrArgProArgGlyCysAlaThrGlySerAr  
 226 GCCCCGAGACTGTCTGGACGTCCTCCTAAGCGGACAGCAGGACGA  
 gProArgAspCysLeuAspValLeuLeuSerGlyGlnGlnAspAs  
 271 TGGCGTCTACTCTGTCTTTCCACCCACTACCCGGCCGGCTTCCA  
 pGlyValTyrSerValPheProThrHisTyrProAlaGlyPheGl  
 316 GGTGTACTGTGACATGCGCACGGACGGCGGGCTGGACGGTGT  
 nValTyrCysAspMetArgThrAspGlyGlyGlyTrpThrValPh  
 361 TCAGCGCCGGGAGGACGGCTCCGTGAACTTCTTCCGGGGCTGGGA  
 eGlnArgArgGluAspGlySerValAsnPhePheArgGlyTrpAs  
 406 TCGGTACCGAGACGGCTTTGGCAGGCTCACCGGGAGCACTGGCT  
 pAlaTyrArgAspGlyPheGlyArgLeuThrGlyGluHisTrpLe  
 451 AGGGCTCAAGAGGATCCACGCCCTGACCACACAGGCTGCCTACGA  
 uGlyLeuLysArgIleHisAlaLeuThrThrGlnAlaAlaTyrGl  
 496 GCTGCACGTGGACCTGGAGGACTTTGAGAATGGCACGGCCTATGC  
 uLeuHisValAspLeuGluAspPheGluAsnGlyThrAlaTyrAl  
 541 CCGCTACGGGAGCTTCGGCGTGGGCTTGTTCCTCCGTGGACCCTGA  
 aArgTyrGlySerPheGlyValGlyLeuPheSerValAspProGl  
 586 GGAAGACGGGTACCCGCTCACCGTGGCTGACTATTCCGGCACTGC  
 uGluAspGlyTyrProLeuThrValAlaAspTyrSerGlyThrAl  
 631 AGGCGACTCCCTCCTGAAGCACAGCGGCATGAGGTTACCACCAA  
 aGlyAspSerLeuLeuLysHisSerGlyMetArgPheThrThrLy  
 676 GGACCGTGACAGCGACCATTCAGAGAACAACCTGTGCCCGCTTCTA  
 sAspArgAspSerAspHisSerGluAsnAsnCysAlaAlaPheTy

## 【図13-1】

(続五)

721 CCGCGGTGCCTGGTGGTACCGCAACTGCCACACGTCCAACCTCAA  
rArgGlyAlaTrpTrpTyrArgAsnCysHisThrSerAsnLeuAs

766 TGGGCAGTACCTGCGCGGTGCGCACGCCTCCTATGCCGACGGCGT  
nGlyGlnTyrLeuArgGlyAlaHisAlaSerTyrAlaAspGlyVa

811 GGAGTGGTCCTCCTGGACCGGCTGGCAGTACTCACTCAAGTTCTC  
lGluTrpSerSerTrpThrGlyTrpGlnTyrSerLeuLysPheSe

856 TGAGATGAAGATCCGGCCGGTCCGGGAGGACCGCTAGACCGGTGC  
rGluMetLysIleArgProValArgGluAspArg

901 ACCTTGTCCTTGGCCCTGCTGGTCCCTGTCGCCCCATCCCCGACC

946 CCACCTCACTCTTTCGTGAATGTTCTCCACCCACCTGTGCCTGGC

991 GGACCCACTCTCCAGTAGGGAGGGGCCGGGCCATCCCTGACACGA

1036 AGCTCCCTGGGCCGGTGAAGTCACACATCGCCTTCTCGCCGTCCC

1081 CACCCCTCCATTGGCAG

## 【図14】

70-2 4437909.0.55 の配列

翻訳されたタンパク質 - 76-4:2 - スクレオイド 38~844

1  
CCGCCTCATCCAGCTTCTCTCTGAGAGCCAGGGCCACATGGCTCA  
MetAlaHi

46  
CCTGGTGAACCTCCGTCAGCGACATCCTGGATGCCCTGCAGAGGGA  
sLeuValAsnSerValSerAspIleLeuAspAlaLeuGlnArgAs

91  
CCGGGGCTGGGCCGGCCCCGCAACAAGGCCGACCTTCAGAGAGC  
pArgGlyLeuGlyArgProArgAsnLysAlaAspLeuGlnArgAl

136  
GCCTGCCGGGGAACCCGGCCCCGGGGCTGTGCCACTGGCTCCCG  
aProAlaArgGlyThrArgProArgGlyCysAlaThrGlySerAr

181  
GCCCCGAGACTGTCTGGACGTCCTCCTAAGCGGACAGCAGGACGA  
gProArgAspCysLeuAspValLeuLeuSerGlyGlnGlnAspAs

226  
TGGCGTCTACTCTGTCTTCCACCCACTACCCGGCCGGCTTCCA  
pGlyValTyrSerValPheProThrHisTyrProAlaGlyPheGl

271  
GGTGTACTGTGACATGCGCACGGACGGCGGGCTGGACGGTGT  
nValTyrCysAspMetArgThrAspGlyGlyGlyTrpThrValPh

316  
TCAGCGCCGGGAGGACGGCTCCGTGAACTTCTCCGGGGCTGGGA  
eGlnArgArgGluAspGlySerValAsnPhePheArgGlyTrpAs

361  
TGCGTACCGAGACGGCTTTGGCAGGCTCACCGGGGAGCACTGGCT  
pAlaTyrArgAspGlyPheGlyArgLeuThrGlyGluHisTrpLe

406  
AGGGCTCAAGAGGATCCACGCCCTGACCACACAGGCTGCCTACGA  
uGlyLeuLysArgIleHisAlaLeuThrThrGlnAlaAlaTyrGl

451  
GCTGCACGTGGACCTGGAGGACTTTGAGAATGGCACGGCCTATGC  
uLeuHisValAspLeuGluAspPheGluAsnGlyThrAlaTyrAl

496  
CCGCTACGGGAGCTTCGGCGTGGGCTTGTTCCGCCGTGGACCCTGA  
aArgTyrGlySerPheGlyValGlyLeuPheAlaValAspProGl

541  
GGAAGACGGGCACCCGCTCACCGTGGCTGACTATCCGGCACTGC  
uGluAspGlyHisProLeuThrValAlaAspTyrSerGlyThrAl

586  
AGGCGACTCCCTCCTGAAGCACAGCGGCATGAGGTTACCACCAA  
aGlyAspSerLeuLeuLysHisSerGlyMetArgPheThrThrLy

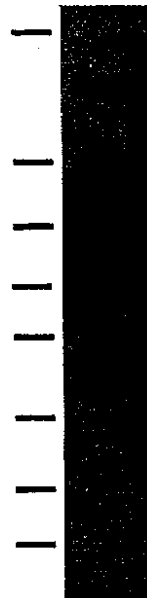
631  
GGACCGTGACAGCGACCATTTCAGAGAACAACCTGTGCCCGCTTCTA  
sAspArgAspSerAspHisSerGluAsnAsnCysAlaAlaPheTy

【図14-1】

(続き)

676 CCGCGGTGCCTGGTGGTACCGCAACTGCCACACGTCCAACCTCAA  
 rArgGlyAlaTrpTrpTyrArgAsnCysHisThrSerAsnLeuAs  
 721 TGGGCAGTACCTGCGCGGTGCGCACGCCTCCTATGCCGACGGCGT  
 nGlyGlnTyrLeuArgGlyAlaHisAlaSerTyrAlaAspGlyVa  
 766 GGAGTGGTCCTCCTGGACCGGCTGGCAGTACTCACTCAAGTTCTC  
 lGluTrpSerSerTrpThrGlyTrpGlnTyrSerLeuLysPheSe  
 811 TGAGATGAAGATCCGGCCGGTCCGGGAGGACCGCTAGACCGGTGC  
 rGluMetLysIleArgProValArgGluAspArg  
 856 ACCTTGTCCTTGGCCCTGCTGGTCCCTGTCGCCCATCCCCGACC  
 901 CCACCTCACTCTTTTCGTGAATGTTCTCCACCCACCTGTGCCTGGC  
 946 GGACCCACTCTCCAGTAGGGAGGGCCGGCCATCCCTGACACGA  
 991 AGCTCCCTGGGCCGGTGAAGTCACACATCGCCTTCTCGCCGTCCC  
 1036 CACCCCTCCATTTGGCAG

【図15】



293細胞に分泌液を抽出し、h11753149 921bp質

【図16】



293細胞に分泌されたh4437909 92157質

【図17】



E. coli に分泌されたh4437909 92157質

## 【図18】

70-&gt; pCDNA3.1-TOPO-3883556-S54 の配列

76-4:1 - ノックアウト1~498

1  
ATGAATTTTCTGAAATTAATTGCTGTGTTTATAGTTTTTAGCCAT  
MetAsnPheLeuLysLeuIleAlaValPheIleValPheSerHis  
46  
GCATCGGAATCACCTCAGGACTCCACTCCCAATCAATTATATATC  
AlaSerGluSerProGlnAspSerThrProAsnGlnLeuTyrIle  
91  
TGGGGGAGGACCAAGGCGTTGGTATTTTTCAGAAGCTCCACTGGT  
TrpGlyArgThrLysAlaLeuValPhePheArgSerSerThrGly  
136  
GATTCTGACAGCACAGCTAGGATTAAGAACTGATCAATGGGAAC  
AspSerAspSerThrAlaArgIleLysLysLeuIleAsnGlyAsn  
181  
AGCATGCCTGTTGCAGAGGAGCTTCCCTGGGAAATGTCACACACA  
SerMetProValAlaGluGluLeuProTrpGluMetSerHisThr  
226  
GAACATCAATCTTCCCTTCCCACTCCTGAGATCCCTCATCTCTTG  
GluHisGlnSerSerPheProThrProGluIleProHisSerLeu  
271  
GCACCAGGAACAGTTGCAATTAGTAAACCCCTGGTTCCTGCTGTC  
AlaProGlyThrValAlaIleSerLysProTrpPheProAlaVal  
316  
TCACAAATCGCAAGAGTCCAACGTGTGGATATAAACTTTTGTTC  
SerGlnIleAlaArgValGlnArgValAspIleAsnPheCysSer  
361  
TGGGAGGATCTTCTCCAGTGGAAAAGCACTGGGAAAAGCAGG  
TrpGluAspLeuSerProSerGlyLysAlaThrGlyLysSerArg  
406  
ACACACTGCACAGTGAAGTTCATCCAATGCCACCACCCAT  
ThrHisCysThrValThrAlaValSerSerAsnAlaThrThrHis  
451  
GCAGGCATAAATAATGAACATGGATGGGGAGTCTGGAGCTGCTG  
AlaGlyIleAsnAsnGluHisGlyTrpGlySerLeuGluLeuLeu  
496  
AAT  
Asn

## 【図19】

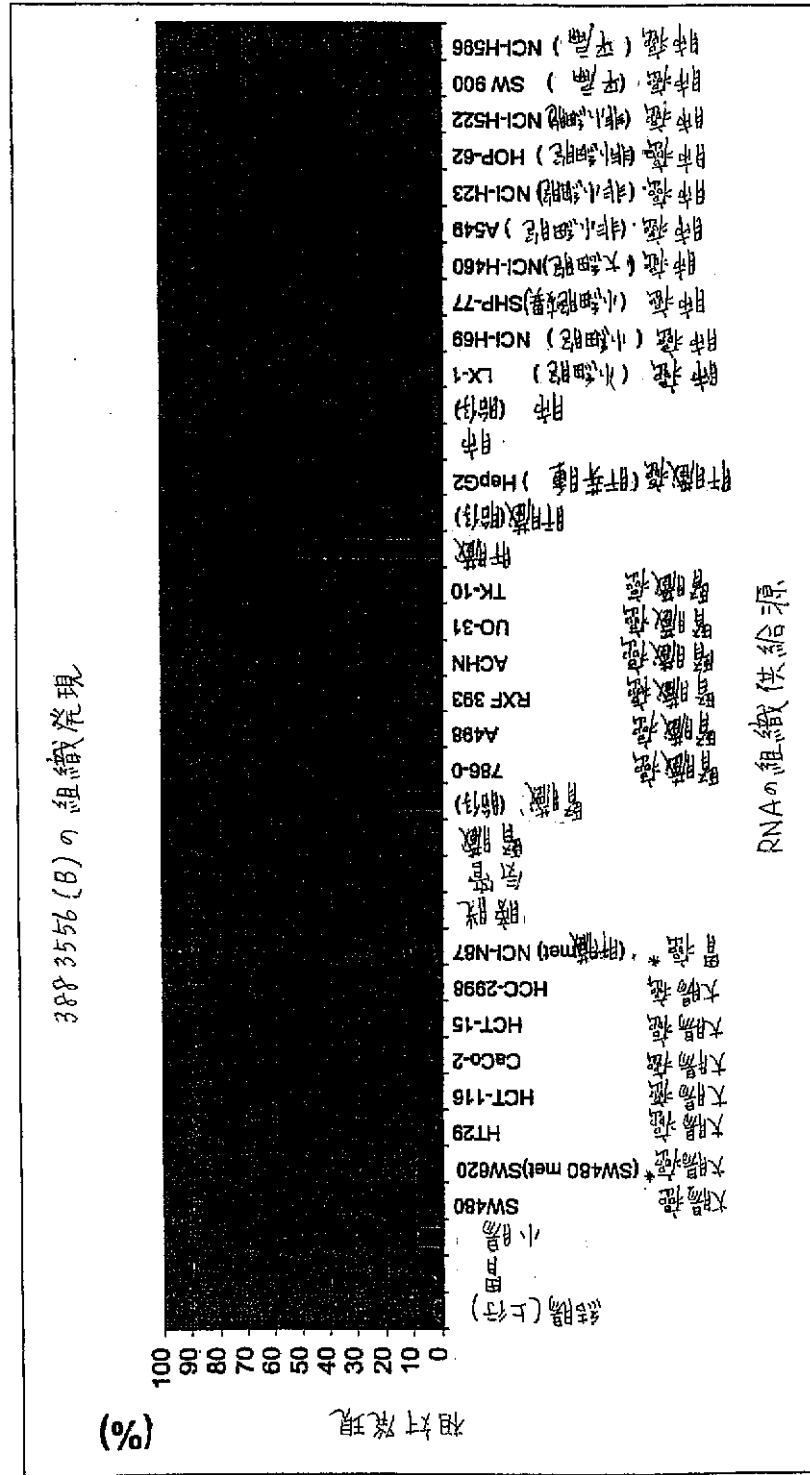
70-&gt; TA-4437909-S443 の配列

CAGAGAGCGCCTGCCCGGGGAACCCGGCCCCGGGGCTGTGCCACTGGCTCCCGGCCCGGAGACTGTCTGGACGTCTCT  
CCTAAGCGGACAGCAGGACGATGGCGTCTACTCTGTCTTTCCACCCACTACCCGGCCGGCTTCCAGGTGTAAGTGTG  
ACATGCGCACGGACCGGCGGCTGGACGGTGTTCAGCGCCGGGAGGACGGCTCCGTGAACCTTCTCCGGGGCTGG  
GACCGGTACCGAGACGGCTTTGGCAGGCTCACCGGGAGCACTGGCTAGGGCTCAAGAGGATCCACGCCCTGACCAC  
ACAGGCTGCCTACGAGCTGCACGTGGACCTGGAGGACTTTGAGAATGGCACGGCTATGCCCGCTACGGGAGCTTCG  
GCGTGGGCTTGTTCGCCGTGGACCCCTGAGGAAGACGGGTACCCGCTCACCGTGGCTGACTATTCCGGCACTGCAGGC  
GACTCCCTCCTGAAGCACAGCGGCATGAGGTTACCACCAAGGACCGTGACAGCGACCAATCAGAGAACAACACTGTGC  
CGCCTTCTACCGCGGTGCCTGGTGGTACCGCAACTGCCACAGTCCAACCTCAATGGGCAGTACCTGCGCGGTGCGC  
ACGCTCCTATGCCGACGGCGTGGAGTGGTCTCCTGACCGGCTGGCAGTACTCACTCAAGTCTCTGAGATGAAG  
ATCCGGCCGGTCCGG GAGGACCGC



【図20-1】

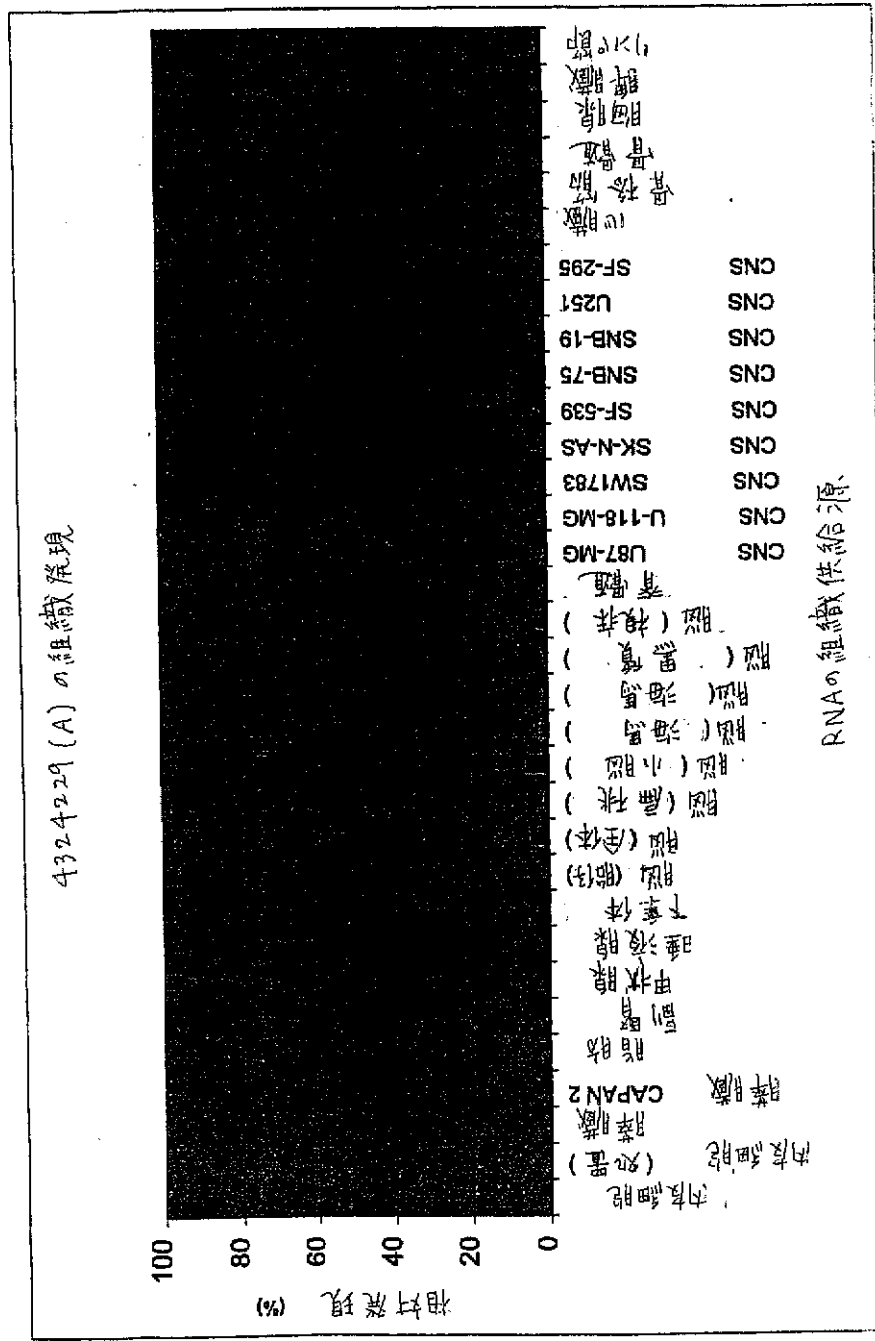
(続前) 3883556 (=2112) の Tag Man の結果。パネルB





【図21】

4324229 について TagMan の結果、パネル A









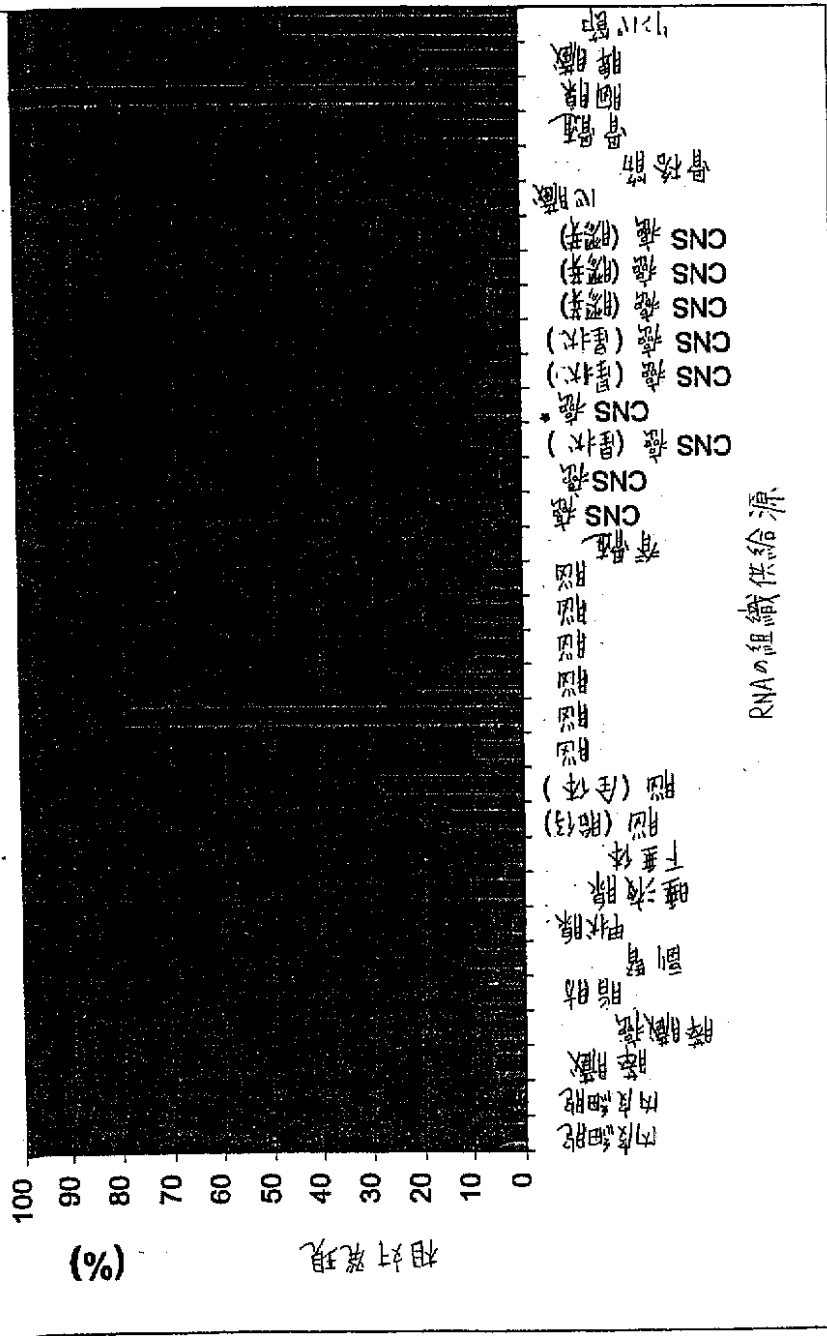




【図23】

439118412012のTagManの結果。10セルA

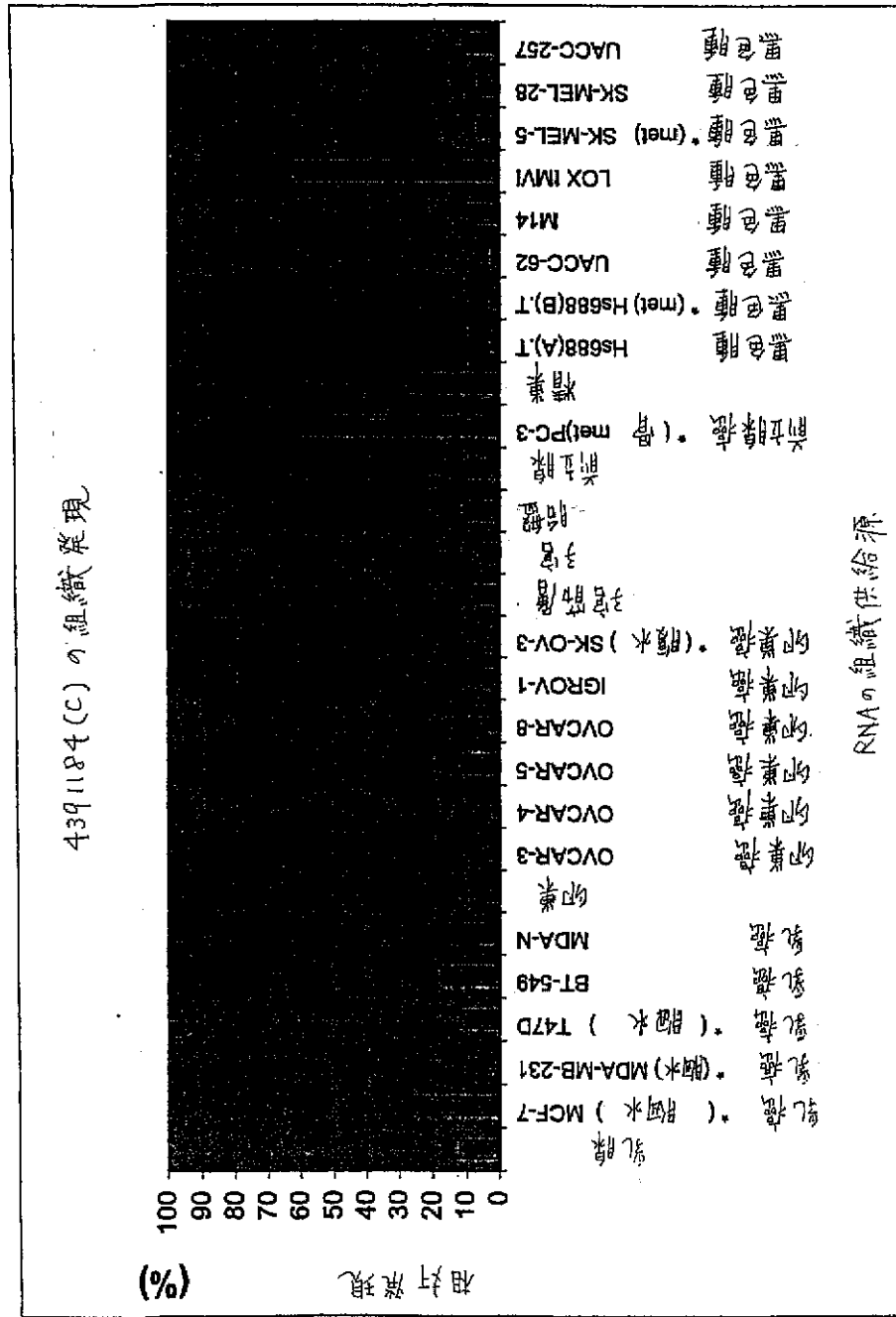
4391184(A)の組織発現





【図23-2】

(続五) 4391184に7112のTagManの結果。 パナルC



## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

					International Application No. PCT/US 00/09392	
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>						
IPC 7	C12N15/12	C12N15/24	C07K14/47	C07K14/705	C07K16/28	
	C07K16/18	C07K16/24	G01N33/68	C12Q1/68	A61K38/17	
	A61K38/20	A61K49/00	A61K31/70	A61K39/395		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC						
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>						
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C12N 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) STRAND, EPO-Internal, BIOSIS, EMBL, WPI Data						
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>						
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages					Relevant to claim No.
X A	WO 98 49310 A (ZYMOGENETICS INC) 5 November 1998 (1998-11-05) cited in the application * 90,55% identity in 180 aa overlap with seq ID no.2 (1-178:1-180) * * 97,48% identity in 714 nt overlap with seq ID no.1 (1-708:2-706) * page 29 -page 33; claims  Sequences ID no.1 and no.2 pages 53-55 --- -/--					59  5,13,14, 17,20, 24-26, 28,30, 32,34, 36,39, 40,43, 44,48, 50,52, 54,56, 59, 61-63, 65,67, 69,71
<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 "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. "&" document member of the same patent family						
Date of the actual completion of the international search 9 November 2000				Date of mailing of the international search report 17. 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 LE CORNEC N.D.R.		

2

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

national Application No PCT/US 00/09392
--

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X  A	<p>WO 99 03982 A (FLORENCE KIMBERLY A ;HUMAN GENOME SCIENCES INC (US); DUAN ROXANNE) 28 January 1999 (1999-01-28) cited in the application            * 90,56% identity in 180 aa overlap with seq ID no.2 (1-178:1-180) *            * 99,85% identity in 694 nt overlap with seq ID no.1 (21-708:1-694) *            claims; figure 1; examples</p>	59  5,13,14, 17,20, 24-26, 28,30, 32,34, 36,39, 40,43, 44,48, 50,52, 54,56, 58, 61-63, 65,67, 69,71
X  A	<p>---            WO 96 30052 A (UMDNJ NEW JERSEY S UNIVERSITY) 3 October 1996 (1996-10-03) cited in the application            claims</p>	59
A	<p>---            DATABASE EMBL [Online]            A0238977, accession number A0238977,            30 September 1998 (1998-09-30)            M.D. ADAMS ET AL: "Use of human BAC end sequences for sequence-ready map building"            XP002143978            * 99,3% identity in 156 nt overlap with seq ID no.7. reverse orientation *            abstract            &amp; UNPUBLISHED,            ---            -/--</p>	10,11

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/US 00/09392

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE EMBL [Online] RNI6845, accession number U16845, 19 April 1995 (1995-04-19) A.F. STRUYK ET AL: "Cloning of neurotrimin defines a new subfamily of differentially expressed neural cell adhesion molecules" XP002152432 cited in the application * 93% identity in 336 aa overlap with seq ID no.4 and 6(12-344:9-344)* * 83,22% identity in 1472 nt overlap with seq ID 3 (147-1603:542-1998) and no.5 (556-2012:542-1998) * abstract -&amp; THE JOURNAL OF NEUROSCIENCE, vol. 15, no. 3, March 1995 (1995-03), pages 2141-2156, XP000953464 ---</p>	5,13,14, 17,20
A	<p>DATABASE EMBL [Online] HS718J7, accession number AL035541, 24 February 1999 (1999-02-24) H. SEHRA ET AL: "Human DNA sequence from clone 718J7 on chromosome 20q13.31-13.33. contains part of a gene for a novel protein, the PCK1 gene for soluble phosphoenolpyruvate carboxykinase 1" XP002152433 * 99,63% identity in 1918 nt overlap with seq ID no.9 (1917-1:2780-4693) * * 99,92% identity in 1225 nt overlap with seq ID no.11 (1224-1:3469-4693) * abstract ---</p>	5,13,14, 17,20
A	<p>DATABASE EMBL [Online] HSA099802, accession number AA099802, 30 October 1996 (1996-10-30) L.HILLIER ET AL: "z1881e02.r1 Stratagene clone (#937204) Homo sapiens cDNA clone IMAGE:511034 5', mRNA sequence" XP002152434 * 96,29% identity in 405 nt overlap with seq ID no.9 and no.11 (692-296:1-405) * abstract -&amp; P. WOHLDMANN ET AL: "generation and analysis of 280,000 human expressed sequence tags" GENOME RESEARCH, vol. 6, no. 9, 1996, pages 807-828, XP000914615 --- -/--</p>	5,13,14, 17,20

2

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

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No  
 PCT/US 00/09392

## 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 45437 A (GENETICS INST) 15 October 1998 (1998-10-15) * 97,89% identity in 465nt overlap between seq ID no.21 and seq ID no.415 (533-997:17-481) * sequence ID no.415 ---	5,13,14, 17,20
X	WO 99 06552 A (LACROIX BRUNO ;DUCLERT AYMERIC (FR); GENSET (FR); DUMAS MILNE EDWA) 11 February 1999 (1999-02-11) cited in the application * 100% identity in 84 aa overlap with seq ID no.20 (1-84:1-84) * sequence ID no.404 page 374 ---	13
A	---	5,14
A	DATABASE EMBL [Online] MMYELUPR, accession number AJ001616, 1 October 1997 (1997-10-01) J.I. JONSSON: "Mus musculus mRNA for myeloid associated differentiation protein" XP002152435 cited in the application * 81% identity in 782 nt overlap with seq ID no.19 (187-968:233-1013) and 86% identity in 244 aa overlap with seq ID no.20 (1-244:1-238) * abstract & M. PETERSSON ET AL: "Isolation of MYADM, a novel hematopoietic-associated marker gene expressed in multipotent progenitor cells and up-regulated during myeloid differentiation" JOURNAL OF LEUKOCYTE BIOLOGY, vol. 67, 2000, pages 423-431. ---	5,13,14, 17,20
A	WO 99 06548 A (LACROIX BRUNO ;DUCLERT AYMERIC (FR); GENSET (FR); DUMAS MILNE EDWA) 11 February 1999 (1999-02-11) --- * 99,5% identity in 435 nt overlap between seq ID.21 and no.40 (527-961:4-438) * sequence ID no.40 page 30 abstract; claims ---	5,13,14, 17,20, 24-26, 28,30, 32,34, 36,39, 40,43, 44,48, 50,52, 54,56, 58,59, 61-63, 65,67, 69,71
	---	-/--

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

B International Application No  
PCT/US 00/09392

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 96 27603 A (MILLENNIUM PHARMACEUTICALS INC) 12 September 1996 (1996-09-12) cited in the application * 97% identity in 137 aa overlap with seq ID no.22 and fig.24 (1-137:1-138) and 98% identity in 450nt overlap between seq ID 21 and fig.24 (548-997:3-452) * figures 17,24	59
A		5,13,14, 17,20, 24-26, 28,30, 32,34, 36,39, 40,43, 44,48, 50,52, 58, 61-63, 65,67, 69,71
P,X	--- WO 99 63088 A (BAKER KEVIN ;CHEN JIAN (US); GENENTECH INC (US); YUAN JEAN (US); G) 9 December 1999 (1999-12-09)  * fig.228 has 100% identity with the whole sequence ID no.26 and fig.227 has 99,72% identity in 1071 nt overlap with seq ID no.25 (29-1099:524-1593) * * 99,25% identity in 269 aa overlap with seq ID no.28(1-269:193-461) and 99,62% identity in 1054 nt overlap with seq ID no.27 (1-1054:540-1593) * figures 227,228 page 203, line 3 -page 205, line 4 --- -/--	1-4,6, 10-12, 15,16, 18,19, 21-23

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/US 00/09392

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	<p>WO 00 12708 A (BAKER KEVIN ; GENENTECH INC (US); GODDARD AUDREY (US); GURNEY AUSTI) 9 March 2000 (2000-03-09)</p> <p>* 100% identity between sequence ID no.20 and figure no.20 and 100% identity in 1208 nt overlap with seq ID no19 (1-1208:8-1215) * figures 19,20 claims; examples page 56 -page 58</p>	<p>5,13,14, 17,20, 24-26, 28,30, 32,34, 36,39, 40,43, 44,48, 50,52, 54,56, 58,59, 61-63, 65,67, 69,71</p>
P,A	<p>--- DATABASE EMBL [Online] AB028984, accession number AB028984, 4 August 1999 (1999-08-04) O. OHARA ET AL: "Homo sapiens mRNA for KIAA1061 protein, partial cds" XP002152436 cited in the application abstract * Q9UPU1: 100% identity in 693 aa overlap with seq ID no.16(150-842:1-693) * * 100% identity in 895 nt overlap with seq ID no.13 (221-1115:1-895) * * 100% identity in 4719 nt overlap with seq ID no.17 (784-5502:1-4719) * * 100% identity in 4719 nt overlap with seq ID no.15 (853-5571:1-4719) * * 100% identity in 693 aa overlap with seq ID no.18 (123-815:1-693) * * 100% identity in 298 aa overlap with seq ID no.14 (9-306:1-298) * -&amp; R. KIKUNO ET AL: "Prediction of the coding sequences of unidentified human genes.XIV. The complete sequence of 100 new cDNA clones from brain which code for large proteins in vitro" DNA RESEARCH, vol. 6, 1999, pages 197-205, XP000852618 --- -/--</p>	<p>1-20</p>

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/US 00/09392
---

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	<p>WO 99 58668 A (ONO PHARMACEUTICAL CO ;SHIBAYAMA SHIRO (JP); TADA HIDEAKI (JP); FU) 18 November 1999 (1999-11-18)</p> <p>* 99,7% identity in 344 aa overlap with seq ID no.6* * 99,9% identity in 1032 nt overlap with seq ID no.3 (92-1123:1-1032) * * 99,7% identity in 313 aa overlap with seq ID no.4 (1-344:1-344) * Sequences ID no.1, 2, 5 and 6 * ---</p>	<p>5,13,14, 17,20, 24-26, 28,30, 32,34, 36,39, 40,43, 44,48, 50,52, 54,56, 58,59, 61-63, 65,67, 69,71</p>
P,A	<p>WO 99 18126 A (ONO PHARMACEUTICAL CO ;SHIBAYAMA SHIRO (JP); TADA HIDEAKI (JP); FU) 15 April 1999 (1999-04-15)</p> <p>* 97% identity in 137 aa overlap between seq ID 22 and seq ID no.34 * * 98% identity in 463 nt overlap between seq ID no.21 and no.36 (535-997:1-463) * sequence ID no.34 and no.36 ---</p>	<p>5,13,14, 20, 24-26, 28,30, 32,34, 36,39, 40,43, 44,48, 50,52, 54,56, 58,59, 61-63, 65,67, 69,71</p>
P,A	<p>WO 99 60127 A (CHEN JIAN ;GENENTECH INC (US); LI HANZHONG (US); FILVAROFF ELLEN ( ) 25 November 1999 (1999-11-25) * 98,46% identity in 716 nt overlap with seq ID no.1 (1-708:116-830) * * 90 identity with seq ID no.2 * * 99,12% identity in 686 nt overlap with seq ID no.1(24-703:1-686) * figures 1,2,5 ---</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	<p>5,13,14, 17,20</p>

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/US 00/09392

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,A	<p>DATABASE EMBL [Online]  AC020705, accession number AC020705,  11 January 2000 (2000-01-11)  R.H. WATERSTON: "The sequence of Homo sapiens clone"  XP002152437  * 99,27% identity in 825 nt overlap with seq ID no.23 (825-1:178588-179411) *  abstract  &amp; UNPUBLISHED,</p>	6,10-12, 15,16, 18,19
P,X	<p>---  WO 99 46281 A (BAKER KEVIN P ;CHEN JIAN (US); GENENTECH INC (US); GURNEY AUSTIN ())  16 September 1999 (1999-09-16)  cited in the application  * fig.221 has 99,9% identity with seq ID no.3 in 1603 nt overlap (1-1603:43-1645) *  *fig.197 has 99,125% identity in 686 nt overlap with seq ID 1 (24-703:1-686) *  * fig.222 has 99,41% identity in 344 aa overlap with seq ID no.6 and no.4 (1-344:1-343) *  figures 197,198,221,222</p>	5,13,14, 17,20
P,A	<p>---  WO 99 35267 A (UPTON CHRISTOPHER ;IMMUNEX CORP (US); SPRIGGS MELANIE (US))  15 July 1999 (1999-07-15)  cited in the application  * 98,8% identity in 540 nt overlap with seq ID no.1 (65-598:1-540) and 90,56% identity in 180 aa overlap with seq ID no.2 (1-178:1-180) *  sequences ID no1 and no.2  page 5 -page 7</p>	5,13,14, 17,20
P,A	<p>---  WO 99 32632 A (MILLENNIUM BIOTHERAPEUTICS INC) 1 July 1999 (1999-07-01)  cited in the application</p> <p>* 99% identity in 702 nt overlap with seq ID no.1 (14-708:17-718) *  figure 1A</p> <p>-----</p>	5,13,14, 17,20, 24-26, 28,30, 32,34, 36,39, 40,43, 44,48, 50,52, 54,56, 58,59, 61-63, 65,67, 69,71

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US 00/09392**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

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

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Although claims 37-46, 68-71 are directed to a method of treatment of the human/animal body (rule 39.1 IV PCT), the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2.  Claims Nos.: (35, 36) partially  
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.:

**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

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

1. Claims: (1-4, 6-12, 15-16, 18-19, 21-23, 27, 29, 31, 33, 35, 37-38, 41-42, 45-47, 49, 51, 53, 55, 57, 59-61, 64, 66, 68, 70) all partially

Nucleic acids represented by sequences ID no.7 and no. 29 and corresponding polypeptides represented by sequences ID no.8 and no.30. Antibodies. Therapeutic uses.

2. Claims: (1-71) all partially

Nucleic acids represented by sequences ID no.13, no. 15 and no. 17 and corresponding polypeptides represented by sequences ID no.14, no.16 and no.18. Antibodies. Therapeutic uses.

3. Claims: (1-4, 6-12, 15-16, 18-19, 21-23, 27, 29, 31, 33, 35, 37-38, 41-42, 45-47, 49, 51, 53, 55, 57, 59-61, 64, 66, 68, 70) all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.23 and corresponding polypeptide represented by sequence ID no.24. Antibodies. Therapeutic uses.

4. Claims: (1-4, 6-12, 15-16, 18-19, 21-23, 27, 29, 31, 33, 35, 37-38, 41-42, 45-47, 49, 51, 53, 55, 57, 59-61, 64, 66, 68, 70) all partially

Nucleic acid represented by sequences ID no.25 and no.27 and corresponding polypeptides represented by sequences ID no. 26 and no.28. Antibodies. Therapeutic uses.

5. Claims: (5, 13-14, 17, 20, 24-26, 28, 30, 32, 34, 36, 39-40, 43-44, 48, 50, 52, 54, 56, 58-59, 61-63, 65, 67, 69, 71) all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.1 and corresponding polypeptide represented by sequence ID no.2. Antibodies. Therapeutic uses.

6. Claims: (5, 13-14, 17, 20, 24-26, 28, 30, 32, 34, 36, 39-40, 43-44, 48, 50, 52, 54, 56, 58-59, 61-63, 65, 67, 69, 71) all partially

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Nucleic acid represented by sequences ID no.3 and no.5 and corresponding polypeptide represented by sequences ID no.4 and no.6. Antibodies. Therapeutic uses.

7. Claims: (5, 13-14, 17, 20, 24-26, 28, 30, 32, 34, 36, 39-40, 43-44, 48, 50, 52, 54, 56, 58-59, 61-63, 65, 67, 69, 71) all partially

Nucleic acids represented by sequences ID no.9 and no. 11 and corresponding polypeptides represented by sequences ID no.10 and no.12. Antibodies. Therapeutic uses.

8. Claims: (5, 13-14, 17, 20, 24-26, 28, 30, 32, 34, 36, 39-40, 43-44, 48, 50, 52, 54, 56, 58-59, 61-63, 65, 67, 69, 71) all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.19 and corresponding polypeptide represented by sequence ID no.20. Antibodies. Therapeutic uses.

9. Claims: (5, 13-14, 17, 20, 24-26, 28, 30, 32, 34, 36, 39-40, 43-44, 48, 50, 52, 54, 56, 58-59, 61-63, 65, 67, 69, 71) all partially

Nucleic acid represented by sequence ID no.21 and corresponding polypeptide represented by sequence ID no.22. Antibodies. Therapeutic uses.

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: (35, 36) partially

Claims 35 and 36 refer to a method relating to a compound that binds to said polypeptide without giving a true technical characterization. Moreover, no such compounds are defined in the application. In consequence, the scope of said claim is ambiguous and vague, and their subject-matter is not sufficiently disclosed and supported. No search can be carried out for such purely speculative claim whose wording is, in fact, a mere recitation of the results to be achieved. A partial search has been carried out for claims 35 and 36 as far as the "compound that binds" refers to an antibody against the polypeptide.

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.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 00/09392

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9849310 A	05-11-1998	AU 7152798 A	24-11-1998
		BR 9809778 A	20-06-2000
		CN 1258315 T	28-06-2000
		EP 0977861 A	09-02-2000
		NO 995182 A	22-12-1999
		PL 336470 A	19-06-2000
WO 9903982 A	28-01-1999	AU 8404598 A	10-02-1999
		AU 8571198 A	10-02-1999
		EP 1027430 A	16-08-2000
		EP 1012260 A	28-06-2000
		WO 9903990 A	28-01-1999
WO 9630052 A	03-10-1996	US 5861283 A	19-01-1999
		AU 5380196 A	16-10-1996
		CA 2216842 A	03-10-1996
		EP 0817649 A	14-01-1998
WO 9845437 A	15-10-1998	AU 6956798 A	30-10-1998
		EP 0973899 A	26-01-2000
WO 9906552 A	11-02-1999	AU 8555598 A	22-02-1999
		EP 1000150 A	17-05-2000
WO 9906548 A	11-02-1999	AU 8554798 A	22-02-1999
		EP 1000146 A	17-05-2000
WO 9627603 A	12-09-1996	US 6066322 A	23-05-2000
		US 5721351 A	24-02-1998
		AU 718245 B	13-04-2000
		AU 5178396 A	23-09-1996
		CA 2214589 A	12-09-1996
		EP 0813538 A	29-12-1997
		JP 11501807 T	16-02-1999
		US 6066498 A	23-05-2000
		US 6084083 A	04-07-2000
WO 9963088 A	09-12-1999	AU 4328699 A	20-12-1999
		AU 2212299 A	26-07-1999
		WO 9935170 A	15-07-1999
WO 0012708 A	09-03-2000	AU 5590899 A	21-03-2000
		AU 6041399 A	10-04-2000
		WO 0017353 A	30-03-2000
WO 9958668 A	18-11-1999	NONE	
WO 9918126 A	15-04-1999	EP 1022286 A	26-07-2000
WO 9960127 A	25-11-1999	AU 3993799 A	06-12-1999
		WO 9946281 A	16-09-1999
WO 9946281 A	16-09-1999	AU 3072199 A	27-09-1999
		AU 3075099 A	11-10-1999
		WO 9947677 A	23-09-1999
		AU 1532499 A	15-06-1999
		EP 1032667 A	06-09-2000
		WO 9927098 A	03-06-1999

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

information on patent family members

International Application No

PCT/US 00/09392

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9946281 A		AU 3757099 A	08-11-1999
		WO 9954467 A	28-10-1999
		AU 1070399 A	10-05-1999
		EP 1025227 A	09-08-2000
		WO 9920756 A	29-04-1999
WO 9935267 A	15-07-1999	AU 2031399 A	26-07-1999
WO 9932632 A	01-07-1999	AU 2004799 A	12-07-1999

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコ-ト' (参考)
A 6 1 P 7/00		A 6 1 P 15/00	4 C 0 8 4
9/10	1 0 1	17/00	4 C 0 8 5
15/00		17/02	4 C 0 8 6
17/00		17/06	4 H 0 4 5
17/02		19/00	
17/06		19/02	
19/00		21/00	
19/02		25/00	
21/00		25/08	
25/00		25/18	
25/08		25/28	
25/18		27/02	
25/28		29/00	
27/02		31/00	
29/00		35/00	
31/00		37/04	
35/00		37/06	
37/04		37/08	
37/06		43/00	1 1 1
37/08		C 0 7 K 14/47	
43/00	1 1 1	16/18	
C 0 7 K 14/47		C 1 2 N 1/15	
16/18		1/19	
C 1 2 N 1/15		1/21	
1/19		C 1 2 Q 1/68	A
1/21		G 0 1 N 33/15	Z
5/10		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		33/577	B
		C 1 2 P 21/02	C
33/566		21/08	
33/577		C 1 2 N 15/00	Z N A A
// C 1 2 P 21/02		5/00	A
21/08		A 6 1 K 37/02	

(31)優先権主張番号 0 9 / 5 4 4 , 5 1 1

(32)優先日 平成12年4月6日(2000.4.6)

(33)優先権主張国 米国( U S )

(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, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, 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

(72)発明者 バーネット, コリン  
アメリカ合衆国 フロリダ 32060, ゲ  
インズビル, エヌ.ダブリュー. 43ア  
ールディー ストリート ピーナンバー  
253 4830

(72)発明者 シムケッツ, リチャード  
アメリカ合衆国 コネチカット 06516,  
ウエスト ハイブン, リート ストリ  
ート 191

F ターム(参考) 2G045 AA40 DA12 DA13 DA14 DA36  
FB02 FB03  
4B024 AA01 AA11 BA44 BA80 CA04  
DA02 EA04 GA11 HA01 HA12  
HA15  
4B063 QA01 QA18 QA19 QQ42 QQ52  
QR55 QS34  
4B064 AG01 AG27 AG31 CA10 CA19  
CA20 CC24 DA01 DA13  
4B065 AA93X AA93Y AB01 AC14  
BA02 CA24 CA44 CA46  
4C084 AA02 AA07 AA13 BA01 BA08  
BA22 BA23 CA18 DC50 NA10  
NA14 ZA012 ZA062 ZA162  
ZA182 ZA332 ZA422 ZA512  
ZA812 ZA892 ZA942 ZA962  
ZB072 ZB082 ZB112 ZB132  
ZB262 ZB322  
4C085 AA13 CC03 CC21  
4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01  
MA04 NA10 NA14 ZA01 ZA06  
ZA16 ZA18 ZA33 ZA42 ZA51  
ZA81 ZA89 ZA94 ZB07 ZB08  
ZB11 ZB13 ZB26 ZB32  
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 CA45  
DA76 DA86 EA21 EA22 EA23  
EA29 EA50 FA74

专利名称(译)	新的人类蛋白质和编码它们的多核苷酸		
公开(公告)号	<a href="#">JP2003521239A</a>	公开(公告)日	2003-07-15
申请号	JP2000611677	申请日	2000-04-07
[标]申请(专利权)人(译)	CURAGEN CORP		
申请(专利权)人(译)	Kyurajen公司		
[标]发明人	フェルナンデスエルマ バーネットコリン シムケッツリチャード		
发明人	フェルナンデス, エルマ バーネット, コリン シムケッツ, リチャード		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/70 A61K31/7088 A61K38/00 A61K38/17 A61K38/20 A61K39/395 A61K48/00 A61K49/00 A61P7/00 A61P9/10 A61P15/00 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/00 A61P19/02 A61P21/00 A61P25/00 A61P25/08 A61P25/18 A61P25/28 A61P27/02 A61P29/00 A61P31/00 A61P35 /00 A61P37/04 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C07K14/47 C07K14/54 C07K14/705 C07K16/18 C07K16/24 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/02 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12N15/24 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566 G01N33/577 G01N33/68		
CPC分类号	A61K38/00 A61P7/00 A61P9/10 A61P15/00 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/00 A61P19/02 A61P21/00 A61P25/00 A61P25/08 A61P25/18 A61P25/28 A61P27/02 A61P29/00 A61P31/00 A61P35 /00 A61P37/04 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C07K14/47 C07K14/54 C07K14/705 C07K14/70571		
FI分类号	A61K31/7088 A61K39/395.D A61K48/00 A61P7/00 A61P9/10.101 A61P15/00 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/00 A61P19/02 A61P21/00 A61P25/00 A61P25/08 A61P25/18 A61P25/28 A61P27 /02 A61P29/00 A61P31/00 A61P35/00 A61P37/04 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00.111 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 G01N33/577.B C12P21/02.C C12P21/08 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024 /AA01 4B024/AA11 4B024/BA44 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA01 4B024/HA12 4B024/HA15 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ42 4B063 /QQ52 4B063/QR55 4B063/QS34 4B064/AG01 4B064/AG27 4B064/AG31 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065 /AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/CA18 4C084/DC50 4C084/NA10 4C084 /NA14 4C084/ZA012 4C084/ZA062 4C084/ZA162 4C084/ZA182 4C084/ZA332 4C084/ZA422 4C084 /ZA512 4C084/ZA812 4C084/ZA892 4C084/ZA942 4C084/ZA962 4C084/ZB072 4C084/ZB082 4C084 /ZB112 4C084/ZB132 4C084/ZB262 4C084/ZB322 4C085/AA13 4C085/CC03 4C085/CC21 4C086 /AA01 4C086/AA02 4C086/AA03 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA10 4C086/NA14 4C086/ZA01 4C086/ZA06 4C086/ZA16 4C086/ZA18 4C086/ZA33 4C086/ZA42 4C086/ZA51 4C086 /ZA81 4C086/ZA89 4C086/ZA94 4C086/ZB07 4C086/ZB08 4C086/ZB11 4C086/ZB13 4C086/ZB26 4C086/ZB32 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA45 4H045/DA76 4H045 /DA86 4H045/EA21 4H045/EA22 4H045/EA23 4H045/EA29 4H045/EA50 4H045/FA74		
优先权	60/128514 1999-04-09 US 60/186592 2000-03-03 US 09/544511 2000-04-06 US		

摘要(译)

本发明提供了新颖的分离的SECX多核苷酸和由SEX X多核苷酸编码的膜相关或分泌的多肽。还提供了与SECX多肽或SECX多肽，多核苷酸或抗体的任何衍生物，变体，变体或片段免疫特异性结合的抗体。本发明进一步提供了利用SEX X多肽，多核苷酸和抗体来检测和治疗多种病理状况以及其他应用的方法。

クローン	表	核酸配列 識別番号	ポリペプチド 識別番号
2191999	図 1	1	2
11753149.0.6	図 2	3	4
11753149.0.37	図 3	5	6
3883556	図 4	7	8
4301136-1	図 5	9	10
4301136-2	図 6	11	12
4324229	図 7	13	14
4324229-2	図 8	15	16
XC012614.1.0.123	図 9	17	18
4339264-2	図 10	19	20
4337764-3	図 11	21	22
4331184	図 12	23	24
4437909.0.4	図 13	25	26
4437909.0.55	図 14	27	28
PCDNA3.1-TOPO-	図 18	29	30
3883556-S54			
TA-4437909-S443	図 19	31	
pSec-V5-His 正方向	実施例 1	32	
pSec-V5-His 逆方向	実施例 1	33	
11753149 SECF	実施例 2	34	
11753149 SECR	実施例 2	35	
3883556 F-TOPO-F	実施例 4	36	
3883556 F-TOPO-R	実施例 4	37	
4437909-F	実施例 5	38	
4437909-R	実施例 5	39	
4437909 S1	実施例 5	40	
4437909 S2	実施例 5	41	
4437909 S3	実施例 5	42	
4437909 S4	実施例 5	43	
リンカー 1	実施例 7	44	
リンカー 2	実施例 7	45	
Ag 45 (F)	実施例 8	46	
Ag 45 (R)	実施例 8	47	
Ag 45 (B)	実施例 8	48	
Ab10(F)	実施例 9	49	
Ab10(R)	実施例 9	50	
Ab10(B)	実施例 9	51	
Ag 120 (F)	実施例 10	52	
Ag 120 (R)	実施例 10	53	
Ag 120 (B)	実施例 10	54	
Ab11(F)	実施例 11	55	
Ab11(R)	実施例 11	56	
Ab11(B)	実施例 11	57	