

【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2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および34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、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および34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、該改変体が、該成熟形態のアミノ酸配列中と異なっているのは15%以下のアミノ残基であるという条件で、該改変体中の1つ以上のアミノ酸残基が該成熟形態のアミノ酸配列と異なっている、改変体；

c) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および34からなる群より選択されるアミノ酸配列；および

d) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および34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、該改変体が該アミノ酸配列と異なっているのは15%以下のアミノ酸残基であるという条件で、該改変体中の1つ以上のアミノ酸残基が、該成熟形態のアミノ酸配列とは異なっている、改変体；
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項2】 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、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および34からなる群より選択されるアミノ酸配列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】 請求項2に記載のポリペプチドであって、ここで、前記対立遺伝子改変体が配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、および33からなる群より選択される核酸配列とは1つのヌクレオチドが異なる核酸配列の翻訳であるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

【請求項4】 請求項1に記載のポリペプチドであって、前記改変体の前記アミノ酸配列が保存的アミノ酸置換を含む、ポリペプチド。

【請求項5】 単離された核酸分子であって、以下：

a) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および34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、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および34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、該改変体が、該成熟形態のアミノ酸配列中と異なっているのは15%以下のアミノ残基であるという条件で、該改変体中の1つ以上のアミノ酸残基が該成熟形態のアミノ酸配列と異なっている、改変体；

c) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および34からなる群より選択されるアミノ酸配列；

d) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および34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、該改変体が該アミノ酸配列と異なっているのは15%以下のアミノ酸残基であるという条件で、該改変体中の1つ以上のアミノ酸残基が、該成熟形態のアミノ酸配列とは異なっている、改変体；

e) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および34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または該ポリペプチドの改変体の少なくとも一部をコードする核酸フラグメントであって、ここで、該改変体が該アミノ酸配列と異なっているのは15%以下のアミノ酸残基であるという条件で、該改変体中の1つ以上のアミノ酸残基が、該成熟形態のアミノ酸配列とは異なっている、改変体；ならびに

f) (a)、(b)、(c)、(d)または(e)の相補体を含む核酸分子、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をコードする核酸配

列を含む、核酸分子。

【請求項6】 請求項5に記載の核酸分子であって、ここで、該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、核酸分子。

【請求項7】 請求項5に記載の核酸分子であって、ここで、該核酸分子が天然に存在するポリペプチド改変体のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする、核酸分子。

【請求項8】 請求項5に記載の核酸分子であって、ここで、該核酸分子が配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、および33からなる群より選択される核酸配列とは1つのヌクレオチドが異なる、核酸分子。

【請求項9】 請求項5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、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、および33からなる群より選択されるヌクレオチド配列；

b) ヌクレオチド配列であって、ここで、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31および33からなる群より選択されるヌクレオチド配列中の1つ以上のヌクレオチドが異なっており、ただし、該ヌクレオチド配列と異なっているのは、該ヌクレオチドの20%以下である、ヌクレオチド配列；

c) (a)の核酸フラグメント；および

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、核酸分子。

【請求項10】 請求項5に記載の核酸分子であって、ここで、該核酸分子が、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31および33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、核酸分子。

【請求項11】 請求項5に記載の核酸分子であって、以下：

(a) 前記アミノ酸配列をコードするコード配列とは1つ以上のヌクレオチド配列が異なるコード配列を含む第1のヌクレオチド配列であって、ただし、該コード配列中のコード配列のヌクレオチドが該コード配列と異なっているのは20%以下である、第1のヌクレオチド配列；

(b) 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；および

(c) (a)または(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、核酸分子。

【請求項12】 請求項11に記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項13】 前記核酸分子に作動可能に連結されたプロモーターをさらに含む、請求項12に記載のベクター。

【請求項14】 請求項12に記載のベクターを含む、細胞。

【請求項15】 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16】 前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項15に記載の抗体。

【請求項17】 前記抗体がヒト化抗体である、請求項15に記載の抗体。

【請求項18】 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測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) 該サンプルを該ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体と接触する工程；および

(c) 該ポリペプチドに結合する抗体の存在または量を測定して、それによって該サンプル中のポリペプチドの存在または量を測定する工程を包含する、方法。

【請求項19】 請求項5に記載の核酸分子のサンプル中における存在または量を測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に結合するプローブ接触させる工程；および

(c) 該核酸分子に結合する該プローブの存在または量を測定して、それによって該サンプル中の該核酸分子の存在または量を測定する工程を包含する、方法。

【請求項20】 請求項1に記載のポリペプチドに結合する因子を同定する方法であって、該方法は、以下：

(a) 該ポリペプチドを該因子と接触させる工程；および

(b) 該因子が該ポリペプチドに結合するか否かを測定する工程

を包含する、方法。

【請求項21】 請求項1に記載のポリペプチドの発現または活性を調節する因子を同定する方法であって、以下：

(a) 該ポリペプチドを発現する細胞を提供する工程；

(b) 該細胞を該因子と接触させる工程；および

(c) 該因子が該ポリペプチドの発現または活性を調節するか否かを測定し、これによって、該ペプチドの発現または活性の変化は、該因子が該ポリペプチドの発現または活性を調節することを示す、工程

を包含する、方法。

【請求項22】 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、該ポリペプチドを発現する細胞サンプルと、該ポリペプチドに結合する化合物とを、該ポリペプチドの活性を調節するに十分な量で、接触させる工程を包含する、方法。

【請求項23】 PROX関連障害を処置または予防する方法であって、該方法は、そのような処置または予防が所望される被験体に、該被験体の該PROX関連障害を処置または予防するに十分な量で、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24】 前記被験体がヒトである、請求項23に記載の方法。

【請求項25】 PROX関連障害を処置または予防する方法であって、該方法は、そのような処置または予防が所望される被験体に、該被験体のPROX関連障害を処置または予防するに十分な量で、請求項5に記載の核酸を投与する工程を包含する、方法。

【請求項26】 前記被験体がヒトである、請求項25に記載の方法。

【請求項27】 PROX関連障害を処置または予防する方法であって、該方法は、そのような処置または予防が所望される被験体に、該被験体のPROX関連障害を処置または予防するに十分な量で請求項15に記載の抗体を投与する工程を包含する、方法。

【請求項28】 前記被験体がヒトである、請求項27に記載の方法。

【請求項29】 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有する、薬学的組成物。

【請求項30】 請求項5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有する、薬学的組成物。

【請求項31】 請求項15に記載の抗体および薬学的に受容可能なキャリアを含有する、薬学的組成物。

【請求項32】 請求項29に記載の薬学的組成物を1つ以上の容器に含む、キット。

【請求項33】 請求項30に記載の薬学的組成物を1つ以上の容器に含む、キット。

【請求項34】 請求項31に記載の薬学的組成物を1つ以上の容器に含む、キット。

【請求項35】 ヒトの疾患と関連する症候群を処置するための医薬品の製造における治療剤の使用であって、該疾患がPROX関連障害から選択され、ここで、該治療剤がPROXポリペプチド、PROX核酸、およびPROX抗体からなる群より選択される、使用。

【請求項36】 PROX関連障害に対する活性もしくは潜伏のモジュレーターまたは素因を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) PROX関連障害に対する危険性が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み換え発現する、工程；

b) 工程(a)の該化合物を投与する工程の後に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) 該試験動物における該タンパク質の活性を、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中の該ポリペプチドの活性における変化は、該試験化合物がPROX関連障害の潜伏のモジュレーターまたは素因であることを示す、工程を包含する、方法。

【請求項37】 請求項36に記載の方法であって、ここで、前記試験動物が、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、試験タンパク質導入遺伝子を発現するかまたは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38】 第1の哺乳動物被験体における請求項1に記載のポリペプチドの変化したレベルと関連する疾患の存在または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の哺乳動物被験体由来のサンプル中の該ポリペプチドの発現レベルを測定する工程；および

b) 工程(a)の該サンプル中の該ポリペプチドの量を、該疾患を有さないことが既知であるかまたは該疾患にかかりにくいことが既知の、第2の哺乳動物被験体由来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と比較する工程であって、

ここで、該コントロールサンプルと比較した場合の該第1の被験体における該ペプチドの発現レベルにおける変化が、該疾患の存在または該疾患の素因を示す、工程を包含する、方法。

【請求項39】 第1の哺乳動物被験体における請求項5に記載の核酸分子の変化したレベルと関連する疾患の存在または該疾患の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の哺乳動物被験体由来のサンプル中の該核酸の量を測定する工程；および

b) 工程 (a) の該サンプル中の該核酸の量を、該疾患を有さないことが既知であるかまたは該疾患にかかりにくいことが既知の、第 2 の哺乳動物被験体由来のコントロールサンプル中に存在する該核酸の量と比較する工程であって、

ここで、該コントロールサンプルと比較した場合の該第 1 の被験体における該核酸のレベルにおける変化が、該疾患の存在または該疾患の素因を示す、工程を包含する、方法。

【請求項 4 0】 哺乳動物において病理学的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、該ポリペプチドが、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および 34、またはそれらの生物学的に活性なフラグメントからなる群の少なくとも 1 つのアミノ酸配列を含むポリペプチドに少なくとも 95% 同一なアミノ酸配列を有するポリペプチドである、方法。

【請求項 4 1】 哺乳動物の病理学的状態を処置する方法であって、該方法は、該病理学的状態を緩和するに十分な量で請求項 1 5 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ポリペプチドに関する。

(発明の背景)

真核生物細胞は、膜によって複数の機能的の異なる区画に細分され、これらは、オルガネラと呼ばれている。各オルガネラは、その適切な機能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 (s o r t i n g s i g n a l) 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、適切な細胞オルガネラに対してそのタンパク質を標的化することを補助し得る。さらに、ソーティングシグナルは、いくつかのタンパク質が細胞から輸送または分泌されることを指示し得る。

【0002】

1つの型のソーティングシグナルは、シグナル配列 (シグナルペプチドまたはリーダー配列とも呼ばれる) である。このシグナル配列は、新たに合成されるポリペプチド鎖におけるアミノ末端伸長として存在する。シグナル配列は、小胞体 (E R) と呼ばれる細胞内オルガネラにタンパク質を標的化し得る。

【0003】

シグナル配列は、一連のタンパク質 - タンパク質またはタンパク質 - 脂質の相互作用に関与し、これは、シグナル配列を含むポリペプチドを、E Rにおけるチャネルを介してトランスロケーションさせる。トランスロケーション後、膜結合型酵素 (シグナルペプチダーゼと称される) は、成熟タンパク質をシグナル配列から遊離させる。

【0004】

E Rは、膜結合型タンパク質と分泌型タンパク質とを、細胞質に残るタンパク質から分離するように機能する。一旦E Rに標的化されると、分泌型および膜結合型の両方のタンパク質は、ゴルジ装置と呼ばれる別の細胞オルガネラへとさらに再分配され得る。そのゴルジは、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のような他の細胞オルガネラに対してタンパク質

を指向させる。

【0005】

ヒト膜結合型および分泌型のタンパク質をコードする、わずかに限られた数の遺伝子が同定されている。既知の分泌型タンパク質の例としては、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。

【0006】

(発明の要旨)

本発明は、一部、新規核酸およびそれによってコードされる分泌型ポリペプチドの発見に基づく。この核酸およびポリペプチドは、本明細書中では集合的に、「PROX」核酸およびポリペプチドという。

従って、一つの局面において、本発明は、PROXポリペプチド、またはそのフラグメント、ホモログ、アナログ、もしくは誘導体をコードする単離された核酸を含む。例えば、この核酸は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および/または34のアミノ酸配列を含むポリペプチドに対して少なくとも85%同一なポリペプチドをコードし得る。この核酸は、例えば、ゲノムDNAフラグメント、cDNA分子であり得る。いくつかの実施形態では、この配列に含まれる核酸として、本発明は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、および/または33のいずれかの核酸配列を含む、単離された核酸分子を提供する。

【0007】

また、本明細書中に記載される核酸の一つ以上を含むベクター、および本明細書中に記載されるベクターまたは核酸を含む細胞が、本発明の範囲に含まれる。

【0008】

本発明はまた、上記核酸分子のいずれかを含むベクターで形質転換された宿主細胞に関する。

【0009】

別の局面において、本発明は、PROX核酸および薬学的に受容可能なキャリ

アまたは希釈剤を含む薬学的組成物を包含する。

【0010】

さらなる局面において、本発明は、実質的に精製されたPROXポリペプチド（例えば、PROX核酸によってコードされるPROXポリペプチドのいずれか、ならびにそのフラグメント、ホモログ、アナログ、および誘導体）を包含する。本発明はまた、PROXポリペプチドおよび薬学的に受容可能なキャリアまたは希釈剤を含む薬学的組成物を包含する。

【0011】

なおさらなる局面において、本発明は、PROXポリペプチドに特異的に結合する抗体を提供する。この抗体は、例えば、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体、ならびにそれらのフラグメント、ホモログ、アナログ、および誘導体であり得る。本発明はまた、PROX抗体および薬学的に受容可能なキャリアまたは希釈剤を含む薬学的組成物を包含する。本発明はまた、上記核酸分子のいずれかによってコードされるポリペプチドにおけるエピトープに結合する単離された抗体に関する。

【0012】

本発明はまた、上記薬学的組成物のいずれかを備えるキットを包含する。

【0013】

本発明はさらに、PROX核酸（例えば、PROX核酸を含むベクター）を含む細胞を提供する工程、およびこの核酸によってコードされるPROXポリペプチドを発現させるに十分な条件下でこの細胞を培養する工程によって、PROXポリペプチドを産生する方法を提供する。次いで、発現されたPROXポリペプチドは、細胞から回収される。好ましくは、細胞は、ほとんどまたは全く内因性のPROXポリペプチドを産生しない。この細胞は、例えば、原核生物細胞または真核生物細胞であり得る。

【0014】

本発明はまた、サンプルをPROXポリペプチドまたはPROX核酸に特異的に結合する化合物と接触させる工程、そして複合体形成が存在するならば、その複合体形成を検出する工程によって、このサンプル中のPROXポリペプチドま

たはPROX核酸を同定する方法に関する。

【0015】

本発明はさらに、PROXポリペプチドを化合物と接触させる工程、およびこのPROXポリペプチドの活性が改変されるか否かを決定する工程によって、PROXポリペプチドの活性を調節する化合物を同定する方法を提供する。

【0016】

本発明はまた、PROXポリペプチドを化合物と接触させる工程、および、その化合物が、PROXポリペプチドの活性を改変するか、PROXポリペプチドに結合するか、またはPROXポリペプチドをコードする核酸分子に結合するかを決定する工程によって同定されるPROXポリペプチド活性を調節する化合物に関する。

【0017】

別の局面において、本発明は、被験体のPROX関連障害の存在または素因を決定する方法を提供する。この方法は、被験体からサンプルを提供する工程、およびこの被験体サンプル中のPROXポリペプチドの量を測定する工程を包含する。次いで、被験体サンプル中のPROXポリペプチドの量を、コントロールサンプル中のPROXポリペプチドの量と比較する。コントロールタンパク質サンプル中のPROXポリペプチドの量に対する被験体のタンパク質サンプル中のPROXポリペプチドの量における変化は、この被験体が、組織増殖関連状態を有することを示す。コントロールサンプルは、好ましくは、対等の個体（すなわち、年齢、性別、または他の全身的状态の類似する個体であるが、組織増殖関連状態を有する疑いのない個体）から採取される。あるいは、コントロールサンプルは、被験体が組織増殖関連障害を有すると疑われていない時点のその被験体から採取され得る。いくつかの実施形態において、PROXは、PROX抗体を使用して検出される。

【0018】

さらなる局面において、本発明は、被験体のPROX関連障害の存在または素因を決定する方法を提供する。この方法は、核酸サンプル（例えば、RNAもしくはDNAまたはその両方）を被験体から提供する工程、および被験体の核酸サ

ンプル中のPROX核酸の量を決定する工程を包含する。次いで、被験体核酸中のPROX核酸サンプルの量を、コントロールサンプル中のPROX核酸の量と比較する。コントロールサンプル中のPROXの量に対するサンプル中のPROX核酸の量における変化は、この被験体が組織増殖関連障害を有することを示す。

【0019】

なおさらなる局面において、本発明は、PROX関連障害を処置するか予防するかまたは遅延させる方法を提供する。本方法は、このような処置または予防または遅延が望まれる被験体に対して、PROX核酸、PROXポリペプチド、またはPROX抗体を、この被験体の組織増殖関連障害を処置、予防、または遅延させるに十分な量で投与する工程を包含する。

【0020】

他に規定しない限り、本明細書中で使用される全ての専門用語および科学技術用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって通常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および材料が、本発明の実施または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規制する。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。

【0021】

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。

【0022】

(発明の詳細な説明)

本発明は、新規なポリヌクレオチドおよびそれによってコードされるポリペプチドを提供する。本発明は、一部、17個のタンパク質をコードする核酸の発見に基づく。これらの核酸は、そのタンパク質を分泌させるか、細胞オルガネラに局在化させるか、または膜に結合させることを示唆する配列を含む。本発明は、

18個のPROX核酸、PROXポリペプチド、PROX抗体、またはそれらの核酸に基づく化合物もしくは方法を包含する。これらの核酸、およびそれらに関連するポリペプチド、抗体、および他の組成物を、それぞれ、PRO1、PRO2、PRO3...PRO17までとして言及する。これらの配列は、集合的に「PROX核酸」または「PROXポリヌクレオチド」と呼ばれ(ここでXは、1と17との間の整数である)、そしてその対応するコードされたポリペプチドを、「PROXポリペプチド」または「PROXタンパク質」という。

【0023】

表1は、本発明のPROX核酸またはポリペプチドの間の相互参照を提供し、表は、本発明の示されるPROX核酸またはポリペプチドによって包含される核酸およびコードポリペプチド、ならびに対応する配列番号(SEQ ID NO:)を開示する。また、開示された核酸およびコードポリペプチドについてのクローン識別子番号(Clone Identification Number)もまた提供する。他に示さない限り、「クローン」を参照して、本明細書中では、個々のインシリコ(in silico)核酸配列をいう。

【0024】

【表1】

表 1

クローン	PROX 番号	表番号	SEQ ID NO: 核酸	SEQ ID NO: ポリペプチド
20468752.0.18	1	2	1	2
20468752.0.18-U	2	3	3	4
11692010.0.51	3	4	5	6
27835981.0.1	4	5	7	8
21399247.0.1	5	6	9	10
17132296.0.4	6	7	11	12
17931354.0.35.1	7	8	13	14
17931354.0.35.2	8	9	15	16
7520500.0.54 1	9	10	17	18
7520500.0.54 2	10	11	19	20
7520500.0.54 3	11	12	21	22
7520500.0.54 4	12	13	23	23
7520500.0.21	13	14	25	26
17941787.0.1	14	15	27	28
17941787.0.31	15	16	29	30
16467945.0.85	16	17	31	32
16467945.0.88	17	19	33	34

PROX核酸、PROXポリペプチド、PROX抗体、および関連の化合物は、種々の適用および状況下で有用である。例えば、本発明に従う種々のPROX核酸およびポリペプチドは、とりわけ、以前に記載されたタンパク質に対するドメインおよび配列の関連性の存在に従ってタンパク質ファミリーの新規なメンバーとして有用である。

【0025】

本発明に従うPROX核酸およびポリペプチドは、本発明に従う種々のPROX核酸の存在または非存在に基づいて細胞型を同定するために使用され得る。PROX核酸およびポリペプチドのさらなる有用性を、以下に考察する。

【0026】

(PRO1核酸およびPRO1ポリペプチドならびにPRO2核酸およびPRO2ポリペプチド)

本発明に従うPRO1核酸は、クローン20468752.0.18に示される核酸配列を含む。このクローンに相同なRNA配列は、胎盤に見出される。

【0027】

クローン20468752.0.18のヌクレオチド配列の提示は、表2に示

され、そして1867bpのヌクレオチド配列(配列番号1)を含む。このヌクレオチド配列は、推定分子量63327ダルトンを有する567個のアミノ酸残基(配列番号2)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128~130に位置づけられ、そして終止コドンは、ヌクレオチド1829~1831に位置づけられる。クローン20468752.0.18によってコードされるタンパク質(配列番号2)は、PSORTプログラムによって、0.3700の信頼度で細胞外に位置づけられると推定された。PSORTおよびSignalPコンピュータプログラムを使用する分析によって、残基21と22との間の配列ISS-LPで、最も切断が生じる可能性が高いシグナルペプチドが存在し得ることが推定された。クローン20468752.0.18の核酸(配列番号1)およびアミノ酸(配列番号2)の配列を、以下の表2に示す。

【0028】

【表2】

表2

Clone 20468752

番号誤されたタンパク質 - フレーム: 2 - ヌクレオチド¹¹ 128 ~ 1828

```

1  GAGCTGAAACCCGAGCTCCCGCTCAGCTGGGGCTCGGGGAGGTCC
46 CTGTAAAACCCGCTGCCCGGCTCCCTGGGTCCCTCCTCTCC

91 CTCCCCAGTAGACGCTCGGACACCAGCCGCGGCAAGGATGGAGCT

```

つぎあり

表2 つき

MetGluLe

- 136 GGGTTGCTGGACGCAGTTGGGGCTCACTTTTCTCAGTCCTTCT
uGlyCysTrpThrGlnLeuGlyLeuThrPheLeuGlnLeuLeuLe
- 181 CATCTCGTCCCTGCCAAGAGAGTACACAGTCATTAATGAAGCCTG
uIleSerSerLeuProArgGluTyrThrValIleAsnGluAlaCy
- 226 CCCTGGAGCAGAGTGGAAATCATGTGTCGGGAGTGCTGTGAATA
sProGlyAlaGluTrpAsnIleMetCysArgGluCysCysGluTy
- 271 TGATCAGATTGAGTGCCTCTGCCCCGAAAGAGGGAAGTCGTGGG
rAspGlnIleGluCysValCysProGlyLysArgGluValValGI
- 316 TTATACCATCCCTTGCTGCAGGAATGAGGAGAATGAGTGTGACTC
yTyrThrIleProCysCysArgAsnGluGluAsnGluCysAspSe
- 361 CTGCCTGATCCACCCAGGTTGTACCATCTTTGAAAAGTCAAGAG
rCysLeuIleHisProGlyCysThrIlePheGluAsnCysLysSe
- 406 CTGCCGAAATGGCTCATGGGGGGTACCTTGGATGACTTCTATGT
rCysArgAsnGlySerTrpGlyGlyThrLeuAspAspPheTyrVa
- 451 GAAGGGTTCTACTGTGCAGAGTCCCGAGCAGGCTGGTACGGAGG
lLysGlyPheTyrCysAlaGluCysArgAlaGlyTrpTyrGlyGI
- 496 AGACTGCATGCCATGTGGCCAGGTTCTGCGAGCCCCAAAGGTCA
yAspCysMetArgCysGlyGlnValLeuArgAlaProLysGlyGI
- 541 GATTTTGTGGAAAGCTATCCCCTAAATGCTCACTGTGAATGGAC
nIleLeuLeuGluSerTyrProLeuAsnAlaHisCysGluTrpTh
- 586 CATTGCTGCTAAACCTGGGTTTGTGCATCCAACTAAGATTGTGCAT
rIleHisAlaLysProGlyPheValIleGlnLeuArgPheValMe
- 631 GTTGAGCCTGGAGTTTACTACATGTGCCAGTATGACTATGTGTA
tLeuSerLeuGluPheAspTyrMetCysGlnTyrAspTyrValGI
- 676 GGTTGCGTATGGAGACAACCGCGATGGCCAGATCATCAAGCGTGT
uValArgAspGlyAspAsnArgAspGlyGlnIleIleLysArgVa
- 721 CTGTGGCAACGAGCGGCCAGCTCCTATCCAGAGCATAGGATCCTC
lCysGlyAsnGluArgProAlaProIleGlnSerIleGlySerSe
- 766 ACTCCACGTCCCTTCCACTCCGATGGCTCCAAGAATTTGACGG
rLeuHisValLeuPheHisSerAspGlySerLysAsnPheAspGI
- 811 TTTCCATGCCATTTATGAGGAGATCACAGCATGCTCCTCATCCCC
yPheHisAlaIleTyrGluGluIleThrAlaCysSerSerSerPr
- 856 TTGTTCCATGACGGCACGTCGTCCTTGACAAGGCTGGATCTTA
oCysPheHisAspGlyThrCysValLeuAspLysAlaGlySerTy
- 901 CAAGTGTGCCTGCTTGGCAGGCTATACTGGGCAGCGCTGTGAAAA
zLysCysAlaCysLeuAlaGlyTyrThrGlyGlnArgCysGluAs
- 946 TCTCCTGAAGAAAGAACTGCTCAGACCTGGGGGCCAGTCAA
nLeuLeuGluGluArgAsnCysSerAspProGlyGlyProValAs
- 991 TGGGTACCAGAAAATAACAGGGGGCCCTGGGCTTATCAACGGACG
nGlyTyrGlnLysIleThrGlyGlyProGlyLeuIleAsnGlyAr

つぎあり

表2 つづき

1036 CCATGCTAAAATTGGCACCGTGGTGTCTTTCTTTTGTAACAACCTC
gHisAlaLysIleGlyThrValValSerPhePheCysAsnAsnSe

1081 CTATGTTCTTAGTGGCAATGAGAAAAGAACTTGCCAGCAGAATGG
rTyrValLeuSerGlyAsnGluLysArgThrCysGlnGlnAsnGl

1126 AGAGTGGTCAGGGAACAGCCCATCTGCATAAAAGCCTGCCGAGA
yGluTrpSerGlyLysGlnProIleCysIleLysAlaCysArgGl

1171 ACCAAAGATTCAGACCTGGTGAGAAGGAGAGTTCTTCCGATGCA
uProLysIleSerAspLeuValArgArgArgValLeuProMetGl

1216 GGTTCAGTCAAGGGAGACACCATTACACCAGCTATACTCAGCGGC
nValGlnSerArgGluThrProLeuHisGlnLeuTyrSerAlaAl

1261 CTTCAGCAAGCAGAACTGCAGAGTGCCCTACCAAGAAGCCAGC
aPheSerLysGlnLysLeuGlnSerAlaProThrLysLysProAl

1306 CCTTCCCTTTGGAGATCTGCCCATGGGATACCAACATCTGCATAC
aLeuProPheGlyAspLeuProMetGlyTyrGlnHisLeuHisTh

1351 CCAGCTCCAGTATGAGTGCATCTCACCCCTTCTACCGCCGCTGGG
rGlnLeuGlnTyrGluCysIleSerProPheTyrArgArgLeuGl

1396 CAGCAGCAGGAGGACATGTCTGAGGACTGGGAAGTGGAGTGGGCG
ySerSerArgArgThrCysLeuArgThrGlyLysTrpSerGlyAr

1441 GGCACCATCCTGCATCCCTATCTGCGGGAAAATTGAGAATCAC
gAlaProSerCysIleProIleCysGlyLysIleGluAsnIleTh

1486 TGCTCCAAAGACCCAAGGTTGCGCTGGCCGTGGCAGGCAGCCAT
rAlaProLysThrGlnGlyLeuArgTrpProTrpGlnAlaAlaIl

1531 CTACAGGAGGACCAGCGGGTGCATGACGGCAGCCTACACAAGGG
eTyrArgArgThrSerGlyValHisAspGlySerLeuHisLysGl

1576 AGCGTGGTTCCTAGTCTGCAGCGGTGCCCTGGTGAATGAGCGCAC
yAlaTrpPheLeuValCysSerGlyAlaLeuValAsnGluArgTh

1621 TGTGGTGGTGGCTGCCCACTGTGTTACTGACCTGGGGAAGGTCAC
rValValValAlaAlaHisCysValThrAspLeuGlyLysValTh

1666 CATGATCAAGACAGCAGACCTGAAAGTTGTTTTGGGAAATTCTA
rMetIleLysThrAlaAspLeuLysValValLeuGlyLysPheTy

1711 CCGGGATGATGACCGGATGAGAAGACCATCCAGAGCCTACAGAT
rArgAspAspAspArgAspGluLysThrIleGlnSerLeuGlnIl

1756 TTCTGCTATCATTCTGCATCCCAACTATGACCCCATCCTTGCTTT
eSerAlaIleIleLeuHisProAsnTyrAspProIleLeuAlaLe

1801 GATGCTTGACATCGCCATCCTGAACTCCTAGACAAGGCCCGTATC
uMetLeuAspIleAlaIleLeuAsnSer (SEQ ID NO:2)

1846 AGCACCGAGTCCAGCCATCT (SEQ ID NO:1)

クローン20468752.0.18によってコードされるポリペプチドは、PRO1344と称される720残基のヒトタンパク質（PCT公開WO9963088-A2（1999年12月9日公開）を参照のこと）と同一であるかまたはポジティブである、565残基のうちの562残基（99%）を有する。さらに、これは、RA反応因子前駆体の699残基のヒト補体活性化成分（EC

3.4.21.-) (RA反応因子セリンプロテアーゼP100) (RARF)
(マンノース結合タンパク質関連セリンプロテアーゼ) (MASP) (ACC:
P48740) に対して同一である、150残基のうちの51残基(34%)、
そしてポジティブである、150残基のうちの71残基(47%)を有する。

【0029】

本発明に従うPRO2核酸は、クローン20468752.0.18-Uに示される核酸配列を含む。このクローンに対して相同な配列は、胎盤RNAにおいて見出される。クローン20468752.0.18のヌクレオチド配列の提示を表3に提供する。これは、2306bpのヌクレオチド配列(配列番号3)を含む。

【0030】

クローン20468752.0.18-Uの核酸配列は、推定分子量63327ダルトンを有する720個のアミノ酸残基(配列番号4)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。クローン20468752.0.18-Uによってコードされるアミノ酸の配列を、表3に示す。開始コドンは、ヌクレオチド128~130に位置づけられ、そして終止コドンは、ヌクレオチド2287~2289に位置づけられる。

【0031】

クローン20468752.0.18-Uによってコードされるタンパク質(配列番号4)は、PSORTプログラムによって、0.3700の信頼度で細胞外に位置づけられると推定される。PSORTおよびSignalPコンピュタープログラムでの分析によって、残基21と22との間の配列ISS-LPで、最も切断が生じる可能性が高いシグナルペプチドが存在し得ることが推定された。クローン20468752.0.18-Uの核酸(配列番号3)およびアミノ酸(配列番号4)の配列を、以下の表3に示す。

【0032】

【表3】

表3

Clone 20468752-0-18_U

翻訳されたタンパク質 - フレーム: 2 - "ヌクレオチド" 128 ~ 2287

1 GAGCTGAAACCCGAGCTCCCGCTCAGCTGGGGCTCGGGGAGGTCC
 46 CTGTAAAACCCGCTGCCCCCGCCTCCCTGGGTCCTCCTCTCC
 91 CTCCCAGTAGACGCTCGGACACCAGCCGCGGCAAGGATGGAGCT
 MetGluLeu
 136 GGGTTGCTGGACGCAGTTGGGGCTCACTTTTCTTCAGCTCCTTCT
 uGlyCysTrpThrGlnLeuGlyLeuThrPheLeuGlnLeuLeuLeu
 181 CATCTCGTCCTTGCCAAGAGAGTACACAGTCATTAATGAAGCCTG
 uIleSerSerLeuProArgGluTyrThrValIleAsnGluAlaCy
 226 CCCTGGAGCAGAGTGGAAATATCATGTGTCGGGAGTGCTGTGAATA
 sProGlyAlaGluTrpAsnIleMetCysArgGluCysCysGluTy
 271 TGATCAGATTGAGTGCCTCTGCCCCGAAAGAGGGAAGTCGTGGG
 rAspGlnIleGluCysValCysProGlyLysArgGluValValGl
 つきあり

表3つぎ

316 TTATACCATCCCTTGCTGCAGGAATGAGGAGAATGAGTGTGACTC
yTyrThrIleProCysCysArgAsnGluGluAsnGluCysAspSe

361 CTGCCTGATCCACCCAGGTTGTACCATCTTTGAAAAGTCAAGAG
rCysLeuIleHisProGlyCysThrIlePheGluAsnCysLysSe

406 CTGCCGAAATGGCTCATGGGGGGTACCTTGGATGACTTCTATGT
rCysArgAsnGlySerTrpGlyGlyThrLeuAspAspPheTyrVa

451 GAAGGGTTCTACTGTGCAGAGTCCCGAGCAGGCTGGTACGGAGG
lLysGlyPheTyrCysAlaGluCysArgAlaGlyTrpTyrGlyGl

496 AGACTGCATGCGATGTGGCCAGGTTCTGCGAGCCCCAAAGGGTCA
yAspCysMetArgCysGlyGlnValLeuArgAlaProLysGlyGl

541 GATTTTGTGGAAAGCTATCCCCTAAATGCTCACTGTGAATGGAC
nIleLeuLeuGluSerTyrProLeuAsnAlaHisCysGluTrpTh

586 CATTCATGCTAAACCTGGGTTTGTTCATCCAAGTAAAGATTTGTCA
rIleHisAlaLysProGlyPheValIleGlnLeuArgPheValMe

631 GTTGCAGCCTGGAGTTGACTACATGTGCCAGTATGACTATGTTGA
tLeuSerLeuGluPheAspTyrMetCysGlnTyrAspTyrValGl

676 GGTTCGTGATGGAGACAACCGCGATGGCCAGATCATCAAGCGTGT
uValArgAspGlyAspAsnArgAspGlyGlnIleIleLysArgVa

721 CTGTGGCAACGAGCGGCCAGCTCCTATCCAGAGCATAGGATCCTC
lCysGlyAsnGluArgProAlaProIleGlnSerIleGlySerSe

766 ACTCCACGTCCTCTTCCACTCCGATGGCTCCAAGAATTTTGACGG
rLeuHisValLeuPheHisSerAspGlySerLysAsnPheAspGl

811 TTCCATGCCATTTATGAGGAGATCACAGCATGCTCCTCATCCCC
yPheHisAlaIleTyrGluGluIleThrAlaCysSerSerSerPr

856 TTGTTTCCATGACGGCACGTGCGTCCTTGACAAGGCTGGATCTTA
oCysPheHisAspGlyThrCysValLeuAspLysAlaGlySerTy

901 CAAGTGTGCTGCTTGGCAGGCTATACTGGGCAGCGCTGTGAAAA
rLysCysAlaCysLeuAlaGlyTyrThrGlyGlnArgCysGluAs

946 TCTCCTTGAAGAAAGAACTGCTCAGACCCTGGGGGCCAGTCAA
nLeuLeuGluGluArgAsnCysSerAspProGlyGlyProValAs

991 TGGGTACCAGAAAATAACAGGGGGCCCTGGGCTTATCAACGGACG
nGlyTyrGlnLysIleThrGlyGlyProGlyLeuIleAsnGlyAr

1036 CCATGCTAAAATGGCACCGTGGTGTCTTTCTTTGTAAACAACCTC
gHisAlaLysIleGlyThrValValSerPhePheCysAsnAsnSe

1081 CTATGTTCTTAGTGGCAATGAGAAAAGAACTTGCCAGCAGAATGG
rTyrValLeuSerGlyAsnGluLysArgThrCysGlnGlnAsnGl

1126 AGAGTGGTCAGGGAAACAGCCCATCTGCATAAAAGCCTGCCGAGA
yGluTrpSerGlyLysGlnProIleCysIleLysAlaCysArgGl

1171 ACCAAAGATTTTCAGACCTGGTGAGAAGGAGAGTCTTCCGATGCA
uProLysIleSerAspLeuValArgArgArgValLeuProMetGl

つぎあり

表3つぎ

- 1216 G6TTCAGTCAAGGGAGACACCATTACACCAGCTATACTCAGCGGC
nValGlnSerArgGluThrProLeuHisGlnLeuTyrSerAlaAl
- 1261 CTTCAGCAAGCAGAACTGCAGAGTCCCCCTACCAAGAAGCCAGC
aPheSerLysGlnLysLeuGlnSerAlaProThrLysLysProAl
- 1306 CCTTCCCTTTGGAGATCTGCCCATGGGATACCAACATCTGCATAC
aLeuProPheGlyAspLeuProMetGlyTyrGlnHisLeuHisTh
- 1351 CCAGCTCCAGTATGAGTGCATCTCACCCCTTCTACCGCCGCTGGG
rGlnLeuGlnTyrGluCysIleSerProPheTyrArgArgLeuGl
- 1396 CAGCAGCAGGAAGACATGTCTGAAGACTGGGAAGTGGAGTGGGCG
ySerSerArgLysThrCysLeuLysThrGlyLysTrpSerGlyAr
- 1441 GGCACCATCCTGCATCCCTATCTGCGGGAAAATTGAGAACATCAC
gAlaProSerCysIleProIleCysGlyLysIleGluAsnIleTh
- 1486 TGCTCCAAAGACCCAAGGGTTGCGCTGGCCGTGGCAGGCAGCCAT
rAlaProLysThrGlnGlyLeuArgTrpProTrpGlnAlaAlaIl
- 1531 CTACAGGAGGACCAGCGGGTGCATGACGGCAGCCTACACAAGGG
eTyrArgArgThrSerGlyValHisAspGlySerLeuHisLysGl
- 1576 AGCGTGGTTCCTAGTCTGCAGCGGTGCCCTGGTGAATGAGCGCAC
yAlaTrpPheLeuValCysSerGlyAlaLeuValAsnGluArgTh
- 1621 TGTGGTGGTGGCTGCCCACTGTGTACTGACCTGGGGAAGTCCAC
rValValValAlaAlaHisCysValThrAspLeuGlyLysValTh
- 1666 CATGATCAAGACAGCAGACCTGAAAGTTGTTTTGGGAAATTCTA
rMetIleLysThrAlaAspLeuLysValValLeuGlyLysPheTy
- 1711 CCGGGATGATGACCGGGATGAGAAGACCATCCAGAGCCTACAGAT
rArgAspAspAspArgAspGluLysThrIleGlnSerLeuGlnIl
- 1756 TTCTGCTATCATTCTGCATCCCACTATGACCCCATCCTGCTTGA
eSerAlaIleIleLeuHisProAsnTyrAspProIleLeuLeuAs
- 1801 TGCTGACATCGCCATCCTGAAGCTCCTAGACAAGGCCCGTATCAG
pAlaAspIleAlaIleLeuLysLeuLeuAspLysAlaArgIleSe
- 1846 CACCCGAGTCCAGCCCATCTGCCTCGCTGCCAGTCGGGATCTCAG
rThrArgValGlnProIleCysLeuAlaAlaSerArgAspLeuSe
- 1891 CACTTCCTTCCAGGAGTCCCACATCACTGTGGCTGGCTGGAATGT
rThrSerPheGlnGluSerHisIleThrValAlaGlyTrpAsnVa
- 1936 CCTGGCAGACGTGAGGAGCCCTGGCTTCAAGAACGACACACTGCG
lLeuAlaAspValArgSerProGlyPheLysAsnAspThrLeuAr
- 1981 CTCTGGGGTGGTCACTGTGGTGGACTCGCTGCTGTGTGAGGAGCA
gSerGlyValValSerValValAspSerLeuLeuCysGluGluGl
- 2026 GCATGAGGACCATGGCATCCCAGTGAGTGTCACTGATAACATGTT
nHisGluAspHisGlyIleProValSerValThrAspAsnMetPh
- 2071 CTGTGCCAGCTGGGAACCCACTGCCCTTCTGATATCTGCACTGC
eCysAlaSerTrpGluProThrAlaProSerAspIleCysThrAl
- 2116 AGAGACAGGAGGCATCGCGGCTGTGTCTTCCCGGGACGAGCATC

つぎあり

表3つぎ

aGluThrGlyGlyIleAlaAlaValSerPheProGlyArgAlaSe
 2161 TCCTGAGCCACGCTGGCATCTGATGGGACTGGTCAGCTGGAGCTA
 rProGluProArgTrpHisLeuMetGlyLeuValSerTrpSerTy
 2206 TGATAAACATGCAGCCACAGGCTCTCCACTGCCTTCACCAAGGT
 rAspLysThrCysSerHisArgLeuSerThrAlaPheThrLysVa
 2251 GCTGCCTTTTAAAGACTGGATTGAAAGAAATATGAAATGAACCAT
 lLeuProPheLysAspTrpIleGluArgAsnMetLys (SEQ ID NO:4
 2296 GCTCATGCACT (SEQ ID NO:3)

クローン20468752.0.18-Uによってコードされたタンパク質は、PRO1344と呼ばれる720残基のヒトタンパク質に対して720残基中718残基が同一であり(99%)、そして720残基中720残基がポジティブである(100%)(PCT公開WO9963088-A2、1999年12月9日公開)。さらに、このコードされたタンパク質はまた、仮想のヒト20.0Kda1タンパク質の188残基フラグメント(TREMBLNEW-ACC:CAB43317)に対して181残基中180残基が同一であり(99%)、そして181残基中181残基がポジティブである(100%)であることを見出した。

【0033】

クローン20468752.0.18および20468752.0.18-Uによってコードされた本発明のタンパク質は、本明細書中に記載されるORFによってコードされるものとして開示されたタンパク質、および転写後の改変の結果として生じる任意の変異タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、20468752.0.18および20468752.0.18-Uタンパク質の前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【0034】

実施例16に示される実験結果は、クローン20468752が、同一の組織由来のそれぞれの正常細胞サンプルと比較して、特定の中樞神経系腫瘍および黒色腫において比較的強力に発現され；ほとんどの結腸癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌、および肝臓癌のサンプルにおいて抑制されることを示した。これらの

結果は、核酸またはアミノ酸配列のクローンが、これらの癌の決定、診断、または処置に有用であり得ることを示唆する。さらに、実施例17に示される結果は、この核酸配列の発現がまた、NHost細胞の増殖を含むことを示唆する。

【0035】

(PRO3)

本発明に従うPRO3核酸は、クローン11692010.0.51に示される核酸配列を含む。このクローンと相同性のRNA配列は、胎児の脳組織において見出される。クローン11692010.0.51のヌクレオチド配列の表示は、表4に提供され、そして2852bpのヌクレオチド配列(配列番号5)を含む。このヌクレオチド配列は、72993.5ダルトンの予測された分子量を有する、649個のアミノ酸残基(配列番号6)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。この開始コドンは、ヌクレオチド458~460に配置され、そして終止コドンは、ヌクレオチド2405~2407に配置される。このタンパク質(配列番号6)は、0.6976の確実性で原形質膜に位置されると、PSORTコンピュータプログラムによって予測された。このSignalPコンピュータプログラムは、ほとんどの切断部位が、配列VMA-KSの残基28と29との間に占有する状態で、シグナルペプチドが存在することを予測した。クローン11692010.0.51の核酸(配列番号5)およびアミノ酸(配列番号6)配列を、以下の表4に示す。

【0036】

(表4)

クローン11692010-0-51

翻訳されたタンパク質-フレーム: 2-ヌクレオチド458から2404

【0037】

【表4】

表4-①

1	GTGTGCAGTAAACTGGAATGCTCTCCCTCGCTCACTCCTCAGTGT
46	AGGAGTGATCTGAAGCAGGACAAGCTCAGCCTGCAGCTGCCGTGG
91	GCTTTGTGTGGACTGGACGCAGAGCTTGGGAGACGGGGGAGGGCT
136	ATTACTCCAATTCACTGTCAATGGAATTACAGCTATAGCGGCAGT
181	GTATATAGGATTGCTTTTCTCGTCTTCCCTGGAGATGCTCAGTCC
226	CAGTATATTTTAAGGAAGAGAAATATAAAGGAAATTTAGTATGCC
271	TCCTTTTCTTTAAATGAAGAATTTAGTTTCCFTTACTTCTTAAAA
316	GAGAATACCTGTCTTGTATAACGTGACTGCACCAGACATTCTGA
361	AAAATCAGCAAGAAGCAAAGCTGGAAATAGCTATTTACACAGCAG
406	GGTTCTGAAGTAACGGAAGCTACCTTGTATAAAGACCTCAACACT
451	GCTGACCATGATCAGCGCAGCCTGGAGCATCTTCCCTCATCGGGAC MetIleSerAlaAlaTrpSerIlePheLeuIleGlyTh
496	TAAATTGGGCTGTTCCCTTCAAGTAGCACCTCTATCAGTTATGGC rLysIleGlyLeuPheLeuGlnValAlaProLeuSerValMetAl
541	TAAATCCTGTCCATCTGTGTGTCGCTGCGATGCGGGTTTCATTTA aLysSerCysProSerValCysArgCysAspAlaGlyPheIleTy
586	CTGTAATGATCGCTTTCTGACATCCATTCCAACAGGAATACCAGA rCysAsnAspArgPheLeuThrSerIleProThrGlyIleProGl
631	GGATGCTACAACCTCTCTACCTTCAGAACAACCAAATAAATAATGC uAspAlaThrThrLeuTyrLeuGlnAsnAsnGlnIleAsnAsnAl
676	TGGGATTCCTTCAGATTTGAAAACTTGCTGAAAGTAGAAAGAAT aGlyIleProSerAspLeuLysAsnLeuLeuLysValGluArgIl
721	ATACCTATAACCACAACAGTTTAGATGAATTTCCCTACCAACCTCCC eTyrLeuTyrHisAsnSerLeuAspGluPheProThrAsnLeuPr
766	AAAGTATGTAAAAGAGTTACATTTGCAAGAAAATAACATAAGGAC oLysTyrValLysGluLeuHisLeuGlnGluAsnAsnIleArgTh
811	TATCACTTATGATTCACCTTCAAAAATTCCTATCTGGAAGAATT rIleThrTyrAspSerLeuSerLysIleProTyrLeuGluGluLe
856	ACATTTAGATGACAACCTCTGTCTCTGCAGTTAGCATAGAAGAGGG uHisLeuAspAspAsnSerValSerAlaValSerIleGluGluGl
901	AGCATTCCGAGACAGCAACTATCTCCGACTGCTTTTCCCTGTCCCG つちあり

(表 4 のつぎ)

yAlaPheArgAspSerAsnTyrLeuArgLeuLeuPheLeuSerAr

946 TAATCACCTTAGCACAATCCCTGGGGTTGCCAGGACTATAGA
gAsnHisLeuSerThrIleProTrpGlyLeuProArgThrIleGl

991 AGAACTACGCTTGGATGATAARTCGCATATCCACTATTTTCATCACC
uGluLeuArgLeuAspAspAsnArgIleSerThrIleSerSerPr

1036 ATCTCTCAAGGTCTCACTAGTCTAAAACGCCTGGTTCTAGATGG
oSerLeuGlnGlyLeuThrSerLeuLysArgLeuValLeuAspGl

1081 AAACCTGTTGAACAATCATGGTTTAGGTGACAAAGTTTCTTCAA
yAsnLeuLeuAsnAsnHisGlyLeuGlyAspLysValPhePheAs

1126 CCTAGTTAATTTGACAGAGCTGTCCCTGGTGGGAATTCCTGAC
nLeuValAsnLeuThrGluLeuSerLeuValArgAsnSerLeuTh

1171 TGCTGCACCAGTAAACCTTCCAGGCACAAACCTGAGGAAGCTTTA
rAlaAlaProValAsnLeuProGlyThrAsnLeuArgLysLeuTy

1216 TCTTCAAGATAACCCACATCAATCGGGTGCCCCAATGCTTTTTC
rLeuGlnAspAsnHisIleAsnArgValProProAsnAlaPheSe

1261 TTATCTAAGGCAGCTCTATCGACTGGATATGTCCAATAATAACCT
rTyrLeuArgGlnLeuTyrArgLeuAspMetSerAsnAsnAsnLe

1306 AAGTAATTTACCTCAGGGTATCTTTGATGATTTGGACAATATAAC
uSerAsnLeuProGlnGlyIlePheAspAspLeuAspAsnIleTh

1351 ACAACTGATTCTTCGCAACAATCCCTGGTATTGCGGGTCAAGAT
rGlnLeuIleLeuArgAsnAsnProTrpTyrCysGlyCysLysMe

1396 GAAATGGGTACGTGACTGGTTACAATCACTACCTGTGAAGGTCAA
tLysTrpValArgAspTrpLeuGlnSerLeuProValLysValAs

1441 CGTGCGTGGGCTCATGTGCCAAGCCCCAGAAAAGGTTGCTGGGAT
nValArgGlyLeuMetCysGlnAlaProGluLysValArgGlyMe

1486 GGCTATTAAGGATCTCAATGCAGAACTGTTTGTATTGTAAGGACAG
tAlaIleLysAspLeuAsnAlaGluLeuPheAspCysLysAspSe

1531 TGGGATTGTAAGCACCATTTCAGATAACCACTGCAATACCCAACAC
rGlyIleValSerThrIleGlnIleThrThrAlaIleProAsnTh

1576 AGTGATCTCTGCCAAGGACAGTGGCCAGCTCCAGTGACCAACA
rValTyrProAlaGlnGlyGlnTrpProAlaProValThrLysGl

1621 GCCAGATATTAAGAACCCCAAGCTCACTAAGGATCAACAAACCAC
nProAspIleLysAsnProLysLeuThrLysAspGlnGlnThrTh

1666 AGGGAGTCCCTCAAGAAAACAATTACAATTACTGTGAAGTCTGT
rGlySerProSerArgLysThrIleThrIleThrValLysSerVa

1711 CACCTCTGATACCATTATATCTCTTGGAACTTGCTCTACCTAT
lThrSerAspThrIleHisIleSerTrpLysLeuAlaLeuProMe

1756 GACTGCTTTGAGACTCAGCTGGCTTAACTGGGCCATAGCCCGGC
tThrAlaLeuArgLeuSerTrpLeuLysLeuGlyHisSerProAl

1801 ATTTGGATCTATAACAGAAAACAATTGTAAACAGGGGAACGCAGTGA
aPheGlySerIleThrGluThrIleValThrGlyGluArgSerGl

つぎあり

(表4 のつぎ)

1846 GTACTTGGTCACAGCCCTGGAGCCTGATTCACCCTATAAAAGTATG
uTyrLeuValThrAlaLeuGluProAspSerProTyrLysValCy

1891 CATGGTCCCATGGAAACCAGCAACCTCTACCTATTTGATGAAAC
sMetValProMetGluThrSerAsnLeuTyrLeuPheAspGluTh

1936 TCCTGTTTGTATTGAGACTGAAACTGCACCCCTCGAATGTACAA
rProValCysIleGluThrGluThrAlaProLeuArgMetTyrAs

1981 CCCTACAACCACCCTCAATCGAGAGCAAGAGAAAGAACCTTACAA
nProThrThrThrLeuAsnArgGluGlnGluLysGluProTyrLy

2026 AAACCCCAATTTACCTTTGGCTGCCATCATTGGTGGGGCTGTGGC
sAsnProAsnLeuProLeuAlaAlaIleIleGlyGlyAlaValAl

2071 CCTGGTTACCATTGCCCTTCTTGCTTTAGTGTGTGGTATGTTCA
aLeuValThrIleAlaLeuLeuAlaLeuValCysTrpTyrValHi

2116 TAGGAATGGATCGCTCTTCTCAAGGAACGTGCATATAGCAAAGG
sArgAsnGlySerLeuPheSerArgAsnCysAlaTyrSerLysGl

2161 GAGGAGAAGAAAGGATGACTATGCAGAAGCTGGCACTAAGAAGGA
yArgArgArgLysAspAspTyrAlaGluAlaGlyThrLysLysAs

2206 CAACTCTATCCTGGAAATCAGGGAAACTTCTTTTCAGATGTTACC
pAsnSerIleLeuGluIleArgGluThrSerPheGlnMetLeuPr

2251 AATAAGCAATGAACCCATCTCGAAGGAGGAGTTTGTAAATACACAC
oIleSerAsnGluProIleSerLysGluGluPheValIleHisTh

2296 CATATTTCCCTCCTAATGGAATGAATCTGTACAAAAACAATCACAG
rIlePheProProAsnGlyMetAsnLeuTyrLysAsnAsnHisSe

2341 TGAAAGCAGTAGTAACCGAAGCTACAGAGACAGTGGTATTCCAGA
rGluSerSerSerAsnArgSerTyrArgAspSerGlyIleProAs

2386 CTCAGATCACTCACACTCATGATGCTGAAGGACTCACAGCAGACT
pSerAspHisSerHisSer (配列番号6)

2431 TGTGTTTGGGTTTTTTAAACCTAAGGGAGGTGATGGTAGGAACC
2476 CTGTTCTACTGCAAAACACTGGAAAAGAGACTGAAAAAAGCAA
2521 TGTACTGTACATTTGCCATATAATTTATATTTAAGAACTTTTTAT
2566 TAAAAGTTTCAAATTTCAAGTTACTGCTGCGATTGATGTAGTGGGA
2611 GATGCCTGAACACAATTCTATATTTTAGTATTTTTTAGTAATTTG
2656 TACTGTATTTTCCCTTGCAAATATTGGAGTTATAAACCAATTTACTT
2701 TGTGTTCTACTGAGTAAGATGACTTGTGACTGTGAAAGTGAATT
2746 TTCTTGCTGTGTCGAACAATCAGGACTGCATTCATATGAGATCCT
2791 TGTAGTATAAGCACAGGCCATTTTTCACTTTGGTATTAATAAAAT
2836 GTAAAAAAAATTTGGT (配列番号5)

BLASTPおよびBLASTX分析は、クローン11692010.0.5
1によってコードされたタンパク質が、660残基ヒトKIAA0405タンパ
ク質(ACC:043155)に対して637残基中306残基が同一であり(

48%)、そして637残基中427残基がポジティブである(67%)ことを示す。さらに、クローン11692010.0.51によってコードされたタンパク質は、配列番号305と命名した649残基のマウス皮膚細胞タンパク質に対して649残基中626残基が同一であり(96%)、そして649残基中637残基がポジティブである(98%)ことを見出した(PCT公開WO9955867-A1;1999年11月4日公開を参照のこと)。

【0038】

クローン11692010.0.51(配列番号6)によってコードされたタンパク質は、(i)ケラチノサイトの増殖性および運動性を刺激するため;(ii)黒色腫を含む癌細胞の増殖を阻害するため;(iii)血管形成および腫瘍血管新生を調節するため;(vi)皮膚の炎症を調節するため;および(v)上皮細胞の増殖を調節するため強力に使用され得る。

【0039】

クローン11692010.0.51によってコードされた本発明のタンパク質は、本明細書中に記載されたORFによってコードされるとして開示されたタンパク質、および翻訳後の改変の結果として生じる任意の変異タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、11692010.0.51タンパク質の前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【0040】

実施例16に示される実験結果は、クローン11692010.0.51によってコードされたアミノ酸配列が、特定の卵巣癌細胞株、胃癌、および結腸癌細胞株において高い発現レベルを示す(正常な細胞と比較して)ことを実証する。さらに、クローン11692010.0.51によってコードされたアミノ酸配列はまた、種々の肺癌および特定のCNS癌細胞において広範に発現されることを見出す。これらの結果は、このクローンがこれらの癌の決定または診断のための選択プローブとして使用され得、そしてこのクローンまたはこれらの遺伝子産物が、このような癌の処置において有用な治療または標的であり得ることを示唆する。さらに、この遺伝子産物は、実施例17においてセリンプロテアーゼ活性を阻害することが示された。この特性は、組織の再構築を調節または特定の癌を

処置するのを有用にする。

【0041】

(PRO4)

本発明に従うPRO4核酸は、クローン27835981.0.1に示された核酸配列を含む。このクローンと相同性のRNA配列は、脾臓において見出される。

【0042】

クローン27835981.0.1のヌクレオチド配列の表示は、表5に示され、そして1653bpのヌクレオチド配列(配列番号7)を含む。クローン27835981.0.1のヌクレオチド配列は、17844.2ダルトンの予測された分子量を有する、160個のアミノ酸残基(配列番号8)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。この開始コドンは、ヌクレオチド964~966に配置され、そして終止コドンは、ヌクレオチド1444~1446に配置される。このタンパク質(配列番号8)は、0.6090の確実性で細胞外に位置されと、PSORTコンピュータプログラムによって予測された。このSignalPコンピュータプログラムは、ほとんどの切断部位が、配列TMA-EAの残基24と25との間に配置された状態で、シグナルペプチドが存在することを予測した。クローン27835981.0.1の核酸(配列番号7)およびアミノ酸(配列番号8)配列を、以下の表5に示す。

【0043】

(表5)

クローン27835981.0.1

翻訳されたタンパク質 - フレーム: 1 - ヌクレオチド964から1443

【0044】

【表5】

1 CCCACGGTCCGGCCTTCTCTGGACTTTGCATTCCATTCCTT
 46 TTCATTGACAAACTGACTTTTTTTATTTCTTTTTTCCATCTCTG
 91 GGCCAGCTTGGGATCCTAGGCCGCCCTGGGAAGACATTTGTGTTT
 136 TACACACATAAGGATCTGTGTTTGGGGTTTCTTCTTCCCTCCCTG
 181 ACATTGGCATTGCTTAGTGGTTGTGTGGGAGGGAGACCAGTGG
 226 GCTCAGTGCTTGCTTGCACTTATCTGCCTAGGTACATCGAAGTCT
 271 TTTGACCTCCATACAGTGATTATGCCTGTTCATCGCTGGTGGTATC
 316 CTGGCCGGCCTTGCTCCTGCTGATAGTTGTCGTGCTCTGTCTTTAC
 361 TTCAAAATACACAACCGCTAAAAGCTGCAAGGAACCTGAAGCT
 406 GTGGCTGTAAAAATCACACCCAGACAAGGTGTGGTGGGCCAAG
 451 AACAGCCAGGCCAAAACCATTGCCACGGAGTCTTGCTCCCTGCTG
 496 CAGTGTGTGAAGGATATAGAATGTGTGCCAGTTTGTATTCCCTG
 541 CCACCTTGCTGTGCGACATAAATGAGGGCCTCTGAGTTAGGAAA
 586 GGCTCCCTTCTCAAAGCAGAGCCCTGAAGACTTCAATGATGTCAA
 631 TGAGGCCACCTGTTTGTGATGTGCAGGCACAGAAGAAAGGCACAG
 676 CTCCCATCAGTTTCATGGAAAATAACTCAGTGCCTGCTGGGAAC
 721 CAGTGTGGAGATCCCTACAGAGAGCTTCCACTGGGGGCAACCC
 766 TTCCAGGAAGGAGTTGGGGAGAGAGAACCCCTACTGTGGGGAATG
 811 CTGATAAACCAGTCACACAGCTGCTCTATTCTCACACAATCTAC
 856 CCCTTGCGTGGCTGGAAGTACGTTTCCCTGGAGGTGTCCAGAAA
 901 GCTGATGTAACACAGAGCCTATAAAAGCTGTCGGTCTTAAGGCT

 946 GCCCAGCGCCTTGCCAAAATGGAGCTTGTAGAAGGCTCATGCCA
 MetGluLeuValArgArgLeuMetPro

 991 TTGACCTCTTAATTCTCTCTGTTTGGCGGAGCTGACAATGGCG
 LeuThrLeuLeuIleLeuSerCysLeuAlaGluLeuThrMetAla

 1036 GAGGCTGAAGGCAATGCAAGCTGCACAGTCAGTCTAGGGGGTGCC
 GluAlaGluGlyAsnAlaSerCysThrValSerLeuGlyGlyAla

 1081 AATATGGCAGAGACCCACAAGCCATGATCCTGCAACTCAATCCC
 AsnMetAlaGluThrHisLysAlaMetIleLeuGlnLeuAsnPro

 1126 AGTGAGAACGACCTGGACAATAGAAAGACCAGAAAACAAAAGC
 SerGluAsnCysThrTrpThrIleGluArgProGluAsnLysSer

 1171 ATCAGAATTATCTTTTCTATGTCCAGCTTGATCCAGATGGAAGC
 IleArgIleIlePheSerTyrValGlnLeuAspProAspGlySer

 1216 TGTGAAAGTGAACACATTAAGTCTTTGACGGAACCTCCAGCAAT
 CysGluSerGluAsnIleLysValPheAspGlyThrSerSerAsn

 1261 GGGCCTCTGCTAGGGCAAGTCTGCAGTAAAAACGACTATGTTCC
 GlyProLeuLeuGlyGlnValCysSerLysAsnAspTyrValPro

 1306 GTATTTGAATCATCATCCAGTACATTGACGTTTCAAATAGTTACT
 ValPheGluSerSerSerSerThrLeuThrPheGlnIleValThr

 1351 GACTCAGCAAGAATTCAAAGAACTGTCTTTGTCTTCTACTACTTC
 AspSerAlaArgIleGlnArgThrValPheValPheTyrTyrPhe

 1396 TTCTCTCCTAACATCTGGCTCTGCATTACAGCACCTACATTCCA
 PheSerProAsnIleTrpLeuCysIleHisSerThrTyrIlePro

 1441 CTGTGATCCGAAGCAGAATGCCAAGAACATCTGCGAGTGGGTCA
 Leu (配列番号8)

 1486 TGAGGAGAGCTCCACTGTGGATTTCTTTCCAAGGCCAGAGCTGA
 1531 CCATGTCACCTCTCTGCTAAAACCACTGACTTCTTGGTACCAGCA
 1576 GATCTCCAGAGTGCAGCAGTCAAGGTTTTCCACGCTGGACCCAG
 1621 GCCCTGTCCCATCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA (配列番号7)

BLASTPおよびBLASTXコンピュータプログラムを使用する配列デー
 タベースの分析は、クローン27835981.0.1によってコードされたタ
 ンパク質が、607残基のラット子宮/卵巣特異的推定膜貫通タンパク質(AC

C : O 3 5 3 6 0) に対して 1 4 6 残基中 9 9 残基が同一であり (6 7 %)、そして 1 4 6 残基中 1 2 0 残基がポジティブである (8 2 %) ことを明らかにした。さらに、コードされたタンパク質はまた、ヒト膵臓 P A 1 5 3 コンセンサスタンパク質の 6 0 7 アミノ酸残基のアミノ末端に対して 1 ~ 1 4 9 残基が 1 0 0 % 同一であり (P C T 公開 W O 9 9 3 1 2 7 4 - A 2、1 9 9 9 年 6 月 2 4 日 公開)、そして 6 0 7 アミノ酸残基を含むヒトタンパク質 P R O 2 5 7 と残基が 1 0 0 % 同一である (P C T 公開 W O 9 9 1 4 3 2 8 - A 2、1 9 9 9 年 3 月 2 5 日 公開) ことを見出した。

【 0 0 4 5 】

クローン 2 7 8 3 5 9 8 1 . 0 . 1 によってコードされた本発明のタンパク質は、本明細書中に記載された O R F によってコードされるのとして開示されたタンパク質、および翻訳後の改変の結果として生じる任意の変異タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、2 7 8 3 5 9 8 1 . 0 . 1 タンパク質の前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【 0 0 4 6 】

実施例 1 6 に示された実験結果は、同一の組織の各正常細胞株と比較して、クローン 2 7 8 3 5 9 8 1 . 0 . 1 が、試験された全癌細胞株を実質的に過剰発現することを示した。これらの結果は、このクローンがこれらの癌の検出または診断のための選択的なプローブとして使用され得ること、ならびにこのクローンまたはこれらの遺伝子産物が、このような癌の処置において有用な治療または標的であり得ることを示唆する。

【 0 0 4 7 】

(P R O 5 核酸およびポリペプチド)

本発明に従って P R O 5 核酸は、クローン 2 1 3 9 9 2 4 7 . 0 . 1 で表される核酸配列を含む。このクローンと相同性の R N A 配列は、甲状腺において見出される。クローン 2 1 3 9 9 2 4 7 . 0 1 のヌクレオチド配列の表示は、表 6 に提供され、そして 2 4 7 8 b p のヌクレオチド配列 (配列番号 9) を含む。このクローン 2 1 3 9 9 2 4 7 . 0 . 1 のヌクレオチド配列は、6 6 6 1 4 . 6 ダルトンの予測された分子量を有する、5 8 0 個のアミノ酸残基 (配列番号 1 0) 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。この開始コドンは、ヌクレオチド273~275に配置され、そして終止コドンは、ヌクレオチド2013~2015に配置される。クローン21399247.0.1によってコードされたタンパク質(配列番号10)は0.8650の確実性でミクロソーム(管腔)に位置されると、PSORTコンピュータプログラムによって予測された。このPSORTおよびSignalPコンピュータプログラムはまた、ほとんどの切断部位が、配列VLA-AVの残基16と17との間に配置された状態で、シグナルペプチドが存在することを予測した。クローン21399247.0.1の核酸(配列番号9)およびアミノ酸(配列番号10)配列を、以下の表6に示す。

【0048】

(表6)

クローン21399247.0.1

翻訳されたタンパク質 - フレーム : 3 - ヌクレオチド273から2012

【0049】

【表6】

表6-①

1 CCGCGTCGGCAGAGGTGGCTTCGTCCCGGGAGTCCAGGCTTCAG
 46 CTCCTGGCTTCTCTTCTTTCCTCCTAGAGATCAGATGTCCGAACT
 91 CCAGCTGAGGGCATGTCTTACTGGGCACGCAGGTGTCTCTCTTG
 136 AGAAGAACTGTCCATACCATGGTGGTGGTAAGGCTTTCACCAGTT
 181 CTCAGGATGCCATAGGGATGGGTGAAGCCTGCCTGGCCTGTGGT
 226 GCTTTCAGTGGCCGTCTCATTAGGGCCCCACAGTGGCATT

 271 GGATGCACCTCTCGGCGGTGTTCAACGCCCTCCTGGTGTCCGGTGC
 MetHisLeuSerAlaValPheAsnAlaLeuLeuValSerValL

 316 TGGCAGCGGTCTGTGGAAGCATGTCCGGCTGCGTGAGCATGCAG
 euAlaAlaValLeuTrpLysHisValArgLeuArgGluHisAlaA

 361 CCACACTGGAGGAGGAGCTGGCCCTCAGCCGACAGGCCACAGAGC
 laThrLeuGluGluGluLeuAlaLeuSerArgGlnAlaThrGluP

 406 CAGCCCCAGCACTGAGGATCGACTACCCGAAGGCACTGCAGATCC
 roAlaProAlaLeuArgIleAspTyrProLysAlaLeuGlnIleL

 451 TGATGGAGGGCGGCACACACATGGTGTGCACGGGCCGCACGCACA
 euMetGluGlyGlyThrHisMetValCysThrGlyArgThrHisT

 496 CAGACCGCATCTGCCGCTTCAAGTGGCTCTGCTACTCCAACGAGG
 hrAspArgIleCysArgPheLysTrpLeuCysTyrSerAsnGluA

 541 CTGAGGAGTTCATCTTCTTCCATGGCAACACCTCTGTCATGCTGC
 laGluGluPheIlePhePheHisGlyAsnThrSerValMetLeuP

 586 CCAACCTGGGCTCCCGGCGCTTCCAGCCAGCCCTGCTCGACCTAT
 roAsnLeuGlySerArgArgPheGlnProAlaLeuLeuAspLeuS

 631 CCACCGTGGAGGACCACAACACTCAGTACTTCAACTTCGTGGAGC
 erThrValGluAspHisAsnThrGlnTyrPheAsnPheValGluL

 676 TGCCTGCTGCTGCCCTGCGCTTCATGCCCAAGCCGGTGTTCGTGC
 euProAlaAlaAlaLeuArgPheMetProLysProValPheValP

 721 CAGACGTGGCCCTCATCGCCAACCGCTTCAACCCCGACAACCTCA
 roAspValAlaLeuIleAlaAsnArgPheAsnProAspAsnLeuM

 766 TGCACGTCTTTCATGACGACCTGCTGCCACTCTTCTACACCCCTGC
 etHisValPheHisAspAspLeuLeuProLeuPheTyrThrLeuA

 811 GCCAGTTTCCCGGCTGGCCCACGAGGCACGGCTCTTCTTCATGG

つづきあり

(表6の77位)

表6-②

rgGlnPheProGlyLeuAlaHisGluAlaArgLeuPhePheMetG

856 AGGGCTGGGGCGAGGGTGCACACTTCGACCTCTACAAGCTGCCTCA
luGlyTrpGlyGluGlyAlaHisPheAspLeuTyrLysLeuLeuS

901 GCCCCAAGCAGCCTCTCCTGCGGGCACAGCTGAAGACCCTGGGCC
erProLysGlnProLeuLeuArgAlaGlnLeuLysThrLeuGlyA

946 GGCTGCTGTGCTTCTCCCATGCTTTTGTGGGCCTCTCCAAGATCA
rgLeuLeuCysPheSerHisAlaPheValGlyLeuSerLysIleT

991 CTACCTGGTACCAGTATGGCTTTGTGCAGCCCCAGGGCCCGAAGG
hrThrTrpTyrGlnTyrGlyPheValGlnProGlnGlyProLysA

1036 CCAACATCCTCGTCTCAGGCAATGAGATCCGGCAGTTTGCACGGT
laAsnIleLeuValSerGlyAsnGluIleArgGlnPheAlaArgP

1081 TCATGACAGAAAAGCTGAACGTGAGCCACACAGGAGTCCCCCTAG
heMetThrGluLysLeuAsnValSerHisThrGlyValProLeuG

1126 GCGAGGAGTACATTCTGGTCTTTAGCCGAACCCAGAACAGACTCA
lyGluGluTyrIleLeuValPheSerArgThrGlnAsnArgLeuI

1171 TTCTGAATGAGGCAGAGCTGCTGCTGGCACTGGCCCAGGAGTTCC
leLeuAsnGluAlaGluLeuLeuLeuAlaLeuAlaGlnGluPheG

1216 AGATGAAGACAGTGACAGTGTCCCTGGAGGACCACACCTTTGCTG
lnMetLysThrValThrValSerLeuGluAspHisThrPheAlaA

1261 ATGTCGTGCGGCTGGTCAGCAATGCCTCCATGCTGGTCAGCATGC
spValValArgLeuValSerAsnAlaSerMetLeuValSerMetH

1306 ATGGGGCCAGCTGGTCACCACCCTCTCCTGCCCGTGGGGCAA
isGlyAlaGlnLeuValThrThrLeuPheLeuProArgGlyAlaT

1351 CTGTGGTAGAGCTCTTCCCATATGCTGTCAATCCCGACCACTACA
hrValValGluLeuPheProTyrAlaValAsnProAspHisTyrT

1396 CTCCCTATAAGACGCTGGCCATGCTGCCTGGCATGGACCTCCAGT
hrProTyrLysThrLeuAlaMetLeuProGlyMetAspLeuGlnT

1441 ATGTAGCCTGGCGGAACATGATGCCAGAGAACACAGTCACACACC
yrValAlaTrpArgAsnMetMetProGluAsnThrValThrHisP

1486 CTGAGCGGCCCTGGGATCAGGGGGGCATCACCCATCTGGACGGGG
roGluArgProTrpAspGlnGlyGlyIleThrHisLeuAspArgA

1531 CTGAGCAAGCCCGTATCCTGCAAAGCCGTGAGGTCCCACGGCATC
laGluGlnAlaArgIleLeuGlnSerArgGluValProArgHisL

1576 TCTGTTGCCGGAACCCGAGTGGCTCTCCGAATCTACCAGGACA
euCysCysArgAsnProGluTrpLeuPheArgIleTyrGlnAspT

1621 CCAAGGTGGACATCCCATCCCTCATTCAAACCATACGGCGCGTGG
hrLysValAspIleProSerLeuIleGlnThrIleArgArgValV

1666 TGAAGGGCCGGCCAGGACCACGGAAGCAGAAGTGGACAGTCCGGCC
alLysGlyArgProGlyProArgLysGlnLysTrpThrValGlyL

1711 TATATCCAGGCAAGGTGCGGGAGGCACGGTCCAGGCGTCAGTGC
euTyrProGlyLysValArgGluAlaArgCysGlnAlaSerValH

つちあり

(表 6 のつぎ)

表6-③

1756 ATGGCGCCTCCGAGGCCCGCCTCACTGTCTCCTGGCAGATCCCAT
isGlyAlaSerGluAlaArgLeuThrValSerTrpGlnIleProT

1801 GGAACCTTAAATACCTGAAGGTGAGGGAGGTGAAGTACGAGGTGT
rpAsnLeuLysTyrLeuLysValArgGluValLysTyrGluValT

1846 GGCTGCAGGAGCAGGGGAGAACACCTACGTGCCTTACATCCTGG
rpLeuGlnGluGlnGlyGluAsnThrTyrValProTyrIleLeuA

1891 CTCTGCAGAACCACACCTTCACTGAGAACATCAAGCCCTTACCA
laLeuGlnAsnHisThrPheThrGluAsnIleLysProPheThrT

1936 CCTACCTGGTGTGGGTCCGCTGCATCTTCAACAAGATCCTCCTGG
hrTyrLeuValTrpValArgCysIlePheAsnLysIleLeuLeuG

1981 GACCCTTTGCAGATGTGCTGGTGTGCAACACGTAGCGAGCAGGCC
lyProPheAlaAspValLeuValCysAsnThr (配列番号10)

2026 ACAGCCTGGCCTCGGGAAGGTGGCTCCTGCAGTTCAGCGTCCCTG
2071 GGCCATTAATCCCCTGTGGAGACTTCTGGGAAGTATTTATTGA
2116 GCAGGCCTGTGCCTCCACATCATCTTGTGTCTCTGGGGTGTGGT
2161 GTCACAGCACTCCTCTTTGCCCTAGAGATAAGGGACCTGACTTCC
2206 CCTTCTCCCATCCTGAACATTTGTACCCCTGGAGAAGTTCCTTAG
2251 CAGGGAGGAGGAAGAGGAGAGGAGGAAGCAAAGAATCACAAGGAA
2296 CCTCTGGCTAGGTGATCCTGATGTTTCCTACTGAGTTTTTCTGGT
2341 ATCCAGATTTCTGGAAACCGGTAATCATGTACTGTTTGTATGGG
2386 TGGTTCATCTGCTTCCATCCCAGTAAAATTTACCTGTAGCCAGT
2431 GAAGGGTGTGTTTGGAACATTCATTAATGATTCTAAGCGAAAAA
2476 AAA (配列番号9)

B L A S T PおよびB L A S T Xを使用する配列データベースの調査は、任意の公知の動物タンパク質と統計学的に有意に同一でないことを明らかにする。

【0050】

クローン21399247.0.1によってコードされた本発明のタンパク質は、本明細書中に記載されたORFによってコードされるものとして開示されたタンパク質、および転写後の改変の結果として生じる任意の変異タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、21399247.0.1タンパク質の前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【0051】

実施例16に示された実験結果は、クローン21399247.0.1が、試験された組織のほとんどにおいて広範に発現されることを示す。これは、特に、特定の癌(例えば、黒色腫、前立腺癌、肺癌および結腸癌)において特に強力に

発現されることを見出した。これらの結果は、このクローンが、これらの癌の決定、診断、または処置のための選択的なプローブとして有用であり得ること、およびこのクローンまたはこれらの遺伝子が、このような処置において有用な治療または標的であり得ることを示唆する。

【0052】

(PRO6)

本発明に従うPRO6核酸は、クローン17132296.0.4に示された核酸配列で示された核酸配列を含む。このクローンと相同性のRNA配列は、精巢において見出される。クローン17132296.0.4のヌクレオチド配列の表示は、表7に提供され、そして523bpのヌクレオチド配列(配列番号11)を含む。このヌクレオチド配列は、13132ダルトンの予測された分子量を有する、121個のアミノ酸残基(配列番号12)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。この開始コドンは、ヌクレオチド141~143に配置され、そして終止コドンは、ヌクレオチド504~506に配置される。クローン17132296.0.4によってコードされたタンパク質(配列番号12)は、0.6400の確実性でマイクロボディー(ペルオキシソーム)に位置されると、PSORTコンピュータプログラムによって予測された。このPSORTおよびSignalPコンピュータプログラムは、シグナルペプチドが存在しないことを予測した。クローン17132296.0.4の核酸(配列番号11)およびアミノ酸(配列番号12)配列を、以下の表7に示す。

【0053】

(表7)

クローン17132296.0.4

翻訳されたタンパク質 - フレーム : 3 - ヌクレオチド141から503

【0054】

【表7】

1 AGAGATTCATGGCTGGGGAACCCCTTGCTGGTGTTCAGAATCTGGA
 46 TCTACAGTTTCTCCCTTTACGACCCACAGATTTAGGCCCTGATTC
 91 TCTTCTTTTTCAGGAATGTGCACCTCACCTGTTCTCCAGACCT

 136 TGGGGATGAAGGAAACAGGAGCCTCACCCAGGAGGCTCAAGGCCA
 MetLysGluThrGlyAlaSerProArgArgLeuLysAlaL

 181 AAACCTGACCCAAACTACCTCAGGAGCCCTGGCCCTGGCTTCC
 ysThrLeuThrGlnThrThrSerGlyAlaProGlyProGlyPheP

 226 CCCCTGCTCCAGAGTTTCTGCCCTGCCACACACACACACCCCTCT
 roProAlaProGluPheLeuProCysProHisThrHisThrLeuP

 271 TCCACCCCTCAGAGGCCCGGTGTCTGCCCCACGCTCTACCCAG
 heHisProGlnArgProArgCysProAlaProArgSerThrProG

 316 AGCCCCACGGGTGGCTTTATAAAAGTGCCGGGCCAGCCCTCTAG
 luProHisGlyTrpLeuTyrLysSerAlaGlyProSerProLeuA

 361 CAGGAGGGGAATGCTGGGCATCTGGGTGTGGGACCCCCGGGGAAC
 laGlyGlyGluCysTrpAlaSerGlyCysGlyThrProGlyGluG

 406 AGCCTGTGGTCTGGACTCCTGCATCTATGAGGGACAGACGTGGC
 lnProValValTrpThrProAlaSerMetArgGlyGlnThrTrpL

 451 TTCCCTTCCGGATGATGGGGTACCCACAGATGATGGAGGCCAGGG
 euProPheArgMetMetGlyTyrProGlnMetMetGluAlaArgV

 496 TCCCTCAATAAAAAGAAGGGGTGCAAAA (配列番号11)
 alProGln (配列番号12)

BLASTPおよびBLASTXコンピュータプログラムを使用する配列データベースの調査は、クローン17132296.0.4によってコードされたタンパク質が、995残基のヒト萎縮性-関連タンパク質ARP(ACC:AAD27584)に対して105残基中38残基が同一であり(36%)、そして105残基中44残基がポジティブである(41%)ことを明らかにした。

【0055】

クローン17132296.0.4によってコードされたタンパク質は、本明細書中に記載されたORFによってコードされるものとして開示されたタンパク質、および転写後の改変の結果として生じる任意の変異タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、17132296.0.4タンパク質の前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【0056】

実施例16に示された実験結果は、クローン17132296.0.4が、正常な組織細胞株に対して、卵巣癌、乳癌、および結腸癌において過剰発現される。これらの結果は、核酸またはアミノ酸配列クローンが、このような癌の決定、診断、または処置に有用であり得ることを示唆する。

【0057】

(PRO7およびPRO8の核酸およびポリペプチド)

本発明に従うPRO7核酸は、クローン17931354.0.35.1に示された核酸配列を含む。本発明に従ってPRO8核酸は、クローン17931354.0.35.2(PROX8)に示された核酸配列を含む。この2つのクローンは、ほとんどの共通の配列(すなわちアミノ酸残基1~984をコードする核酸配列)にわたって同一であるという点で互いに類似しており、そしてカルボキシル末端のみが異なる(図1を参照のこと)。さらに、クローン17931354.0.35.2は、さらにカルボキシル末端において、クローン17931354.0.35.1よりも1個のアミノ酸残基長い。

【0058】

クローン17931354.0.35.1およびクローン17931354.0.35.2に示された核酸配列が、下垂体において観測され、そして脳、胎児の脳、および胎児の肝臓において占有されることもまた見出された。

【0059】

クローン17931354.0.35.1(PROX7)のヌクレオチド配列の表示は、表8に示され、そして3863bpの核酸配列(配列番号13)を含む。このヌクレオチド配列は、107523.8ダルトンの予測された分子量を有する、993個のアミノ酸残基(配列番号14)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。この開始コドンは、ヌクレオチド178~180に配置され、そして終止コドンは、ヌクレオチド3157~3159に配置される。クローン17931354.0.35.1によってコードされたタンパク質(配列番号14)は、0.6760の确实性で原形質膜に位置されると、PSORTコンピュータプログラムによって予測された。このPSORTおよびSignalPコンピュータプログラムは、ほとんどの切断部位

が、配列A H G - L Sの残基19と20との間に存在する状態で、シグナルペプチドが存在することを予測した。クローン17931354.0.35.1の核酸(配列番号13)およびアミノ酸(配列番号14)配列を、以下の表8に示す。

【0060】

(表8)

クローン17931354.0.35.1

翻訳されたタンパク質 - フレーム: 1 - ヌクレオチド178から3156

【0061】

【表8】

表8-①

1 CCAGGCGCTGGCCGTGGTGTGATTCTGTTCAGGCGCTGGCGGCGG
 46 CAGCGGCGGTGACGGCTGCGGCCCCGCTCCCTCTACCCGCGCGGA
 91 CCGGCTCTGCCCCGCGCCAAGCCCCACCAAGCCCCCGCCCT
 136 CCGCGCGGTTCCAGCCCAGGGCGCGCGCAACCAGCACCATG
 Met
 181 CGCCCGGTAGCCCTGTGCTCCTGCCCTCGCTGCTGGCGCTCCTG
 ArgProValAlaLeuLeuLeuLeuProSerLeuLeuAlaLeuLeu
 226 GCTCACGGACTCTCTTAGAGGCCCAACCGTGGGAAAGGACAA
 AlaHisGlyLeuSerLeuGluAlaProThrValGlyLysGlyGln
 271 GCCCCAGGCATCGAGGAGACAGATGGCGAGCTGACAGCAGCCCC
 AlaProGlyIleGluGluThrAspGlyGluLeuThrAlaAlaPro
 316 ACACCTGAGCAGCCAGAACGAGGCGTCCACTTTGTCAACAGCC
 ThrProGluGlnProGluArgGlyValHisPheValThrThrAla
 361 CCCACCTTGAAGCTGCTCAACCACCACCCGCTGCTTGAGGAATTC
 ProThrLeuLysLeuLeuAsnHisHisProLeuLeuGluGluPhe
 406 CTACAAGAGGGGCTGGAAAAGGGAGATGAGGAGCTGAGGCCAGCA
 LeuGlnGluGlyLeuGluLysGlyAspGluGluLeuArgProAla
 451 CTGCCCTTCCAGCCTGACCCACCTGCACCCTTACCCCAAGTCCC
 LeuProPheGlnProAspProProAlaProPheThrProSerPro
 496 CTTCCCCGCTGGCCAACCAGGACAGCCGCTGTCTTTACCAGC
 LeuProArgLeuAlaAsnGlnAspSerArgProValPheThrSer
 541 CCCACTCCAGCCATGGCTGCGGTACCCACTCAGCCCCAGTCCAAG
 ProThrProAlaMetAlaAlaValProThrGlnProGlnSerLys
 586 GAGGGACCCTGGAGTCCGGAGTCAGAGTCCCCTATGCTTCGAATC
 GluGlyProTrpSerProGluSerGluSerProMetLeuArgIle
 631 ACAGCTCCCCTACCTCCAGGGCCAGCATGGCAGTCCCCACCCTA
 ThrAlaProLeuProProGlyProSerMetAlaValProThrLeu
 676 GGCCCAGGGGAGATAGCCAGCACTACACCCCCAGCAGAGCCTGG
 GlyProGlyGluIleAlaSerThrThrProProSerArgAlaTrp
 721 ACACCAACCCAGAGGGTCTGGAGACATGGGAAGCCGTGGGTT
 ThrProThrGlnGluGlyProGlyAspMetGlyArgProTrpVal
 766 GCAGAGGTGTGTCCAGGGCCAGGGATCGGGATCCAGGGGACC
 AlaGluValValSerGlnGlyAlaGlyIleGlyIleGlnGlyThr
 811 ATCACCTCCTCCACAGCTCAGGAGATGATGAGGAGACCACCACT
 IleThrSerSerThrAlaSerGlyAspAspGluGluThrThrThr
 856 ACCACCACCATCATCACCACCACCATCACCACAGTCCAGACACCA
 ThrThrThrIleIleThrThrThrIleThrThrValGlnThrPro
 901 GGCCCTGTAGCTGGAATTTCTCAGGCCAGAGGGCTCTCTGGAC
 つぎあり

(表の777)

表8-②

GlyProCysSerTrpAsnPheSerGlyProGluGlySerLeuAsp

- 946 TCCCCTACAGACCTCAGCTCCCCACTGATGTGGCCTGGACTGC
SerProThrAspLeuSerSerProThrAspValGlyLeuAspCys
- 991 TTCTTCTACATCTCTGTCTACCCTGGCTATGGCGTGGAAATCAAG
PhePheTyrIleSerValTyrProGlyTyrGlyValGluIleLys
- 1036 GTCCAGAATATCAGCCTCCGGGAAGGGGAGACAGTGACTGTGGAA
ValGlnAsnIleSerLeuArgGluGlyGluThrValThrValGlu
- 1081 GGCCTGGGGGGCCTGACCCACTGCCCTGGCCAACCAGTCTTTC
GlyLeuGlyGlyProAspProLeuProLeuAlaAsnGlnSerPhe
- 1126 CTGCTGCGGGCCAAGTCATCCGCAGCCCCACCACCAAGCGGCC
LeuLeuArgGlyGlnValIleArgSerProThrHisGlnAlaAla
- 1171 CTGAGGTCCAGAGCCTCCCGCCACCGGCTGGCCCTGGCACCTTC
LeuArgPheGlnSerLeuProProAlaGlyProGlyThrPhe
- 1216 CATTTCATTACCAAGCCTATCTCCTGAGCTGCCACTTTCCTCGT
HisPheHisTyrGlnAlaTyrLeuLeuSerCysHisPheProArg
- 1261 CGTCAAGCTTATGAAGATGTGACTGTCACCAGCATCCACCCAGGA
ArgGlnAlaTyrGluAspValThrValThrSerIleHisProGly
- 1306 GGTAGTCCCCGCTTCCATTGTGCAACTGGCTACCAGCTGAAGGGC
GlySerAlaArgPheHisCysAlaThrGlyTyrGlnLeuLysGly
- 1351 GCCAGGCATCTCACCTGTCTCAATGCCACCCAGCCCATCTGGGAT
AlaArgHisLeuThrCysLeuAsnAlaThrGlnProIleTrpAsp
- 1396 TCAAAGGAGCCCGTATGCATCGCTGCTTGGCGGGAGTGATCCGC
SerLysGluProValCysIleAlaAlaCysGlyGlyValIleArg
- 1441 AATGCCACCACCGCGCCGTCGCTCTCCAGGCTTCCCGGGCAAC
AsnAlaThrThrGlyArgIleValSerProGlyPheProGlyAsn
- 1486 TACAGCAACAACCTCACCTGTCACTGGCTGCTTGAGGCTCCTGAG
TyrSerAsnAsnLeuThrCysHisTrpLeuLeuGluAlaProGlu
- 1531 GGCCAGCGGCTACACCTGCACTTTGAGAAGGTTTCCCTGGCAGAG
GlyGlnArgLeuHisLeuHisPheGluLysValSerLeuAlaGlu
- 1576 GATGATGACAGGCTCATCATTCGCAATGGGGACAACGTGGAGGCC
AspAspAspArgLeuIleIleArgAsnGlyAspAsnValGluAla
- 1621 CCACCAGTGTATGATTCCTATGAGGTGGAATACCTGCCCATGAG
ProProValTyrAspSerTyrGluValGluTyrLeuProIleGlu
- 1666 GGCTGCTCAGCTCTGGCAAACACTTCTTTGTTGAGCTCAGTACT
GlyLeuLeuSerSerGlyLysHisPhePheValGluLeuSerThr
- 1711 GACAGCAGCGGGCAGCTGCAGGCATGGCCCTGCGCTATGAGGCN
AspSerSerGlyAlaAlaAlaGlyMetAlaLeuArgTyrGluAla
- 1756 TTCCAGCAGGGCCATTGCTATGAGCCCTTTGTCAAATACGGTAAC
PheGlnGlnGlyHisCysTyrGluProPheValLysTyrGlyAsn
- 1801 TTCAGCAGCAGCACACCCACCTACCCTGTGGGTACCACTGTGGAG
PheSerSerSerThrProThrTyrProValGlyThrThrValGlu

777あり

(表 8 のつぎ)

表 8-③

- 1846 TTTAGCTGCGACCCTGGCTACACCCCTGGAGCAGGGCTCCATCATC
PheSerCysAspProGlyTyrThrLeuGluGlnGlySerIleIle
- 1891 ATCGAGTGTGTGACCCCCACGACCCCCAGTGGAAATGAGACAGAG
IleGluCysValAspProHisAspProGlnTrpAsnGluThrGlu
- 1936 CCAGCCTGCCGAGCCGTGTGCAGCGGGGAGATCACAGACTCGGCT
ProAlaCysArgAlaValCysSerGlyGluIleThrAspSerAla
- 1981 GCGTGGTACTCTCTCCCAACTGGCCAGAGCCCTACAGTCGTGGG
GlyValValLeuSerProAsnTrpProGluProTyrSerArgGly
- 2026 CAGGATTGTATCTGGGGTGTGCATGTGGAAGAGGACAAGCGCATC
GlnAspCysIleTrpGlyValHisValGluGluAspLysArgIle
- 2071 ATGCTGGACATCCGAGTGTGCGCATAGGCCCTGGTGTGTGCTT
MetLeuAspIleArgValLeuArgIleGlyProGlyAspValLeu
- 2116 ACCTTCTATGATGGGGATGACCTGACGGCCCGGGTCTGGGCCAG
ThrPheTyrAspGlyAspAspLeuThrAlaArgValLeuGlyGln
- 2161 TACTCAGGGCCCCGTAGCCACTTCAAGCTCTTTACCTCCATGGCT
TyrSerGlyProArgSerHisPheLysLeuPheThrSerMetAla
- 2206 GATGTCACCATTTCAGTTCAGTTCGGACCCCGGGACCTCAGTGTG
AspValThrIleGlnPheGlnSerAspProGlyThrSerValLeu
- 2251 GGCTACCAGCAGGGCTTCGTATCCACTTCTTTGAGGTGCCCCGC
GlyTyrGlnGlnGlyPheValIleHisPhePheGluValProArg
- 2296 AATGACACATGTCCGGAGCTGCCTGAGATCCCCAATGGCTGGAAG
AsnAspThrCysProGluLeuProGluIleProAsnGlyTrpLys
- 2341 AGCCCATCGCAGCCTGAGCTAGTGCACGGCACCGTGGTCACTTAC
SerProSerGlnProGluLeuValHisGlyThrValValThrTyr
- 2386 CAGTGTACCCTGGCTACCAGGTAGTGGGATCCAGTGTCCCTCATG
GlnCysTyrProGlyTyrGlnValValGlySerSerValLeuMet
- 2431 TGCCAGTGGGACCTAACTTGGAGTGAGGACCTGCCCTCATGCCAG
CysGlnTrpAspLeuThrTrpSerGluAspLeuProSerCysGln
- 2476 AGGGTGACTTCCTGCCACGATCCTGGAGATGTGGAGCACAGCCGA
ArgValThrSerCysHisAspProGlyAspValGluHisSerArg
- 2521 CGCCTCATATCCAGCCCCAAGTTCCCGTGGGGGCCACCGTGCAA
ArgLeuIleSerSerProLysPheProValGlyAlaThrValGln
- 2566 TATATCTGTGACCAGGGTTTTGTGCTGACGGGCAGCTCCATCCTC
TyrIleCysAspGlnGlyPheValLeuThrGlySerSerIleLeu
- 2611 ACCTGCCATGATCGCCAGGCTGGCAGCCCCAAGTGGAGTGACCGG
ThrCysHisAspArgGlnAlaGlySerProLysTrpSerAspArg
- 2656 GCCCCTAAATGTCTCCTGGAACAGCTCAAGCCATGCCATGGTCTC
AlaProLysCysLeuLeuGluGlnLeuLysProCysHisGlyLeu
- 2701 AGTGCCCTGAGAATGGTGCCCGAAGTCCCTGAGAAGCAGCTACAC
SerAlaProGluAsnGlyAlaArgSerProGluLysGlnLeuHis

つぎあり

(表 8 の続き)	表 8 - ④
2746	CCAGCAGGGGCCACCATCCACTTCTCGTGTGCCCTGGCTATGTG ProAlaGlyAlaThrIleHisPheSerCysAlaProGlyTyrVal
2791	CTGAAGGGCCAGGCCAGCATCAAGTGTGTGCCTGGGCACCCCTCG LeuLysGlyGlnAlaSerIleLysCysValProGlyHisProSer
2836	CATTGGAGTGACCCCCACCCATCTGTAGGGCTGCCTCTCTGGAT HisTrpSerAspProProProIleCysArgAlaAlaSerLeuAsp
2881	GGTTTCTACAACAGTCGCAGCCTGGATGTTGCCAAGGCACCTGCT GlyPheTyrAsnSerArgSerLeuAspValAlaLysAlaProAla
2926	GCCTCCAGCACCCCTGGATGCTGCCACATTGCAGCTGCCATCTTC AlaSerSerThrLeuAspAlaAlaHisIleAlaAlaAlaIlePhe
2971	TTGCCACTGGTGGCGATGGTGTGTGGTAGGAGGTGTATACTTC LeuProLeuValAlaMetValLeuLeuValGlyGlyValTyrPhe
3016	TACTTCTCCAGGCTCCAGGGAAAAGCTCCCTGCAGCTGCCCCGC TyrPheSerArgLeuGlnGlyLysSerSerLeuGlnLeuProArg
3061	CCCCGCCCCGCCCTACAACCGCATTACCATAGAGTCAGCGTTT ProArgProArgProTyrAsnArgIleThrIleGluSerAlaPhe
3106	GACAATCCAACCTACGAGACTGGAGAGACGAGAGAATATGAAGTC AspAsnProThrTyrGluThrGlyGluThrArgGluTyrGluVal
3151	TCCATCTAGGTGGGGCAGTCTAGGGAAGTCAACTCAGACTTGCA SerIle (配列番号14)
3196	CCACAGTCCAGCAGCAAGGCTCCTTGCTTCCTGCTGTCCCTCCAC
3241	CTCCTGTATATACCACCTAGGAGGAGATGCCACCAAGCCCTCAAG
3286	AAGTTGTGCCCTTCCCCGCCTGCGATGCCACCATGGCCATTTTT
3331	CTTGGTGTCAATGCCCACTTGGGGCCCTTCATTGGGCCCATGTCA
3376	GGGGGCATCTACCTGTGGGAAGAACAATAGCTGGAGCACAAAGCATC
3421	AACAGCCAGCATCCTGAGCCTCCTCATGCCCTGGACCAGCCTGGA
3466	ACACACTAGCAGAGCAGGAGTACCTTTCTCCACATGACCACCATC
3511	CCGCCCTGGCATGGCAACCTGCAGCAGGATTAACCTGACCATGGT
3556	GGGAAGTGCACCAGGGTACTCCTCACAGCGCCATCACCAATGGCC
3601	AAAACCTCCTCAACGGTGACCTCTGGGTAGTCTGGCATGCCAA
3646	CATCAGCCTCTTGGGAGGTCTCTAGTTCTCTAAAGTTCTGGACAG
3691	TTCTGCCTCCTGCCCTGTCCAGTGGAGGCAGTAATTCTAGGAGA
3736	TCCTAAGGGGTTCAAGGGGACCCTACCCCCACCTCAGGTTGGGCT
3781	TCCCTGGGCACTCATGCTCCACACCAAAGCAGGACAGCCATTTT
3826	CCACTGACCACCTATACCCTGAGGAAAGGGAGACTTT (配列番号13)

クローン17931354.0.35.2 (PROX8) のヌクレオチド配列の表示は、表9に与えられ、そして3879bpのヌクレオチド配列(配列番号15)を含む。このヌクレオチド配列は、107492.8ダルトンの予測された分子量を有する、994個のアミノ酸残基(配列番号16)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。この開始コドンは、ヌクレオチド178~180に配置され、そして終止コドンは、ヌクレオチド3160~3162に配置される。クローン17931354.0.35.2

によってコードされたタンパク質（配列番号16）は、0.6760の确实性で原形質膜に位置されると、PSORTコンピュータプログラムによって予測された。このPSORTおよびSignalPコンピュータプログラムは、ほとんどの切断部位が、配列AHG-LSの残基19と20との間に配置された状態で、シグナルペプチドが存在することを予測した。クローン17931354.0.35.2（PROX8）の核酸（配列番号15）およびアミノ酸（配列番号16）配列を、以下の表9に示す。

【0062】

（表9）

クローン17931354.0.35.2

翻訳されたタンパク質 - フレーム：1 - ヌクレオチド178から3159

【0063】

【表9】 p28～31

表9-①

1	CCAGGCGCTGGCCGTGGTGTGATTCTGTTCAGGCGCTGGCGGCGG
46	CAGCGGCGGTGACGGCTGCGGCCCGCTCCCTCTACCCGGCCGGA
91	CCCGGCTCTGCCCCGCGCCAAGCCCCACCAAGCCCCCGCCCT
136	CCCGCCGCGGTCCCAGCCCAGGGCGCGGCCGCAACCAGCACCATG Met
181	CGCCCGGTAGCCCTGCTGCTCCTGCCCTCGCTGCTGGCGCTCCTG ArgProValAlaLeuLeuLeuLeuProSerLeuLeuAlaLeuLeu
226	GCTCACGGACTCTCTTTAGAGGCCCAACCGTGGGAAAGGACAA AlaHisGlyLeuSerLeuGluAlaProThrValGlyLysGlyGln
271	GCCCCAGGCATCGAGGAGACAGATGGCGAGCTGACAGCAGCCCC AlaProGlyIleGluGluThrAspGlyGluLeuThrAlaAlaPro
316	ACACCTGAGCAGCCAGAACGAGGCGTCCACTTTGTACACACAGCC ThrProGluGlnProGluArgGlyValHisPheValThrThrAla
361	CCCACCTTGAAGCTGCTCAACCACCACCCGCTGCTTGAGGAATTC ProThrLeuLysLeuLeuAsnHisHisProLeuLeuGluGluPhe
406	CTACAAGAGGGGCTGAAAAGGGAGATGAGGAGCTGAGGCCAGCA LeuGlnGluGlyLeuGluLysGlyAspGluGluLeuArgProAla
451	CTGCCCTTCCAGCCTGACCCACCTGCACCCTTCACCCCAAGTCCC LeuProPheGlnProAspProProAlaProPheThrProSerPro
496	CTTCCCCGCTGGCCAACCAGGACAGCCGCCCTGTCTTTACCAGC LeuProArgLeuAlaAsnGlnAspSerArgProValPheThrSer
541	CCCCTCCAGCCATGGCTGCGGTACCCACTCAGCCCCAGTCCAAG ProThrProAlaMetAlaAlaValProThrGlnProGlnSerLys
586	GAGGGACCCTGGAGTCCGGAGTCAGAGTCCCCTATGCTTCGAATC GluGlyProTrpSerProGluSerGluSerProMetLeuArgIle
631	ACAGCTCCCCTACCTCCAGGGCCCAGCATGGCAGTGCCACCCTA ThrAlaProLeuProProGlyProSerMetAlaValProThrLeu
676	GGCCAGGGGAGATAGCCACCACTACACCCCCAGCAGAGCCTGG GlyProGlyGluIleAlaSerThrThrProProSerArgAlaTrp
721	ACACCAACCCAAGAGGGTCTGGAGACATGGGAAGGCCGTGGGTT ThrProThrGlnGluGlyProGlyAspMetGlyArgProTrpVal
766	GCAGAGGTTGTGTCCCAGGGCGCAGGGATCGGGATCCAGGGGACC AlaGluValValSerGlnGlyAlaGlyIleGlyIleGlnGlyThr つづきあり

(表9のつぎ)

表9-②

811 ATCACCTCCTCCACAGCTTCAGGAGATGATGAGGAGACCACCACT
IleThrSerSerThrAlaSerGlyAspAspGluGluThrThrThr

856 ACCACCACCATCATCACCACCACCATCACCACAGTCCAGACACCA
ThrThrThrIleIleThrThrThrIleThrThrValGlnThrPro

901 GGCCTTGTAGCTGGAATTTCTCAGGCCAGAGGGCTCTCTGGAC
GlyProCysSerTrpAsnPheSerGlyProGluGlySerLeuAsp

946 TCCCTACAGACCTCAGCTCCCCACTGATGTTGGCTGGACTGC
SerProThrAspLeuSerSerProThrAspValGlyLeuAspCys

991 TTCTTCTACATCTCTGTCTACCCTGGCTATGGCGTGGAAATCAAG
PhePheTyrIleSerValTyrProGlyTyrGlyValGluIleLys

1036 GTCCAGAATATCAGCCTCCGGGAAGGGGAGACAGTGACTGTGGAA
ValGlnAsnIleSerLeuArgGluGlyGluThrValThrValGlu

1081 GGCCTGGGGGGCCTGACCCACTGCCCTGGCCAACCAAGTCTTTC
GlyLeuGlyGlyProAspProLeuProLeuAlaAsnGlnSerPhe

1126 CTGCTGCGGGGCCAAGTCATCCGCAGCCCCACCCACCAAGCGCC
LeuLeuArgGlyGlnValIleArgSerProThrHisGlnAlaAla

1171 CTGAGGTTCCAGAGCCTCCCGCCACCGGCTGGCCCTGGCACCTTC
LeuArgPheGlnSerLeuProProProAlaGlyProGlyThrPhe

1216 CATTTCCATTACCAAGCCTATCTCTGAGCTGCCACTTTCCCGT
HisPheHisTyrGlnAlaTyrLeuLeuSerCysHisPheProArg

1261 CGTCAAGCTTATGAAGATGTGACTGTCACCAGCATCCACCCAGGA
ArgGlnAlaTyrGluAspValThrValThrSerIleHisProGly

1306 GGTAGTGCCCGCTTCCATTGTGCAACTGGCTACCAGCTGAAGGGC
GlySerAlaArgPheHisCysAlaThrGlyTyrGlnLeuLysGly

1351 GCCAGGCATCTCACCTGTCTCAATGCCACCCAGCCCATCTGGGAT
AlaArgHisLeuThrCysLeuAsnAlaThrGlnProIleTrpAsp

1396 TCAAAGGAGCCCGTATGCATCGCTGCTTGGCGGAGTGATCCGC
SerLysGluProValCysIleAlaAlaCysGlyGlyValIleArg

1441 AATGCCACCACCGCCGCATCGTCTCTCCAGGCTTCCCGGCAAC
AsnAlaThrThrGlyArgIleValSerProGlyPheProGlyAsn

1486 TACAGCAACAACCTCACCTGTCACTGGCTGCTTGAGGCTCCTGAG
TyrSerAsnAsnLeuThrCysHisTrpLeuLeuGluAlaProGlu

1531 GGCCAGCGGCTACACCTGCACTTTGAGAAGGTTTCCCTGGCAGAG
GlyGlnArgLeuHisLeuHisPheGluLysValSerLeuAlaGlu

1576 GATGATGACAGGCTCATCATTCGCAATGGGGACAACGTGGAGGCC
AspAspAspArgLeuIleIleArgAsnGlyAspAsnValGluAla

1621 CCACCAGTGTATGATTCCCTATGAGGTGGAATACCTGCCATTGAG
ProProValTyrAspSerTyrGluValGluTyrLeuProIleGlu

1666 GGCTGCTCAGCTCTGGCAAACACTTCTTTGTTGAGCTCAGTACT
GlyLeuLeuSerSerGlyLysHisPhePheValGluLeuSerThr

1711 GACAGCAGCGGGCAGCTGCAGGCATGGCCCTGCGCTATGAGGCN

つぎあり

(表 9 のつぎ)

表 9 - ③

AspSerSerGlyAlaAlaAlaGlyMetAlaLeuArgTyrGluAla

1756	TTCCAGCAGGGCCATTGCTATGAGCCCTTTGTCAAATACGGTAAC PheGlnGlnGlyHisCysTyrGluProPheValLysTyrGlyAsn
1801	TTCAGCAGCAGCACCCACCTACCCGTGGGTACCACTGTGGAG PheSerSerSerThrProThrTyrProValGlyThrThrValGlu
1846	TTTAGCTGCGACCCTGGCTACCCCTGGAGCAGGGCTCCATCATC PheSerCysAspProGlyTyrThrLeuGluGlnGlySerIleIle
1891	ATCGAGTGTGTTGACCCACGACCCCAAGTGAATGAGACAGAG IleGluCysValAspProHisAspProGlnTrpAsnGluThrGlu
1936	CCAGCCTGCCGAGCCGTGTGCAGCGGGAGATCACAGACTCGGCT ProAlaCysArgAlaValCysSerGlyGluIleThrAspSerAla
1981	GGCGTGGTACTCTCTCCCACTGGCCAGAGCCCTACAGTCGTGGG GlyValValLeuSerProAsnTrpProGluProTyrSerArgGly
2026	CAGGATTGTATCTGGGGTGTGCATGTGGAAGAGGACAAGCGCATC GlnAspCysIleTrpGlyValHisValGluGluAspLysArgIle
2071	ATGCTGGACATCCGAGTCTGCGCATAGGCCCTGGTGTATGTGCTT MetLeuAspIleArgValLeuArgIleGlyProGlyAspValLeu
2116	ACCTTCTATGATGGGGATGACCTGACGGCCCGGGTCTGGGCCAG ThrPheTyrAspGlyAspAspLeuThrAlaArgValLeuGlyGln
2161	TACTCAGGGCCCGTAGCCACTTCAAGCTCTTACCTCCATGGCT TyrSerGlyProArgSerHisPheLysLeuPheThrSerMetAla
2206	GATGTCACCATTTCAGTTCAGTCCAGTCCGACCCCGGGACCTCAGTGTG AspValThrIleGlnPheGlnSerAspProGlyThrSerValLeu
2251	GGCTACCAGCAGGGCTTCGTCATCCACTTCTTTGAGGTGCCCCGC GlyTyrGlnGlnGlyPheValIleHisPhePheGluValProArg
2296	AATGACACATGTCCGGAGCTGCCTGAGATCCCCAATGGCTGGAAG AsnAspThrCysProGluLeuProGluIleProAsnGlyTrpLys
2341	AGCCCATCGCAGCCTGAGCTAGTGCAGGGCACCCGTGGTCACTTAC SerProSerGlnProGluLeuValHisGlyThrValValThrTyr
2386	CAGTGCTACCCTGGCTACCAGGTAGTGGGATCCAGTGTCTCATG GlnCysTyrProGlyTyrGlnValValGlySerSerValLeuMet
2431	TGCCAGTGGGACCTAACTGGAGTGAGGACCTGCCCTCATGCCAG CysGlnTrpAspLeuThrTrpSerGluAspLeuProSerCysGln
2476	AGGGTACTTCTGCCACGATCCTGGAGATGTGGAGCACAGCCGA ArgValThrSerCysHisAspProGlyAspValGluHisSerArg
2521	CGCCTCATATCCAGCCCAAGTTCCCGTGGGGCCACCGTGCAA ArgLeuIleSerSerProLysPheProValGlyAlaThrValGln
2566	TATATCTGTGACCAGGGTTTGTGCTGACGGGCAGCTCCATCCTC TyrIleCysAspGlnGlyPheValLeuThrGlySerSerIleLeu
2611	ACCTGCCATGATCGCCAGGCTGGCAGCCCCAAGTGGAGTGACCGG ThrCysHisAspArgGlnAlaGlySerProLysTrpSerAspArg

つぎあり

(表9の続き)

表9-④

2656 GCCCCTAAATGTCTCCTGGAACAGCTCAAGCCATGCCATGGTCTC
AlaProLysCysLeuLeuGluGlnLeuLysProCysHisGlyLeu

2701 AGTGCCCTGAGAATGGTCCCGAAGTCCTGAGAAGCAGCTACAC
SerAlaProGluAsnGlyAlaArgSerProGluLysGlnLeuHis

2746 CCAGCAGGGGCCACCATCCACTTCTCGTGTGCCCTGGCTATGTG
ProAlaGlyAlaThrIleHisPheSerCysAlaProGlyTyrVal

2791 CTGAAGGGCCAGGCCAGCATCAAGTGTGTGCCTGGGCACCCCTCG
LeuLysGlyGlnAlaSerIleLysCysValProGlyHisProSer

2836 CATTGGAGTGACCCCCACCCATCTGTAGGGCTGCCTCTCTGGAT
HisTrpSerAspProProProIleCysArgAlaAlaSerLeuAsp

2881 GGGTTCTACAACAGTCGCAGCCTGGATGTTGCCAAGGCACCTGCT
GlyPheTyrAsnSerArgSerLeuAspValAlaLysAlaProAla

2926 GCCTCCAGCACCCCTGGATGCTGCCACATTGCAGCTGCCATCTTC
AlaSerSerThrLeuAspAlaAlaHisIleAlaAlaAlaIlePhe

2971 TTGCCACTGGTGGCGATGGTGTGTGGTAGGAGGTGTATACTTC
LeuProLeuValAlaMetValLeuLeuValGlyGlyValTyrPhe

3016 TACTTCTCCAGGCTCCAGGGAAAAGCTCCCTGCAGCTGCCCCGC
TyrPheSerArgLeuGlnGlyLysSerSerLeuGlnLeuProArg

3061 CCCC GCCCCGCCCTACAACCGCATTACCATAGAGTCAGCGTTT
ProArgProArgProTyrAsnArgIleThrIleGluSerAlaPhe

3106 GACAATCCAACCTTACGAGACTGGATCTCTTCCCTTGCAGGAGAC
AspAsnProThrTyrGluThrGlySerLeuSerPheAlaGlyAsp

3151 GAGAGAATATGAAGTCTCCATCTAGGTGGGGGCAGTCTAGGGAAG
GluArgIle (配列番号14)

3196 TCAACTCAGACTTGCACCACAGTCCAGCAGCAAGGCTCCTTGCTT
3241 CCTGCTGTCCCTCCACCTCCTGTATATACCACCTAGGAGGAGATG
3286 CCACCAAGCCCTCAAGAAGTGTGCCCTTCCCGCCTGCGATGCC
3331 CACCATGGCCTATTTTCTTGGTGTCTATTGCCCACTTGGGGCCCTT
3376 CATGGGCCCATGTTCAGGGGCATCTACCTGTGGGAAGAACATAG
3421 CTGGAGCACAAGCATCAACAGCCAGCATCCTGAGCCTCCTCATGC
3466 CCTGGACCAGCCTGGAACACACTAGCAGAGCAGGAGTACCTTTCT
3511 CCACATGACCACCATCCCGCCTGGCATGGCAACCTGCAGCAGGA
3556 TTAACCTGACCATGGTGGGAAGTGCACCAGGGTACTCCTCACAGC
3601 GCCATCACCAATGGCCAAACTCCTCTCAACGGGTGACCTCTGGGT
3646 AGTCTGGCATGCCAACATCAGCCTCTTGGGAGGTCTCTAGTTCT
3691 CTAAAGTTCTGGACAGTTCTGCCTCCTGCCCTGTCCCAGTGGAGG
3736 CAGTAATTCTAGGAGATCCTAAGGGGTTGAGGGGACCCTACCCC
3781 CACCTCAGGTTGGGCTTCCCTGGGCACTCATGCTCCACACCAAAG
3826 CAGGACACGCCATTTTCCACTGACCACCCTATACCCTGAGGAAAG
3871 GGAGACTTT (配列番号15)

BLASTPおよびBLASTXコンピュータプログラムを使用する配列データベースの分析は、クローン17931354.0.35.1(PROX7)によってコードされたタンパク質が、991残基のマウス発作関連タンパク質6前駆体(発作関連タンパク質産物6、2型)(ACC:Q62223)に対して9

84残基中882残基が同一であり(89%)、そして984残基中921残基がポジティブである(93%)ことを明らかにした。さらに、クローン17931354.0.35.1によってコードされたタンパク質は、ヒトKIAA0927タンパク質の777残基フラグメント(ACC: BAA76771)に対して785残基中391残基が同一であり(49%)、そして785残基中544残基がポジティブである(69%)であることをまた見出した。

【0064】

BLASTPおよびBLASTXコンピュータプログラムを使用する配列データベースの調査は、クローン17931354.0.35.2(PROX8)にによってコードされたタンパク質が、クローン17931354.0.35.1について先に同定されたマウス発作関連タンパク質6前駆体(ACC: Q62223)に対して、994残基中892残基が同一であり(89%)、そして994残基中931残基がポジティブである(93%)ことを明らかとした。さらに、クローン17931354.0.35.2によってコードされたタンパク質はまた、775残基のヒトDJ268D13.1(マウス発作関連遺伝子産物6様タンパク質)(ACC: CAB46625)に対して、693残基中348残基が同一であり(50%)、そして693残基中484残基がポジティブである(69%)ことを見出した。

【0065】

クローン17931354.0.35.1およびクローン17931354.0.35.2によってコードされた本発明のタンパク質は、本明細書中に記載されたORFによってコードされるものとして開示されたタンパク質、および転写後の改変の結果として生じる任意の変異タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、17931354.0.35.1および17931354.0.35.2タンパク質の前駆体および任意の活性形態の両方を含む。

【0066】

実施例16に示される実験結果は、クローン17931354が、2種の肺癌細胞株において著しく高いレベルで発現されるが、正常の肺細胞では発現されない。これらの結果は、核酸またはアミノ酸配列クローンが、このような癌の決定

、診断、または処置に有用であり得ることを示唆する。

(PRO9、PRO10、PRO11、PRO12、およびPRO13の核酸およびポリペプチド)

本発明に従うPRO9、PRO10、PRO11、PRO12、またはPRO13の核酸としては、クローン7520500.0.54__1 (PROX 9)、7520500.0.54__2 (PROX 10)、7520500.0.54__3 (PROX 11)、7520500.0.54__4 (PROX 12)、および7520500.0.21 (PROX 13)に示される核酸配列が挙げられる。これらのクローンは、その共通配列の大部分にわたって同一である点で、互いに似ている。例えば、クローン7520500.0.54__2 (PROX 10)およびクローン7520500.0.54__3 (PROX 11)は、同一のタンパク質をコードするが、その非翻訳領域が異なる。同様に、クローン7520500.0.54__4 (PROX 12)およびクローン7520500.0.21 (PROX 13)は、アミノ末端方向で同一の配列を含む伸長を保有し、そしてそのアミノ末端アミノ酸残基がメチオニンではないので、完全ではないようである、タンパク質をコードする。さらに、クローン7520500.0.21 (PROX 13)は、他の4つのクローンに対する3' スプライス改変体であるようである。なぜなら、これは他よりもはるかに早く終結するからである。これらクローン間に存在するこれらの差異および他の差異は、図2を参照することにより観察され得、この図2は、これらのクローンによりコードされる5つすべてのタンパク質のアラインメントを提供する。

【0067】

クローン7520500.0.54__1、クローン7520500.0.54__2、クローン7520500.0.54__3、クローン7520500.0.54__4、およびクローン7520500.0.21に示される核酸配列は、脳(特に、胎児脳)、および胎児肝臓にて見出された。クローン7520500.0.54__1、クローン7520500.0.54__2、およびクローン7520500.0.54__3のヌクレオチド配列の提示が、それぞれ、表10、11、および12に示される。

【0068】

クローン7520500.0.54_1 (PROX 9)は2127bpのヌクレオチド配列(配列番号17)を含む。このヌクレオチド配列は、推定分子量56284ダルトンの525アミノ酸残基のポリペプチド(配列番号18)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178-180に位置し、そして終止コドンはヌクレオチド1753-1755に位置する。クローン7520500.0.54_1 (PROX 9)の核酸配列(配列番号17)およびアミノ酸配列(配列番号18)は、下記に表10にて示される。

【0069】

(表10)

(クローン7520500.0.54.1)

翻訳されたタンパク質 - フレーム: 1 - ヌクレオチド178 ~ 1752

【0070】

【表10】

表10-①

1 CCAGGCGCTGGCCGTGGTGTCTGATTCGTGCAGGCGCTGGCGGCGG
 46 CAGCGGCGGTGACGGGTGCGGCCCGCTCCCTCTACCCGGCCGGA
 91 CCCGGCTCTGCCCCGCGCCCAAGCCCCACCAAGCCCCCGCCCT

 136 CCCGCGCGGTCCCAGCCCAGGGCGCGGCCCAACCAGCACCATG
 Met

 181 CGCCCGTAGCCCTGCTGCTCCTGCCCTCGCTGCTGGCGCTCCTG
 ArgProValAlaLeuLeuLeuLeuProSerLeuLeuAlaLeuLeu

 226 GCTCACGGACTCTCTTTAGAGGCCCAACCGTGGGAAAGGACAA
 AlaHisGlyLeuSerLeuGluAlaProThrValGlyLysGlyGln

 271 GCCCCAGGCATCGAGGAGACAGATGGCGAGCTGACAGCAGCCCC
 AlaProGlyIleGluGluThrAspGlyGluLeuThrAlaAlaPro

 316 ACACCTGAGCAGCCAGAACGAGGCGTCCACTTTGTCACAACAGCC
 ThrProGluGlnProGluArgGlyValHisPheValThrThrAla

 361 CCCACCTTGAAGCTGCTCAACCACCACCCGCTGCTTGAGGAATTC
 ProThrLeuLysLeuLeuAsnHisHisProLeuLeuGluGluPhe

 406 CTACAAGAGGGGCTGGAAAAGGAGATGAGGAGCTGAGGCCAGCA
 LeuGlnGluGlyLeuGluLysGlyAspGluGluLeuArgProAla

 451 CTGCCCTTCCAGCCTGACCCACCTGCACCCTTACCCCAAGTCCC
 LeuProPheGlnProAspProProAlaProPheThrProSerPro

 496 CTTCCCCGCTGGCCAACCAGGACAGCCGCCCTGTCTTTACCAGC
 LeuProArgLeuAlaAsnGlnAspSerArgProValPheThrSer
 つぎあり

表10-②

- 541 CCCACTCCAGCCATGGCTGCGGTACCCACTCAGCCCCAGTCCAAG
ProThrProAlaMetAlaAlaValProThrGlnProGlnSerLys
- 586 GAGGGACCCTGGAGTCCGGAGTCAGAGTCCCCTATGCTTCGAATC
GluGlyProTrpSerProGluSerGluSerProMetLeuArgIle
- 631 ACAGCTCCCCTACCTCCAGGGCCAGCATGGCAGTGGCCACCCTA
ThrAlaProLeuProProGlyProSerMetAlaValProThrLeu
- 676 GGCCAGGGGAGATAGCCAGCACTACACCCCCAGCAGAGCCTGG
GlyProGlyGluIleAlaSerThrThrProProSerArgAlaTrp
- 721 ACACCAACCAAGAGGGTCTGGAGACATGGGAAGGCCGTGGGTT
ThrProThrGlnGluGlyProGlyAspMetGlyArgProTrpVal
- 766 GCAGAGGTTGTGTCCAGGGCGCAGGGATCGGGATCCAGGGACC
AlaGluValValSerGlnGlyAlaGlyIleGlyIleGlnGlyThr
- 811 ATCACCTCCTCCACAGCTTCAGGAGATGATGAGGAGACCACCACT
IleThrSerSerThrAlaSerGlyAspAspGluGluThrThrThr
- 856 ACCACCACCATCATCACCACCACCATCACCACAGTCCAGACACCA
ThrThrThrIleIleThrThrThrIleThrThrValGlnThrPro
- 901 GGCCCTGTAGCTGGAATTTCTCAGGCCAGAGGGCTCTCTGGAC
GlyProCysSerTrpAsnPheSerGlyProGluGlySerLeuAsp
- 946 TCCCCTACAGACCTCAGCTCCCCACTGATGTTGGCCTGGACTGC
SerProThrAspLeuSerSerProThrAspValGlyLeuAspCys
- 991 TTCTTCTACATCTCTGTCTACCCTGGCTATGGCGTGGAAATCAAG
PhePheTyrIleSerValTyrProGlyTyrGlyValGluIleLys
- 1036 GTCCAGAATATCAGCCTCCGGGAAGGGGAGACAGTACTGTGGAA
ValGlnAsnIleSerLeuArgGluGlyGluThrValThrValGlu
- 1081 GGCCTGGGGGGCCTGACCCACTGCCCTGGCCAACCAGTCTTTC
GlyLeuGlyGlyProAspProLeuProLeuAlaAsnGlnSerPhe
- 1126 CTGCTGCGGGGCCAAGTCATCCGCAGCCCCACCCACCAAGCGGCC
LeuLeuArgGlyGlnValIleArgSerProThrHisGlnAlaAla
- 1171 CTGAGGTTCCAGAGCCTCCCGCCACCGGCTGGCCCTGGCACCTTC
LeuArgPheGlnSerLeuProProProAlaGlyProGlyThrPhe
- 1216 CATTTCCATTACCAAGCCTATCTCCTGAGCTGCCACTTTCCCCGT
HisPheHisTyrGlnAlaTyrLeuLeuSerCysHisPheProArg
- 1261 CGTCCAGCTTATGGAGATGTGACTGTCACCAGCCTCCACCCAGGG
ArgProAlaTyrGlyAspValThrValThrSerLeuHisProGly
- 1306 GGTAGTGCCCGCTTCCATTGTGCCACTGGCTACCAGCTGAAGGGC
GlySerAlaArgPheHisCysAlaThrGlyTyrGlnLeuLysGly
- 1351 GCCAGGCATCTCACCTGTCTCAATGCCACCCAGCCCTTCTGGGAT
AlaArgHisLeuThrCysLeuAsnAlaThrGlnProPheTrpAsp
- 1396 TCAAAGGAGCCCGTCTGCATCGCTGCTTGGCGGGAGTGATCCGC
SerLysGluProValCysIleAlaAlaCysGlyGlyValIleArg

つぎあり

表10-③

1441	AATGGCACCACCGCCGCATCGTCTCTCCAGGCTTCCCGGCAAC AsnGlyThrThrGlyArgIleValSerProGlyPheProGlyAsn
1486	TACAGCAACAACCTCACCTGTCACTGGCTGCTTGAGGCTCCTGAG TyrSerAsnAsnLeuThrCysHisTrpLeuLeuGluAlaProGlu
1531	GGCCAGCGGCTACACCTGCACTTTGAGAAGGTTCCCTGGCAGAG GlyGlnArgLeuHisLeuHisPheGluLysValSerLeuAlaGlu
1576	GATGATGACAGGCTCATCATTGCAATGGGGACAACGTGGAGGCC AspAspAspArgLeuIleIleArgAsnGlyAspAsnValGluAla
1621	CCACCAGTGGGAAAAGCTCCCTGCAGCTGCCCGCCCCGCCCC ProProValGlyLysSerSerLeuGlnLeuProArgProArgPro
1666	CGCCCCTACAACCGCATTACCATAGAGTCAGCGTTTGACAATCCA ArgProTyrAsnArgIleThrIleGluSerAlaPheAspAsnPro
1711	ACTTACGAGACTGGAGAGACGAGAGAATATGAAGTCTCCATCTAG ThrTyrGluThrGlyGluThrArgGluTyrGluValSerIle (配列番号 18)
1756	GTGGGGCAGTCTAGGGAAGTCAACTCAGACTTGCACCACAGTCC
1801	AGCAGCAAGGCTCCTTGCTTCCCTGCTGTCCTCCACCTCCTGTAT
1846	ATACCACCTAGGAGGAGATGCCACCAAGCCCTCAAGAAGTTGTGC
1891	CCTTCCCGCCTGCGATGCCACCACCATGGCCTATTTCTTGGTGTC
1936	ATTGCCCACTTGGGGCCCTTGCATTGGGCCATGTACAGGGGGCAT
1981	CTACCTGTGGGGAAGAACATAGCTGGGAGCACAAAGCTTCAACAGC
2026	CAGCATTCCTTGAGCCTCCTTCATGGCCCTGGGACCAGCCTGGGG
2071	AACACANTTAGGCAGGAGCAGGGAGTTACCTTGTTCACATGACC
2116	ACCAACCATTC (配列番号 17)

クローン7520500.0.54__2 (PROX 10) は、2127bpのヌクレオチド配列 (配列番号19) を含む。このヌクレオチド配列は、推定分子量56463ダルトンの525アミノ酸残基のポリペプチド (配列番号20) 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178 - 180に位置し、そして終止コドンはヌクレオチド1753 - 1755に位置する。クローン7520500.0.54__2 (PROX 10) の核酸配列 (配列番号19) およびアミノ酸配列 (配列番号20) は、下記に表11にて示される。

【0071】

(表11)

(クローン7520500.0.54.2)

翻訳されたタンパク質 - フレーム: 1 - ヌクレオチド178 ~ 1752

【0072】

【表11】

表1-①

1 CCAGGCGCTGGCCGTGGTGCTGATTCTGTCAGGCGCTGGCGGGG
46 CAGCGGCGGTGACGGCTGCGGCCCGCTCCCTCTACCCGGCCGGA
91 CCCGGCTCTGCCCCGCGCCCAAGCCCCACCAAGCCCCCGCCCT

136 CCCGCCGCGTCCCAGCCCAGGGCGCGGCCCAACCAGCACCATG
Met

181 CGCCCGGTAGCCCTGCTGCTCCTGCCCTCGCTGCTGGCGCTCCTG
ArgProValAlaLeuLeuLeuLeuProSerLeuLeuAlaLeuLeu

226 GCTCACGCACTCTCTTAGAGGCCCAACCGTGGGGAAAGGACAA
AlaHisGlyLeuSerLeuGluAlaProThrValGlyLysGlyGln
フブもあり

表11-②

271	GCCCCAGGCATCGAGGAGACAGATGGCGAGCTGACAGCAGCCCC AlaProGlyIleGluGluThrAspGlyGluLeuThrAlaAlaPro
316	ACACCTGAGCAGCCAGAACGAGGCGTCCACTTTGTACAACAGCC ThrProGluGlnProGluArgGlyValHisPheValThrThrAla
361	CCCACCTTGAAGCTGCTCAACCACCACCCGCTGCTTGAGGAATTC ProThrLeuLysLeuLeuAsnHisHisProLeuLeuGluGluPhe
406	CTACAAGAGGGGCTGGAAAAGGGAGATGAGGAGCTGAGGCCAGCA LeuGlnGluGlyLeuGluLysGlyAspGluGluLeuArgProAla
451	CTGCCCTTCCAGCCTGACCCACCTGCACCCTTACCCCAAGTCCC LeuProPheGlnProAspProProAlaProPheThrProSerPro
496	CTTCCCGCCTGGCCAACCAGGACAGCCGCCCTGTCTTTACCAGC LeuProArgLeuAlaAsnGlnAspSerArgProValPheThrSer
541	CCCCTCCAGCCATGGCTGCGGTACCCACTCAGCCCCAGTCCAAG ProThrProAlaMetAlaAlaValProThrGlnProGlnSerLys
586	GAGGGACCCCTGGAGTCCGGAGTCAGAGTCCCCTATGCTTCGAATC GluGlyProTrpSerProGluSerGluSerProMetLeuArgIle
631	ACAGCTCCCTACCTCCAGGGCCAGCATGGCAGTCCCCACCCTA ThrAlaProLeuProProGlyProSerMetAlaValProThrLeu
676	GGCCCAGGGGAGATAGCCAGCACTACACCCCCAGCAGAGCCTGG GlyProGlyGluIleAlaSerThrThrProProSerArgAlaTrp
721	ACACCAACCAAGAGGGTCTGGAGACATGGGAAGGCCGTGGGTT ThrProThrGlnGluGlyProGlyAspMetGlyArgProTrpVal
766	GCAGAGGTGTGTCCCAGGGCGCAGGGATCGGGATCCAGGGGACC AlaGluValValSerGlnGlyAlaGlyIleGlyIleGlnGlyThr
811	ATCACCTCCTCCACAGCTCAGGAGATGATGAGGAGACCACCACT IleThrSerSerThrAlaSerGlyAspAspGluGluThrThrThr
856	ACCACCACCATCATCACCACCACCATCACCACAGTCCAGACACCA ThrThrThrIleIleThrThrThrIleThrThrValGlnThrPro
901	GGCCCTTGTAGCTGGAATTTCTCAGGCCAGAGGGCTCTCTGGAC GlyProCysSerTrpAsnPheSerGlyProGluGlySerLeuAsp
946	TCCCTACAGACCTCAGCTCCCCACTGATGTTGGCCTGGACTGC SerProThrAspLeuSerSerProThrAspValGlyLeuAspCys
991	TTCTTCTACATCTGTCTACCCTGGCTATGGCGTGGAAATCAAG PhePheTyrIleSerValTyrProGlyTyrGlyValGluIleLys
1036	GTCCAGAATATCAGCCTCCGGGAAGGGGAGACAGTACTGTGGAA ValGlnAsnIleSerLeuArgGluGlyGluThrValThrValGlu
1081	GGCCTGGGGGGCCTGACCCACTGCCCTGGCCAACCAGTCTTTC GlyLeuGlyGlyProAspProLeuProLeuAlaAsnGlnSerPhe
1126	CTGCTGCGGGGCAAGTCATCCGCAGCCCCACCACCAAGCGGCC LeuLeuArgGlyGlnValIleArgSerProThrHisGlnAlaAla つづきあり

表11-③

1171	CTGAGGTTCCAGAGCCTCCCGCCACCGGCTGGCCCTGGCACCTTC LeuArgPheGlnSerLeuProProProAlaGlyProGlyThrPhe
1216	CATTTCCATTACCAAGCCTATCTCCTGAGCTGCCACTTCCCCGT HisPheHisTyrGlnAlaTyrLeuLeuSerCysHisPheProArg
1261	CGTCCAGCTTATGGAGATGTGACTGTCACCAGCCTCCACCCAGGG ArgProAlaTyrGlyAspValThrValThrSerLeuHisProGly
1306	GGTAGTGCCCGCTTCCATTGTGCCACTGGCTACCAGCTGAAGGGC GlySerAlaArgPheHisCysAlaThrGlyTyrGlnLeuLysGly
1351	GCCAGGCATCTCACCTGTCTCAATGCCACCCAGCCCTTCTGGGAT AlaArgHisLeuThrCysLeuAsnAlaThrGlnProPheTrpAsp
1396	TCAAAGGAGCCCGTCTGCATCGCTGCTTGGCGGAGTGATCCGC SerLysGluProValCysIleAlaAlaCysGlyGlyValIleArg
1441	AATGGCACCACCGCCGCATCGTCTCTCCAGGCTTCCGGGCAAC AsnGlyThrThrGlyArgIleValSerProGlyPheProGlyAsn
1486	TACAGCAACAACCTCACCTGTCACTGGCTGCTTGAGGCTCCTGAG TyrSerAsnAsnLeuThrCysHisTrpLeuLeuGluAlaProGlu
1531	GGCCAGCGGCTACACCTGCACCTTGAGAAGGTTCCCTGGCAGAG GlyGlnArgLeuHisLeuHisPheGluLysValSerLeuAlaGlu
1576	GATGATGACAGGCTCATCATTCGCAATGGGACAACTGGAGGCC AspAspAspArgLeuIleIleArgAsnGlyAspAsnValGluAla
1621	CCACCAGTGTATGATTCCCTATGAGGTGGAATACCCGCCCGCCCC ProProValTyrAspSerTyrGluValGluTyrProProArgPro
1666	CGCCCTACAACCGCATTACCATAGAGTCAGCGTTTGACAATCCA ArgProTyrAsnArgIleThrIleGluSerAlaPheAspAsnPro
1711	ACTTACGAGACTGGAGAGACGAGAGAATATGAAGTCTCCATCTAG ThrTyrGluThrGlyGluThrArgGluTyrGluValSerIle (西2列番号 20)
1756	GTGGGGGCAGTCTAGGGAAGTCAACTCAGACTTGCACCACAGTCC
1801	AGCAGCAAGGCTCCTTGCTTCCTGCTGTCCCTCCACCTCCTGTAT
1846	ATACCACCTAGGAGGAGATGCCACCAAGCCCTCAAGAAGTTGTGC
1891	CCTTCCCGCCTGCGATGCCACCATGGCCTATTTCTTGGTGTC
1936	ATTGCCCACTTGGGGCCCTTGCAATGGGCCATGTACAGGGGGCAT
1981	CTACCTGTGGGGAAGAACAATAGCTGGGAGCACAAGCTTCAACAGC
2026	CAGCATTCCTTGAGCCTCCTTCATGGCCCTGGGACCAGCCTGGGG
2071	AACACANTTAGGCAGGAGCAGGGAGTTACCTTGTTTCACATGACC
2116	ACCAACCATTCC (西2列番号 19)

クローン7520500.0.54_3 (PROX 11) は、1988bpのヌクレオチド配列 (配列番号21) を含む。このヌクレオチド配列は、推定分子量56463ダルトンの525アミノ酸残基のポリペプチド (配列番号22) 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。この核酸配列によりコードされるポリペプチド (配列番号22) は、クローン7520500.0.54_2 (PROX 10) によりコードされるポリペプチド (配列番号20) と同じである。開始コドンはヌクレオチド178-180に位置し、そし

て終止コドンはヌクレオチド1753 - 1755に位置する。クローン7520500.0.54__3 (PROX 11)の核酸配列(配列番号21)およびアミノ酸配列(配列番号22)は、下記表12にて示される。

【0073】

(表12)

(クローン7520500.0.54.3)

翻訳されたタンパク質 - フレーム: 1 - ヌクレオチド178 ~ 1752

【0074】

【表12】

表12-①

1 CCAGGCGCTGGCCGTGGTGTGATTCTGTCAGGCGCTGGCGGCGG
 46 CAGCGGCGGTGACGGCTGCGGCCCGCTCCCTCTACCCGCGCGGA
 91 CCCGGCTTGCCCCGCGCCCAAGCCCCACCAAGCCCCCGCCCT
 136 CCCGCCGCGGTCCCAGCCCAGGGCGCGGCCCAACCAGCACCATG
 Met
 181 CGCCCGGTAGCCCTGCTGCTCCTGCCCCGCTGCTGGCGCTCCTG
 ArgProValAlaLeuLeuLeuLeuProSerLeuLeuAlaLeuLeu
 226 GCTCACGGACTCTCTTTAGAGGCCCAACCGTGGGGAAAGGACAA
 AlaHisGlyLeuSerLeuGluAlaProThrValGlyLysGlyGln
 271 GCCCCAGGCATCGAGGAGACAGATGGCGAGCTGACAGCAGCCCC
 AlaProGlyIleGluGluThrAspGlyGluLeuThrAlaAlaPro
 316 ACACCTGAGCAGCCAGAACGAGGCGTCCACTTTGTACAACAGCC
 ThrProGluGlnProGluArgGlyValHisPheValThrThrAla
 361 CCCACCTTGAAGCTGCTCAACCACCACCCGCTGCTTGAGGAATTC
 ProThrLeuLysLeuLeuAsnHisHisProLeuLeuGluGluPhe
 406 CTACAAGAGGGGCTGAAAAGGGAGATGAGGAGCTGAGGCCAGCA
 LeuGlnGluGlyLeuGluLysGlyAspGluGluLeuArgProAla
 451 CTGCCCTTCCAGCCTGACCCACCTGCACCCCTTCCCCAAGTCCC
 LeuProPheGlnProAspProProAlaProPheThrProSerPro
 496 CTTCCCCGCTGGCCAACCAGSACAGCCGCTGTCTTTACCAGC
 LeuProArgLeuAlaAsnGlnAspSerArgProValPheThrSer
 541 CCCACTCCAGCCATGGCTGCGGTACCCACTCAGCCCCAGTCCAAG
 ProThrProAlaMetAlaAlaValProThrGlnProGlnSerLys
 586 GAGGACCCTGGAGTCCGGAGTCAGAGTCCCCTATGCTTCGAATC
 GluGlyProTrpSerProGluSerGluSerProMetLeuArgIle
 631 ACAGCTCCCCTACCTCCAGGGCCAGCATGGCAGTGGCCACCCTA
 ThrAlaProLeuProProGlyProSerMetAlaValProThrLeu
 676 GGCCCAGGGGAGATAGCCAGCACTACACCCCCAGCAGAGCCTGG
 GlyProGlyGluIleAlaSerThrThrProProSerArgAlaTrp
 721 ACACCAACCCAAGAGGGTCCCTGGAGACATGGGAAGGCCGTGGGT
 ThrProThrGlnGluGlyProGlyAspMetGlyArgProTrpVal
 766 GCAGAGGTTGTGTCCAGGGCGCAGGGATCGGGATCCAGGGGACC
 AlaGluValValSerGlnGlyAlaGlyIleGlyIleGlnGlyThr
 811 ATCACCTCCTCCACAGCTTCAGGAGATGATGAGGAGACCACCACT
 IleThrSerSerThrAlaSerGlyAspAspGluGluThrThrThr
 77あり

表12-②

- 856 ACCACCACCATCATCACCACCACCATCACCACAGTCCAGACACCA
ThrThrThrIleIleThrThrThrIleThrThrValGlnThrPro
- 901 GGCCCTTGTAGCTGGAATTTCTCAGGCCAGAGGGCTCTCTGGAC
GlyProCysSerTrpAsnPheSerGlyProGluGlySerLeuAsp
- 946 TCCCTACAGACCTCAGCTCCCCACTGATGTTGGCCTGGACTGC
SerProThrAspLeuSerSerProThrAspValGlyLeuAspCys
- 991 TTCTTCTACATCTCTGTCTACCCTGGCTATGGCGTGGAAATCAAG
PhePheTyrIleSerValTyrProGlyTyrGlyValGluIleLys
- 1036 GTCCAGAATATCAGCCTCCGGGAAGGGGAGACAGTACTGTGGAA
ValGlnAsnIleSerLeuArgGluGlyGluThrValThrValGlu
- 1081 GGCCCTGGGGGGCCTGACCCACTGCCCTGGCCAACCAAGTCTTTC
GlyLeuGlyGlyProAspProLeuProLeuAlaAsnGlnSerPhe
- 1126 CTGCTGCGGGGCAAGTCATCCGCAGCCCCACCCACCAAGCGGCC
LeuLeuArgGlyGlnValIleArgSerProThrHisGlnAlaAla
- 1171 CTGAGGTTCCAGAGCCTCCGCCACCGGCTGGCCCTGGCACCTTC
LeuArgPheGlnSerLeuProProProAlaGlyProGlyThrPhe
- 1216 CATTTCATTACCAAGCCTATCTCCTGAGCTGCCACTTTCCTCCGT
HisPheHisTyrGlnAlaTyrLeuLeuSerCysHisPheProArg
- 1261 CGTCCAGCTTATGGAGATGTGACTGTACCAGCCTCCACCCAGGG
ArgProAlaTyrGlyAspValThrValThrSerLeuHisProGly
- 1306 GGTAGTGCCCGCTTCCATTGTGCCACTGGCTACCAGCTGAAGGCC
GlySerAlaArgPheHisCysAlaThrGlyTyrGlnLeuLysGly
- 1351 GCCAGGCATCTCACCTGTCTCAATGCCACCCAGCCCTTCTGGGAT
AlaArgHisLeuThrCysLeuAsnAlaThrGlnProPheTrpAsp
- 1396 TCAAAGGAGCCCGTCTGCATCGCTGCTGCGGGGAGTGATCCGC
SerLysGluProValCysIleAlaAlaCysGlyGlyValIleArg
- 1441 AATGGCACCACCGGCCGATCGTCTCTCCAGGCTTCCGGGCAAC
AsnGlyThrThrGlyArgIleValSerProGlyPheProGlyAsn
- 1486 TACAGCAACAACCTCACCTGTCACTGGCTGCTTGAGGCTCCTGAG
TyrSerAsnAsnLeuThrCysHisTrpLeuLeuGluAlaProGlu
- 1531 GGCCAGCGGCTACACCTGCACTTTGAGAAGGTTCCCTGGCAGAG
GlyGlnArgLeuHisLeuHisPheGluLysValSerLeuAlaGlu
- 1576 GATGATGACAGGCTCATCATTCGCAATGGGGACAACGTGGAGGCC
AspAspAspArgLeuIleIleArgAsnGlyAspAsnValGluAla
- 1621 CCACCAGTGTATGATTCTATGAGGFGGAATACCCGCCCCGCCCC
ProProValTyrAspSerTyrGluValGluTyrProProArgPro
- 1666 CGCCCCTACAACCGCATTACCATAGAGTCAGCGTTTGACAATCCA
ArgProTyrAsnArgIleThrIleGluSerAlaPheAspAsnPro
- 1711 ACTTACGAGACTGGAGAGACGAGAGAATATGAAGTCTCCATCTAG
ThrTyrGluThrGlyGluThrArgGluTyrGluValSerIle (配列番号 22)

表1-③

1756 GTGGGGGCAGTCTAGGGAAGTCAACTCAGACTTGCACCACAGTCC
 1801 AGCAGCAAGGCTCCTTGCTTCCTGCTGTCCCTCCACCTCCTGTAT
 1846 ATACCACCTAGGAGGAGATGCCACCAAGCCACTTTGTACATGTAA
 1891 TGTATTATATGGGGTCTGGGCTCCAGCCAGAGAACAATCTTTAT
 1936 TTCTGTTGTTTCCTTATTTAAATGGTGTGTTTTGGAAAAAAAAA
 1981 AAAAAAA (配列番号21)

配列番号18、配列番号20、および配列番号22のタンパク質(すなわち、クローン7520500.0.54__1(PROX 9);クローン7520500.0.54__2(PROX 10)およびクローン7520500.0.54__3(PROX 11)によりコードされるタンパク質は、P SORTコンピュータプログラムにより、確実性0.8200で細胞外に位置すると推定された。P SORTおよびSignal Pコンピュータプログラムはまた、切断可能なシグナルペプチドが存在し、最も見込みのある切断部位が残基19と20との間、配列AHG-LSに位置することを予測した。

【0075】

BLASTPおよびBLASTXコンピュータプログラムを使用するタンパク質配列データベースの分析は、クローン7520500.0.54__1(PROX 9)、クローン7520500.0.54__2(PROX 10)、および7520500.0.54__3(PROX 11)によりコードされるタンパク質が、494残基のうち、977残基のマウス発作関連タンパク質6前駆体(ACC:Q62269)と同一な421残基(85%)およびポジティブな448残基(90%)を有することを示した。さらに、クローン7520500.0.54__1(PROX 9)によりコードされるタンパク質が、268残基のうち、ヒトKIAA0927タンパク質由来の777フラグメント(ACC:BA A76771)と同一な133残基(49%)およびポジティブな187残基(69%)を有し;そしてクローン7520500.0.54__2(PROX 10)およびクローン7520500.0.54__3(PROX 11)によりコードされるタンパク質が、286残基のうち、ヒトKIAA0927タンパク質(ACC:BA A76771)由来の777フラグメントと、同一な138残基(48%)およびポジティブな196残基(68%)を有する。

【0076】

クローン7520500.0.54__4 (PROX 12) およびクローン7520500.0.21 (PROX 13) のヌクレオチド配列の提示が、表13および14に、それぞれ示される。クローン7520500.0.54__4 (PROX 12) は、2143bpのヌクレオチド配列 (配列番号23) を含む。このヌクレオチド配列は、推定分子量56253ダルトンの525アミノ酸残基のポリペプチド (配列番号24) 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178 - 180に位置し、そして終止コドンはヌクレオチド1756 - 1758に位置する。クローン7520500.0.54__4によりコードされるタンパク質 (配列番号24) は、PSORTコンピュータープログラムにより、確実性0.8200で細胞外に位置すると予測された。PSORTおよびSignalPコンピュータープログラムもまた、切断可能な部位が存在し、最も見込みのある切断部位が残基19と20との間、配列AHG - LSに位置することを予測した。クローン7520500.0.54__4 (PROX 12) 核酸配列 (配列番号23) およびアミノ酸配列 (配列番号24) は、下記に表13にて示される。

【0077】

(表13)

(クローン7520500.0.54.4)

翻訳されたタンパク質 - フレーム : 1 - ヌクレオチド178 ~ 1755

【0078】

【表13】

表13-①

1 CCAGGCGCTGGCCGTGGTGTGCTGATTCTGTTCAGGCGCTGGCGGCGG
 46 CAGCGGCGGTGACGGCTGCGGCCCGCTCCCTCTACCCGGCCGGA
 91 CCGGGCTCTGCCCCGCGCCCAAGCCCCACCAAGCCCCCGCCCT

 136 CCGCGCGGGTCCCAGCCCAGGGCGGCGCCGCAACCAGCACCATG
 Met

 181 CGCCCGGTAGCCCTGCTGCTCCTGCCCTCGCTGCTGGCGCTCCTG
 ArgProValAlaLeuLeuLeuLeuProSerLeuLeuAlaLeuLeu

 226 GCTCACGGACTCTCTTTAGAGGCCCAACCGTGGGGAAGGACAA
 AlaHisGlyLeuSerLeuGluAlaProThrValGlyLysGlyGln

 271 GCCCCAGGCATCGAGGAGACAGATGGCGAGCTGACAGCAGCCCC
 AlaProGlyIleGluGluThrAspGlyGluLeuThrAlaAlaPro

 316 ACACCTGAGCAGCCAGAACGAGGCGTCCACTTTGTCAACAGCC
 ThrProGluGlnProGluArgGlyValHisPheValThrThrAla

 361 CCCACCTGAAGCTGCTCAACCACCACCCGCTGCTTGAGGAATTC
 ProThrLeuLysLeuLeuAsnHisHisProLeuLeuGluGluPhe

 406 CTACAAGAGGGGCTGGAAAAGGGAGATGAGGAGCTGAGGCCAGCA
 LeuGlnGluGlyLeuGluLysGlyAspGluGluLeuArgProAla

 451 CTGCCCTTCCAGCCTGACCCACCTGCACCCTTACCCCAAGTCCC
 LeuProPheGlnProAspProProAlaProPheThrProSerPro

 496 CTTCCCGCCTGGCCAACCAGGACAGCCGCCCTGTCTTTACCAGC
 LeuProArgLeuAlaAsnGlnAspSerArgProValPheThrSer

 541 CCCACTCCAGCCATGGCTGCGGTACCCACTCAGCCCCAGTCCAAG
 ProThrProAlaMetAlaAlaValProThrGlnProGlnSerLys

 586 GAGGGACCCTGGAGTCCGGAGTCAGAGTCCCTATGCTTCGAATC
 GluGlyProTrpSerProGluSerGluSerProMetLeuArgIle

 631 ACAGCTCCCCACCTCCAGGGCCCAGCATGGCAGTGGCCACCCTA
 ThrAlaProLeuProProGlyProSerMetAlaValProThrLeu

 676 GGCCAGGGGAGATAGCCAGCACTACACCCCCAGCAGAGCCTGG
 GlyProGlyGluIleAlaSerThrThrProProSerArgAlaTrp

 721 ACACCAACCAAGAGGTCCTGGAGACATGGGAAGCCGTGGGTT
 ThrProThrGlnGluGlyProGlyAspMetGlyArgProTrpVal

 766 GCAGAGGTTGTGCCAGGGCGCAGGGATCGGGATCCAGGGGACC
 AlaGluValValSerGlnGlyAlaGlyIleGlyIleGlnGlyThr

 811 ATCACCTCCTCCACAGCTTCAGGAGATGATGAGGAGACCACCACT
 IleThrSerSerThrAlaSerGlyAspAspGluGluThrThrThr

 856 ACCACCACCATCATCACCACCACCATCACCACAGTCCAGACACCA
 ThrThrThrIleIleThrThrThrIleThrThrValGlnThrPro

 901 GGCCCTTGTAGCTGGAATTTCTCAGGCCAGAGGCTCTCTGGAC
 つづきあり

表13-②

GlyProCysSerTrpAsnPheSerGlyProGluGlySerLeuAsp

946 TCCCCTACAGACCTCAGCTCCCCACTGATGTTGGCCTGGACTGC
SerProThrAspLeuSerSerProThrAspValGlyLeuAspCys

991 TTCTTCTACATCTCTGTCTACCCTGGCTATGGCGTGGAAATCAAG
PhePheTyrIleSerValTyrProGlyTyrGlyValGluIleLys

1036 GTCCAGAATATCAGCCTCCGGGAAGGGGAGACAGTGACTGTGGAA
ValGlnAsnIleSerLeuArgGluGlyGluThrValThrValGlu

1081 GGCCTGGGGGGCCTGACCCACTGCCCTGGCCAACCAGTCTTTC
GlyLeuGlyGlyProAspProLeuProLeuAlaAsnGlnSerPhe

1126 CTGCTGCGGGGCCAAGTCATCCGCAGCCCCACCCACCAAGCGGCC
LeuLeuArgGlyGlnValIleArgSerProThrHisGlnAlaAla

1171 CTGAGGTTCCAGAGCCTCCCGCCACCGGCTGGCCCTGGCACCTTC
LeuArgPheGlnSerLeuProProProAlaGlyProGlyThrPhe

1216 CATTTCATTACCAAGCCTATCTCTGAGCTGCCACTTCCCCGT
HisPheHisTyrGlnAlaTyrLeuLeuSerCysHisPheProArg

1261 CGTCCAGCTTATGGAGATGTGACTGTCACCAGCCTCCACCCAGGG
ArgProAlaTyrGlyAspValThrValThrSerLeuHisProGly

1306 GGTAGTGCCCGCTCCATTGTGCCACTGGCTACCAGCTGAAGGGC
GlySerAlaArgPheHisCysAlaThrGlyTyrGlnLeuLysGly

1351 GCCAGGCATCTCACCTGTCTCAATGCCACCCAGCCCTTCTGGGAT
AlaArgHisLeuThrCysLeuAsnAlaThrGlnProPheTrpAsp

1396 TCAAAGGAGCCCGTCTGCATCGCTGCTTGGCGGGAGTGATCCGC
SerLysGluProValCysIleAlaAlaCysGlyGlyValIleArg

1441 AATGGCACCACCGCCGCATCGTCTCTCCAGGCTTCCGGGCAAC
AsnGlyThrThrGlyArgIleValSerProGlyPheProGlyAsn

1486 TACAGCAACAACCTCACCTGTCACTGGCTGCTTGAAGGCTCCTGAG
TyrSerAsnAsnLeuThrCysHisTrpLeuLeuGluAlaProGlu

1531 GGCCAGCGGCTACACCTGCACCTTGAGAAGGTTTCCCTGGCAGAG
GlyGlnArgLeuHisLeuHisPheGluLysValSerLeuAlaGlu

1576 GATGATGACAGGCTCATCATTCGCAATGGGGACAACGTGGAGGCC
AspAspAspArgLeuIleIleArgAsnGlyAspAsnValGluAla

1621 CCACCAAGTGGGAAAAGCTCCCTGCAGCTGCCCCGCCCGCCCC
ProProValGlyLysSerSerLeuGlnLeuProArgProArgPro

1666 CGCCCCACAACCGCATTACCATAGAGTCAGCGTTTGACAATCCA
ArgProTyrAsnArgIleThrIleGluSerAlaPheAspAsnPro

1711 ACTTACGAGACTGGATCTCTTTCCTTTGCAGGAGACGAGAGAATA
ThrTyrGluThrGlySerLeuSerPheAlaGlyAspGluArgIle

1756 TGAAGTCTCCATCTAGGTGGGGGAGTCTAGGGAAGTCAACTCAG
1801 ACTTGCAACACAGTCCAGCAGCAAGGCTCCTTGCTTCCCTGCTGTG
1846 CCTCCACCTCCTGTATATACCACCTAGGAGGATGCCACCAAGC
1891 CCTCAAGAAGTTGTGCCCTTCCCCGCCTGCGATGCCACCATGGC

(他記号)

番号24)

つぎ

表13-③

1936 CTATTTTCTGGTGTGTCATTGCCCACTTGGGGCCCTTGCATTGGGC
 1981 CATGTACAGGGGCATCTACCTGTGGGAAGACATAGCTGGGAG
 2026 CACAAGCTTCAACAGCCAGCATTCCCTTGAGCCTCCTTCATGGCCC
 2071 TGGGACCAGCCTGGGGAACACANTTAGGCAGGAGCAGGGAGTTAC
 2116 CTTGTTTCACATGACCACCAACCATTCC (配列番号.23)

クローン7520500.0.21 (PROX 13)は、1482bpのヌクレオチド配列 (配列番号25)を含む。このヌクレオチド配列は、推定分子量56253ダルトンの261アミノ酸残基のポリペプチド (配列番号26)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178 - 180に位置し、そして終止コドンはヌクレオチド961 - 963に位置する。クローン7520500.0.21によりコードされるタンパク質 (配列番号26)は、PSORTコンピュータープログラムにより、確実性0.8200で、細胞外に位置すると予測された。クローン7520500.0.21 (PROX 13)の核酸配列 (配列番号25)およびアミノ酸配列 (配列番号26)は、下記に表14にて示される。

【0079】

(表14)

(クローン7520500.0.21)

翻訳されたタンパク質 - フレーム : 1 - ヌクレオチド178 ~ 960

【0080】

【表14】

表(4-①)

1 CCAGGCGCTGGCCGTGGTGCTGATTCTGTGTCAGGCGCTGGCGGGG
 46 CAGCGGGGTGACGGCTGCGGCCCGCTCCCTCTACCCGGCCGGA
 91 CCCGGCTCTGCCCCGCGCCCAAGCCCCACCAAGCCCCCGCCCT

 136 CCCGCCGGTCCCAGCCCAGGGCGGGCCGCAACCAGCACCATG
 Met

 181 CGCCCGGTAGCCCTGCTGCTCCTGCCCTGCTGCTGGCGCTCCTG
 ArgProValAlaLeuLeuLeuLeuProSerLeuLeuAlaLeuLeu

 226 GCTCAGGACTCTCTTTAGAGGCCCAACCGTGGGAAAGGACAA
 AlaHisGlyLeuSerLeuGluAlaProThrValGlyLysGlyGln

 271 GCCCCAGGCATCGAGGAGACAGATGGCGAGCTGACAGCAGCCCC
 AlaProGlyIleGluGluThrAspGlyGluLeuThrAlaAlaPro

 316 ACACCTGAGCAGCCAGAACGAGGCGTCCACTTTGTACACACAGCC
 ThrProGluGlnProGluArgGlyValHisPheValThrThrAla

 361 CCCACCTGAAGCTGCTCAACCACCACCCGCTGCTTGAGGAATTC
 ProThrLeuLysLeuLeuAsnHisHisProLeuLeuGluGluPhe

 406 CTACAAGAGGGGCTGAAAAGGGAGATGAGGAGCTGAGCCAGCA
 LeuGlnGluGlyLeuGluLysGlyAspGluGluLeuArgProAla

 451 CTGCCCTTCCAGCCTGACCCACCTGCACCC'TCACCCCAAGTCCC
 LeuProPheGlnProAspProProAlaProPheThrProSerPro

 496 CTTCCCCGCTGGCCAACCAGGACAGCCGCCCTGTCTTTACCAGC
 LeuProArgLeuAlaAsnGlnAspSerArgProValPheThrSer

 541 CCCACTCCAGCCATGGCTGCGGTACCCACTCAGCCCCAGTCCAAG
 ProThrProAlaMetAlaAlaValProThrGlnProGlnSerLys
 フキあり

表14-②

586 GAGGGACCCTGGAGTCCGGAGTCAGAGTCCCCTATGCTTCGAATC
GluGlyProTrpSerProGluSerGluSerProMetLeuArgIle

631 ACAGCTCCCCTACCTCCAGGGCCCAGCATGGCAGTGGCCACCCTA
ThrAlaProLeuProProGlyProSerMetAlaValProThrLeu

676 GGCCAGGGGAGATAGCCAGCACTACACCCCCAGCAGAGCCTGG
GlyProGlyGluIleAlaSerThrThrProProSerArgAlaTrp

721 ACACCAACCCAAGAGGGTCCTGGAGACATGGGAAGGCCGTGGGTT
ThrProThrGlnGluGlyProGlyAspMetGlyArgProTrpVal

766 GCAGAGGTTGTGTCCCAGGGCCAGGGATCGGGATCCAGGGGACC
AlaGluValValSerGlnGlyAlaGlyIleGlyIleGlnGlyThr

811 ATCACCTCCTCCACAGCTTCAGGAGATGATGAGGAGACCACCACT
IleThrSerSerThrAlaSerGlyAspAspGluGluThrThrThr

856 ACCACCACCATCATCACCACCACCATCACCACAGTCCAGACACCA
ThrThrThrIleIleThrThrThrIleThrThrValGlnThrPro

901 GGTACAGTACCTGCTGGCTTGCAGATGTGAAATGGGGATGGGGG
GlyGlnLeuProAlaGlyLeuGlnMetTrpLysTrpGlyTrpGly

946 AGGCTGCGGGGCCCTAAAAGCCTGTCTCTGACACTGTGCCAGCC
ArgLeuArgGlyPro (配列番号 26)

991 TGCCCTGCCC'TTGGCACCAGGGCCAGCCTGCAGGAGGCATGTA
1036 GATTGGACCCAGATAGACCTGAGCTCAAATCCTGATTCTTCAGCC
1081 AAGTACAGTGGCTCATGCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCAG
1126 AGGCCAGTGGATCATCTGAGGTCAGGAGTTCAGACCCTCCTGGC
1171 CAACATGGCCGAAACACCATCTCTACTAAAAATACAAAAATGAGCC
1216 GGGCATGGTGGTGGGCACCTGTAATCCCAGCTACTCGGGAGGCTG
1261 AGGCAGGAGAATCACTCAAACCTGGGAGGCAGAGGTTGCAGTGAG
1306 CTGAGATTGCACCAATTCACACTCCAGCCTGGGCAACAGAGCGAGAC
1351 TCTGTCTCAAAAAAGAAAAATCTTGATTCTTCCAATATAACAT
1396 GACCCTAGGAATCTATTAAACATCTCATCTCTGAGCCTCATCTG
1441 TAAATGGCAATAAGAAAAATAAATCTCTGGCTAGAAAAAAA (配列番号 27)

B L A S T P および B L A S T X コンピュータープログラムを使用するタンパク質配列データベースの分析は、クローン7520500.0.54_4 (P R O X 12) によりコードされるタンパク質が、484残基のうちに、991残基のマウス発作関連タンパク質6前駆体(2型)(ACC:Q62269)と同一な412残基(85%)およびポジティブな439残基(90%)を有することを示した。コードされるタンパク質はまた、268残基のうちに、ヒトKIAA0927タンパク質(ACC:BA A 76771)の777残基フラグメントと同一な133残基(49%)およびポジティブな187残基(69%)を有する。

【0081】

B L A S T P および B L A S T X コンピュータープログラムを使用するタンパ

ク質配列データベースの分析は、クローン7520500.0.21 (PROX 13)によりコードされるタンパク質が、242残基のうちに、977残基のマウス発作関連タンパク質6前駆体 (ACC: Q62269) と同一な186残基 (76%) およびポジティブな206残基 (85%) を有することを示した。

【0082】

クローン7520500.0.54__1 (PROX 9); クローン7520500.0.54__2 (PROX 10); クローン7520500.0.54__3 (PROX 11); クローン7520500.0.54__4 (PROX 12); およびクローン7520500.0.21 (PROX 13)によりコードされる本発明のタンパク質は、本明細書中に記載されるORFによりコードされるような開示されるタンパク質、ならびに翻訳後修飾の結果としてそれから生じるすべての成熟タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、7520500.0.54__1、7520500.0.54__2、7520500.0.54__3、7520500.0.54__4および7520500.0.21タンパク質の前駆体およびすべての活性化形態の両方を含む。

【0083】

実施例16に示される実験結果は、7520500ファミリーの種々のクローンが、2つの肺癌細胞株において顕著に検出されるが、正常な肺細胞では検出されないことを示す。これらの結果は、このクローンが、これらの癌の検出または診断のための選択プローブとして使用され得ること、およびこのクローンまたはその遺伝子産物が、このような癌の処置における有用な標的であり得ることを示唆する。

【0084】

(PRO14およびPRO15の核酸およびポリペプチド)

本発明によるPRO 14またはPRO15の核酸は、クローン17941787.0.1 (PROX 14) およびクローン17941787.0.31 (PROX 15) に示される核酸配列を含む。これらのクローンは、それらがコードするタンパク質が互いのスプライス改変体であるという点で互いに似ている。例えば、クローン17941787.0.1 (PROX 14) にコードされ

るタンパク質には、クローン17941787.0.31 (PROX 15)と比較した場合、残基26で始まる19アミノ酸残基の欠失が存在する。さらに、クローン17941787.0.31 (PROX 15)は、クローン17941787.0.1 (PROX 14)よりもカルボキシル末端でかなりさらなる程度まで伸長している。

【0085】

クローン17941787.0.1 (PROX 14)を表す核酸が、乳腺、ならびに胎児の腎臓および下垂体にて見出された。クローン17941787.0.1のヌクレオチド配列の提示が、表15に示され、そしてそれは、3336bpのヌクレオチド配列(配列番号27)を含む。このヌクレオチド配列は、推定分子量93122ダルトンの840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(ORF)を有する。開始コドンはヌクレオチド120-122に位置し；そして終止コドンはヌクレオチド2640-2642に位置する。クローン17941787.0.1によりコードされるタンパク質(配列番号28)は、PSORTコンピュータープログラムにより、原形質膜に位置すると予測された。PSORTおよびSignalPコンピュータープログラムもまた、切断可能なシグナルペプチドが存在し、最も見込みのある切断部位が残基27と28との間、配列VYA-CGに位置すると予測した。クローン17941787.0.1 (PROX 14)の核酸配列(配列番号27)およびアミノ酸配列(配列番号28)は、下記に表15にて示される。

【0086】

(表15)

(クローン17941787.0.1)

翻訳されたタンパク質 - フレーム：3 - ヌクレオチド120 ~ 2639

【0087】

【表15】

表15-②

	roProGlySerAsnCysThrTrpLeuIleAspThrGlyAspHisA
946	GTAAAGTCATTTTACGCTTCACTGACTTTAAACTTGATGGTACTG rgLysValIleLeuArgPheThrAspPheLysLeuAspGlyThrG
991	GTTATGGTGATTATGTCAAATATATGATGGATTAGAGGAGAATC lyTyrGlyAspTyrValLysIleTyrAspGlyLeuGluGluAsnF
1036	CACACAAGCTTTTGCCTGTGTTGACAGCTTTTGATTCTCATGCAC roHisLysLeuLeuArgValLeuThrAlaPheAspSerHisAlaP
1081	CTCTTACAGTTGTTTCTTCTCTGGACAGATAAGGGTACATTTTT roLeuThrValValSerSerSerGlyGlnIleArgValHisPheC
1126	GTGCTGATAAAGTGAATGCTGCAAGGGGATTTAATGCTACTTACC ysAlaAspLysValAsnAlaAlaArgGlyPheAsnAlaThrTyrG
1171	AAGTAGATGGGTCTGTGTTGCCATGGGAAATACCCTGTGGAGGTA lnValAspGlyPheCysLeuProTrpGluIleProCysGlyGlyA
1216	ACTGGGGGTGTTATACTGAGCAGCAGCGTTGTGATGGGTATTGGC snTrpGlyCysTyrThrGluGlnGlnArgCysAspGlyTyrTrpH
1261	ATTGCCAAATGGAAGGGATGAAACCAATTGTACCATGTGCCAGA isCysProAsnGlyArgAspGluThrAsnCysThrMetCysGlnL
1306	AGGAAGAATTTCCATGTTCCCGAAATGGTGTCTGTTATCCTCGTT ysGluGluPheProCysSerArgAsnGlyValCysTyrProArgS
1351	CTGATCGCTGCAACTACCAGAATCATTGCCAAATGGCTCAGATG erAspArgCysAsnTyrGlnAsnHisCysProAsnGlySerAspG
1396	AAAAAACTGCTTTTTTTGCCAACCAGGAAATTTCCATGTAAAA luLysAsnCysPhePheCysGlnProGlyAsnPheHisCysLysA
1441	ACAATCGTGTGTGTTTGAAGTTGGGTGTGTGATTCTCAAGATG snAsnArgCysValPheGluSerTrpValCysAspSerGlnAspA
1486	ACTGTGGTGATGGCAGCGATGAAGAAAATTGCCAGTAATCGTGC spCysGlyAspGlySerAspGluGluAsnCysProValIleValP
1531	CTACAAGAGTCATCACTGCTGCCGTCATAGGGAGCCTCATCTGTG roThrArgValIleThrAlaAlaValIleGlySerLeuIleCysG
1576	GCCTCTTACTCGTCATAGCATTGGGATGTACTTGTAAGCTTTATT lyLeuLeuLeuValIleAlaLeuGlyCysThrCysLysLeuTyrS
1621	CTCTGAGAATGTTTGAAGAAGATCATTGAAACACAGTTGTCAA erLeuArgMetPheGluArgArgSerPheGluThrGlnLeuSerA
1666	GAGTGGAAAGCAGAATTGTTAAGAAGAGAAGCTCCTCCCTCGTATG rgValGluAlaGluLeuLeuArgArgGluAlaProProSerTyrG
1711	GACAATTGATTGCTCAGGGTTAATTCCACCAGTTGAAGATTTTC lyGlnLeuIleAlaGlnGlyLeuIleProProValGluAspPheP
1756	CTGTTTGTTCACCTAATCAGGCTTCTGTTTGGAAAATCTGAGGC roValCysSerProAsnGlnAlaSerValLeuGluAsnLeuArgL
1801	TAGCGGTACGATCTCAGCTTGGATTTACTTCAGTCAGGCTTCCTA euAlaValArgSerGlnLeuGlyPheThrSerValArgLeuProm つぎを

表15-③

- 1846 TGGCAGGCAGATCAAGCAACATTTGGAACCGTATTTTTAATTTTG
etAlaGlyArgSerSerAsnIleTrpAsnArgIlePheAsnPheA
- 1891 CAAGATCACGTCATTCTGGGTCAATTGGCTTTGGTCTCAGCAGATG
laArgSerArgHisSerGlySerLeuAlaLeuValSerAlaAspG
- 1936 GAGATGAGGTTGTCCCTAGTCAGAGTACCAGTAGAGAACCTGAGA
lyAspGluValValProSerGlnSerThrSerArgGluProGluA
- 1981 GAAATCATACTCACAGAAGTTTGTTCCTGGAGTCTGATGATA
rgAsnHisThrHisArgSerLeuPheSerValGluSerAspAspT
- 2026 CAGACACAGAAATGAGAGAAGAGATATGGCAGGAGCATCTGGTG
hrAspThrGluAsnGluArgArgAspMetAlaGlyAlaSerGlyG
- 2071 GGGTTGCAGCTCCTTTGCCTCAAAAAGTCCCTCCCACAACGGCAG
lyValAlaAlaProLeuProGlnLysValProProThrThrAlaV
- 2116 TAGAAGCGACAGTAGGAGCATGTGCAAGTTCCTCAACTCAGAGTA
alGluAlaThrValGlyAlaCysAlaSerSerSerThrGlnSerT
- 2161 CCCGAGGTGGTCATGCAGATAATGGAAGGGATGTGACAAGTGTGG
hrArgGlyGlyHisAlaAspAsnGlyArgAspValThrSerValG
- 2206 AACCCCAAGTGTGAGTCCAGCACGTCACCAGCTTACAAGTGCAC
luProProSerValSerProAlaArgHisGlnLeuThrSerAlaL
- 2251 TCAGTCGTATGACTCAGGGGCTACGCTGGGTACGTTTTACATTAG
euSerArgMetThrGlnGlyLeuArgTrpValArgPheThrLeuG
- 2296 GACGATCAAGTTCCTAAGTCAGAACCAGAGTCCCTTGAGACAAC
lyArgSerSerSerLeuSerGlnAsnGlnSerProLeuArgGlnL
- 2341 TTGATAATGGGGTAAGTGAAGAGAAGATGATGATGATGTTGAAA
euAspAsnGlyValSerGlyArgGluAspAspAspAspValGluM
- 2386 TGCTAATCCAAATTTCTGATGGATCTTCAGACTTTGATGTGAATG
etLeuIleProIleSerAspGlySerSerAspPheAspValAsnA
- 2431 ACTGCTCCAGACCTCTTCTTGATCTTGCCTCAGATCAAGGACAAG
spCysSerArgProLeuLeuAspLeuAlaSerAspGlnGlyGlnG
- 2476 GGCTTAGACAACCATATAATGCAACAAATCCTGGAGTAAGGCCAA
lyLeuArgGlnProTyrAsnAlaThrAsnProGlyValArgProS
- 2521 GTAATCGAGATGGCCCCTGTGAGCGCTGTGGTATTGTCCACACTG
erAsnArgAspGlyProCysGluArgCysGlyIleValHisThrA
- 2566 CCCAGATACCAGACACTTGCTTAGAAGTAACACTGAAAAACGAAA
laGlnIleProAspThrCysLeuGluValThrLeuLysAsnGluT
- 2611 CGAGTGATGATGAGGCTTTGTTACTTTGTTAGGTACGAATCACAT
hrSerAspAspGluAlaLeuLeuLeuCys (西(キ)番号 28)
- 2656 AAGGGAGATTGTATACAAGTTGGAGCAATATCCATTTATTATTTT
- 2701 GTAACTTTACAGTTAACTAGTTTTAGTTTAAAAAGAAAAATGC
- 2746 AGGGTGATTTCTTATTATATATGTTAGCCTGCATGGTTAAATTC
- 2791 GACAACTTGTAACCTATGAACCTAGAGTTTACTATTTTAGCAGC
- 2836 TAAAAATGCATCACATATGCATATGTTCAATAATGGTCCTTTC
- 2881 ATTTGTTTCTGATGTTTTTCATCCTGATACTGTAGTTCAGTGTAG

つぎあり

表15-④

2926 AAATGTGGCTGCTGAAACTCATTGATTGTCATTTTATCTATCC
 2971 TATGTTAAATGGTTTGTTTTACAAAATAATACCTTATTTAATT
 3016 GAAACGTTTATGCTTTTGCCAAGCACATCTGTAACTTAATATAG
 3061 CTAGATGTTAAGGTTGTTAATGTACCAAAAAAAAAAACCTTATA
 3106 CTCACCTGCGTTTTCATTTGTTTGACATTTGTCTATTATTGGATA
 3151 TCATTATCATATGAACTTGTGAGTGGGAAACAACTGTCTAAAA
 3196 TTTATCTCTTACGTTTAAACATACAATCATGTGAGATTAGGCAGA
 3241 GTTCGATAAATTACTGGCAAAAACAAACTCATTTATAAAGATT
 3286 TCTAATGTTGACTTTAATACTCTAACATGGTACAAACCANATGGT
 3331 AAAATC (配列番号 27)

BLASTPおよびBLASTXコンピュータープログラムは、クローン17941787.0.1 (PROX 14)によりコードされるタンパク質が、820残基のうちに、859残基のヒトST7タンパク質 (SPTREMBL - ACC: Q9Y561; 本願の出願日後に寄託された) (いくつかのヒトの形質転換細胞株および腫瘍由来細胞株において発現が変化した推定膜タンパク質) と同一な816残基 (99%) およびポジティブな818残基 (99%) を有することを示した。さらに、コードされるタンパク質はまた586残基のうちに、770残基のヒトLDLレセプター関連タンパク質105 (ACC: 075074) と同一な301残基 (51%) およびポジティブな397残基 (67%) を有することが見出された。さらに、コードされるタンパク質は、820残基のうちに、シグナル配列捕捉法 (PCT公開WO 9918126 - A1 (1999年4月15日公開)) により同定されたヒト859残基ポリペプチドと同一な816残基 (99%) およびポジティブな818残基 (99%) を有することが見出された。

【0088】

クローン17941787.0.31に相同なRNAが、乳腺、ならびに胎児の腎臓および下垂体にて見出される。クローン17941787.0.31 (PROX 15) のヌクレオチド配列の提示が、表16に提供され、そしてそれは、1498bpのヌクレオチド配列 (配列番号29) を含む。このヌクレオチド配列は、推定分子量50654ダルトンの449アミノ酸残基のポリペプチド (配列番号30) 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

表16-②

46 GGCGGCGTCGTCTACCTCCAGCTCCTCCTCCTCCTCCTCCGTCT
 91 CCTCCTCTCTCTCTCCATCTGCTGTGGTTATGGCCTGTCGCTGGA
 MetAlaCysArgTrpS
 136 GCACAAAAGAGTCTCCGCGGTGGAGGTCTGCGTTGCTCTTGCTTT
 erThrLysGluSerProArgTrpArgSerAlaLeuLeuLeuLeuP
 181 TCCTCGTGCGGGTGTACGGAAATGGTGTCTCTGCAGAACATTCTG
 heLeuAlaGlyValTyrGlyAsnGlyAlaLeuAlaGluHisSerG
 226 AAAATGTGCATATTTTCAGGAGTGTCAACTGCTTGTGGAGAGACTC
 luAsnValHisIleSerGlyValSerThrAlaCysGlyGluThrP
 271 CAGAGCAAATACGAGCACCAGTGGCATAATCACAAGCCCAGGCT
 roGluGlnIleArgAlaProSerGlyIleIleThrSerProGlyT
 316 GGCCTTCTGAATATCCTGCAAAAATCAACTGTAGCTGGTTCATAA
 rpProSerGluTyrProAlaLysIleAsnCysSerTrpPheIleA
 361 GGGCAAACCCAGGCGAAATCATTACTATAAGTTTTCAGGATTTTG
 rgAlaAsnProGlyGluIleIleThrIleSerPheGlnAspPheA
 406 ATATTC AAGGATCCAGAAGGTGCAATTTGGACTGGTTGACAATAG
 spIleGlnGlySerArgArgCysAsnLeuAspTrpLeuThrIleG
 451 AAACATACAAGAATATTGAAAGTTACAGAGCTTGTGGTCCACAA
 luThrTyrLysAsnIleGluSerTyrArgAlaCysGlySerThrI
 496 TTCCACCTCCGTATATCTCTTCCACAAGACCACATCTGGATTAGGT
 leProProProTyrIleSerSerGlnAspHisIleTrpIleArgP
 541 TTCATTCCGGATGACAACATCTCTAGAAAGGGTTTCAGACTGGCAT
 heHisSerAspAspAsnIleSerArgLysGlyPheArgLeuAlaT
 586 ATTTTTCAGGGAAATCTGAGGAACCAAATTTGTGCTTGTGATCAGT
 yrPheSerGlyLysSerGluGluProAsnCysAlaCysAspGlnP
 631 TTCGTTGTGGTAATGGAAAGTGTATACCAGAAGCCTGGAAATGTA
 heArgCysGlyAsnGlyLysCysIleProGluAlaTrpLysCysA
 676 ATAACATGGATGAATGTGGAGATAGTTCGGATGAAGAGATCTGTG
 snAsnMetAspGluCysGlyAspSerSerAspGluGluIleCysA
 721 CCAAGAAGCAAATCCTCCAAGTCTGCTGCTTTTCAACCTGTG
 laLysGluAlaAsnProProThrAlaAlaAlaPheGlnProCysA
 766 CTTACAACCAAGTCCAGTGTATCCCGTTTTACCAAGTTTACA
 laTyrAsnGlnPheGlnCysLeuSerArgPheThrLysValTyrT
 811 CTTGCCTCCCGAATCTTTAAAATGTGATGGGAACATTGACTGCC
 hrCysLeuProGluSerLeuLysCysAspGlyAsnIleAspCysL
 856 TTGACCTAGGAGATGAGATAGACTGTGATGTGCCAACATGTGGGC
 euAspLeuGlyAspGluIleAspCysAspValProThrCysGlyG
 901 AATGGCTAAAATATTTTTATGGTACTTTTAAATTCCTCCAATTATC
 lnTrpLeuLysTyrPheTyrGlyThrPheAsnSerProAsnTyrP
 946 CAGACTTTTATCCTCCTGGAAGCAATTGCACCTGGTTAATAGACA
 roAspPheTyrProProGlySerAsnCysThrTrpLeuIleAspT

フもあり

表16-③

991	CTGGTGATCACCGTAAAGTCATTTTACGCTTCACTGACTTTAAAC hrGlyAspHisArgLysValIleLeuArgPheThrAspPheLysL
1036	TTGATGGTACTGGTTATGGTGATTATGTCAAAATATATGATGGAT euAspGlyThrGlyTyrGlyAspTyrValLysIleTyrAspGlyL
1081	TAGAGGAGAATCCACACAAGCTTTTGCSTGTGTTGACAGCTTTTG euGluGluAsnProHisLysLeuLeuArgValLeuThrAlaPheA
1126	ATTCTCATGCACCTCTTACAGTTGTTTCTTCTTCTGGACAGATAA spSerHisAlaProLeuThrValValSerSerSerGlyGlnIleA
1171	GGGTACATTTTTGTGCTGATAAAGTGAATGCTGCAAGGGGATTTA rgValHisPheCysAlaAspLysValAsnAlaAlaArgGlyPheA
1216	ATGCTACTTACCAAGTAGATGGGTCTGTTTGCCATGGGAAATAC snAlaThrTyrGlnValAspGlyPheCysLeuProTrpGluIleP
1261	CCTGTGGAGGTAAGTGGGGTGTATACTGAGCAGCAGCGTCGTG roCysGlyGlyAsnTrpGlyCysTyrThrGluGlnGlnArgArgA
1306	ATGGGTATTGGCATTGCCCAAATGGAAGGGATGAAACCAATTGTA spGlyTyrTrpHisCysProAsnGlyArgAspGluThrAsnCysT
1351	CCATGTGCCAGAAGGAAGAATTTCCATGTTCCCGAAATGGTGTCT hrMetCysGlnLysGluGluPheProCysSerArgAsnGlyValC
1396	GTTATCCTCGTTCGATCGCTGCAACTACCAGAATCATTGCCCAA ysTyrProArgSerAspArgCysAsnTyrGlnAsnHisCysProA
1441	ATGGCAAACAGAACCATCTACTTGGTAAGTAGCATTAAATCCCC snGlyLysGlnAsnProSerThrTrp (西231番号 30)
1486	TTGCAGCATTAC (西231番号 29)

BLASTPおよびBLASTX分析は、クローン17941787.0.31 (PROX 15)によりコードされるタンパク質が、442残基のうちに、859残基ヒトST7タンパク質 (ACC: AAD44360) (いくつかのヒト形質転換細胞株および腫瘍由来細胞株において発現が変化した推定膜タンパク質) と同一な441残基 (99%) およびポジティブな441残基 (99%) を有すると示す。さらに、クローン1791787.0.31によりコードされるタンパク質はまた、586残基のうちに、770残基ヒトLDLレセプター関連タンパク質105 (ACC: 075074) と同一な301残基 (51%) およびポジティブな397残基 (67%) を有することが見出された。さらに、コードされるタンパク質は、442残基のうちに、シグナル配列捕捉法 (PCT公開WO 9918126-A1 (1999年4月15日公開)) により同定されたポリペプチドと同一かつポジティブな441残基 (99%) を有する。

【0091】

クローン17941787.0.1 (PROX 14) およびクローン17941787.0.31 (PROX 15) によりコードされる本発明のタンパク質は、本明細書中に記載されるORFによりコードされるような開示されるタンパク質、ならびに翻訳後修飾の結果としてそれから生じるすべての成熟タンパク質を含む。従って、本発明のタンパク質は、17941787.0.1および17941787.0.31タンパク質の前駆体およびすべての活性な形態の両方を含む。

【0092】

実施例16に示される実験結果は、正常な組織由来の細胞と比較して、前立腺癌、卵巣癌、乳癌、肺癌、腎臓癌、CNS癌、および膵臓癌細胞株において、クローン17941787が強力に過剰発現されることを示す。これらの結果は、このクローンが、これらの癌の検出または診断のための選択プローブとして使用され得ること、およびこのクローンまたはその遺伝子産物が、このような癌の処置における有用な標的であり得ることを示唆する。

【0093】

(PRO16およびPRO17の核酸およびポリペプチド)

本発明によるPRO16またはPRO17の核酸は、クローン16467945.0.85 (PROX 16) およびクローン16467945.0.88 (PROX 17) に示される核酸配列を含む。これらのクローンは、それらがコードするタンパク質が互いのスプライス改変体であるようである点で、互いに似ている。それらは、アミノ末端部分で本質的に同一であり、短い方のタンパク質(すなわち、クローン16467945.0.85によりコードされるタンパク質)のカルボキシル末端で異なるようになる。

【0094】

クローン16467945.0.85 (PROX 16) およびクローン16467945.0.88 (PROX 17) に相同なRNAが、胎児の肺、精巣および胎児の腎臓において見出される。

【0095】

クローン16467945.0.85 (PROX 16) のヌクレオチド配列

の提示が、表17に提示され、そしてそれは、691bpのヌクレオチド配列（配列番号31）を含む。このヌクレオチド配列は、推定分子量13844ダルトンの123アミノ酸残基のポリペプチド（配列番号32）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203 - 205に位置し；そして終止コドンはヌクレオチド572 - 574に位置する。クローン16467945.0.85（PROX 16）によりコードされるタンパク質（配列番号32）は、PSORTコンピュータープログラムにより、確実性0.7475で細胞外に位置すると予測された。PSORTおよびSignalPコンピュータープログラムは、切断可能なシグナルペプチドが存在し、最も見込みのある切断部位が残基19と20との間、配列AAA - EYに位置すると予測した。クローン16467945.0.85（PROX 16）の核酸配列（配列番号31）およびアミノ酸配列（配列番号32）は、下記表17にて示される。

【0096】

（表17）

（クローン16467945.0.85）

翻訳されたタンパク質 - フレーム：2 - ヌクレオチド203 ~ 571

【0097】

【表17】

表19

1 GGGAGGGGGCTCCGGGCGCCGCGCAGCAGACCTGCTCCGGGCGGG
 46 CGCCTCGCCGCTGTCTCCGGGAGCGGCAGCAGTAGCCCGGGCGG
 91 CGAGGGCTGGGGGTTCTTCGAGACTCTCAGAGGGGCGCCTCCCAT
 136 CGGCGCCACCACCCCAACCTGTTCTCGGCGCCACTGCGCTGC

 181 GCCCCAGGACCCGCTGCCCAACATGGATTTTCTCCTGGCGCTGGT
 MetAspPheLeuLeuAlaLeuVa

 226 GCTGGTATCCTCGCTCTACCTGCAGGCGGCCGCGAGTACGACGG
 lLeuValSerSerLeuTyrLeuGlnAlaAlaAlaGluTyrAspGl

 271 GAGGTGGCCAGGCAAATAGTGTTCATCGATTGGCCTATGTCGTTA
 yArgTrpProArgGlnIleValSerSerIleGlyLeuCysArgTy

 316 TGGTGGGAGGATGACTGCTGCTGGGGCTGGGCTCGCCAGTCTTG
 rGlyGlyArgIleAspCysCysTrpGlyTrpAlaArgGlnSerTr

 361 GGGACAGTGTACGCTTTCTACGTCTTAAGGCAGAGAATAGCCAG
 pGlyGlnCysGlnProPheTyrValLeuArgGlnArgIleAlaAr

 406 GATAAGGTGCCAGCTCAAAGCTGTGTGCCAACCCAGATGCAAACA
 gIleArgCysGlnLeuLysAlaValCysGlnProArgCysLysHi

 451 TGGTGAATGTATCGGGCCAAACAAGTGCAAGTGTATCCTGGTTA
 sGlyGluCysIleGlyProAsnLysCysLysCysHisProGlyTy

 496 TGCTGGAAAAACCTGTAATCAAGCCGTAGGTTTTGAAAGATGTAT
 rAlaGlyLysThrCysAsnGlnAlaValGlyPheGluArgCysMe

 541 GGTTCAGCCGGGCGCCGTGGCTCTACCCTGTAATCCCAGCACTT
 tValProAlaGlyArgArgGlySerThrLeu (配列番号 32)

 586 TGGAAGGCCGAGGCGGGCGGATCACGAGGTCAGGATATCGAGACC
 631 ATCCTGGCTAACACGGTGAACCCCATCTCTACTAAAAATACAAA
 676 AAAAAAAAAAAAAAAAAA (配列番号 31)

BLASTPおよびBLASTXコンピュータープログラムを使用する配列データベースの分析は、クローン16467945.0.85 (PROX 16) によりコードされるタンパク質が、131残基のうちに、ヒトPR0334タンパク質と同一な77残基(58%)およびポジティブな83残基(63%)を有すると示した。さらに、コードされるタンパク質はまた、47残基のうちに、マウスハリネズミ(hedgehog)相互作用タンパク質(ACC:AAD31172)と同一な21残基(44%)およびポジティブな27残基(57%)を有することが見出された。

【0098】

クローン16467945.0.88 (PROX 17) のヌクレオチド配列の提示が、表18に提示され、そしてそれは、2112bpのヌクレオチド配列(配列番号33)を含む。このヌクレオチド配列は、推定分子量63992ダルトンの582アミノ酸残基のポリペプチド(配列番号34)をコードするオーブ

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203-205に位置し;そして終止コドンはヌクレオチド1949-1951に位置する。クローン16467945.0.88(PROX 17)によりコードされるタンパク質(配列番号34)は、PSORTコンピュータープログラムにより、確実性0.7475で細胞外に位置すると予測された。PSORTおよびSignalPコンピュータープログラムはまた、切断可能なシグナルペプチドが存在し、最も見込みのある切断部位が残基19と20との間、配列AAA-EYに位置すると予測した。クローン16467945.0.88(PROX 17)の核酸配列(配列番号33)およびアミノ酸配列(配列番号34)は、下記表18にて示される。

【0099】

【表18】

表180

74-2 16467945.0.88

番用記述の順序 - 7-4:2 - 77144-203-1948

1 GGGAGGGGGCTCCGGGCGCCGCGCAGCAGACCTGCTCCGGCCGCG
46 CGCCTCGCCGCTGTCTCCGGGAGCGGCAGCAGTAGCCCGGGCGG
91 CGAGGGCTGGGGTTCTCGAGACTCTCAGAGGGCGCCCTCCCAT
136 CGGCGCCACCACCCCAACCTGTCTCGCGGCCACTGCGCTGC

181 GCCCCAGGACCCGCTGCCCAACATGGATTTTCTCCTGGCGCTGGT
MetAspPheLeuLeuAlaLeuVa

226 GCTGGTATCCTCGCTCTACCTGCAGGCGGCCGCGAGTTCGACGG
lLeuValSerSerLeuTyrLeuGlnAlaAlaAlaGluPheAspGl

271 GAGGTGGCCAGGCAAATAGTGTATCGATTGGCCTATGTGCTTA
yArgTrpProArgGlnIleValSerSerIleGlyLeuCysArgTy

316 TGGTGGGAGGATTGACTGCTGCTGGGGCTGGGCTCGCCAGTCTTG
rGlyGlyArgIleAspCysCysTrpGlyTrpAlaArgGlnSerTr

361 GGGACAGTGTGACCTTTCTACGTCTTAAGGCAGAGAATAGCCAG
pGlyGlnCysGlnProPheTyrValLeuArgGlnArgIleAlaAr

406 GATAAGGTGCCAGCTCAAAGCTGTGTGCCAACCCAGATGCAAACA
gIleArgCysGlnLeuLysAlaValCysGlnProArgCysLysHi

451 TGGTGAATGTATCGGGCCAAACAAGTGAAGTGCATCCTGGTTA
sGlyGluCysIleGlyProAsnLysCysLysCysHisProGlyTy

496 TGCTGGAAAACCTGTATTCAAGTTTTAAATGAGTGTGGCCTGAA
rAlaGlyLysThrCysIleGlnValLeuAsnGluCysGlyLeuLy

541 GCCCCGGCCCTGTAAGCACAGGTGCATGAACACTTACGGCAGCTA
sProArgProCysLysHisArgCysMetAsnThrTyrGlySerTy

586 CAAGTGTACTGTCTCAACGGATATATGCTCATGCCGGATGGTTC
rLysCysTyrCysLeuAsnGlyTyrMetLeuMetProAspGlySe

631 CTGCTCAAGTGCCTGACCTGCTCCATGGCAAACCTGTCAGTATGG
rCysSerSerAlaLeuThrCysSerMetAlaAsnCysGlnTyrGl

676 CTGTGATGTTGTTAAAGGACAAATACGGTGCCAGTCCCATCCCC
yCysAspValValLysGlyGlnIleArgCysGlnCysProSerPr

721 TGGCCTGCAGCTGGCTCCTGATGGGAGGACCTGTGTAGATGTTGA
oGlyLeuGlnLeuAlaProAspGlyArgThrCysValAspValAs

766 TGAATGTGCTACAGGAAGAGCCTCCTGCCCTAGATTTAGGCAATG
pGluCysAlaThrGlyArgAlaSerCysProArgPheArgGlnCy

811 TGTC AACACTTTTGGGAGCTACATCTGCAAGTGCATAAAGGCTT
つぎあり

表18②

	sValAsnThrPheGlySerTyrIleCysLysCysHisLysGlyPh
856	CGATCTCATGTATATTGGAGGCAAATATCAATGTCATGACATAGA eAspLeuMetTyrIleGlyGlyLysTyrGlnCysHisAspIleAs
901	CGAATGCTCACTTGGTCAGTATCAGTGCAGCAGCTTTGCTCGATG pGluCysSerLeuGlyGlnTyrGlnCysSerSerPheAlaArgCy
946	TTATAACGTACGTGGGTCTACAAGTGCAAATGTAAGAAGGATA sTyrAsnValArgGlySerTyrLysCysLysCysLysGluGlyTy
991	CCAGGGTGATGGACTGACTTGTGTGTATATCCAAAAGTTATGAT rGlnGlyAspGlyLeuThrCysValTyrIleProLysValMetIl
1036	TGAACCTTCAGGTCCAATTCATGTACCAAAGGAAATGGTACCAT eGluProSerGlyProIleHisValProLysGlyAsnGlyThrIl
1081	TTTAAAGGGTGACACAGGAAATAATAATTGGATTCCTGATGTTGG eLeuLysGlyAspThrGlyAsnAsnAsnTrpIleProAspValGl
1126	AAGTACTTGGTGGCCTCCGAAGACACCATATATTCCTCCTATCAT ySerThrTrpTrpProProLysThrProTyrIleProProIleIl
1171	TACCAACAGGCCTACTTCTAAGCCAACAACAAGACCTACACCAA eThrAsnArgProThrSerLysProThrThrArgProThrProLy
1216	GCCAACACCAATTCCTACTCCACCACCACCACCACCCCTGCCAAC sProThrProIleProThrProProProProProProLeuProTh
1261	AGAGCTCAGAACACCTCFACCACCTACAACCCAGAAAGGCCAAC rGluLeuArgThrProLeuProProThrThrProGluArgProTh
1306	CACCGGACTGACAACCTATAGCACCAGCTGCCAGTACACCTCCAGG rThrGlyLeuThrThrIleAlaProAlaAlaSerThrProProGl
1351	AGGGATTACAGTTGACAACAGGGTACAGACAGACCCCTCAGAAACC yGlyIleThrValAspAsnArgValGlnThrAspProGlnLysPr
1396	CAGAGGAGATGTGTTTCATTCCACGGCAACCTTCAAATGACTTGTT oArgGlyAspValPheIleProArgGlnProSerAsnAspLeuPh
1441	TGAAATATTTGAAATAGAAAGAGGAGTCAGTGCAGACGATGAAGC eGluIlePheGluIleGluArgGlyValSerAlaAspAspGluAl
1486	AAAGGATGATCCAGGTGTTCTGGTACACAGTTGTAATTTTGACCA aLysAspAspProGlyValLeuValHisSerCysAsnPheAspHi
1531	TGGACTTTGTGGATGGATCAGGGAGAAAGACAATGACTTGCACTG sGlyLeuCysGlyTrpIleArgGluLysAspAsnAspLeuHisTr
1576	GGAACCAATCAGGGACCCAGCAGGTGGACAATATCTGACAGTGTG pGluProIleArgAspProAlaGlyGlyGlnTyrLeuThrValSe
1621	GGCAGCCAAAGCCCCAGGGGAAAAGCTGCACGCTTGGTGCTACC rAlaAlaLysAlaProGlyGlyLysAlaAlaArgLeuValLeuPr
1666	TCTCGGCCGCTTATGCATTCAGGGACCTGTGCCTGTCATTCAG oLeuGlyArgLeuMetHisSerGlyAspLeuCysLeuSerPheAr
1711	GCACAAGGTGACGGGGCTGCACTCTGGCACACTCCAGGTGTTTGT gHisLysValThrGlyLeuHisSerGlyThrLeuGlnValPheVa つをあり

表17③

1756 GAGAAAACACGGTGCCACGGAGCAGCCCTGTGGGGAAGAAATGG
lArgLysHisGlyAlaHisGlyAlaAlaLeuTrpGlyArgAsnGl

1801 TGGCCATGGCTGGAGGCAAACACAGATCACCTTGCGAGGGGCTGA
yGlyHisGlyTrpArgGlnThrGlnIleThrLeuArgGlyAlaAs

1846 CATCAAGAGCGTCGTCTTCAAAGGTGAAAAAAGGCGTGGTCACAC
pIleLysSerValValPheLysGlyGluLysArgArgGlyHisTh

1891 TGGGGAGATTGGATTAGATGATGTGAGCTTGAAAAAAGGCCACTG
rGlyGluIleGlyLeuAspAspValSerLeuLysLysGlyHisCy

1936 CTCTGAAGAACGCTAACAACTCCAGAACTAACAAATGAACTCCTAT
sSerGluGluArg (画記列番号34)

1981 GTTGCTCTATCCTCTTTTTCCAATTCATCTTCTCTCCTCTTCT
2026 CCCTTTTATCAGGCCTAGGAGAAGAGTGGGTCAGTGGGTCAGAAG
2071 GAAGTCTATTTGGTGACCCAGGTCTTCTGGCCTGCTTTTGT (画記列番号33)

B L A S T PおよびB L A S T Xコンピュータープログラムを使用する配列データベースの分析は、クローン16467945.0.88 (PROX17)によってコードされるタンパク質が、509残基のヒトPRO334タンパク質 (ACC: Y13397) に対して332残基のうち326残基 (98%) 同一であり、そして332残基のうち327残基 (98%) ポジティブを有することを示した。さらに、コードされるタンパク質はまた、1221残基のマウスタンパク質フィブリン-2 (ACC: AAD34456) に対して332残基のうち326残基 (98%) 同一であり、そして332残基のうち327残基 (98%) ポジティブを有することを見出した。さらに、コードされるタンパク質はまた、553残基のヒト上皮増殖因子繰り返し含有タンパク質 (TREMBLNEW-ACC: AAF27812 (本発明の出願日後に公表された)) と約60%の同一性を有し、そして約80%ポジティブである。

【0100】

クローン16467945.0.85 (PROX16) およびクローン16467945.0.88 (PROX17) によってコードされる本発明のタンパク質は、本明細書中に記載のORFによってコードされるような開示されたタンパク質および翻訳後修飾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。従って、本発明のタンパク質は、16467945.0.85タンパク質およ

び16467945.0.88タンパク質の前駆体および任意の活性形態の両方を包含する。

【0101】

実施例16において示される実験結果は、正常組織由来の細胞と比較して、クローン16467945.0.85 (PROX16) およびクローン16467945.0.88 (PROX17) によってコードされるタンパク質が、特定の乳癌細胞株、卵巣癌細胞株、腎臓癌細胞株および結腸癌細胞株において高度に過剰発現していることを示す。さらに、コードされるタンパク質は、正常肺細胞と比較して肺癌細胞株において強度に抑制される。これらの結果は、このクローンが、これらの癌の検出または診断のための選択プローブとして使用され得ること、およびこれらのクローンまたはそれらの遺伝子産物は、このような癌の治療における有用な治療剤または標的であり得ることを示唆する。

【0102】

(PROX核酸)

本発明の新規な核酸は、PROXまたはPROX様タンパク質、またはその生物学的に活性な部分をコードする核酸を含む。核酸は、配列番号 $2n$ ($n=1\sim 17$) 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核酸を含む。従って、コードされるポリペプチドは、例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および/または34のアミノ酸配列を含み得る。

【0103】

いくつかの実施形態において、配列番号 $2n$ ($n=1\sim 17$) の1つ以上のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする核酸は、配列番号 $2n-1$ (ここで、 $n=1\sim 17$) のいずれかの核酸配列、またはそれらのフラグメントを含み、そして従って、例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、および/または33の核酸配列を含み得る。さらに、本発明は、配列番号 $2n-1$ (ここで、 $n=1\sim 17$) のいずれかの変異体または改変体の核酸、またはそれらのフラグメントを含み、これらの塩基のいずれかは、開示された配列から変化され得るが、なお、そのP

R O X様生物学的活性および生理学的機能を維持するタンパク質をコードする。本発明はさらに、配列番号 $2n - 1$ (ここで、 $n = 1 \sim 17$) のいずれかの核酸配列(それらのフラグメント、誘導体、アナログおよびホモログを含む)の相補体を含む。さらに、本発明は、核酸または核酸フラグメント、それに対する相補体を含み、それらの構造は、化学的な変更を含む。

【0104】

P R O Xをコードする核酸(例えば、P R O X mRNA)を同定するためにハイブリダイゼーションプローブとして使用するための十分な核酸フラグメントおよびP R O X核酸分子の増幅または変異のためのポリメラーゼ連鎖反応(P C R)プライマーとして使用するためのフラグメントも含まれる。本明細書において使用される場合、用語「核酸分子」は、DNA分子(例えば、c DNA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使用して産生されるDNAまたは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。核酸分子は、一本鎖または二本鎖であり得るが、好ましくは、二本鎖DNAである。

【0105】

本明細書中で利用される場合、用語「プローブ」とは、種々の長さの核酸配列をいい、好ましくは、特定の使用に依存して、少なくとも約10ヌクレオチド(nt)、100 nt 、または例えば、約6,000 nt ほどの大きさの間である。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。プローブはまた、一本鎖または二本鎖であり得、そしてP C R、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E L I S Aのような技術において特異性を有するように設計され得る。

【0106】

本明細書中で利用される場合、用語「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核酸である。単離された核酸分子の例としては、ベクター中に含まれる組換えDNA分子、異種宿

主細胞中に維持される組換えDNA分子、部分的または実質的に精製された核酸分子、および合成DNAまたはRNA分子が挙げられるが、これらに限定されない。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）を含まない。例えば、種々の実施形態で、単離されたPROX核酸分子は、この核酸が由来する細胞のゲノムDNA中でこの核酸分子に天然で隣接する、約50kb、25kb、5kb、4kb、3kb、2kb、1kb、0.5kb、または0.1kb未満のヌクレオチド配列を含み得る。さらに、「単離された」核酸分子、例えば、cDNA分子は、組換え技術により產生される場合、その他の細胞物質も培養培地も実質的に含まないか、または化学的に合成される場合、化学物質前駆体もその他の化学物質も実質的に含まないものであり得る。

【0107】

本明細書中で使用される場合、ポリペプチドまたはタンパク質の用語「成熟」形態は、天然に存在するポリペプチドあるいは前駆体形態またはPROX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PROXタンパク質としては、非限定的な例として、対応する遺伝子によってコードされる完全長遺伝子産物が挙げられる。あるいは、本明細書中で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PROXタンパク質として定義され得る。産物「成熟」形態は、さらに非限定的な例として、遺伝子産物が產生される細胞中、または宿主細胞中で発生し得る、1以上の天然に存在するプロセッシング工程の結果として発生する。ポリペプチドまたはタンパク質の「成熟」形態に導くこのようなプロセッシング工程の例としては、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、N末端メチオニン残基の切断、またはシグナルペプチドまたはリーダー配列のタンパク分解性切断が挙げられる。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、N末端メチオニンの除去後に残った残基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のN末端シグナル配列が切断される)は、残った残基M+1～残基Nを有する。本明細書中でさらに使用される場合、ポリペプチドまたはタンパク質の「成熟」形態は、タンパク質分解性切断事象以外の、翻訳後改変事象の工程から生じ得る。このようなさらなるプロセスとしては、非限定的な例として、グリコシル化、ミリストイル化、またはリン酸化が挙げられる。一般に、成熟ポリペプチドまたは成熟タンパク質は、これらのプロセスの1つのみの作用、またはそれらのいずれかの組み合わせから生じ得る。

【0108】

本発明の核酸分子、例えば、配列番号 $2n-1$ (ここで、 $n=1\sim 17$)のヌクレオチド配列を有する核酸分子、またはこれらのヌクレオチド配列のいずれかの相補体は、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 $2n-1$ (ここで、 $n=1\sim 17$)のいずれかの核酸配列の全てまたは一部を用いて、PROX核酸配列は、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術(例えば、Sambrookら(編)、MOLECULAR 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。

【0109】

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、PROXヌクレオチド配列に対応するオリゴヌクレオチドは、標準的な合成技術、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。

【0110】

本明細書で用いられる場合、用語「オリゴヌクレオチド」とは、一連の連結し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配列に基づき得るか、またはそれらから設計され得、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100ntの長さ、好ましくは約15nt~30nt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、100ntより短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 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）のいずれかの少なくとも6個連続するヌクレオチドまたはその相補体を含む。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。

【0111】

別の実施形態では、本発明の単離された核酸分子は、配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）のいずれかにおいて示されたヌクレオチド配列の相補体である核酸分子を含む。なお別の実施形態において、本発明の単離された核酸分子は、配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）のいずれかにおいて示されたヌクレオチド配列、またはこのヌクレオチド配列の一部の相補体である核酸分子を含む。配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）のいずれかに示されたヌクレオチド配列に相補的である核酸分子は、配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）のいずれかに示されたヌクレオチド配列に十分に相補的である核酸分子であり、配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）のいずれかに示されたヌクレオチド配列に対しミスマッチがほとんどまたは全くなく水素結合し得、それによって安定な二本鎖を形成する。

【0112】

本明細書で使用する場合、用語「相補的」とは、核酸分子のヌクレオチド単位間のWatson-CrickまたはHoogsteen塩基対形成をいい、これに対して、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として

定義される。結合は、イオン性、非イオン性、ファンデルワールス性、疎水性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、別のポリペプチドもしくは化合物を介するか、またはその効果に起因し得る。直接的結合とは、別のポリペプチドもしくは化合物を介するか、またはその効果に起因して生じないが、その代わりに、その他の実質的な化学的中间体がない相互作用をいう。

【0113】

さらに、本発明の核酸分子は、配列番号 $2n - 1$ (ここで、 $n = 1 \sim 17$) のいずれかの核酸配列の一部のみ (例えば、プローブまたはプライマーとして使用され得るフラグメント、あるいはPROXの生物学的に活性な部分をコードするフラグメント) を含み得る。本明細書中に提供されるフラグメントは、少なくとも6個の(連続する)核酸配列または少なくとも4個の(連続する)アミノ酸配列(それぞれ、核酸の場合には、特異的なハイブリダイゼーションを可能にし、またはアミノ酸の場合には、エピトープの特異的な認識を可能にするのに十分な長さ)として定義され、そして全長配列未満のせいぜいいくらかの部分である。フラグメントは、選択された核酸配列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、直接的にかまたは改変もしくは部分的置換のいずれかによって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に類似する構造を有する(しかし、同一ではない)が、特定の成分または側鎖に関してそれとは異なる核酸配列またはアミノ酸配列である。アナログは、合成物であり得るか、または進化的に異なる起源に由来し得、そして野生型と比較して、類似の代謝活性または反対の代謝活性を有し得る。

【0114】

誘導体およびアナログは、以下に記載のように、誘導体またはアナログが、修飾された核酸またはアミノ酸を含む場合、全長、または全長以外のものであり得る。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、種々の実施形態において、本発明の核酸もしくはタンパク質に、同一の大きさの核酸またはアミノ酸配列にわたって、または整列した配列と比較した場合(この整列は、当該分

野で公知であるコンピューター相同性プログラムによって実施される)、少なくとも約70%、80%、85%、90%、95%、98%、もしくは99%もの同一性(好ましい同一性は、80~99%)で実質的に相同であるか、あるいはそのコードする核酸がストリンジェントの、中程度にストリンジェントの、または低いストリンジェントの条件下で上記のタンパク質をコードする配列の相補体にハイブリダイズし得る、領域を含む分子を包含するが、これらに限定されない。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。例示のプログラムは、Gapプログラム(Wisconsin Sequence Analysis Package、Version 8 for UNIX(登録商標)、Genetics Computer Group、University Research Park、Madison、WI)(デフォルト設定を使用、これは、SmithおよびWatermanのアルゴリズム(Adv. Appl. Math.、1981、2:482-489、これらは、その全体が参考として本明細書中に援用される)を使用する)である。

【0115】

本明細書中で利用する場合、用語「相同な核酸配列」もしくは「相同なアミノ酸配列」、またはその改変体とは、上記で考察したように、ヌクレオチドレベルまたはアミノ酸レベルにおける相同性によって特徴付けられる配列をいう。相同なヌクレオチド配列は、PROXポリペプチドのアイソフォームをコードする配列をコードする。アイソフォームは、例えば、RNAの選択的スプライシングの結果として、同一の生物の異なる組織において発現され得る。あるいは、アイソフォームは、異なる遺伝子によってコードされ得る。本発明において、相同なヌクレオチド配列は、ヒト以外の種(哺乳動物が挙げられるが、これに限定されず、従って、例えば、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマおよび他の生物が挙げられ得る)のPROXポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。相同なヌクレオチド配列としてはまた、天然に生じる対立遺伝子改変体および本明細書に記載されるヌクレオチド配列の変異体が挙げられるが、これら

に限定されない。しかし、相同なヌクレオチド配列は、ヒトPROXタンパク質をコードするヌクレオチド配列を含まない。相同な核酸配列は、配列番号 $2n - 1$ (ここで、 $n = 1 \sim 17$) のいずれかの保存的アミノ酸置換 (以下を参照のこと)、およびPROX活性を有するポリペプチドをコードする核酸配列を含む。PROXタンパク質の生物学的活性は以下に記載されている。相同なアミノ酸配列は、ヒトPROXポリペプチドのアミノ酸配列をコードしない。

【0116】

ヒトPROX遺伝子のクローニングから決定されたヌクレオチド配列は、他の細胞型 (例えば、他の組織由来) におけるPROXホモログ、ならびに他の哺乳動物由来のPROXホモログを開示および/またはクローニングする細胞型を同定する際の使用のために設計されるプローブおよびプライマーの作製を可能にする。このプローブ/プライマーは、代表的には、実質的に精製されたオリゴヌクレオチドを含む。このオリゴヌクレオチドは、代表的には、配列番号 $2n - 1$ (ここで、 $n = 1 \sim 17$) の少なくとも約12個、約25個、約50個、約100個、約150個、約200個、約250個、約300個、約350個または約400個以上の連続するセンス鎖ヌクレオチド配列; または配列番号 $2n - 1$ (ここで、 $n = 1 \sim 17$) のアンチセンス鎖ヌクレオチド配列; あるいは配列番号 $2n - 1$ (ここで、 $n = 1 \sim 17$) の天然に存在する変異体の少なくとも約12個、約25個、約50個、約100個、約150個、約200個、約250個、約300個、約350個または約400個以上の連続するセンス鎖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ヌクレオチド配列の領域を含む。

【0117】

ヒトPROXヌクレオチド配列に基づくプローブは、同じまたは相同なタンパク質をコードする転写物またはゲノム配列を検出するために使用され得る。種々の実施形態において、このプローブはさらに、プローブに付着した標識基を含み、例えば、この標識基は放射性同位体、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、PROXタンパク質を誤って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、例えば、被験体由来の

細胞のサンプル中のPROXをコードする核酸のレベルを測定すること（例えば、PROX mRNAレベルを検出すること、またはゲノムPROX遺伝子の変異しているかまたは欠失しているか否かを決定すること）によって使用され得る。

【0118】

本明細書中において利用される場合、用語「PROの生物学的に活性な部分を有するポリペプチド」とは、本発明のポリペプチドの活性に類似するが必ずしも同一ではない活性を示すポリペプチドをいい、用量依存性の有無に関わらず、特定の生物学的アッセイにおいて測定されるような成熟形態を含む。「PRO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、PROXの生物学的活性を有するポリペプチドをコードする、配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）の一部を単離し、PROXタンパク質のコードされた部分を発現させ（例えば、インビトロでの組換え発現によって）、そしてPROのコードされた部分の活性を評価することによって調製され得る。

【0119】

（PROX改変体）

本発明はさらに、遺伝コードの縮重に起因して、開示されたPROXヌクレオチド配列とは異なる核酸分子を包含する。それにより、これらの核酸は、配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）に示されるヌクレオチド配列によってコードされるタンパク質と同じPROXタンパク質をコードする。別の実施形態において、本発明の単離された核酸分子は、配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）のいずれかに示されるアミノ酸配列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。

【0120】

配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）のいずれかに示されるヒトPROXヌクレオチド配列に加えて、PROXのアミノ酸配列における変化を導くDNA配列多型は、集団（例えば、ヒト集団）内に存在し得ることが、当業者によって理解される。PROX遺伝子中のこのような遺伝的多型は、天然の対立遺伝子のバリエーションに起因して、集団内の個体間に存在し得る。本明細書中で使用

される場合、用語「遺伝子」および「組換え遺伝子」は、PROXタンパク質、好ましくは哺乳動物のPROX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のバリエーションは、代表的には、PROX遺伝子のヌクレオチド配列において1～5%の変動性を生じ得る。天然の対立遺伝子バリエーションの結果であり、そしてPROXの機能的活性を変化させない、PROX内の任意および全てのこのようなヌクレオチドのバリエーションならびに得られるアミノ酸多型は、本発明の範囲内であると意図される。

さらに、他の種からのPROXタンパク質をコードし、そしてそれ故、配列番号 $2n - 1$ （ここで、 $n = 1 \sim 17$ ）のいずれかの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PROX 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ентなハイブリダイゼーション条件下、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PROX核酸に対するそれらの相同性を基に単離され得る。

【0121】

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ентな条件下で、配列番号 $2n - 1$ （ここで、 $n = 1 \sim 17$ ）のいずれかの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750ヌクレオチドである。なお別の実施形態では、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ент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。

【0122】

相同体（すなわち、ヒト以外の種に由来するPROXタンパク質をコードする

核酸)またはその他の関連配列(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。

【0123】

本明細書で用いられる語句「ストリンジェント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、その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_m)より約5%低いように選択される。この T_m 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_m 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ナトリウムイオンより少なく、代表的には約0.01~1.0Mナトリウムイオン(またはその他の塩)、そして温度が短いプローブ、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。

【0124】

ストリンジェントな条件は、当業者に公知であり、そして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

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、 $6 \times \text{SSC}$ 、 $50 \text{ mM Tris-HCl (pH 7.5)}$ 、 1 mM EDTA 、 $0.02\% \text{ PVP}$ 、 $0.02\% \text{ Ficoll}$ 、 $0.02\% \text{ BSA}$ 、および 500 mg/ml 変性サケ精子DNA、次いで50 における $0.2 \times \text{SSC}$ 、 $0.01\% \text{ BSA}$ 中の1回以上の洗浄である。配列番号 $2n-1$ (ここで、 $n=1\sim 17$)のいずれかの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。

【0125】

第2の実施形態では、配列番号 $2n-1$ (ここで、 $n=1\sim 17$)のいずれかのヌクレオチド配列、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、 $6 \times \text{SSC}$ 、 $5 \times \text{Denhardt's}$ 溶液、 $0.5\% \text{ SDS}$ および 100 mg/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 $1 \times \text{SSC}$ 、 $0.1\% \text{ SDS}$ 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その他の条件は、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。

【0126】

第3の実施形態では、低ストリンジェンシーの条件下で、配列番号 $2n-1$ (ここで、 $n=1\sim 17$)のいずれかのヌクレオチド配列、またはそのフラグメント、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、 $35\% \text{ホルムアミド}$ 、 $5 \times \text{SSC}$ 、 $50 \text{ mM Tris-HCl (pH 7.5)}$

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(例えば、クロススピーシーズハイブリダイゼーション)低ストリンジェンシーのそ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; ShiloおよびWeinberg、1981、Proc Natl Acad Sci USA 78 : 6789 - 6792を参照のこと。

【0127】

(保存的変異)

集団中に存在し得るPROX配列の天然に存在する対立遺伝子改変体に加えて、当業者は、変化が、配列番号 $2n-1$ (ここで、 $n=1\sim 17$)のいずれかの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PROX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PROXタンパク質のアミノ酸中の変化に至ることをさらに認識する。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 $2n-1$ (ここで、 $n=1\sim 17$)のいずれかの配列中に作成され得る。「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、PROXの野生型配列から改変され得る残基であり、ここで「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PROX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。

【0128】

PROXタンパク質のファミリーメンバー間で保存されているアミノ酸残基は、変更に対して特に扱いにくいことが予測される。例えば、本発明に記載のPR

OXタンパク質は、PROXファミリーメンバーにおいて代表的に保存されている少なくとも1つのドメインを含み得る。このようなものとして、これらの保存性ドメインは、変異に対しておそらく扱いにくい。しかし、他のアミノ酸残基（例えば、PROXファミリーのメンバー間で保存性でないか、または半保存性でしかない残基）は、活性に必須でないかもしれないし、従って、変更に対しておそらく扱いにくい。

【0129】

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PROXタンパク質をコードする核酸分子に関する。このようなPROXタンパク質は、アミノ酸配列において、配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）のいずれかとは異なり、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、配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）のいずれかのアミノ酸配列に少なくとも約75%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、配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）のいずれかに少なくとも約80%相同であり、より好ましくは少なくとも約90%、95%、98%相同であり、そして最も好ましくは配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）に少なくとも約99%相同である。

【0130】

配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）のいずれかのタンパク質に相同であるPROX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、対応するヌクレオチド配列（すなわち、対応する n について、配列番号 $2n-1$ ）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成され得る。

【0131】

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 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）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

いて作成される。「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、PROX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、PROX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PROX生物学的活性についてスクリーニングされ、活性を保持する変異体を同定し得る。配列番号 $2n - 1$ （ここで、 $n = 1 \sim 17$ ）の変異誘発の後、コードされたタンパク質は、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。

【0132】

1つの実施形態では、変異体PROXタンパク質は、(i)他のPROX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、(ii)変異体PROXタンパク質とPROXリガンドとの間の複合体形成；(iii)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PROXタンパク質の能力；（例えばアビジンタンパク質）；(iv)BRAタンパク質を結合する能力；または(v)抗PROXタンパク質抗体を特異的に結合する能力についてアッセイされ得る。

【0133】

(アンチセンス核酸)

本発明の別の局面は、配列番号 $2n - 1$ (ここで、 $n = 1 \sim 17$) の核酸分子、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 分子のコード鎖に相補的であるか、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、PROX コード鎖全体の少なくとも約 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。配列番号 $2n - 1$ (ここで、 $n = 1 \sim 17$) のいずれかの PROX 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、または配列番号 $2n - 1$ (ここで、 $n = 1 \sim 17$) の PROX 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。

【0134】

1つの実施形態では、アンチセンス核酸分子は、PROX 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、配列番号 $2n - 1$ (ここで、 $n = 1 \sim 17$) のいずれかに対応するヒト PROX のタンパク質コード領域)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、PROX 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)。

【0135】

本明細書に開示される PROX をコードするコード鎖配列(例えば、配列番号 $2n - 1$ (ここで、 $n = 1 \sim 17$))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、PROX 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、PROX mRNA のコード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、PROXmRNA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または酵素的連結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。

【0136】

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は：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、5 - カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、 β - D - ガラクトシルケオシン、イノシン、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、 β - D - マンノシルケオシン、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)、ヴィブトキソシン(wybutoxosin)、プソイドウラシル、ケオシン(queosine)、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、(a

c p 3) w、 および 2 , 6 - ジアミノプリンを含む。あるいは、このアンチセンス核酸は、核酸がアンチセンス方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）。

【0137】

代表的には、本発明のアンチセンス核酸分子は、それらがPROX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（*in situ*）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。

【0138】

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）Nucl Acid Res 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(Inoueら(1987)Nucl Acids Res 15:6131-6148)、またはキメラRNA-DNAアナログ(Inoueら、(1987)FEBS Lett 215:327-330)を含み得る。

【0139】

(リボザイムおよびPNA部分)

このような改変は、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。

【0140】

なお別の実施形態において、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、リボヌクレアーゼ活性を有する触媒性RNA分子であり、一本鎖核酸(例えば、mRNA)(リボザイムは、これらに対して相補的な領域を有する)を切断し得る。従って、リボザイム(例えば、ハンマーヘッドリボザイム(HaselhoffおよびGerlach(1988)Nature 334:585-591に記載される))を使用して、PROX mRNA転写物を触媒的に切断し得、それによって、PROX mRNAの翻訳を阻害する。PROXコード核酸に対する特異性を有するリボザイムは、本明細書中に開示される、PROX DNAのヌクレオチド配列(すなわち、配列番号2n-1(ここで、n=1~17))に基づいて設計され得る。例えば、活性部位のヌクレオチド配列がPROXコードmRNAにおいて切断されるヌクレオチド配列に相補的である、テトラヒメナL-19 IVS RNAの誘導体が構築され得る。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、PROX mRNAを使用して、RNA分子のプールからの特定のリボヌクレアーゼ活性を有する触媒性RNAを選択し得る(Bartelら、(1993)Science 261:1411-1418)。

【0141】

あるいは、PROX遺伝子発現は、PROX核酸（例えば、PROXプロモーターおよび/またはエンハンサー）の調節領域に相補的なヌクレオチド配列を標的化することによって阻害され、標的細胞中のPROX遺伝子の転写を妨げる三重らせん構造を形成し得る。例えば、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。

【0142】

種々の実施形態において、PROX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、その分子の安定性、ハイブリダイゼーションまたは可溶性を改善し得る。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)。本明細書中で使用される場合、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偽ペプチド骨格によって置換され、そして4つの天然の核塩基 (nucleobase) 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、低いイオン強度の条件下でDNAおよびRNAに対する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、上記のHyrupら (1996); Perry-O'Keefeら (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:14670~146675において記載されるような標準的固相ペプチド合成プロトコルを用いて行われ得る。

【0143】

PROXのPNAは、治療的適用および診断的適用において使用され得る。例えば、PNAは、例えば転写もしくは翻訳の停止を誘導することまたは複製を阻害することによる、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抗遺伝子剤として使用され得る。PROXのPNAはまた、例えばPNA指向性PCRクランピングによる遺伝子における一塩基対変異の分析において; 他の酵素

(例えば、S1ヌクレアーゼ)と組み合わせて使用される場合の人工制限酵素として(Hyrup(1996)上記を参照のこと);またはDNA配列およびハイブリダイゼーションのプローブもしくはプライマーとして(Hyrupら(1996);Perry-O'Keefe(1996)、上記を参照のこと)、使用され得る。

【0144】

別の実施形態において、PROXのPNAは、例えば、それらの安定性または細胞性取り込みを増強するために、PNAに親油性基または他のヘルパー基を結合することによって、PNA-DNAキメラの形成によって、またはリボソームもしくは当該分野において公知の薬物送達の他の技術の使用によって改変され得る。例えば、PNAおよびDNAの有利な特性を組合せ得る、PROXのPNA-DNAキメラが生成され得る。PNA部分が高い結合親和性および特異性を提供する一方で、そのようなキメラは、DNA認識酵素(例えば、RNase HおよびDNAポリメラーゼ)がDNA部分と相互作用するのを可能にする。PNA-DNAキメラは、塩基のスタッキング、核塩基間の結合数および方向を考慮して選択される適切な長さのリンカーを使用して連結され得る(Hyrup(1996)上記を参照のこと)。PNA-DNAキメラの合成は、Finnら(1996 Nucl. Acids Res. 24:3357~3363)において記載されるように行われ得る。例えば、DNA鎖は、標準的なホス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され得、そして改変された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)が、PNAとDNAの5'末端との間に使用され得る(Magら(1989) Nucl. Acid Res. 17:5973~5988)。次いで、PNAモノマーが段階様式でカップリングされ、5' PNAセグメントおよび3' DNAセグメントを有するキメラ分子を生成する(Finnら(1996)上記を参照のこと)。あるいは、5' DNAセグメントおよび3' PNAセグメントを用いて、キメラ分子が合成され得る。例えば、Petersenら(1975) Bioorg. Med. Chem. Lett. 5:1119~11124を参照のこと。

【0145】

他の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、以下のような他の付属の基を含み得る：ペプチド（例えば、インビボで宿主細胞レセプターを標的化するため）、または細胞膜を横切る輸送を容易にする因子（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公開番号WO88/09810を参照のこと）、または血液脳関門（例えば、PCT公開番号WO89/10134を参照のこと）。さらに、オリゴヌクレオチドは、ハイブリダイゼーション誘発切断剤（例えば、Krolら、1988、BioTechniques 6:958~976を参照のこと）、またはインターカレーター剤（例えば、Zon, 1988、Pharm. Res. 5:539~549を参照のこと）で改変され得る。この目的のために、オリゴヌクレオチドは、別の分子（例えば、ペプチド、ハイブリダイゼーション誘発架橋剤、輸送剤、ハイブリダイゼーション誘発切断剤など）に結合され得る。

【0146】

（PROXポリペプチドの特徴付け）

本発明のPROXポリペプチドは、その配列が配列番号 $2n$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）であって、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および/または34を含む配列番号のいずれかに提供されるPROXポリペプチドのアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む。本発明はまた、なおそのPROX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するが、その任意の残基が配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および/または34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。

【0147】

一般に、PROX様機能を保持するPROX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る改変体を含み、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、挿入または欠失が、本発明に包含される。好適な状況では、この置換は、上記で定義されるような保存的置換である。

【0148】

本発明の1つの局面は、単離されたPROX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、アナログもしくはホモログに関する。抗PROX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、ネイティブなPROX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、PROX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、PROX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。

【0149】

「単離された」または「精製された」ポリペプチドまたはタンパク質またはその生物学的に活性な部分は、PROXタンパク質の由来する細胞または組織供給源由来の細胞性物質または他の夾雑タンパク質を実質的に含まないか、あるいは化学合成される場合に化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まない。用語「細胞性物質を実質的に含まない」は、PROXタンパク質が単離または組換え産生される細胞の細胞性成分から、PROXタンパク質が分離されている、PROXタンパク質の調製物を含む。1つの実施形態において、用語「細胞性物質を実質的に含まない」は、非PROXタンパク質（本明細書中において「夾雑タンパク質」とも呼ばれる）を約30%未満（乾燥重量にて）、より好ましくは非PROXタンパク質を約20%未満、なおより好ましくは非PROXタンパク質を約10%未満、そして最も好ましくは非PROXタンパク質を約5%未満有する、PROXタンパク質の調製物を含む。PROXタンパク質またはその生物学的に活性な部分が組換え産生される場合、好ましくは、調製物はまた培養培地を実質的に含まない。すなわち、培養培地は、PROXタンパク質調製物の容量の約

20%未満、より好ましくは約10%未満、そして最も好ましくは約5%未満を示す。

【0150】

本明細書中で使用する場合に、用語「化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まない」は、タンパク質が、そのタンパク質の合成に關与する化学前駆体または他の化学物質から分離されているPROXタンパク質の調製物を含む。1つの実施形態において、用語「化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まない」は、化学前駆体または非PROXの化学物質を約30%未満（乾燥重量にて）、より好ましくは化学前駆体または非PROX化学物質を約20%未満、なおより好ましくは化学前駆体または非PROX化学物質を約10%未満、そして最も好ましくは化学前駆体または非PROX化学物質を約5%未満有する、PROXタンパク質の調製物を含む。

【0151】

PROXタンパク質の生物学的に活性な部分は、全長PROXタンパク質より少ないアミノ酸を含み、そしてPROXタンパク質の少なくとも1つの活性を示す、PROXタンパク質のアミノ酸配列に十分に相同なアミノ酸配列、またはPROXタンパク質のアミノ酸配列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、PROXタンパク質の少なくとも1つの活性を有するドメインまたはモチーフを含む。PROXタンパク質の生物学的に活性な部分は、例えば、長さが10、25、50、100またはそれより多いアミノ酸であるポリペプチドであり得る。

【0152】

本発明のPROXタンパク質の生物学的に活性な部分は、上記の同定された保存されるドメインの少なくとも1つを含み得る。さらに、タンパク質の他の領域が欠失している他の生物学的に活性な部分は、組換え技術によって調製され得、そしてネイティブなPROXタンパク質の機能的活性のうちの1つ以上について評価され得る。

【0153】

1つの実施形態において、PROXタンパク質は、配列番号2n（ここで、n

= 1 ~ 17) のいずれかに示されるアミノ酸配列を有する。他の実施形態において、PROXタンパク質は、配列番号2n(ここで、n = 1 ~ 17)に実質的に相同であり、そして以下に詳細に議論されるように、天然の対立遺伝子改変または変異誘発に起因してアミノ酸配列が異なるが、配列番号2n(ここで、n = 1 ~ 17)のタンパク質の機能的活性を保持する。従って、別の実施形態において、PROXタンパク質は、配列番号2n(ここで、n = 1 ~ 17)のアミノ酸配列に少なくとも約45%、そしてより好ましくは、約55%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%または99%さえ相同なアミノ酸配列を含み、そして、配列番号2n(ここで、n = 1 ~ 17)を有する対応するポリペプチドのPROXタンパク質の機能的活性を保持するタンパク質である。

【0154】

(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百分率を決定するために、配列は、至適な比較の目的のために整列される(例えば、第2のアミノ酸または核酸の配列との最適な整列のために、ギャップが、第1のアミノ酸または核酸配列の配列に導入され得る)。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のアミノ酸残基またはヌクレオチドが比較される。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場合、分子はその位置で相同である(すなわち、本明細書中で使用される場合、アミノ酸または核酸の「相同性」は、アミノ酸または核酸の「同一性」と等価である)。

【0155】

核酸配列の相同性は、2つの配列間の同一性の程度として決定され得る。相同性は、当該分野において公知のコンピュータープログラム(例えば、GCGプログラムパッケージにおいて提供されるGAPソフトウェア)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。核酸配列比較のための以下の設定(GAP作製ペナルティー、5.0、およびGAP伸長ペナルティー、0.3)を用い

てGCG GAPソフトウェアを使用すると、上記で言及される類似の核酸配列のコード領域は、配列番号 $2n - 1$ （ここで、 $n = 1 \sim 17$ ）、例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、および/または37に示されるDNA配列のCDS（コード）部分と、好ましくは少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%または少なくとも99%の同一性の程度を示す。

【0156】

用語「配列同一性」は、2つのポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列が、特定の比較領域にわたって、残基毎を基準として同一である程度をいう。用語「配列同一性のパーセンテージ」は、以下により算出される：この比較領域にわたって最適に整列された2つの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、核酸の場合には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導くこと、この一致した位置の数を、比較領域の内の位置の総数（すなわち、ウインドウサイズ）で除算すること、およびその結果を100で乗算して、配列同一性のパーセンテージを導くこと。用語「実質的な同一性」は、本明細書中で使用される場合、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、比較領域にわたり参照配列と比較して、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、そして頻繁には90~95%の配列同一性、より通常には少なくとも99%の配列同一性を有する配列を含む。

【0157】

（キメラタンパク質および融合タンパク質）

本発明はまた、PROXキメラタンパク質または融合タンパク質を提供する。本明細書中で使用される場合、PROX「キメラタンパク質」またはPROX「融合タンパク質」は、非PROXポリペプチドに作動可能に連結された、PROXポリペプチドを含む。「PROXポリペプチド」は、配列番号 $2n$ （ここで、 $n = 1 \sim 17$ ）[例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、および/または34]に示す

PROX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が、「非PROXポリペプチド」は、PROXタンパク質に対して実質的に相同ではないタンパク質（例えば、PROXタンパク質とは異なり、かつ同一でかまたは異なる生物体に由来するタンパク質）に対応するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいう。PROX融合タンパク質において、このPROXポリペプチドは、PROXタンパク質のすべてまたは一部分に対応し得る。1つの実施形態では、PROX融合タンパク質は、PROX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、PROX融合タンパク質は、PROX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、PROX融合タンパク質は、PROX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た」は、PROXポリペプチドおよび非PROXポリペプチドが、インフレームで互いに融合されていることを示すことが意図される。非PROXポリペプチドは、PROXポリペプチドのアミノ末端またはカルボキシル末端に融合され得る。

【0158】

1つの実施形態においては、この融合タンパク質は、GST-PROX融合タンパク質であり、ここではPROX配列が、GST（グルタチオンS-トランスフェラーゼ）配列のカルボキシル末端に融合される。このような融合タンパク質は、組換えPROXポリペプチドの精製を容易にし得る。

【0159】

別の実施形態では、この融合タンパク質は、そのアミノ末端に異種シグナル配列を含むPROXタンパク質である。特定の宿主細胞（例えば、哺乳動物宿主細胞）では、PROXの発現および/または分泌を、異種シグナル配列の使用を通して増加させ得る。

【0160】

なお別の実施形態においては、この融合タンパク質は、PROX-免疫グロブリン融合タンパク質であり、ここで、PROX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PROX-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PROXリガントとPROX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PROX媒介信号伝達を抑制し得る。このPROX-免疫グロブリン融合タンパク質を用い、PROX同族リガントの生体利用性に影響を与え得る。PROXリガント/PROX相互作用の阻害は、増殖障害および分化障害の処置、ならびに細胞生存を調節（例えば、促進または阻害）することの両方に、治療的に有用であり得る。さらに、本発明のこのPROX-免疫グロブリン融合タンパク質は、被験体中で抗PROX抗体を産生するための免疫原として、PROXリガントを精製するため、およびPROXリガントとのPROX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。

【0161】

本発明のPROXキメラまたは融合タンパク質は、標準的な組換えDNA技法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、従来の技法に従って、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、インフレーションで一緒に連結する。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法により合成し得る。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オーバハング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、Ausubelら（編）CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、1992を参照のこと）。さらに、融合成分（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。PROXをコードする核酸は、この融合部分がPROX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。

【0162】

（PROXアゴニストおよびアンタゴニスト）

本発明はまた、PROXアゴニスト（模倣物）として、またはPROXアンタゴニストとしてのいずれかで機能するPROXタンパク質の改変体に関する。PROXタンパク質の改変体が、変異誘発（例えば、PROXタンパク質の離散した点変異または短縮）により生成され得る。PROXタンパク質のアゴニストは、天然に存在する形態のPROX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。PROXタンパク質のアンタゴニストは、天然に存在する形態のPROXタンパク質の1つ以上の活性を、例えば、PROX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、PROX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。

【0163】

PROXアゴニスト（模倣物）として、またはPROXアンタゴニストのいずれかとして機能するPROXタンパク質の改変体は、PROXタンパク質アゴニストまたはアンタゴニスト活性について、PROX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、PROX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。PROX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PROX配列の縮重セットが、個々のポリペプチドとして、PROX配列のセットを含む（例えば、フェ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に、遺伝子配列に酵素的に連結することにより産生され得る。縮重オリゴヌクレオチド配列から潜在的なPROX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得る。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PR

O X配列の所望のセットをコードする配列のすべての供給を可能にする。縮重オリゴヌクレオチドを合成する方法は当該分野で周知である。例えば、Naran g (1983) Tetrahedron 39:3; Itakuraら (1984) Annu. Rev. Biochem. 53:323; Itakuraら (1984) Science 198:1056; Ikeら (1983) Nucl. Acids Res. 11:477を参照のこと。

【0164】

(ポリペプチドライブラリー)

さらに、PROX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、PROX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PROX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、PROX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、ヌクレアーゼで処理すること、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し得る。この方法により、PROXタンパク質の種々のサイズのアミノ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得られ得る。

【0165】

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法が当該分野で公知である。このような技法を、PROX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法は、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法であるリクルーシブエンセブル変異誘発 (REM) を、スクリーニングアッセイと組み合わせて用い、PROX 改変体を同定し得る (Arkin および Yourvan (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 7811 - 7815; Delgrave ら (1993) Protein Engineering 6: 327 - 331)。

【0166】

(抗PROX抗体)

本発明は、本発明のPROXポリペプチドのいずれかに免疫特異的に結合する抗体および抗体フラグメント (例えば、 F_{ab} または $(F_{ab})_2$) を含む。

【0167】

単離されたPROXタンパク質、その部分またはフラグメントを、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に標準技術を使用してPROXポリペプチドに結合する抗体を産生するための免疫原として使用され得る。全長PROXタンパク質が使用され得るか、あるいは本発明は、免疫原として使用するためのPROXタンパク質の抗原の抗原性ペプチドフラグメントを提供する。抗原性PROXペプチドは、SEQ ID NO: 2n (ここで、 $n = 1 \sim 17$) に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PROXのエピトープを含み、その結果このペプチドに対して惹起された抗体は、PROと特定の免疫複合体を形成する。好ましくは、抗原性ペプチドは、少なくとも6、8、10、15、20または30アミノ酸残基を含む。より長い抗原性ペプチドは、使用に依存してそして当業者に周知の方法に従って、時々、より短い抗原性ペプチドよりも好ましい。

【0168】

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PROXの領域 (例えば、親水性領域) である。抗体産生を標的化する手段として、親水性および疎水性の領

域を示すヒドロパシープロットを、例えば、フーリエ変換と共にまたは無しで、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作製し得る（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（それぞれ、それらの全体が本明細書に参考として援用される）を参照のこと）。

【0169】

本明細書中に開示されるように、SEQ ID NO: 2n（ここで、n = 1 ~ 17）のPROXタンパク質配列、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は、これらのタンパク質化合物に免疫特異的に結合する抗体の産生における免疫原として使用され得る。本願明細書において用いられる場合、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、抗原に特異的に結合する（これと免疫反応する）抗原結合部位を含む分子）（例えばPRO）をいう。このような抗体としては、ポリクローナル、モノクローナル、キメラ、単鎖、F_{ab}およびF_{(ab')₂}フラグメント、ならびにF_{ab}発現ライブラリーが挙げられるがこれらに限定されない。特定の実施形態において、ヒトPROX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、SEQ ID NO: 2n（ここで、n = 1 ~ 17）のPROXタンパク質配列、あるいはそれらの誘導体、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生産のために用いられ得る。これらのタンパク質のうちいくつかは、上記で議論されている。

【0170】

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、マウスまたは他の動物）は、ネイティブなタンパク質、その合成改変体、または前記の誘導体を用いる注射によって免疫され得る。適切な免疫原性調製物は、例えば、組換え的に発現されたPROXタンパク質または化学的に合成されたPROXポリペプチドを含み得る。この調製物はさらに、アジュバントを含

み得る。種々のアジュバントが免疫学的応答を増加させるために使用され、このようなアジュバントとしては、Freund's (完全および不完全)、ミネラルゲル(例えば、水酸化アルミニウム)、界面活性物質(例えば、リゾレシチン、プルロニック(pluronic)ポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油乳濁液、ジニトロフェノールなど)、ヒトアジュバント(例えば、Bacille Calmette-GuérinおよびCorynebacterium parvum)または類似の免疫刺激剤が挙げられるが、これらに限定されない。所望の場合、PROXに対する抗体分子が、哺乳動物から(例えば、血液から)単離され得、そしてさらに、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って精製され、IgG画分を入手し得る。

【0171】

本明細書において用いられる場合、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」とは、PROの特定のエピトープと免疫反応し得る抗原結合部位の1つの種のみを含む抗体分子の集団をいう。従って、モノクローナル抗体組成物は、代表的には、特に、それが免疫反応する特定のPROXタンパク質に対して、単一の結合親和性を示す。特にPROX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するモノクローナル抗体の調製のために、連続的細胞株培養により抗体分子の生成を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以下が挙げられるがこれらに限定されない：ハイブリドーマ技術(例えば、Kohlerおよび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(例えば、Kozborら、1983 Immunol Today 4:72を参照のこと)およびヒトモノクローナル抗体を生産するEBVハイブリドーマ技術(例えば、Coleら、1985 MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY、Alan R. Liss, Inc., 77~96頁を参照のこと)。ヒトモノクローナル抗体は、本発明の実行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(例えば、Coteら、1983 Proc Natl Acad Sci USA 80:2026~2030を参照のこと)、またはエ

プスタインバーウイルスを用いるインビトロでのヒトB細胞の形質転換（例えば、Coleら、1985: MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY、Alan R. Liss, Inc., 77~96頁を参照のこと）によって生成され得る。上記の各々は、本明細書中でその全体が参考として援用される。

【0172】

本発明に従って、PROXタンパク質に特異的な単鎖抗体の生成のために、技術は適応され得る（例えば、米国特許第4,946,778号を参照のこと）。さらに、方法は、 F_{ab} 発現ライブラリーの構築に適応され得（例えば、Huseら、1989 Science 246:1275~1281を参照のこと）、PROX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所望の特性を有するモノクローナル F_{ab} フラグメントの迅速かつ効果的な同定を可能にし得る。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。PROX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は、以下を含むがこれに限定されない当該分野で公知の技術により生成され得る：(i) 抗体分子のペプシン消化によって生産される $F_{(ab')_2}$ 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って生じる F_{ab} フラグメント；(iii) パパインおよび還元剤での抗体分子の処理によって生じる F_{ab} フラグメント、ならびに(iv) F_v フラグメント。

【0173】

さらに、ヒトおよび非ヒト部分の両方を含むキメラモノクローナル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PROX抗体（これらは、標準組換えDNA技術を用いて作製され得る）は、本発明の範囲内である。このようなキメラモノクローナル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：PCT国際出願番号PCT/US86/02269；欧州特許出願番号184,187号；欧州特許出願番号171,496；欧州特許出願番号173,494；PCT国際公開番号WO 86/01533；米国特許第4,81

6, 567号; 米国特許第5, 225, 539号; 欧州特許出願番号125, 023号; Betterら(1988) Science 240:1041~1043; Liuら(1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:3439~3443; Liuら(1987) J Immunol. 139:3521~3526; Sunら(1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:214~218; Nishimuraら(1987) Cancer Res 47:999~1005; Woodら(1985) Nature 314:446~449; Shawら(1988) J Natl Cancer Inst 80:1553~1559; Morrison(1985) Science 229:1202~1207; Oiら(1986) Bio Techniques 4:214; 米国特許第5, 225, 539号; Jonesら(1986) Nature 321:552~525; Verhoeyanら(1988) Science 239:1534; ならびにBeidlerら(1988) J Immunol 141:4053~4060。上記の各々は、本明細書中でその全体が参考として援用される。

【0174】

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る技術を含むが、これに限定されない。特定の実施形態において、PROX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PROX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。このように、PROX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がそれについてまたの内部の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。

【0175】

抗PROX抗体は、PROXタンパク質の局在化および/または定量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PROXタンパク質のレベルを測定の際の使用のために、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、PROX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。

【0176】

抗PROX抗体（例えば、モノクローナル抗体）は、標準技術（例えば、親和性クロマトグラフィまたは免疫沈降）によって、PROXを単離するために用いられ得る。抗PROX抗体は、細胞からの天然のPROX、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PROXの精製を容易にし得る。さらに、抗PROX抗体が、（例えば、細胞の溶菌液または細胞上清における）PROXタンパク質を検出するために用いられ、PROXタンパク質の発現の量およびパターンを評価し得る。抗PROX抗体は、例えば、所定の処置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、発光物質、生物発光物質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、 β -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ربت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；発光物質の例としては、ルミノールが挙げられる；生物発光物質の例としては、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}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S または ^3H が挙げられる。

【0177】

（PROX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、PROX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する場合、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。他の型のベクターは、ウイルスベクターであり、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、およびエピソームの哺乳動物ベクター）。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」と呼ばれる。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、互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ベクター（例えば、複製欠損レトロウイルス、アデノウイルス、およびアデノ随伴ウイルス）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する。

【0178】

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ている、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、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（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には、宿主細胞において）。

【0179】

本明細書中で使用される場合、句「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、CA (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、宿主細胞に導入され得、それにより、本明細書に記載されるような核酸によりコードされる融合タンパク質または融合ペプチドを含むタンパク質またはペプチドを生成し得る。

【0180】

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、PROXの発現のために設計され得る。例えば、PROXは、細菌細胞（例えば、*Escherichia 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) においてさらに考察されている。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。

【0181】

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*Escherichia 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つの目的を果たす：(i)組換えタンパク質の発現を増加させること；(ii)組換えタンパク質の溶解度を増加させること；および(iii)親和性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、そして融合タンパク質の精製の後に、組換えタンパク質が組換えタンパク質の融合部分から分離されることを可能にする。このような酵素、およびその同族の認識配列は、第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E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 and 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。

【0182】

適切な誘導性非融合*Escherichia 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。

【0183】

*Escherichia 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させることである。例えば、Gottesman, GENE EXPRESSION TECHNOLOGY:METHODS IN ENZYMOLOGY 185, Academic

Press, San Diego, Calif. (1990) 119-128を参照のこと。別のストラテジーは、各アミノ酸についての個々のコドンが、*Escherichia 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に挿入される核酸の核酸配列を変更することである(例えば、Wadaら(1992) *Nucleic Acids Res.* 20:2111-2118を参照のこと)。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。

【0184】

別の実施形態において、PROX発現ベクターは、酵母発現ベクターである。酵母 *Saccharomyces 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。

【0185】

あるいは、PROX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には、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。

【0186】

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には、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、ポリオーマ、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。

【0187】

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を参照のこと）、リンパ特異的プロモーター（CalameおよびEaton, 1988. *Adv. Immunol.* 43: 235 - 275を参照のこと）、T細胞レセプターの特定のプロモーターにおいて（WinotoおよびBaltimore, 1989. *EMBO J.* 8: 729 - 733を参照のこと）および免疫グロブリンの特定のプロモーターにおいて（Banerjiら、1983. *Cell* 33: 729 - 740；QueenおよびBaltimore, 1983. *Cell* 33: 741 - 748を参照のこと）、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. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 5473 - 5477を参照のこと）、膵臓特異的プロモーター（Edlundら、1985. *Science* 230: 912 - 916を参照のこと）、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（*mouse hox*）プロモーター（KesselおよびGruss, 1990 . *Science* 249:374-379）および β -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を参照のこと）。

【0188】

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、PROX 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（例えば、ウイルスプロモーターおよび/もしくはエンハンサー）が選択され得るか、または例えば、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。

【0189】

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。

【0190】

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、PROXタンパク質は、細菌細胞（例えば、Escherichia 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。

【0191】

ベクターDNAは、従来的な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。

【0192】

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、PROX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）。

【0193】

本発明の宿主細胞（例えば、培養中の原核生物宿主細胞または真核生物宿主細胞）は、PROX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、PROX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、PROX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（すなわち、ここに、PROX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、本発明はさらに、培地または宿主細胞からPROXを単離する工程を包含する。

【0194】

（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、PROXタンパク質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PROX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PROX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、PROXタンパク質の機能および/または活性を研究するため、ならびにPROXタンパク質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。

【0195】

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PROX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。

【0196】

本発明のトランスジェニック動物は、PROX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。配列番号2n-1（ここでn=1~17である）のヒトのPROX cDNA配列は、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PROX遺伝子の非ヒトホモログ（例えば、マウスのPROX遺伝子）は、ヒトのPROX 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、PROXタンパク質の発現を指示するように、PROX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初代 (founder) 動物は、そのゲノムにおける PROX 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 PROX 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、PROX タンパク質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得る。

【0197】

相同組換え動物を作製するために、PROX 遺伝子の少なくとも一部を含むベクターを調製する。この遺伝子において、欠失、付加、または置換が導入されて、それによってその PROX 遺伝子が増加されている (例えば、機能的に破壊される)。PROX 遺伝子はヒト遺伝子 (例えば、配列番号 2n - 1 (ここで n = 1 ~ 17 である) の cDNA) であり得るが、より好ましくは、ヒトの PROX 遺伝子の非ヒトホモログである。例えば、配列番号 2n - 1 (ここで n = 1 ~ 17 である) のヒトの PROX 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 PROX 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 PROX 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; 「ロックアウト」ベクターともいわれる)。

【0198】

あるいは、このベクターは、相同組換えに対して、内因性 PROX 遺伝子が増加されるか、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、上流の調節領域が増加され、それによって内因性 PROX タンパク質の発現を増加し得る)。相同組換えベクターにおいて、PROX 遺伝子が増加された部分は、PROX 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 PROX 遺伝子と胚幹細胞中の内因性 PROX 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 PROX 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、導入されたPROX遺伝子が内因性PROX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）。

【0199】

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Teratocarcinomas 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。

【0200】

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。cre/loxPリコンビナーゼ系の記述については、例えば、Laksora、1992. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 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を参照のこと)。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した導入遺伝子を含み、他方はリコンビナーゼをコードした導入遺伝子を含む）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。

【0201】

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、増殖サイクルから出、そしてG₀フェイズに入り得る。次いで、静止性細胞が、例えば、電気パルスの使用により、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、これにより、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。

【0202】

（薬学的組成物）

本発明のPROX核酸分子、PROXタンパク質、および抗PROX抗体（これはまた、本明細書中で、「活性な化合物」とも呼ばれる）、ならびにそれらの誘導體、フラグメント、アナログ、および相同体が、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。適切なキャリアは、Remington's Pharmaceutical Sci

ences (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(すなわち、疎水性)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における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。補助活性化合物はまた、組成物へ組み込まれ得る。

【0203】

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(EDTA)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。

【0204】

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 (P B S) 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 (s y r i n g a b i l i t y) 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 (m a n i t o l)、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。

【0205】

滅菌注射可能溶液は、必要量のこの活性化化合物 (例えば、P R O X タンパク質あるいは抗 P R O X 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、真空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散剤を得る。

【0206】

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）。

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、エアゾル噴霧の形態で送達される。

【0207】

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、浸透されるバリアに適切な浸透剤が、処方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、鼻噴霧または坐剤によって達成され得る。経皮投与については、この活性成分は、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。

【0208】

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）または保持浣腸の形態で調製され得る。

【0209】

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。エチレン酢酸ビニル、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。リポソーム懸濁剤（ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体を含む、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。

【0210】

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効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制限によって決定されるか、あるいはこれらに直接依存する。

【0211】

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

み込まれる徐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。

【0212】

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、またはディスプレイに含まれ得る。

【0213】

（スクリーニング方法および検出方法）

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、および抗体が、以下の1つ以上の方法において使用され得る：（i）スクリーニングアッセイ；（ii）検出アッセイ（例えば、染色体マッピング、細胞および組織タイピング、法医学生物学）；（iii）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（iv）処置の方法（例えば、治療および予防）。

【0214】

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、PROX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による）を発現するため、PROX mRNA（例えば、生物学的サンプルにおいて）またはPROX遺伝子における遺伝子損傷を検出するため、ならびにPROX活性を調節するために使用され得る。さらに、PROXタンパク質は、PROX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PROX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PROX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PROXタンパク質の産生によって特徴付けられる障害を処置するために使用され得る。さらに、本発明の抗PROX抗体が、PROXタンパク質を検出して単離するため、およびPROX活性を調節するために使用され得る。

【0215】

本発明は、さらに、本明細書中で記載されるような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、および上述の処置のためのそれらの使用に関する

。

【0216】

(スクリーニングアッセイ)

本発明は、モジュレーター（すなわち、PROXタンパク質に結合するかあるいは例えば、PROXタンパク質発現またはPROXタンパク質活性に刺激効果または阻害効果を有する候補物または試験の化合物または薬剤（例えば、ペプチド、ペプチド模倣体、低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」とも呼ばれる）を提供する。本発明はまた、本明細書中に記載されるスクリーニングアッセイにおいて同定された化合物を包含する。

【0217】

1つの実施形態において、本発明は、PROXの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、またはそれら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任意の多数のアプローチを使用して得られ得、これらのライブラリーには、以下が挙げられる：生物学的ライブラリー；空間的にアドレ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低分子ライブラリーに適用可能である（Lam(1997) Anticancer Drug Design 12:145）。

【0218】

本明細書中で使用される場合、「低分子」とは、約5kD未満の分子量、最も好ましくは約4kD未満の分子量を有する組成物をいうように意味される。低分子は、例えば、核酸、ペプチド、ポリペプチド、ペプチド模倣体、炭水化物、脂質または他の有機分子もしくは無機分子であり得る。化学的および/または生物

学的混合物（例えば、真菌、細菌または藻類抽出物）のライブラリーは、当該分野で公知であり、そして本発明のアッセイのいずれかを用いてスクリーニングされ得る。

【0219】

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;Carrellら(1994)Angew Chem Int Ed Engl 33:2061;およびGallopら(1994)J Med Chem 37:1233。

【0220】

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 米国特許第5,233,409号)、プラスミド(Cullら(1992)Proc Natl Acad Sci USA 89:1865~1869)またはフェージ上(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、米国特許第5,233,409号)において示され得る。

【0221】

1つ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、ここで、

膜結合形態のPROXタンパク質、またはその生物学的に活性な部分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、PROX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PROX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、その結果、この試験化合物のPROX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決定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、¹²⁵I、³⁵S、¹⁴C、または³H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つの実施形態において、このアッセイは、膜結合形態のPROXタンパク質、またはその生物学的に活性な部分をその細胞表面上に発現する細胞を、PROX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に試験化合物を接触させる工程、ならびにこの試験化合物がPROX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PROX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、公知の化合物と比較して、PROXまたはその生物学的に活性な部分と優先的に結合する能力を決定する工程を包含する。

【0222】

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、これは、膜結合形態のPROXタンパク質またはその生物学的に活性な部分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、PROX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、PROX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、PROXタンパク質が、PROX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、PROX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、PROX相互作用タンパク質を発現する細胞表面上の分子、第二の細胞表面上の分子、細胞外環境中の分子、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。PROX標的分子は、非PROX分子あるいは本発明のPROXタンパク質またはポリペプチドであり得る。1つの実施形態において、PROX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PROX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PROXとの会合を容易にするタンパク質であり得る。

【0223】

PROXタンパク質がPROX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、直接的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つの実施形態において、PROXタンパク質がPROX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、その標的の細胞セカンドメッセンジャー（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、適切な基質への標的の触媒活性/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PROX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。

【0224】

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、PROX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PROX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、PROX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つのこのような実施形態において、このアッセイは、PROXタンパク質またはその生物学的に活性な部分を、PROXを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PROX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PROX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、PROX、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。

【0225】

さらに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、PROX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PROX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PROXの活性を調節する能力の決定は、例えば、PROXタンパク質が、PROX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PROXタンパク質の活性を調節する能力の決定は、PROXタンパク質が、PROX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、上記のように決定され得る。

【0226】

なお別の実施形態において、無細胞アッセイは、PROXタンパク質またはその生物学的に活性な部分を、PROXタンパク質を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PROX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PROXタンパク質と相互作用する能力の決定は、PROXタンパク質が、PROX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。

【0227】

本発明の無細胞アッセイは、PROXタンパク質の、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PROXタンパク質を含む無細胞アッセイの場合には、PROXタンパク質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）_n（Isotridecypoly(ethylene glycol ether)_n）、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。

【0228】

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、PROXタンパク質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、PROXタンパク質への結合、または候補化合物の存在下および非存在下での、PROXタンパク質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を付加する融合

タンパク質が、提供され得る。例えば、GST-PROX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PROX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PROXタンパク質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。

【0229】

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、PROXタンパク質、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PROXタンパク質、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で被覆した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、PROXタンパク質、または標的分子と反応性であるがPROX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、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PROXタンパク質が、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、PROXタンパク質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PROXタンパク質、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。

【0230】

別の実施形態において、PROXタンパク質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PROX 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PROX 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PROX 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、PROX mRNAまたはタンパク質発現のモジュレーターとして同定され得る。例えば、PROX 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(すなわち、統計的に有意に大きい)場合、この候補化合物は、PROX 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、PROX 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、PROX 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PROX mRNAまたはタンパク質の発現レベルは、PROX 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。

【0231】

本発明のなお別の局面において、PROXタンパク質を、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(餌)(bait)タンパク質」として使用して(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;Iwabuchiら、1993 Oncogene 8:1693-1696;およびBrent WO94/10300を参照のこと)、PROX(「PROX結合タンパク質」または「PROX-bp」)に結合するか、またはこれと相互作用し、そしてPROX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PROX結合タンパク質はまた、例えば、PROX経路の上流または下流エレメ

ントとしてPROXタンパク質によるシグナル伝達に關与するようである。

【0232】

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ールの性質に基づく。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、PROX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、DNA配列のライブラリー由来の、未同定タンパク質（「プレイ（捕食）」または「サンプル」）をコードするDNA配列が、その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、PROX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、非常に近接される。このように近接されることにより、その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を単離および使用して、そしてPRO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獲得し得る。

【0233】

本発明はさらに、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本明細書中に記載されるような処置のためのこの薬剤の使用に關する。

【0234】

（検出アッセイ）

本明細書中で同定されるcDNA配列の一部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（限定はされない）、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。

【0235】

(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、配列番号 $2n - 1$ （ここで、 $n = 1 \sim 17$ ）に示される PROX 配列の一部またはフラグメント、あるいはそのフラグメントはまたは誘導体を用いて、それぞれ、PROX 遺伝子の位置を染色体上にマッピングし得る。PROX 配列を染色体にマッピングすることは、これらの配列を疾患に関連する遺伝子と関連付ける際の重要な第一工程である。

【0236】

簡潔には、PROX 遺伝子は、PROX 配列から PCR プライマー（好ましくは、 $15 \sim 25$ bp 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。PRO のコンピューター分析が、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（従って、これは、増幅プロセスを複雑する）を迅速に選択するために使用され得る。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。PROX 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。

【0237】

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、ヒト細胞およびマウス細胞）を融合することにより調製される。ヒトおよびマウスの細胞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、それらが特定の酵素を欠いているので増殖できないが、ヒト細胞が増殖できる培地を使用することにより、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' E u s t a c h i

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。

【0238】

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。PROX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ことにより、二次位置決定(sublocalization)が、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。

【0239】

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。

【0240】

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、または試薬集団が、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

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。

【0241】

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が、遺伝子マップデータと相関され得る。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)において見い出される。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。

【0242】

さらに、PROX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原因因子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きるか、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)を最初に探索する工程を包含する。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。

【0243】

(組織型決定(tissue typing))

本発明のPROX配列は、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、そしてサザンブロット上でプローブされて、同定のために固有のバンドを生成する。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。

【0244】

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PROX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、引き続いて、これを配列決定し得る。

【0245】

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配列の固有のセットを有するので、固有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PROX配列は、ヒトゲノムの部分を固有に表す。対立遺伝子変異は、これらの配列のコード領域においてある程度生じ、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変異は、各500塩基につき約1回の頻度で生じると見積もられる。対立遺伝子変異の多さは、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。

【0246】

本明細書中で記載の配列の各々は、ある程度、標準(これに対して、個体由来の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。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(例えば、配列番号2n-1(ここで、n=1~17)における配列)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適切な数は、500~2,000である。

【0247】

(予測医療)

本発明はまた、診断アッセイ、予後アッセイ、薬物ゲノム学 (p h a r m a c o g e n o m i c s) 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、P R O X タンパク質および/または核酸の発現、ならびにP R O X の活性を、生物学的サンプル (例えば、血液、血清、細胞、組織) 状況下で決定し、これによって、個体が、異常なP R O X の発現または活性に関連する疾患または障害に罹患しているか否か、あるいはこの障害を発症するリスクがあるか否かを決定する。本発明はまた、個体が、P R O X 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否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、P R O X 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P R O X のタンパク質、核酸の発現または生物学的活性によって特徴付けられるかまたはそれに関連した障害の発症の前に個体を予防的に処置する。

【 0 2 4 8 】

本発明の別の局面は、個体におけるP R O X タンパク質、核酸の発現またはP R O X 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薬剤を選択する (本明細書において「薬物ゲノム学」とよばれる) 。薬物ゲノム学は、個体の遺伝型 (例えば、特定の薬剤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薬剤 (例えば、薬物) の選択を可能にする。

【 0 2 4 9 】

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

【 0 2 5 0 】

(法医学的生物学におけるP R O X 配列の使用)

D N A 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、組織（例えば、犯罪現場で見いだされた毛髪もしくは皮膚、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。

【0251】

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。このポリヌクレオチド試薬は、例えば、別の「識別マーカ―」（すなわち、特定の個体に固有の別の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。配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）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、PROX配列またはその部分（例えば、本明細書中に記載の配列番号 $2n-1$ （ここで、 $n=1\sim 17$ ）の17以上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30塩基の長さを有する。

【0252】

本明細書中に記載のPROX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なプローブ）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PROXプローブのパネルを使用して、種および/または起源の型によって、組織を同定し得る。

【0253】

類所の様式で、これらの試薬（例えば、PROX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)。

【0254】

(予測医療)

本発明はまた、診断アッセイ、予後アッセイ、薬物ゲノム学 (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、PROXタンパク質および/または核酸の発現、ならびにPROXの活性を、生物学的サンプル (例えば、血液、血清、細胞、組織) 状況下で決定し、これによって、個体が、異常なPROXの発現または活性に関連する疾患または障害に罹患しているか否か、あるいはこの障害を発症するリスクがあるか否かを決定する。本発明はまた、個体が、PROX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否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、PROX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PROXのタンパク質、核酸の発現または生物学的活性によって特徴付けられるかまたはそれに関連した障害の発症の前に個体を予防的に処置する。

【0255】

本発明の別の局面は、個体におけるPROXタンパク質、核酸の発現または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薬剤を選択する (本明細書において「薬物ゲノム学」とよばれる)。薬物ゲノム学は、個体の遺伝型 (例えば、特定の薬剤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薬剤 (例えば、薬物) の選択を可能にする。

【0256】

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

【0257】

これらおよび他の因子は、以下の節でさらに詳細に記載される。

(診断アッセイ)

生物学的サンプルにおけるPROX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PROXタンパク質またはPROX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を接触させ、その結果、PROX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。PROXのmRNAまたはゲノムDNAを検出するための薬剤は、PROXのmRNAまたはゲノム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PROX核酸(例えば、配列番号2n-1(ここで、n=1~17))またはその部分(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、そしてストリンジентな条件下でPROX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)であり得る。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中に記載される。

【0258】

PROXタンパク質を検出するための1つの薬剤は、PROXと結合し得る抗体、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、F_aまたはF(ab')₂)が使用され得る。本明細書中で使用される場合、用語「標識(された)」とは、プローブまたは抗体に関して、そのプローブもしくは抗体への検出可能な物質のカップリング(すなわち、物理的に連結する)による、そのプローブまたは抗体の直接標識、ならびに、直接標識される別の試薬との反応性による、そのプローブもしくは抗体の間接的標識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る一次抗体の検出、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なビオチンでのDNAプローブの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、生物学的サンプル中のPROXのmRNA、タンパク質またはゲノムDNAを、インビトロおよびインビボで検出し得る。例えば、PROX 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。PROXタンパク質の検出のためのインビトロ技術としては、酵素結合免疫吸着アッセイ(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。PROX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、PROX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PROX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。この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。

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。

【0259】

別の実施形態において、本発明の方法はさらに、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、PROXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムを検出し得る化合物または薬剤と接触させ、その結果、PROXのタンパク質、mRNAまたはゲノム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PROXのタンパク質、mRNAまたはゲノムDNAの存在と、その試験サンプルにおけるPROXのタンパク質、mRNAまたはゲノムDNAの存在とを比較する工程を包含する。

【0260】

本発明はまた、生物学的サンプルにおけるPROX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

においてPROXのタンパク質またはmRNAを検出し得る、標識された化合物または薬剤；そのサンプルにおいてPROXの量を決定するための手段；およびそのサンプルにおけるPROX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、適切な容器内にパッケージングされ得る。このキットは、さらに、PROX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説明書を備え得る。

【0261】

(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、PROX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性を有す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、PROXのタンパク質、核酸の発現または活性に関連する障害を有するかまたはその発症の危険性を有す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性を有する被験体を同定し得る。従って、本発明は、PROX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PROX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、PROXのタンパク質または核酸の存在は、PROX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性を有す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場合「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。

【0262】

さらに、本明細書に記載される予後アッセイを使用して、被験体に薬剤（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）を投与してPROX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、この

ような方法を使用して、被験体が障害のための薬剤で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、PROXの異常発現または異常活性に関連する障害についての薬剤を用いて、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PROXのタンパク質または核酸が検出される（例えば、ここで、PROXのタンパク質または核酸の存在は、この薬剤が投与されてPROXの異常発現または異常活性に関連する障害が処置され得る被験体についての、診断指標である）。

【0263】

本発明の方法はまた、PROX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性を有す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、PROX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少なくとも1つの変更によって特徴付けられる遺伝的損傷の存在または非存在、あるいはPROX遺伝子の誤発現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：(i) PROX遺伝子からの1つ以上のヌクレオチドの欠失；(ii) PROX遺伝子への1つ以上のヌクレオチドの付加；(iii) PROX遺伝子の1つ以上のヌクレオチドの置換、(iv) PROX遺伝子の染色体再配置；(v) PROX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、(vi) PROX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）、(vii) PROX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、(viii) PROXタンパク質の非野生型レベル、(ix) PROX遺伝子の対立遺伝子の欠失、ならびに(x) PROX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、PROX遺伝子における損傷を検出するために使用され得る、多数の公知のアッセイ技術が存在する。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。

【0264】

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号および同第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）Proc.Natl.Acad.Sci.USA 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、PROX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 Nucl 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、PROX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、PROX遺伝子（存在する場合）のハイブリダイゼーションおよび増幅が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サイズ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、本明細書中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ことが望ましくあり得ることが予想される。

【0265】

代替的な増幅方法としては、以下が挙げられる：当業者に周知な技術を用いた、その増幅された分子の検出の前の、自己維持配列複製（Guatelliら、1990、Proc.Natl.Acad.Sci.USA 87:1874-1878を参照のこと）、転写増幅系（Kwohら、1989、Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:1173-1177を参照のこと）、Qレプリカーゼ（Lizardiら、1988、BioTechnology 6:1197を参照のこと）、または他の任意の核酸増幅方法。これらの検出

スキームは、核酸分子が非常に極少数で存在する場合に、そのような核酸分子の検出のために特に有用である。

【0266】

代替の実施形態において、サンプル細胞からのPROX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異は、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。

【0267】

他の実施形態において、PROXにおける遺伝子変異は、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（例えば、Croninら（1996）Human Mutation 7:244-255; Kozalら（1996）Nat. Med. 2:753-759を参照のこと）。例えば、PROXにおける遺伝子変異は、Croninら（前出）に記載されるように光生成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、プローブの第一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にわたって走査し、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。この工程に第二のハイブリダイゼーションアレイが続き、これは、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ることによる特定の変異の特徴付けを可能にする。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。

【0268】

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、PROX遺伝子を直接配列決定し得、そしてサンプルPROX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、MaxamおよびGilbert(1977)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 74:560またはSanger(1977)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 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(例えば、Naevら(1995)Biotechniques 19:448を参照のこと)。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 Chromatography 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。

【0269】

PROX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のヘテロ二重鎖に基づくミスマッチ塩基を検出する方法が挙げられる(例えば、Myersら(1985)Science 230:1242を参照のこと)。一般に、「ミスマッチ切断」の当該分野の技術は、野生型のPROX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。そのミスマッチ領域の消化後、次いで、得られた物質を変性ポリアクリルアミドゲル上で、大きさにより分離して、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。

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PROX 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(例えば、Hsuら(1994) Carcinogenesis 15:1657~1662を参照のこと)。例示的な実施形態に従って、PROX配列(例えば、野生型PROX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。

【0270】

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、PROX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、一本鎖コンホメーション多型(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(例えば、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PROX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、DNAよりもむしろ、二次構造が配列中の変化に対してより感受的である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。例えば、Keenら(1991) Trends Genet 7:5を参照のこと。

【0271】

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。例えば、Myersら(1985) Nature 313:495を参照のこと。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保証するように改変される。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。例えば、RosenbaumおよびReissner(1987) Biophys Chem 265:12753を参照のこと。

【0272】

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。例えば、Saikiら(1986) Nature 324:163) ; Saikiら(1989) Proc Natl Acad Sci

USA 86:6230を参照のこと。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。

【0273】

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)(例えば、Gibbsら(1989)Nucleic Acids Res 17:2437~2448を参照のこと)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(例えば、Prossner(1993)Tibtech 11:238を参照のこと)。さらに、切断に基づく検出を行うために、変異領域に新規な制限部位を導入することは、望ましくあり得る。例えば、Gaspariniら(1992)Mol Cell Probes 6:1を参照のこと。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。例えば、Barany(1991)Proc Natl Acad Sci USA 88:189を参照のこと。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、特定の部位における既知の変異の存在を検出することを可能にする。

【0274】

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、PROX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。

【0275】

さらに、PROX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。

【0276】

（薬理ゲノム学（Pharmacogenomics））

PROX活性（例えば、PROX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PROX活性と関連した障害（例えば、癌）または免疫障害を処置（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、PROXタンパク質の活性、PROX核酸の発現、あるいは個体におけるPROX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。

【0277】

薬理ゲノム学は、罹患された人における変更された薬物の性質および異常な作用に起因して、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、1996、Clin Exp Pharmacol Physiol, 23:983~985およびLinder、1997、Clin Chem, 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。

【0278】

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の有病率は、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。

【0279】

従って、PROXのタンパク質の活性、PROXの核酸の発現、あるいは個体におけるPROX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PROX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。

【0280】

（臨床試験中の効果のモニタリング）

PROX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および臨床試験に適用され得る。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、PROXの遺伝子発現、タンパク質レベルを増加するため、またはPROX活性をアップレギュレートする薬剤の効力は、減少したPROX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PROXの活性を示す被験体の臨床試験においてモニターされ得る。あるいは、スクリーニングアッセイによって決定される、PROXの遺伝子発現、タンパク質レベルを減少、またはPROXの活性をダウンレギュレートする薬剤の効力は、増加したPROX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PROXの活性を示す被験体の臨床試験においてモニターされ得る。このような臨床試験において、PROXの発現または活性、および好ましくは、例えば、増殖または神経障害に關与するような他の遺伝子が、「リードアウト（読み出し）（read out）」、すなわち、特定の細胞の応答性のマーカーとして使用され得る。

【0281】

例示の目的で、限定する目的ではなく、例えば、PROを含む遺伝子（これは、PROX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PROXおよびこの障害に關与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PROX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。

【0282】

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、核酸、ペプチド模倣物、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、PROX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、PROX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PROX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PROX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PROXの発現または活性を増加することが(すなわち、この薬剤の効力を増加すること)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PROXの発現または活性を減少することが(すなわち、この薬剤の効力を減少すること)望ましくあり得る。

【0283】

(処置方法)

本発明は、異常なPROX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。これらの治療方法は、以下により詳細に記載される。

【0284】

(疾患および障害)

(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)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、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、(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))。

【0285】

(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。

【0286】

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）。

【0287】

（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PROXの発現または活性と関連する疾患または状態を、PROXの発現または少なくとも1つのPROX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PROX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PROX異常の特徴である症状の発現の前に行い得る。このPROX異常の型に依存して、例えば、PROXアゴニスト薬剤またはPROX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。

【0288】

(治療方法)

本発明の別の局面は、治療目的のためにPROXの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PROX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。PROX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、PROXタンパク質の天然に存在する同族リガンド、ペプチド、PROX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、PROX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PROXタンパク質、およびその細胞に導入されたPROX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、PROX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PROX核酸分子、および抗PROX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、PROX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、PROX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、PROX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、PROX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。

【0289】

PROX活性の刺激は、PROX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PROX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、癌または免疫関連）を有する場合である。このような状況の別の例は、被験体が免疫不全疾患（例えば、AIDS）を有する場合である。

【0290】

（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行って、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。

【0291】

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する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。

【0292】

（本発明の組成物の予防的および治療的使用）

本発明のPROX核酸およびタンパク質は、種々の潜在的な予防的および治療適用において有用であり得る。非限定的な例により、本発明のPROXタンパク質をコードするcDNAは遺伝子治療において有用であり得、そしてタンパク質は、その必要性に応じ、患者に投与される場合、有用であり得る。

【0293】

PROXタンパク質をコードする新規な核酸、本発明のPROXタンパク質、およびそのフラグメントは、診断適用において有用であり、ここで、核酸またはタンパク質の存在または量が、評価される。これらの物質は、さらに、治療または診断方法における使用のための本発明の新規な物質に免疫特異的に結合する抗体の生成において、有用である。

本発明はさらに、以下の実施例において記載され、この実施例は、特許請求の範

図において記載される本発明の範囲を限定しない。

【0294】

(実施例)

(実施例1. PRO1およびPRO3核酸の染色体位置をマッピングすること)

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、PRO1およびPRO3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、当該分野において公知の方法(例えば、Steenら, 1999, A High-Density Integrated Genetic Linkage and Radiation Hybrid Map of the Laboratory Rat, Genome Res. (1999年5月21日にオンラインで公開)9:AP1-AP8)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。表19は、本発明の2つのクローンのそれぞれ(すなわち、クローン20468752.0.18(PROX1)およびクローン11692010.0.51(PROX3))が見出される2つのマーカーおよびクローンからの距離を示す。

【0295】

【表19】

表19

クローン	染色体	マーカーからの距離(cR)	マーカーからの距離(cR)
20468752.0.18	11	WI-6150, 2.8 cR	WI-5256, 3.8cR
11692010.0.51	20	D20S172, 3.9 cR	NIB1603, 7.5 cR

(実施例2. クローン20468752.0.18-U, PRO2核酸の分子クローニング)

クローン20468752.0.18-Uに関して予測された全長720残基タンパク質および21残基の単一ペプチドを取り除いた成熟ポリペプチドの両方

をコードするcDNAをクローニングのために標的化した。

【0296】

(A. 成熟タンパク質)

以下のオリゴヌクレオチドプライマーを、成熟形態をコードするcDNAをクローニングするために使用した：

【0297】

【化1】

20468752 Eco Forward: GAA TTC TTG CCA AGA GAG TAC ACA GTC ATT AAT G
(SEQ ID NO:35)

20468752 Hind Forward: AAG CTTTGGCCAAGAGAGTACACAGTCATTAATG
(SEQ ID NO:36)

20468752 New Reverse: CTC GAG TTT CAT ATT TCT TTC AAT CCA GTC
(SEQ ID NO:37)

下流クローニングのために、正方向プライマーは、インフレーションEcoRIまたはHindIII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。

【0298】

PCR増幅反応を、5ngのヒト胎児脳cDNAを鋳型として用いて実施した。反応混合物は、各々、1μMの20468752Eco正方向または20468752Hind正方向プライマーおよび20468752New逆方向プライマー；5μモルのdNTP(Clontech Laboratories、Palo Alto CA)および1μl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PCR増幅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 4分間伸長

工程(b)~(d)を35回繰り返す

e) 72 5分間最終伸長。

【0299】

約2kbp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ゲルから単離し、製造者の推奨にしたがって、pCR2.1ベクター(Invitrogen; Carlsbad, CA)に連結した。クローニングした挿入物を、M13正方向プライマー、M13逆方向プライマーを使用して、以下の遺伝子特異的プライマーと組み合わせて、配列決定した：

【0300】

【化2】

20468752 Seq1:	TGT GGC CAG GTT CTG CGA	(SEQ ID NO:38)
20468752 Seq2:	CTT GAC AAG GCT GGA TCT	(SEQ ID NO:39)
20468752 Seq3:	CCT ACC AAG AAG CCA GCC	(SEQ ID NO:40)
20468752 Seq4:	TCG CAG AAC CTG GCC ACA	(SEQ ID NO:41)
20468752 Seq5:	AGA TCC AGC CTT GTC AAG	(SEQ ID NO:42)
20468752 Seq6:	GGC TGG CTT CTT GGT AGG	(SEQ ID NO:43)
20468752 S7:	CAG GCA GCC ATC TAC AGG AGG	(SEQ ID NO:44)
20468752 S8:	CCT CCT GTA GAT GGC TGC CTG	(SEQ ID NO:45)
20468752 S9:	CAG GAG TCC CAC ATC ACT	(SEQ ID NO:46)
20468752 S10:	AGT GAT GTG GGA CTC CTG	(SEQ ID NO:47)

挿入物が、残基22と残基720との間の20468752.0.18-Uタンパク質(PROX2)の予測した成熟細胞外ドメインをコードするオープンリーディングフレーム(ORF)を有することを確認した。翻訳されたアミノ酸配列は、クローン20468752.0.18-Uの成熟形態に予測された配列と100%同一である。この構築物は、pCR2.1-20468752-S414Aと呼ばれる。

【0301】

(B . 全長クローン 2 0 4 6 8 7 5 2 . 0 . 1 8 - U)

全長 c D N A をクローニングするために、 P C R プライマーを A T G 開始部位から固有の B a m H I 部位の c D N A の 5 ' 位置を増幅するように、設計した。

以下のプライマーを使用した：

【 0 3 0 2 】

【化3】

20468752 Nat Forw: GCTAGCCACCATGGAGCTGGGTTGCTGGACGCAGTTGG
(SEQ ID NO:48)

20468752 Nat Rev: AGGACGTGGAGTGAGGATCCTATGCTCTGGATAGG
(SEQ ID NO:49)

正方向プライマーは、 N h e I 制限部位をおよびコンセンサス K o z a k 配列 (C C A C C) を含む。逆方向プライマーは、 c D N A 配列の位置 7 5 9 に B a m H I 制限部位を含む領域にかかる。

【 0 3 0 3 】

P C R 増幅反応を、 5 n g のヒト胎児脳 c D N A を鋳型として用いて実施した。反応混合物は、各々、 1 μ M の 2 0 4 6 8 7 5 2 N a t F o r w プライマーおよび 2 0 4 6 8 7 5 2 N a t R e v プライマー； 5 μ モルの d N T P (C l o n t e c h L a b o r a t o r i e s , P a l o A l t o C A) および 1 μ l の 5 0 × A d v a n t a g e - H F 2 ポリメラーゼ (C l o n t e c h L a b o r a t o r i e s , P a l o A l t o C A) (5 0 マイクロリットル容量中) を含んだ。反応条件は、上記と同じであるが、工程 (d) の伸長時間が、 2 分である。

【 0 3 0 4 】

予測したサイズの増幅産物を、アガロースゲル電気泳動により検出した。次いで、 P C R 産物をアガロースゲルから単離し、 p C R 2 . 1 ベクターにクローニングした。この構築物の配列を、 A T G 開始部いから B a m H I - 7 5 9 部位にまたがるクローン 2 0 4 6 8 7 5 2 の 5 ' セグメントとして確認した。得られた構築物を p C R 2 . 1 - 2 0 4 6 8 7 5 2 - N a t - S 5 3 0 - 1 7 C と呼んだ

。

【0305】

20468752.0.18-Uセグメント(pCEP4/Sec-20468752と称される;以下の実施例4を参照のこと)を含む発現構築物を、NheIおよびBmaHIで消化し、線状化ベクターをゲル精製した。pCR2.1-20468752-Nat-S530-17Cをまた、NheIおよびBamHIで消化し、そして得られたフラグメント(これは、ATG開始部位からBamHI-759部位までを含む)を、単離した。このフラグメントを、続いて、線状化発現ベクターに連結した。クローニングされたポリヌクレオチドの配列は、残基1~残基678の、クローン20468752.0.18-Uによってコードされるタンパク質について予測される配列と100%同一である配列のポリペプチドをコードすることが見出された。

【0306】

(実施例3:哺乳動物発現ベクターpCEP4/Secの調製)

2つのオリゴヌクレオチドプライマーを設計して、V5およびHis6を含む発現ベクターpcDNA3.1-V5His(Invitrogen;Carlsbad,CA)からフラグメントを増幅した。これらのプライマーは以下を含む:

【0307】

【化4】

pSec-V5-His Forward:	CTCGTCCTCGAGGGTAAGCCTATCCCTAAC (SEQ ID NO:50)
pSec-V5-His Reverse:	CTCGTCGGGCCCTGATCAGCGGGTTTAAAC (SEQ ID NO:51)

PCR増幅に続いて、この産物を、XhoIおよびApaIで消化し、そして、i-kappaリーダー配列を保有し、XhoI/ApaIで消化したpSecTag2Bベクター(Invitrogen;Carlsbad,CA)に連結した。インフレームでi-kappaリーダーおよびV5-His6を含む、

生じたベクター (p S e c V 5 H i s と名付けた) の正しい構造を、DNA配列決定分析によって確認した。次いで、このベクター p S e c V 5 H i s を、P m e I および N h e I で消化し、正しいフレームに上記のエLEMENTを保持するフラグメントを提供した。P m e I / N h e I で消化したフラグメントを、B a m H I / K l e n o w 処理および N h e I 処理したベクター p C E P 4 (I n v i t r o g e n ; C a r l s b a d , C A) に連結した。この生じたベクターは p C E P 4 / S e c と名付けられ、そして P C M V プロモーターおよび / または P T 7 プロモーターの制御下で、インフレームでの i - k a p p a リーダー、目的のクローンの挿入部位、ならびに V 5 部位および H i s 6 部位を含んだ。p C E P 4 / S e c は、i - K a p p a 鎖シグナルペプチドに任意のタンパク質を融合させることによる、異種性タンパク質の発現および分泌を可能にする発現ベクターである。発現タンパク質の検出および精製を、カルボキシ末端での V 5 エピトープタグおよび 6 × H i s タグ (I n v i t r o g e n ; C a r l s b a d , C A) の存在により援助した。

【0308】

(実施例4：ヒト胚性腎臓293細胞における20468752.0.18-Uの発現)

成熟20468752.0.18-U配列を含むE c o R I - X h o I フラグメントを p C R 2 . 1 - 2 0 4 6 8 7 5 2 - S 4 1 4 A (実施例2、先述) から単離し、そしてベクター p E T 2 8 a (N o v a g e n ; M a d i s o n , W I) にサブクローニングした。この生じたベクター (p E T 2 8 a - 2 0 4 6 8 7 5 2 と名付けた) を、B a m H I で部分的に消化し、次いで、X h o I で完全に消化した。この生じた2.0kbのフラグメントを単離し、そしてB a m H I - X h o I で消化した p C E P 4 / S e c (実施例A B 3、前述を参照のこと) に連結し、p C E P 4 / S e c - 2 0 4 6 8 7 5 2 と名付けた発現ベクターを作製した。引き続き、p C E P 4 / S e c - 2 0 4 6 8 7 5 2 ベクターを、製造業者の説明書に従って、L i p o f e c t a m i n e P l u s (登録商標) 試薬 (G i b c o / B R L ; R o c k v i l l e , M D) を使用して、ヒト胚性腎臓293細胞にトランスフェクトした。トランスフェクションの約72時間後に、トラ

ンスフェクションの約72時間後に、細胞のペレットおよび上清を回収し、そして抗V5抗体を用いるウエスタンブロッティング（還元条件下）によってh20468752の発現について試験した。図3は、成熟20468752.0.18-Uが、293細胞によって分泌される約98000ダルトンのおよその分子量（Mr）を有するタンパク質として発現されることを示す。

【0309】

（実施例5：11692010.0.51の分子クローニング）

クローン11692010.0.51の予想されるオープンリーディングフレーム（ORF）は、649アミノ酸のIa型膜貫通タンパク質をコードする。SIGNALPコンピュータープログラムは、おそらく残基28と29との間に位置するペプチダーゼ切断部位を有するシグナル配列を予想した。PSORTコンピュータープログラムは、膜貫通領域が残基532と548との間に位置すると予想した。従って、成熟形態の細胞外セグメント（すなわち、残基29と531との間）をコードするcDNAを、次の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、このcDNAをPCR増幅するために設計した：

【0310】

【化5】

11692010 Forward: GGATCC AAA TCC TGT CCA TCT GTG TGT CGC TG
(SEQ ID NO:52)

11692010 Reverse: CTCGAG AGC CAA AGG TAA ATT GGG GTT TTT GTA AG
(SEQ ID NO:53)

引き続くクローニングの目的に、順方向（Forward）プライマーは、インフレームでBamHI制限部位を含み、一方、逆方向（Reverse）プライマーは、インフレームでXhoI制限部位を含んだ。上述の、11692010の順方向および11692010の逆方向についての配列において、制限部位配列に下線を付した。

【0311】

総量5 ngのヒト胎児脳cDNAをテンプレートとして使用して、PCR増幅反応を実施した。反応混合物は、50 µlの総反応容量中に以下の試薬を含んだ：それぞれ1 µMの11692010の順方向プライマーおよび11692010の逆方向プライマー；5 µモルのdNTP混合物(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)。実施例2のB項に先述したような反応条件を利用した。

【0312】

約1500 bpの予想サイズを有する増幅した産物を、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ゲルから精製し、そして、製造業者の推薦書に従ってpCR2.1ベクター(Invitrogen; Carlsbad, CA)に連結した。次いで、このクローニングした挿入物を、(ベクター特異的M13順方向プライマーおよびM13逆方向プライマーを使用して)以下の遺伝子特異的プライマーと組み合わせて配列決定した：

【0313】

【化6】

11692010 Seq1:	CGA GAC AGC AAC TAT CTC	(SEQ ID NO:54)
11692010 Seq2:	CGA CTG GAT ATG TCC AAT	(SEQ ID NO:55)
11692010 Seq3:	ACA ATT ACT GTG AAG TCT	(SEQ ID NO:56)
11692010 Seq4:	GAG ATA GTT GCT GTC TCG	(SEQ ID NO:57)
11692010 Seq5:	ATT GGA CAT ATC CAG TCG	(SEQ ID NO:58)
11692010 Seq6:	AGA CTT CAC AGT AAT TGT	(SEQ ID NO:59)

予想される11692010.0.51タンパク質の残基29と351との間をコードするオープンリーディングフレーム(ORF)として、挿入物を確認した。この構築物を、11692010.0.51-pCR2.1-S214-3Cと名付けた。この構築物によってコードされた翻訳されたタンパク質配列が、

クローン11692010.0.51の対応する位置に100%同一であることを見出した。

【0314】

(実施例6：ヒト胚性腎臓293細胞における11692010.0.51の発現)

11692010.0.51配列のクローニングされたフラグメントを含むBamHI/XhoIフラグメントを、pCR2.1ベクター-S214-3C中の11692010(実施例5、前出を参照のこと)より単離し、そしてBamHI/XhoIで消化したpCEP4/Sec(実施例3、前出を参照のこと)中にサブクローニングして、pCEP4/Sec-11692010と名付けた発現ベクターを作製した。次いで、pCEP4/Sec-11692010構築物を、製造業者の説明書に従って、LipofectaminePlus(登録商標)試薬(Gibco/BRL;Rockville,MD)を使用して、ヒト胚性腎臓293細胞にトランスフェクトした。トランスフェクションの約72時間後に、細胞のペレットおよび上清を回収し、そして抗V5抗体を用いるウエスタンブロッティング(還元条件下)によって11692010の発現について試験した。図4は、11692010が、293細胞によって分泌される約80000ダルトンのMrを有するタンパク質として発現されることを示す。

【0315】

(実施例7：クローン27835981.0.1、PRO4核酸の分子クローニング)

オリゴヌクレオチドプライマーを設計して、成熟形態の27835981.0.1タンパク質(すなわち、残基25~160)をコードするORFを示すDNAフラグメントをPCR増幅した。順方向プライマーは、インフレームでBamHI制限部位を含み、一方、逆方向プライマーは、インフレームでXhoI制限部位を含んだ。これらのプライマーは、以下の配列を有した：

【0316】

【化7】

27835981 Forward: GGATCC GAG GCT GAA GGC AAT GCA AGC TGC ACA G
(SEQ ID NO:60)

27835981 Reverse: TCGAG CAG TGG AAT GTA GGT GCT GTG AAT GCA G
(SEQ ID NO:61)

以下を使用して、50 μ lの総反応容量中において、PCR増幅反応を実施した：5 ngのヒト膵臓cDNAテンプレート；それぞれ1 μ Mの27835981の順方向プライマー（配列番号（SEQ ID NO:）85）および27835981の逆方向プライマー（配列番号87）；5 μ モルのdNTP混合物（Clontech Laboratories；Palo Alto, CA）；および1 μ lの50x Advantage-HF2ポリメラーゼ（Clontech Laboratories；Palo Alto, CA）。引き続きPCR増幅反応条件は以下を使用した：

- (a) 96 で3分間
 - (b) 96 で30秒間の変性
 - (c) 70 で30秒間のプライマーアニーリング。この温度を1サイクル当たり1 ずつ徐々に減少した
 - (d) 72 で1分間の伸長
- 工程(b)～(d)を合計10回反復した
- (e) 96 で30秒間の変性
 - (f) 60 で30秒間のアニーリング
 - (g) 72 で1分間の伸長
- 工程(e)～(g)を合計25回反復した
- (h) 72 で5分間、最終伸長。

【0317】

約400 bpのサイズを有する増幅した産物を、アガロースゲル電気泳動によって検出した。次いで、総量20 μ l中でのQIAEX II（登録商標）ゲル抽出システム（QIAGEN, Inc；Valencia, CA）の使用によって、この産物を単離した。

【0318】

この単離した産物を、続いてpCR2.1ベクターに連結し、そして配列決定した。この挿入物が成熟27835981.0.1タンパク質に100%同一である配列をコードするORFとして、配列を確認した。この構築物を、pCR2.1-27835981-S216と名付けた。

【0319】

(実施例8：ヒト肺性腎臓293細胞における27835981.0.1の発現)

27835981.0.1配列を含むBamHI/XhoIフラグメントを、pCR2.1-27835981-S216構築物(実施例7、前出を参照のこと)より単離し、そしてBamHI/XhoIで消化したpCEP4/Sec(実施例3、前出を参照のこと)にサブクローニングして、pCEP4/Sec-27835981と名付けた新たな構築物を作製した。次いで、pCEP4/Sec-27835981構築物を、製造業者の説明書に従って、Lipofectamine Plus(登録商標)試薬(Gibco/BRL; Rockville, MD)を使用して、ヒト胚性腎臓293細胞にトランスフェクトした。トランスフェクションの約72時間後に、細胞のペレットおよび上清を回収し、そして抗V5抗体を用いるウエスタンブロッティング(還元条件下)によって27835981.0.1の発現について試験した。図5は、27835981.0.1が、30000ダルトンのおよそのMrを有するタンパク質として発現し、そして293細胞によって分泌されることを示す。

【0320】

(実施例9：クローン21399247.0.1、PRO5核酸の分子クローニング)

クローン21399247.0.1の予想されるオープンリーディングフレーム(ORF)は、580アミノ酸残基のタンパク質をコードする。SIGNALPコンピュータープログラムは、おそらく残基16と17との間に位置する切断部位を有する分泌シグナル配列を予想した。オリゴヌクレオチドプライマーを設計して、成熟21399247.0.1タンパク質(すなわち、残基17~58

0) をコードするORFを示すDNAセグメントをPCR増幅した。順方向プライマーは、インフレームでBamHI制限部位を含み、一方、逆方向プライマーは、インフレームでXhoI制限部位を含んだ。プライマーは、以下の配列を含んだ：

【0321】

【化8】

21399247 Forward: GGATCC GCG GTC CTG TGG AAG CAT GTG CGG CTG
(SEQ ID NO:62)

21399247 Reverse: CTCGAG CGT GTT GCA CAC CAG CAC ATC TGC
(SEQ ID NO:63)

以下を使用して、50 μ lの総反応容量中において、PCR増幅反応を実施した：5 ngのヒト甲状腺cDNAテンプレート；それぞれ1 μ Mの21399247の順方向プライマー（配列番号89）および21399247の逆方向プライマー（配列番号91）；5 μ モルのdNTP混合物（Clontech Laboratories；Palo Alto，CA）；および1 μ lの50 \times Advantage-HF2ポリメラーゼ（Clontech Laboratories；Palo Alto，CA）。増幅反応条件は、工程（d）および（g）における伸長を3分間実施したことを除いて、実施例7で使用したものと同一であった。

【0322】

1.7 kbpの増幅産物を、アガロースゲル電気泳動によって検出した。総量20 μ l中でのQIAEX II Gel Extraction System（登録商標）（QIAGEN，Inc；Valencia，CA）を使用して、産物を単離した。

【0323】

この単離した産物をpCR2.1ベクターに連結し、そしてベクター特異的プライマーおよび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：

【0324】

【化9】

21399247 Seq1:	GAC GTG GCC CTC ATC GCC AAC	(SEQ ID NO:64)
21399247 Seq2:	CTA GGC GAG GAG TAC ATT CTG	(SEQ ID NO:65)
21399247 Seq3:	CTG GAC CGG GCT GAG CAA	(SEQ ID NO:66)
21399247 Seq4:	GTT GGC GAT GAG GGC CAC GTC	(SEQ ID NO:67)
21399247 Seq5:	CAG AAT GTA CTC CTC GCC TAG	(SEQ ID NO:68)
21399247 Seq6:	TTG CTC AGC CCG GTC CAG	(SEQ ID NO:69)

挿入物が対応する成熟21399247.0.1タンパク質に100%同一であるポリペプチドをコードするORFであるという配列分析を確認した。この構築物を、pCR2.1-21399247.0.1-S203#15と名付けた。

【0325】

(実施例10:ヒト胚性腎臓293細胞における21399247.0.1の発現)

成熟21399247.0.1配列を含むBamHI/XhoIフラグメントを、pCR2.1-21399247-S203#15構築物(実施例9、前出を参照のこと)より単離し、そしてBamHI/XhoIで消化したpCEP4/Sec(実施例3、前出を参照のこと)中にサブクローニングしてpCEP4/Sec-21399247と名付けた新たな構築物を作製した。次いで、pCEP4/Sec-21399247構築物を、製造業者の説明書に従って、Lipofectamine Plus reagent(登録商標)(Gibco/BRL; Rockville, MD)を使用して、ヒト胚性腎臓293細胞にトランスフェクトした。トランスフェクションの約72時間後に、細胞のペレットおよび上清を回収し、そして抗V5抗体を用いるウエスタンブロッティング(還元条件下)によって21399247.0.1の発現について試験した。図6は、21399247.0.1が、約62000ダルトンのMrを有するタンパク

質として発現し、そして293細胞によって分泌されることを示す。

【0326】

(実施例11:クローン17941787.0.1、PRO14核酸の分子クローニング)

クローン17941787.0.1の予想されるオープンリーディングフレーム(ORF)は、840アミノ酸残基のタンパク質をコードすることを示す。SIGNALPコンピュータープログラムは、おそらくアミノ酸残基27と28との間に位置する切断部位を有する分泌シグナル配列を予想した。PSORTコンピュータープログラムは、膜貫通領域がアミノ酸残基477と493との間に位置すると予想した。次いで、オリゴヌクレオチドプライマーを設計して、成熟17941787.0.1タンパク質(すなわち、残基28~476)をコードするDNAセグメントをPCR増幅した。順方向プライマーは、インフレームでKpnI制限部位を含み、一方、逆方向プライマーは、インフレームでXhoI制限部位を含んだ。プライマーは、以下の配列を含んだ:

【0327】

【化10】

17941787 Forward: GGT ACC TGT GGA GAG ACT CCA GAG CAA ATA CGA
(SEQ ID NO:70)

17941787 Reverse: CTC GAG AGT GAT GAC TCT TGT AGG CAC GAT TAC
(SEQ ID NO:71)

以下を使用して、50 μ lの総反応容量中において、PCR増幅反応を実施した: 5ngのヒト乳腺cDNAテンプレート;それぞれ1 μ Mの17941787の順方向プライマー(配列番号105)および17941787の逆方向プライマー(配列番号107);5 μ モルのdNTP混合物(Clontech Laboratories; Palo Alto, CA);および1 μ lの50 \times Advantage-HF2ポリメラーゼ(Clontech Laboratories; Palo Alto, CA)。PCR増幅反応条件は、工程(d)および(g)における伸長を3分間実施したことを除いて、実施例9で使用した

ものと同一であった。

【0328】

約1.3kbpのサイズのPCR増幅産物を、アガロースゲル電気泳動によって検出した。総量20μl中でのQIAEX II Gel Extraction System(登録商標)(QIAGEN, Inc; Valencia, CA)の使用によって、産物を単離した。

【0329】

次いで、この単離したPCR増幅産物をpCR2.1ベクターに連結し、そしてベクター特異的プライマーおよび遺伝子特異的プライマーの相伴う使用によって配列決定した。遺伝子特異的プライマーの配列は、以下である：

【0330】

【化11】

17941787 Seq1:	GCT TGT GAT CAG TTT CGT	(SEQ ID NO:72)
17941787 Seq2:	TGC ACC TGG TTA ATA GAC	(SEQ ID NO:73)
17941787 Seq3:	ACT GAG CAG CAG CGT TGT	(SEQ ID NO:74)
17941787 Seq4:	ACG AAA CTG ATC ACA AGC	(SEQ ID NO:75)
17941787 Seq5:	TAT TAA CCA GGT GCA ATT	(SEQ ID NO:76)
17941787 Seq6:	ACA ACG CTG CTG CTC AGT	(SEQ ID NO:77)

DNA配列分析によって得られた配列を、挿入物が成熟17941787.0.1に100%同一であるORFであるとして、確認した。構築物を、pCR2.1-17941787.0.1-S323-6と名付けた。

【0331】

(実施例12：ヒト胚性腎臓293細胞における17941787.0.1の発現)

成熟17941787.0.1配列を含むKpnI/XhoIフラグメントを、pCR2.1-17941787-S323-6C構築物(実施例11、前出を参照のこと)より単離し、ついで、KpnI/XhoIで消化したpCEP4

/Sec (実施例3、前出を参照のこと)中にサブクローニングして、pCEP4/Sec-17941787を作製した。pCEP4/Sec-17941787構築物を、続いて、製造業者の説明書に従って、Lipofectamine Plus reagent (登録商標) (Gibco/BRL; Rockville, MD) を使用して、ヒト胚性腎臓293細胞にトランスフェクトした。トランスフェクションの約72時間後に、細胞のペレットおよび上清を回収し、そして抗V5抗体を用いるウエスタンブロットイング(還元条件下)によって17941787.0.1の発現について試験した。図7は、17941787.0.1が、約55kDaのMrを有するタンパク質として293細胞によって細胞内に発現されることを示す。

【0332】

(実施例13:クローン16467945.0.85、PRO16核酸、およびクローン16467945.0.88、PRO17核酸の分子クローニング)

(A.成熟した安定な16467945.0.85のクローニング)

予想されるオープンリーディングフレーム(ORF)は、123アミノ酸残基を含むタンパク質をコードする。SIGNALPコンピュータープログラムは、おそらくアミノ酸残基19と20との間に位置する切断部位を有する分泌シグナル配列を予想した。従って、オリゴヌクレオチドプライマーを設計して、成熟16467945.0.85タンパク質(すなわち、アミノ酸残基20~123)をコードするDNAセグメントをPCR増幅した。順方向プライマーは、インフレームでBamHI制限部位を含み、そして、逆方向プライマーは、インフレームでXhoI制限部位を含んだ。プライマーの配列は、以下の配列である:

【0333】

【化12】

16467945.8588 Forward: GGATCC GAG TAC GAC GGG AGG TGG CCC AGG
(SEQ ID NO:78)

16467945.85 Reverse: CTCGAG CAG GGT AGA GCC ACG GCG CCC GGC TGG AAC
(SEQ ID NO:79)

以下を使用して、50 μ lの総反応容量中において、PCR増幅反応を実施した：5 ngのヒト胎児肺cDNAテンプレート；それぞれ1 μ Mの16467945・8588の順方向プライマーおよび16467945・85の逆方向プライマー；5 μ モルのdNTP混合物（Clontech Laboratories；Palo Alto, CA）；および1 μ lの50 \times Advantage-HF2ポリメラーゼ（Clontech Laboratories；Palo Alto, CA）。PCR増幅反応は、実施例9で使用したものと同一であった。

【0334】

約300 bpのサイズを有する増幅産物を、アガロースゲル電気泳動によって検出した。この産物を、総量20 μ l中でのQIAEX II Gel Extraction System（登録商標）（QIAGEN, Inc；Valencia, CA）の使用によって、産物を単離した。

【0335】

次いで、単離したPCR増幅産物をpCR2.1ベクターに連結し、そしてベクター特異的プライマーを使用して配列決定した。得られたヌクレオチド配列ならびに翻訳されたポリペプチドのアミノ酸配列を、表20に示す。

（表20）

（1）16467945・0・85-S259・Aの核酸配列

【0336】

【表20】

```
GAGTACGACGGGAGGTGGCCAGGCAATAGTGTTCATCGATTGGCCTATGTCGTTATGGTGGGAGGATTGACTGCT
GCTGGGGCTGGGCTCGCCAGTCTTGGGGACAGTGTGAGCCTGTGTGCCAACCCAGATGCAAACATGGTGAATGTAT
CGGGCCAAACAAGTGCAGTGTATCCTGGTTATGCTGGAAAAACCTGTAATCAAGCCGTAGGTTTTGAAAGATGT
ATGGTTCCAGCCGGGCGCCGTGGCTCTACCCCTG (SEQ ID NO:80)
```

（2）16467945・0・85-S259・Aのアミノ酸配列

【0337】

【化13】

EYDGRWPRQIVSSIGLCRYGGRIDCCWGNARQSWGQCQPVCQPRCKHGECIGPNKCKCHPGYAGKTCNQAVGFERC
MVPAGRRGSTL (SEQ ID NO:81)

挿入物を成熟16467945.0.85をコードするORFとして、核酸配列分析を確認した。この構築物を、pCR2.1-16467945.0.85-S259Aと名付けた。

【0338】

(B.成熟した16467945.0.88のクローニング)

16467945.0.88を増幅するために使用した同一のPCR条件を、16467945.0.88の増幅において使用した。生じた構築物は、16467945.0.88-S261.Dと名付けられた。核酸配列(配列番号81)およびアミノ酸配列(配列番号82)を、以下の表21に示す。

【0339】

(表21)

(1)16467945.0.88-S261.Dの核酸配列

【0340】

【表21】

1 GAGTTCGACGGGAGGTGGCCAGGCAAACTGTGCATCGATTGGCCTATGTCGTTATGGTGGGAGGATTGACTGCTGCTG
81 GGGCTGGGCTCGCCAGTCTTGGGGACAGTGTGAGCCTGTGTGCCAACCACGATGCAAACATGGTGAATGTATCGGGCCAA
161 ACAAGTGCAGTGTGCATCCTGGTTATGCTGGAAAAACCTGTATTCAAGTTTAAATGAGTGTGGCCTGAAGCCCCGGCCC
241 TGTAAGCACAGGTGCATGAACACTTACGGCAGCTACAAGTGTACTGTCTCAACGGATATATGCTCATGCCGGATGGTTC
321 CTGCTCAAGTGCCTGACCTGCTCCATGGCAAACCTGTGATGGCTGTGATGTTGTTAAAGGACAAATACGGTGCCAGT
401 GCCCATCCCCGGCCTGCAGCTGGCTCCTGATGGGAGGACCTGTGTAGATGTTGATGAATGTCTACAGGAAGACCTCC
481 TGGCCTAGATTTAGGCAATGTGTCAACACTTTTGGGAGCTACATCTGCAAGTGTGATGATAAGGCTTCGATCTCATGTATAT
561 TGGAGGCAAAATCAATGTCATGACATGACGAAATGCTCACTTGGTCAGTATCAGTGCAGCAGCTTTGCTCGATGTTATA
641 ACGTACGTGGGTCCTACRAGTGCAAAATGTAAGAAGGATACCAGGGTGTGGACTGACTTGTGTATATCCCAAAGTT
721 ATGATTGAACCTTCAGGTCCAATTCATGTACCAAAGGAAATGGTACCATTTTAAAGGGTGACACAGGAATAATAATG
801 GATTCCTGATGTTGGAAGTACTTGGTGGCCCTCCGAAGACACCATATATCCTCCTATCATTACCAACAGGCTACTTCTA
881 AGCCAACRACAAGACTACACCRAAGCCRAACCAATTCCTACTCCACCACCACCACCACCCTGCCAACAGAGCTCAGA
961 ACACCTTACCACCTACAAACCCAGAAAGCCAAACCACCGGACTGACAACTATAGCACCCAGCTGOCAGTACACCTCCAGG
1041 AGGATTACAGTTGACAACAGGGTACAGRCAGACCTCAGAAACCCAGAGGAGATGTGTTCCATTCCAGGCAACCTCAA
1121 ATGACTTGTGTTGAAATATTTGAAATAGAAAGAGGAGTCACTGCAGACGATGAAGCAAAGGATGATCCAGGTGTTCTGGTA
1201 CACAGTTGTAATTTGACCATGGACTTTGTGATGGATCAGGGAGAAAGACAATGACTTGCCTGGGAACCAATCAGGGA
1281 CCCAGCAGGTGGACAATATCTGACAGTGTGCGGACGACCCCAAGCCCAAGCCCAAGGGGAAAAGCTGCACGCTTGGTGTACTCTCG
1361 GCGCCTTATGCATTCAGGGGACCTGTGCTGTGATTCAGGCACAAGGTGACGGGGCTGCACCTTGGCACACTCCAGGTG
1441 TTTGTGAGAAAACACGGTGGCCACGGAGCAGCCCTGTGGGGAAAGAAATGGTGGCCATGGCTGGAGCAACACAGATCAC
1521 CTTGCGAGGGGCTGACATCAAGAGCCTGCTCTTCAAAGGTGAAAAAGGCGTGGTCACACTGGGGAGATTGGATTAGATG
1601 ATGTGAGCTTGAAAAAGGCCACTGCTCTGAAGAACGC (SEQ ID NO:81)

(2)16467945.0.88-S261.Dのアミノ酸配列

【0341】

【化14】

```

1 EYDGRWPRQIVSSIGLCRYGGRIDCCWGWARQSWGQCQPVCQPRCKHGECIGPNKCKCHPGYAGXTCIQVLNECGLKFRP
81 CKHRCMNTYGSYKCYCLNGYMLMPDGSCSSALTCSMANCOYGCDDVVKQIRQCQPSFGLQLAPDGRTCVDVDECATGRAS
161 CPRFRQCVNTFGSYICKCHKGFDLMYIGGKYQCHDIDECSLGQYQCSFARCYNVRGSYKCKCKEGYQGDGLTCVYI PKV
241 MIEPSGPIHVFKGNGTILKGDGTGNNWIPDVGSTWVPEKTPYI PPIITNAPTSPKPTTRPTPKPTPIPTPPPPPLPTELK
321 TPLPPTTPEPRTGLTTIAPAASTPPGGITVDNRVQTDPOKPRGDVFI PRQPSNDLFEIFEIERGVSADDEAKDDPGVLV
401 HSCNFDHGLCGWIREKDNLDLHWEPIRDPAGGQYLTVSAAKAPGGKAARLVLP LGRMLMHSGLDCLSFRHKVTGLHSGTLQV
481 FVRKHGAHGAALWGRNGGHGWRQTQITLRGADIKSVVFKGEXRRGHTGEIGLDOVSLKKGHCSEER (SEQ ID NO:82)

```

16467945.0.85-S259.Aの核酸およびアミノ酸配列、および16467945.0.88-S261.Dの核酸およびアミノ酸配列は、互いに重なるが、これらの配列のセットの両方は、それらが、クローン16467945.0.85およびクローン16467945.0.88(それぞれ、配列番号33および配列番号34)について、上記に示される核酸およびアミノ酸配列に対してスプライス改変体を提示することを保証する。詳細には、本実施例における分子クローニングの結果(すなわち、構築物16467945.0.85-S259.Aおよび16467945.0.88-S261.D)は、クローン16467945.0.85およびクローン16467945.0.88の配列と比較した場合、欠失を含む。この関係を以下に図示する。欠失を含む配列の領域のみが以下に示されることに注意すべきである。

【0342】

【化15】

```

EYDGRWPRQIVSSIGLCRYGGRIDCCWGWARQSWGQCQPFYVLRQRIARIRCQLKAVCQPR
::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::
EYDGRWPRQIVSSIGLCRYGGRIDCCWGWARQSWGQCQP-----VCQPR

```

(実施例14: ヒト胚腎臓293細胞における16467945.0.88の発現)

16467945.0.88配列(実施例13、前出を参照のこと)を含むKpnI-XhoIフラグメントを、pCR2.1ベクター中の16467956.0.88(すなわち、S323-6c)から単離し、そしてBamHI/Xh

oI消化pCEP4/Secにサブクローン化し(実施例3、前出を参照のこと)、新しい構築物pCEP4/Sec-16467945.0.88を生成した。次いで、pCEP4/Sec-16467945.0.88構築物を、LipofectaminePlus試薬(登録商標)を用いて製造者指示(Gibco/BRL;Rockville,MD)に従ってヒト胚腎臓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時間後に収集し、そして抗V5抗体を用いてウエスタンブロット(還元条件下)による16467945.0.88発現を調査した。図AG2は、16467945.0.88は、293細胞によって分泌される約95000ダルトンおよび23000ダルトンの分子量を有する2つのタンパク質として発現されることを示す。この23000ダルトンのタンパク質は、95000ダルトンのタンパク質の分解産物と考えられる。

【0343】

(実施例15:PROX核酸の発現の組織分布の定量分析)

本発明の種々のクローンの定量的発現を、Perkin-Elmer Biosystems ABI PRISM(登録商標)7700 Sequence Detection Systemで実施される実時間定量的PCR分析(real time quantitative PCR analysis)(TAQMAN(登録商標))によって、41の正常サンプルおよび55の腫瘍サンプル(以下の表で同定される)において評価した。

【0344】

以下の表において、これらの略語が使用される:

Ca. = 癌

* = 転移から定着される

met = 転移

s cell var = 小細胞の改変体

non-s = non-sm = non-small

squam = 鱗状

pl. eff = 胸水

g l i o = 神経膠腫

a s t r o = 星状細胞腫

n e u r o = 神経芽細胞腫

96のRNAサンプルを、最初に β -アクチンおよびGAPDHに対して正規化した。RNA (合計約50ng~約1ngポリA+)を、TAQMAN (登録商標) Reverse Transcription Reagents Kit (PE Biosystems, Foster City, CA; cat#N808-0234) およびランダムな6量体を使用し、製造者のプロトコールに従って、cDNAに変換した。反応を、20 μ lの全反応容量で実施し、そして30分間48 $^{\circ}$ Cでインキュベートした。次いで、cDNA (5 μ l)を、製造業者の指示に従って、 β -アクチンおよびGAPDH TAQMAN (登録商標) Assay Reagents (PE Biosystems; cat.#'s 4310881E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 μ l中で実施した: 50 $^{\circ}$ Cで2分; 95 $^{\circ}$ Cで10分; 95 $^{\circ}$ Cで15秒/60 $^{\circ}$ Cで1分(計40サイクル)。結果を、ログスケールを使用するCT値(所与のサンプルは、蛍光の閾値レベルを通過するサイクル)として記録し、2つのサンプル間のRNA濃度の差は、2のCT乗として示した。次いで、%相対発現を、このRNAの差の逆数を取り、そして100をかけることによって得る。 β -アクチンおよびGAPDHについて得られた平均CT値を、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、それらの β -アクチン/GAPDHの平均CT値に従って、サンプルと比較して希釈した。

【0345】

正規化RNA (5 μ 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、インプットとしてクローン10326230.0.38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計した。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。これらのプライマーは、以下を含んだ: プライマーの濃度 = 250 nM、プライマーの融解温度 (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' 末端Gを有さず、プローブの T_m は、プライマーの T_m よりも10 高くなければならず、アンプリコンサイズは75 bp ~ 100 bpである。選択されるプローブおよびプライマー(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、未結合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、質量分析法によって評価した。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、900 nMであり、そしてプローブの濃度は、200 nMであった。

【0346】

以下のPCR増幅反応条件を使用した。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。PCR増幅反応混合物は、以下の試薬を含んだ: 2つのプローブ(PROX特異的プローブで多重化されたSECX特異的プローブおよび別の遺伝子特異的プローブ); PE Biosystems 770の1x TaqMan™ PCR Master Mix; 5mMのMgCl₂; dNTP混合物(dA、G、C、U(1:1:1:2の比)); 0.25 U/ml AmpliTaq Gold™(PE Biosystems); 0.4 U/μlのRNaseインヒビター; および0.25 U/μlの逆転写酵素。逆転写を、48 で30分間実施し、次いで増幅/PCRサイクルを以下のように

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。

【0347】

以下のセクションにおいて、多数の表は、本発明のプライマーおよびプローブについて使用される配列、ならびに用いられた様々な細胞培養物について得られた相対発現結果を示す。

【0348】

(A. クローン20468752)

表22および表23は、それぞれ、クローン20468752のプライマー配列情報および相対発現結果を示す。表23に示されるクローン20468752の相対発現結果は、同じ色素由来の正常な細胞サンプルと比較して、特定の中樞神経系腫瘍および黒色腫における比較的高い発現、およびほとんどの結腸癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、肺癌および肝臓癌細胞における抑制を示す。

【0349】

【表22】

表 22: 遺伝子: 20468752 700-1" 90 : Ag79

プライマー/プローブ	配列	開始位置
前方	5'-CAGTCAATGGGTACCAGAAAATAACA-3 (SEQ ID NO:83)	984
プローブ	FAM-5'-CCTGGGCTTATCAACGGACGCCA-3'-TAMRA (SEQ ID NO:84)	1016
逆	5'-ACCACGGTGCCAATTTTAGC-3' (SEQ ID NO:85)	1040

【0350】

【表23】

表23: 相対発現

表23-①

組織名	相対発現(%)
内皮細胞	0.03
内皮細胞 (処置された)	0.02
膵臓	4.94
膵臓癌 CAPAN2	0.02
脂肪	1.61
副腎	17.42
甲状腺	16.71
唾液腺	2.58
下垂体	60.34
脳 (胎児)	0.91
脳 (全体)	15.15
脳 (扁桃)	14.65
脳 (小脳)	5.25
脳 (海馬)	41.64
脳 (黒質)	15.74
脳 (視床)	13.93
脳 (視床下部)	18.06
脊髄	41.82
中枢神経系癌 (グリア/星状) U87-MG	79.68
中枢神経系癌 (グリア/星状) U-118-MG	0.45
中枢神経系癌 (星状) SW1738	12.95
中枢神経系癌* (neuro:met) SK-N-AS	0.01
中枢神経系癌 (星状) SF-539	0.26
中枢神経系癌 (星状) SNB-75	0
中枢神経系癌 (グリア) SNB-19	0.44
中枢神経系癌 (グリア) U-251	0.23
中枢神経系癌 (グリア) SF-295	15.48
心臓	28.98
骨格筋	6.05
骨髄	2.62
胸腺	8.46
脾臓	11.5
リンパ節	3.06
結腸 (上行)	2.14
胃	10.43
小腸	58.02
結腸癌 SW480	0.02
結腸癌* (SW480 met) SW620	0.02
結腸癌 HT29	0.16
結腸癌 HCT-116	0.04
結腸癌 CaCo-2	15.17
結腸癌 HCT-15	0.16
結腸癌 HCC-2998	0.05
胃癌* (肝 met) NCI-N87	0.04
膀胱	9.56
気管	14.44

つぎあり

表23-②

腎臓	6.71
腎臓 (胎児)	11.86
腎臓癌 786-0	0.45
腎臓癌 A498	0.23
腎臓癌 RXF393	0.67
腎臓癌 ACHN	2.34
腎臓癌 UO-31	1.17
腎臓癌 TK-10	0.01
肝臓	24.48
肝臓 (胎児)	8.03
肝臓癌 (hepatoblast) HepG2	0.02
肺	0.39
肺 (胎児)	12.41
肺癌 (小細胞) LX-1	0.09
肺癌 (小細胞) NCI-H69	6.25
肺癌 (小細胞改変体) SHP-77	0.02
肺癌 (大細胞) NCI-H460	0.02
肺癌 (非小細胞) A549	0.54
肺癌 (非小細胞) NCI-H23	0.16
肺癌 (非小細胞) HOP-62	1.24
肺癌 (非小細胞) NCI-H522	0.01
肺癌 (squam.) SW900	0.17
肺癌 (squam.) NCI-H596	1.98
乳腺	11.42
乳癌* (胸水) MCF-7	0
乳癌* (胸水) MDA-MB-231	0.02
乳癌* (胸水) T47D	2.34
乳癌 BT-549	0.03
乳癌 MDA-N	0.23
卵巢	16.48
卵巢癌 OVCAR-3	0.72
卵巢癌 OVCAR-4	1.10
卵巢癌 OVCAR-5	0.37
卵巢癌 OVCAR-8	0.26
卵巢癌 IGROV-1	0.10
卵巢癌* (腹水) SK-OV-3	0.01
子宮	5.33
胎盤	100
前立腺	12.32
前立腺癌* (bone met) PC-3	0.03
精巣	1.24
黒色腫 Hs688 (A).T	55.36
黒色腫* (met) Hs688 (B).T	48.07
黒色腫 UACC-62	0.03
黒色腫 M-14	0.59
黒色腫 LOX IMVI	0.16
黒色腫* (met) SK-MEL-5	0.02
黒色腫 SK-MEL-28	0.13

表24および表25は、それぞれ、クローン11692010.0.51のプライマー配列情報および相対発現結果を示す。図25に示されるように、正常な細胞と比較して、高レベルの発現が、特定の卵巢癌細胞株、胃ガン、および結腸

癌細胞株において見られる。さらに、このクローンによってコードされるタンパク質はまた、肺癌および特定のCNS癌細胞において広範に発現される。

【0351】

【表24】

表 24 遺伝子 : 11692010 プローブ名 : Ag92

700-7"/700-7"	配列	開始位置
前方	5'-GCTAAATCCTGTCCATCTGTGT-3' (SEQ ID NO:86)	538
700-7"	TET-5'-TGAAACCCGCATCGCAGCGA-3'-TAMRA (SEQ ID NO:87)	
逆	5'-ATGGATGTCAGAAAGCGATCA-3' (SEQ ID NO:88)	592

【0352】

【表25】

表25: 相対発現 表25-①

組織名	相対発現(%)
内皮細胞	0.03
内皮細胞 (処置された)	0.1
膵臓	1.63
膵臓癌 CAPAN2	3.26
脂肪	8.54
副腎	0.91
甲状腺	4.12
唾液腺	0.19
下垂体	0.57
脳 (胎児)	2.57
脳 (全体)	16.27
脳 (扁桃)	0.4
脳 (小脳)	100
脳 (海馬)	12.16
脳 (黒質)	0.17
脳 (視床)	2.88
脳 (視床下部)	1.5
脊髄	1.10
中枢神経系癌 (グリア/星状) U87-MG	0.10
中枢神経系癌 (グリア/星状) U-118-MG	0.08
中枢神経系癌 (星状) SW1738	0.22
中枢神経系癌* (neuro:met) SK-N-AS	1.13
中枢神経系癌 (星状) SF-539	0
中枢神経系癌 (星状) SNB-75	9.47
中枢神経系癌 (グリア) SNB-19	4.36
中枢神経系癌 (グリア) U-251	0
中枢神経系癌 (グリア) SF-295	0
心臓	0.48
骨格筋	2.22
骨髄	0
胸腺	13.77
脾臓	0.03
リンパ節	0.15
結腸 (上行)	3.42
胃	13.12
小腸	1.23
結腸癌 SW480	0.06
結腸癌* (SW480 met) SW620	0
結腸癌 HT29	1.00
結腸癌 HCT-116	0
結腸癌 CaCo-2	20.88
結腸癌 HCT-15	0.77
結腸癌 HCC-2998	0.4
胃癌* (肝 met) NCI-N87	19.89
膀胱	1.95
気管	4.54

つづきあり

表25-②

腎臓	7.75
腎臓 (胎児)	20.73
腎臓癌 786-0	0.45
腎臓癌 A498	0.39
腎臓癌 RXF393	0.37
腎臓癌 ACHN	0.91
腎臓癌 UD-31	0.77
腎臓癌 TK-10	7.80
肝臓	2.59
肝臓 (胎児)	2.9
肝臓癌 (hepatoblast) HepG2	0
肺	3.10
肺 (胎児)	10.73
肺癌 (小細胞) LX-1	0.95
肺癌 (小細胞) NCI-H69	5.26
肺癌 (小細胞改変体) SHP-77	0
肺癌 (大細胞) NCI-H460	0
肺癌 (非小細胞) A549	5.79
肺癌 (非小細胞) NCI-H23	0.3
肺癌 (非小細胞) HOP-62	2.74
肺癌 (非小細胞) NCI-H522	1.63
肺癌 (squam.) SW900	4.27
肺癌 (squam.) NCI-H596	6
乳腺	2.54
乳癌* (胸水) MCF-7	4.45
乳癌* (胸水) MDA-MB-231	0
乳癌* (胸水) T47D	0.09
乳癌 BT-549	0
乳癌 MDA-N	1.46
卵巣	0.86
卵巣癌 OVCAR-3	0.85
卵巣癌 OVCAR-4	0.55
卵巣癌 OVCAR-5	16.27
卵巣癌 OVCAR-8	0.59
卵巣癌 IGROV-1	6.93
卵巣癌* (腹水) SK-OV-3	2.76
子宮	10.15
胎盤	1.6
前立腺	6.38
前立腺癌* (bone met) PC-3	0
精巣	22.22
黒色腫 Hs688 (A). T	0.22
黒色腫* (met) Hs688 (B). T	0.15
黒色腫 UACC-62	1.26
黒色腫 M-14	1.30
黒色腫 LOX IMVI	0.08
黒色腫* (met) SK-MEL-5	0.64
黒色腫 SK-MEL-28	0.96

(C. クローン27835981.0.1)

表26および表27は、それぞれ、クローン27835981.0.1のプライマー配列情報および相対発現結果を示す。クローン27835981.0.1

の相対発現レベルは、表27に示されるように、このクローによってコードされるタンパク質が、同じ組織のそれぞれの正常な細胞株と比較して、試験される実質的に全ての癌細胞株において過剰発現されることを示す。

【0353】

【表26】

表 26 遺伝子 : 27835981 プローブ名 : Ag99

方向	配列	開始位置
前方	5' CAGTCACACAGCTGCTCTATTCTCA-3' (SEQ I NO:99)	820
プローブ	FAM -5'AAATCTACCCCTTGCGTGGCTGGAAC-3'-TAMRA (SEQ ID NO:100)	848
逆	5'-GGACACCTCCAGGGAAACGT-3' (SEQ ID NO:101)	876

【0354】

【表27】

表27: 相対発現レベル 表27-①

組織名	相対発現(%)
内皮細胞	78.31
内皮細胞 (処置された)	47.36
膵臓	6.92
膵臓癌 CAPAN2	47.36
脂肪	0.75
副腎	5.14
甲状腺	9.26
唾液腺	6.92
下垂体	0
脳 (胎児)	6.92
脳 (全体)	2.02
脳 (扁桃)	5.14
脳 (小脳)	1.46
脳 (海馬)	3.79
脳 (黒質)	5.14
脳 (視床)	5.14
脳 (視床下部)	5.14
脊髄	6.92
中枢神経系癌 (グリア/星状) U87-MG	36.56
中枢神経系癌 (グリア/星状) U-118-MG	36.56
中枢神経系癌 (星状) SW1738	47.36
中枢神経系癌* (neuro;met) SK-N-AS	36.56
中枢神経系癌 (星状) SF-539	36.56
中枢神経系癌 (星状) SNB-75	21.45
中枢神経系癌 (グリア) SNB-19	0
中枢神経系癌 (グリア) U-251	28.08
中枢神経系癌 (グリア) SF-295	21.45
心臓	12.32
骨格筋	28.08
骨髄	21.45
胸腺	5.14
脾臓	12.32
リンパ節	9.26
結腸 (上行)	3.79
胃	5.14
小腸	9.26
結腸癌 SW480	61.04
結腸癌* (SW480 met) SW620	61.04
結腸癌 HT29	47.36
結腸癌 HCT-116	100
結腸癌 CaCo-2	21.45
結腸癌 HCT-15	0
結腸癌 HCC-2998	36.56
胃癌* (肝 met) NCI-N87	12.32
膀胱	9.26
気管	5.14

↑↑キあり

表27-②

腎臓	6.92
腎臓 (胎児)	2.78
腎臓癌 786-0	28.08
腎臓癌 A498	21.45
腎臓癌 RXF393	36.56
腎臓癌 ACHN	47.36
腎臓癌 UO-31	28.08
腎臓癌 TK-10	28.08
肝臓	9.26
肝臓 (胎児)	0
肝臓癌 (hepatoblast) HepG2	47.36
肺	0
肺 (胎児)	6.92
肺癌 (小細胞) LX-1	36.56
肺癌 (小細胞) NCI-H69	9.26
肺癌 (小細胞改変体) SHP-77	61.04
肺癌 (大細胞) NCI-H460	61.04
肺癌 (非小細胞) A549	21.45
肺癌 (非小細胞) NCI-H23	28.08
肺癌 (非小細胞) HOP-62	28.08
肺癌 (非小細胞) NCI-H522	28.08
肺癌 (squam.) SW900	9.26
肺癌 (squam.) NCI-H596	12.32
乳腺	2.02
乳癌* (胸水) MCF-7	21.45
乳癌* (胸水) MDA-MB-231	61.04
乳癌* (胸水) T47D	9.26
乳癌 BT-549	78.31
乳癌 MDA-N	28.08
卵巣	9.26
卵巣癌 OVCAR-3	28.08
卵巣癌 OVCAR-4	36.56
卵巣癌 OVCAR-5	6.92
卵巣癌 OVCAR-8	0
卵巣癌 IGROV-1	36.56
卵巣癌* (腹水) SK-OV-3	28.08
子宮	5.14
胎盤	6.92
前立腺	5.14
前立腺癌* (bone met) PC-3	78.31
精巣	0.75
黒色腫 Hs688 (A). T	47.36
黒色腫* (met) Hs688 (B). T	28.08
黒色腫 UACC-62	78.31
黒色腫 M-14	0
黒色腫 LOX IMVI	21.45
黒色腫* (met) SK-MEL-5	47.36
黒色腫 SK-MEL-28	21.45

(D. クローン21399247.0.1)

表28は、クローン21399247.0.1のプライマー配列情報を示す。

クローン21399247.0.1の発現分析は、合計6回繰り返された。この

クローンによってコードされるタンパク質は、試験されたほとんどの組織で広範に発現した(すなわち、他の表と同じ細胞株は、このセクションの詳細な実施例に含まれる)。さらに、コードされたタンパク質はまた、特定の癌(例えば、黒色腫、前立腺癌、肺癌および結腸癌)において特に強力に発現される。

【0355】

【表28】

表 28 遺伝子: 21399247 プローブ名 : Ag109

プライマー/プローブ	配列	開始位置
前方	5'-CCTGCAAAGCCGTGAGGT-3' (SEQ ID NO:102)	1547
プローブ	FAM-5'-ACGGCATCTCTGTTGCCGGAACC-3'-TAMRA (SEQ ID NO:103)	1568
逆	5'-GGTGTCTCTGGTAGATTCGGAAG-3' (SEQ ID NO:104)	1601

(E. クローン17132296)

表29および表30は、それぞれ、クローン17132296のプライマー配列情報および相対発現結果を示す。表30に示されるクローン17132296の発現分析は、このクローンによってコードされるタンパク質は、卵巣癌、乳癌および結腸癌において、正常な組織細胞株と比較して過剰発現されることを示す。

【0356】

【表29】

表 29 遺伝子: 17132296 プローブ名 : Ag162

プライマー/プローブ	配列
前方	5'-GTACTGCCGCCAGCTTACCT-3' (SEQ ID NO:105)
プローブ	TET-5' CACAGAGCCAGCAGTGACACATGAC AAA-3'-TAMRA (SEQ ID NO:106)
逆	5'-GACATGGCTTTCGTAAATAATGCA-3 (SEQ ID NO:107)'

【0357】

【表30】

Table 30

相対的発現レベル

(表30-①)

組織名	相対的発現 (%)
内皮細胞	0.04
内皮細胞 (処置済)	3.12
膵臓	1.4
膵臓癌 CAPAN2	0
脂肪	1.21
脂肪腺	2.55
甲状腺	3.22
唾液腺	1.60
下垂体	3.83
脳 (脳)	4
脳 (全体)	27.73
脳 (扁桃)	11.87
脳 (小脳)	41.57
脳 (海馬)	11.55
脳 (黒質)	22.40
脳 (視床)	21.92
脳 (視床下部)	2.04
脊髄	15.21
CNS癌 (777/星状) U87-MG	23.37
CNS癌 (777/星状) U-118-MG	0.01
CNS癌 (星状) SW1783	0.66
CNS癌 * (神経繊維) SK-N-AS	18.37
CNS癌 (星状) SF-539	0
CNS癌 (星状) SNB-75	21.94
CNS癌 (777) SNB-19	46.12
CNS癌 (777) U251	8.94
CNS癌 (777) SF-295	0
心臓	2.97
骨格筋	6.43
骨髄	5.19
胸腺	1.35
脾臓	0.9
リンパ節	2.81
結腸 (上行)	1.39
胃	2.22
小腸	1.54
結腸癌 SW480	1.20
結腸癌 * (SW480転移) SW620	0
結腸癌 HT29	0
結腸癌 HCT-116	0.01
結腸癌 CaCo-2	2.51
結腸癌 HCT-15	10.11
結腸癌 HCC-2998	17.88
胃癌 * (肝臓転移) NCI-N87	5.16
膵臓	12.24
気管	1.84
腎臓	27.13
腎臓 (総計)	4.71
腎臓癌 786-0	8.94
腎臓癌 A498	10.6
腎臓癌 RXP 393	2.25
腎臓癌 ACHN	7.53
腎臓癌 UO-31	0.86
腎臓癌 TK-10	10.03

フブもあり

つぎ

(表30-②)

肝臓	15.14
肝臓(胎児)	4.52
肝臓癌(胚芽腫)HepG2	0.02
肺	4.91
肺(胎児)	1.04
肺癌(小細胞)LX-1	0.22
肺癌(小細胞)NCI-H69	3.26
肺癌(小細胞改変体)SHP-77	0
肺癌(大細胞)NCI-H460	0
肺癌(非小細胞)A549	3.21
肺癌(非小細胞)NCI-H23	12.72
肺癌(非小細胞)HOP-62	0.5
肺癌(非小細胞)NCI-H522	15.49
肺癌(扁平上皮)SW 900	1.11
肺癌(扁平上皮)NCI-H596	1.33
乳腺	3.85
乳癌*(胸水)MCF-7	17.73
乳癌*(胸水)MDA-MB-231	2.49
乳癌*(胸水)T47D	4.21
乳癌BT-549	0.01
乳癌MDA-N	27.8
卵巣	1.15
卵巣癌OVCAR-3	1.9
卵巣癌OVCAR-4	2.81
卵巣癌OVCAR-5	1.15
卵巣癌OVCAR-8	8.27
卵巣癌IGROV-1	4.47
卵巣癌*(腹水)SK-OV-3	97.72
子宮	24.78
胎盤	8.9
前立腺	1.99
前立腺癌*(骨髄液)PC-3	0.01
精巣	100
黒色腫Hs688(A).T	16.52
黒色腫*(髄液)Hs688(B).T	13.53
黒色腫UACC-62	14.35
黒色腫M14	12.97
黒色腫LOX IMVI	10.82
黒色腫*(髄液)SK-MEL-5	24.65
黒色腫SK-MEL-28	21.34

(F.クローン17931354)

表31および表32は、それぞれ、クローン17931354のプライマー配列情報および相対発現結果を示す。クローン17931354の発現分析は、表32に示される。興味深いことに、このクローンによってコードされるタンパク質は、2つの肺癌細胞株においては顕著に検出されるが、正常な肺組織においては検出されない。

【0358】

【表31】

表 31 遺伝子: 17931354 700bp 名: Ag124

700bp/700bp	配列	開始位置
前方	5'-CGCCCCTACAACCGCAT-3' (SEQ ID NO:108)	3070
700bp	FAM-5'- CCATAGAGTCAGCGTTTGACAATCCAACCT ACG-3'-TAMRA (SEQ ID NO:109)	3089
逆	5'-CTGCAAAGGAAAGAGATCCAGTC-3 (SEQ ID NO:110)	3123

【0359】

【表32】

Table 32 相対的発現レベル (表32-①)

組織名	相対的発現 (%)
内皮細胞	0.11
内皮細胞 (処置済)	0.07
膵臓	0.19
膵臓癌 CAPAN 2	0.07
脂肪	0
脂肪腺	0
甲状腺	0.01
唾液腺	0
下身体	0
脳 (胎児)	46.93
脳 (全体)	18.64
脳 (扁桃)	39.47
脳 (小脳)	70.04
脳 (海馬)	26
脳 (黒質)	11.08
脳 (視床)	29.78
脳 (視床下部)	12.08
脊髄	3.02
CNS 癌 (GF/星状) U87-MG	0.05
CNS 癌 (GF/星状) U-118-MG	0.05
CNS 癌 (星状) SW1783	0.07
CNS 癌* (神経; 癌物) SK-N-AS	0.05
CNS 癌 (星状) SF-539	0.05
CNS 癌 (星状) SNB-75	0.03
CNS 癌 (GF) SNB-19	7.12
CNS 癌 (GF) U251	2.65
CNS 癌 (GF) SF-295	0.03
心臓	0.02
骨格筋	0.04
骨髄	0.03
胸腺	0
脾臓	0.02
心臓	0.01
結腸 (上行)	0
胃	0
小腸	1.00
結腸癌 SW480	0.08
結腸癌* (SW480 癌物) SW620	0.08
結腸癌 HT29	0.07
結腸癌 HCT-116	0.14
結腸癌 CaCo-2	0.03
結腸癌 HCT-15	0
結腸癌 HCC-2998	0.05
胃癌* (肝臓癌物) NCI-N87	0.02
膀胱	0.01
腎臓	0.02
腎臓	0
腎臓 (胎児)	0

つぎあり

(つぎ)

(表22-②)

腎臓癌 786-0	0.04
腎臓癌 A498	0.03
腎臓癌 RXF 393	0.05
腎臓癌 ACHN	0.07
腎臓癌 UO-31	0.04
腎臓癌 TK-10	0.04
肝臓	0.01
肝臓(胎児)	0
肝臓癌(胚芽腫) HepG2	0.07
肺	0
肺(胎児)	0
肺癌(小細胞) LX-1	0.05
肺癌(小細胞) NCI-H69	100
肺癌(小細胞改変株) SHP-77	0.08
肺癌(大細胞) NCI-H460	0.08
肺癌(非小細胞) A549	0.03
肺癌(非小細胞) NCI-H23	0.04
肺癌(非小細胞) HOP-62	0.04
肺癌(非小細胞) NCI-H522	0.04
肺癌(扁平上皮) SW 900	0.01
肺癌(扁平上皮) NCI-H596	74.46
乳腺	0
乳癌*(胸水) MCF-7	0.03
乳癌*(胸水) MDA-MB-231	0.08
乳癌*(胸水) T47D	0.01
乳癌 BT-549	0.11
乳癌 MDA-N	0.04
卵巣	0.01
卵巣癌 OVCAR-3	0.04
卵巣癌 OVCAR-4	0.05
卵巣癌 OVCAR-5	0
卵巣癌 OVCAR-8	0
卵巣癌 IGROV-1	0.05
卵巣癌*(腹水) SK-OV-3	0.04
子宮	0
胎盤	0.07
前立腺	0
前立腺癌*(精嚢嚢) PC-3	0.11
精巣	0.28
黒色腫 Hs688(A).T	0.07
黒色腫*(嚢嚢) Hs688(B).T	0.04
黒色腫 UACC-62	0.11
黒色腫 MI4	0
黒色腫 LOX IMVI	0.03
黒色腫*(嚢嚢) SK-MEL-5	0.07
黒色腫 SK-MEL-28	0.03

(G. クローン7520500)

表33および表34は、それぞれ、クローン7520500のプライマー配列情報および相対発現結果を示す。クローン7520500によってコードされるタンパク質の発現分析結果は、表34に示される。クローン17931354で見出されたように、このクローン7520500によってコードされるタンパク質は、2つの肺癌細胞株においては顕著に検出されるが、正常な肺細胞においては検出されない。

【0360】

【表33】

表 33 遺伝子: 7520500

プロンプ名: Ag90

方向 / プロンプ	配列	開始位置
前方	5'-TTGGCCTGGACTGCTTCTTC-3' (SEQ ID NO:111)	977
プロンプ	TET-5' CATCTCTGTCTACCCTGGCTATGGCGTG-3'- TAMRA (SEQ ID NO:112)	999
逆	5'-AGGCTGATATTCTGGACCTTGATT-3' (SEQ ID NO:113)	1029

【0361】

【表34】

Table 34 相対的発現レベル (表34-D)

組織名	相対的発現 (%)
内皮細胞	0.07
内皮細胞 (処置済)	0.04
膵臓	0.22
膵臓癌 CAPAN 2	0.04
脂肪	0
脂肪腺	0
甲状腺	0
唾液腺	0
下垂体	0
脳 (総量)	90.94
脳 (全体)	23.47
脳 (扁桃)	49.07
脳 (小脳)	95.02
脳 (海馬)	47.9
脳 (黒質)	14.28
脳 (視床)	26.37
脳 (視床下部)	14.59
脊髄	3.05
CNS癌 (77P/星状) U87-MG	0.03
CNS癌 (77P/星状) U-118-MG	0.03
CNS癌 (星状) SW1783	0.04
CNS癌 * (神経: 線粒体) SK-N-AS	3.11
CNS癌 (星状) SF-539	0.03
CNS癌 (星状) SNB-75	0.02
CNS癌 (77P) SNB-19	7.73
CNS癌 (77P) U251	2.83
CNS癌 (77P) SF-295	0.02
心臓	0.01
骨格筋	0.03
骨髄	0.02
胸腺	0.12
脾臓	0.01
肝臓	0
結腸 (上行)	0.07
胃	0.2
小腸	0.9
結腸癌 SW480	0.57
結腸癌 * (SW480 転移) SW620	0.06

(つぎあり)

(つづき)

(表34-②)

結腸癌 HT29	0.04
結腸癌 HCT-116	0.09
結腸癌 CaCo-2	0.02
結腸癌 HCT-15	0
結腸癌 HCC-2998	0.03
胃癌 * (肝臓転移) NCI-N87	0.01
膀胱	0
気管	0.07
腎臓	0
腎臓 (胎児)	0
腎臓癌 786-D	0.03
腎臓癌 A498	0.02
腎臓癌 RXF 393	0.03
腎臓癌 ACHN	0.04
腎臓癌 UO-31	0.03
腎臓癌 TR-10	0.03
肝臓	0
肝臓 (胎児)	0
肝臓癌 (胚芽腫) HepG2	0.04
肺	0
肺 (胎児)	0
肺癌 (小細胞) LX-1	0.21
肺癌 (小細胞) NCI-H69	100
肺癌 (小細胞) SHP-77	0.06
肺癌 (大細胞) NCI-H460	0.06
肺癌 (非小細胞) A549	0.02
肺癌 (非小細胞) NCI-H23	0.03
肺癌 (非小細胞) HOP-62	0.03
肺癌 (非小細胞) NCI-H522	0.03
肺癌 (扁平上皮) SW 900	0
肺癌 (扁平上皮) NCI-H596	71.61
乳腺	0.04
乳癌 * (胸水) MCF-7	0.02
乳癌 * (胸水) MDA-MB-231	0.06
乳癌 * (胸水) T47D	0
乳癌 BT-549	0.07
乳癌 MDA-N	0.03
卵巣	0
卵巣癌 OVCAR-3	0.03
卵巣癌 OVCAR-4	0.03
卵巣癌 OVCAR-5	0
卵巣癌 OVCAR-8	0
卵巣癌 IGROV-1	0.03
卵巣癌 * (腹水) SK-OV-3	0.07
子宮	0.02
胎盤	0.02
前立腺	0
前立腺癌 * (腎臓転移) PC-3	0.07
精巣	0.49
黒色腫 Hs688(A).T	0.04
黒色腫 * (転移) Hs688(B).T	0.03
黒色腫 UACC-62	0.07
黒色腫 M14	0
黒色腫 LOX IMVI	0.02
黒色腫 * (転移) SK-MEL-5	0.05
黒色腫 SK-MEL-28	0.02

(H. クローン17941787)

表35および表36は、それぞれ、クローン17941787のプライマー配列情報および相対発現結果を示す。クローン17941787の発現分析結果は、合計2回の試験について表36に示される。これらの結果から、正常組織由来

の細胞と比較して、前立腺癌、卵巣癌、乳癌、肺癌、腎臓癌、CNS癌および膵臓癌の細胞株は、このクローンによってコードされるタンパク質を非常に高レベルまで過剰発現するようである。

【0362】

【表35】

表 35 遺伝子:17941787 プローブ名: Ag96

プライマー/プローブ	配列	開始位置
前方	5'-CCAAGTAGATGGGTCTGTTTGC-3' (SEQ ID NO:114)	1169
プローブ	FAM-5' CCCAGTTACCTCCACAGGGTATTTCCCA-3'- TAMRA (SEQ ID NO:115)	1194
逆	5'-CGACGCTGCTGCTCAGTATAAC-3 (SEQ ID NO:116)	1282

【0363】

【表36】

(表36. 相対発現レベル) (表36-0)

組織名	相対発現レベル tm226f	相対発現レベル tm341f
内皮細胞	17.05	2.44
内皮細胞 (処理後)	18.41	8.66
脾臓	2.11	0.72
脾臓癌 CAPAN2	24.36	9.32
脂肪	0.96	0.53
副腎	6.14	3.10
甲状腺	3.17	3.01
唾液腺	1.88	4.32
下垂体	10.32	8.02
脳 (胎児)	17.02	14.67
脳 (全体)	16.03	7.72
脳 (小脳扁桃)	11.84	9.91
脳 (小脳)	40.7	4.52
脳 (海馬)	32.22	8.09
脳 (黒質)	5.2	6.71
脳 (視床)	7.40	4.38
脳 (視床下部)	13.29	14.33
脊髄	2.64	0.79
CNS癌 (グリオ/星状) U87-MG	30.88	20.08
CNS癌 (グリオ/星状) U-118-MG	22.97	19.29
CNS癌 (星状) SW1783	38.58	21.16
CNS癌* (神経; 転移) SK-N-AS	36.05	19.95
CNS癌 (星状) SF-539	51.50	34.64
CNS癌 (星状) SNB-75	53.55	38.64
CNS癌 (グリオ) SNB-19	12.18	8.24
CNS癌 (グリオ) U251	11.19	2.86
CNS癌 (グリオ) SF-295	19.53	15.51
心臓	16.96	16.47
骨格筋	12.06	11.6
骨髄	2.46	1.28
胸腺	32.30	26.66
脾臓	3.34	3.01
リンパ節	2.83	0.84
結腸 (上行)	2.94	1.77
胃	3.37	4.68
小腸	2.54	1.16
結腸癌 SW480	6.89	2.15
結腸癌* (SW480転移) SW620	5.33	2.15
結腸癌 HT29	2.54	1.9
結腸癌 HCT-116	0.12	2.75

(つぎへ)

(表36-②)

結腸癌 CaCo-2	1.42	1.28
結腸癌 HCT-15	5.27	6.12
結腸癌 HCC-2998	9.64	3.51
胃癌* (肝臓転移) NCI-N87	0.05	0.97
膀胱	4.61	15.56
気管	2.32	1.07
腎臓	3.02	2.22
腎臓 (胎児)	7.09	7.79
腎臓癌 786-0	60.36	54.60
腎臓癌 A498	56.19	55.98
腎臓癌 RXF 393	64.31	40.17
腎臓癌 ACHN	26.56	10.79
腎臓癌 UO-31	40.15	34.17
腎臓癌 TK-10	29.97	29.62
肝臓	2.85	0.84
肝臓 (胎児)	2.98	1.11
肝臓癌 (胚芽腫) HepG2	1.08	1.9
肺	0.63	1.11
肺 (胎児)	5.12	5.17
肺癌 (小細胞) LX-1	1.79	1.67
肺癌 (小細胞) NCI-H69	15.89	9.41
肺癌 (小細胞改変体) SHP-77	0.07	33.53
肺癌 (大細胞) NCI-H460	0.07	89.67
肺癌 (非小細胞) A549	16.79	14.19
肺癌 (非小細胞) NCI-H23	14.39	15.32
肺癌 (非小細胞) HOP-62	29.37	34.17
肺癌 (非小細胞) NCI-H552	39.60	27.12
肺癌 (扁平上皮) SW900	19.37	11.97
肺癌 (扁平上皮) NCI-H596	25.10	32.49
乳腺	45.51	2.4
乳癌 (胸水) MCF-7	4.40	1.28
乳癌 (胸水) MDA-MB-231	30.44	17.22
乳癌 (胸水) T47D	4.57	0.84
乳癌 BT-549	0.1	62.45
乳癌 MDA-N	33.64	20.95
卵巢	3.10	0.84
卵巢癌 OVCAR-3	7.24	8.09
卵巢癌 OVCAR-4	9.01	2.8
卵巢癌 OVCAR-5	17.02	22.21
卵巢癌 OVCAR-8	25.23	17.55
卵巢癌 IGCAV-1	6.61	1.67
卵巢癌* (腹水) SK-OV-3	31.43	21.38
子宮	2.19	3.82
胎盤	3.93	0.87
前立腺	2.45	4.29

(つぎへ)

(表36-③)

前立腺癌(骨転移) PC-3	0.1	100
精巣	7.31	8.11
黒色腫 Hs688(A).T	46.5	17.44
黒色腫*(転移) Hs688(B).T	44.76	15.85
黒色腫 UACC-62	17.05	4.72
黒色腫 M14	35.18	16.49
黒色腫 LOX IMVI	91.46	68.77
黒色腫*(転移) SK-MEL-5	56.41	17.56
黒色腫 SK-MEL-28	100	86.85

(I. クローン16467945)

表37および表38は、それぞれ、クローン16467945のプライマー配列情報および相対発現結果を示す。クローン16467945の組織発現分析は、表38に示される。これらの結果は、このクローンにコードされるタンパク質は、乳癌、卵巣癌、腎臓癌および結腸癌由来の特定の細胞株において高度に過剰発現されることを示す。さらに、コードされたタンパク質は、正常肺細胞と共に、肺癌細胞株において強度に抑制されることが見出される。

【0364】

【表37】

表37 遺伝子: 16467945 700-7"名 Ag94

700-7"/700-7"	配列	開始位置
前方	5'-CCACCTACAACCCCAGAAAGG-3' (SEQ ID NO:117)	1491
700-7"	FAM-5'- CAACCACCGGACTGACAACTATAGCACCA G-3'-TAMRA (SEQ ID NO:118)	1460
逆	5'-TGTAATCCCTCCTGGAGGTGTAC-3' (SEQ ID NO:119)	1431

【0365】

【表38】

(表38. 相対発現レベル) (表38-①)

組織名	相対発現レベル (%)
内皮細胞	0.03
内皮細胞 (処理後)	0.07
膵臓	14.47
膵臓癌 CAPAN2	0.52
脂肪	0.65
副腎	1.79
甲状腺	75.56
唾液腺	2.06
下垂体	4.64
脳 (胎児)	9.1
脳 (全体)	1.06
脳 (小脳扁桃)	1.21
脳 (小脳)	0.2
脳 (海馬)	1.83
脳 (黒質)	3.07
脳 (視床)	0.8
脳 (視床下部)	14.83
脊髄	3.7
CNS癌 (グリオ/星状) U87-MG	0.01
CNS癌 (グリオ/星状) U-118-MG	0.01
CNS癌 (星状) SW1783	0.13
CNS癌* (神経; 転移) SK-N-AS	0.01
CNS癌 (星状) SF-539	1.35
CNS癌 (星状) SNB-75	0.27
CNS癌 (グリオ) SNB-19	0.02
CNS癌 (グリオ) U251	0.8
CNS癌 (グリオ) SF-295	0.18
心臓	1.88
骨格筋	1.67
骨髄	0.53
胸腺	6.75
脾臓	3.70
リンパ節	1.01
結腸 (上行)	2.94
胃	4.22
小腸	11.51
結腸癌 SW480	0.24
結腸癌* (SW480転移) SW620	0.02
結腸癌 HT29	13.33
結腸癌 HCT-116	0.03
結腸癌 CaCo-2	21.94
結腸癌 HCT-15	18.32

(つぎあり)

(表38-②)

結腸癌 HCC-2998	5.13
胃癌* (肝臓転移) NCI-N87	31.33
膀胱	1.33
気管	3.63
腎臓	12.37
腎臓 (胎児)	19.3
腎臓癌 786-0	0
腎臓癌 A498	0.12
腎臓癌 RXF 393	15.07
腎臓癌 ACHN	70.06
腎臓癌 UO-31	0.1
腎臓癌 TK-10	0
肝臓	1.46
肝臓 (胎児)	1.11
肝臓癌 (胚芽腫) HepG2	10.01
肺	21.48
肺 (胎児)	29.57
肺癌 (小細胞) LX-1	3.23
肺癌 (小細胞) NCI-H69	7.75
肺癌 (小細胞改変体) SHP-77	0.02
肺癌 (大細胞) NCI-H460	0.02
肺癌 (非小細胞) A549	1.16
肺癌 (非小細胞) NCI-H23	2.16
肺癌 (非小細胞) HOP-62	0
肺癌 (非小細胞) NCI-H552	0
肺癌 (扁平上皮) SW900	0.85
肺癌 (扁平上皮) NCI-H596	13.15
乳腺	7.04
乳癌 (胸水) MCF-7	100
乳癌 (胸水) MDA-MB-231	0.02
乳癌 (胸水) T47D	26.53
乳癌 BT-549	0.03
乳癌 MDA-N	0.02
卵巣	3.51
卵巣癌 OVCAR-3	1.86
卵巣癌 OVCAR-4	0.10
卵巣癌 OVCAR-5	0
卵巣癌 OVCAR-8	0.50
卵巣癌 IGCAV-1	22.26
卵巣癌* (腹水) SK-OV-3	11.13
子宮	17.51
胎盤	1.27
前立腺	7.63
前立腺癌 (骨転移) PC-3	0.03
精巣	1.13

(つぎあり)

(表38-③)

黒色腫 Hs 688 (A) . T	0. 02
黒色腫* (転移) Hs 688 (B) . T	0
黒色腫 UACC-62	0. 03
黒色腫 M14	0
黒色腫 LOX IMVI	0. 02
黒色腫* (転移) SK-MEL-5	0. 02
黒色腫 SK-MEL-28	0

(実施例16:クローン11692010.0.51によってコードされるタンパク質、PRO3核酸によるセリンプロテアーゼ活性の阻害)

ヒト胚腎臓(HEK)293細胞を、10%ウシ胎児血清を含むDulbeccoの改変イーグル培地(DMEM)中で約90%のコンフルエンスまで増殖させた。これらの細胞を、メーカーの仕様書に従って、pCEP4/Sec(モックトランスフェクションベクター)またはpCEP4/Sec-11692010(実施例6、前出を参照のこと)で、Lipofectamine 2000(登録商標)(Gibco/BRL/Life Technologies, Rockville, MD)を使用してトランスフェクトした。トランスフェクトした細胞を、DMEMと共に2日間インキュベートし、次いで馴化培地を細胞上清を収集することによって調製した。

【0366】

この馴化培地を、6×Hisタンパク質融合の精製のために意図される、TALON(登録商標)メタルアフィニティークロマトグラフィー(Clontech; Palo Alto, CA)によって濃縮した。簡潔には、この手順は以下のとおりであった。数mlの馴化培地を1mlのTALON(登録商標)メタルアフィニティー樹脂と共にスピнкаラム中でインキュベートした。このスピнкаラムを初めに1mlのリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で2回洗浄した。次いで、このカラムを0.65mlのPBS/0.5Mイミダゾール(pH8.0)で2回溶出し、そして溶出液をプールした。イミダゾールを、Microcon(登録商標)遠心分離フィルターデバイス(Millipore Corp.; Bedford, MA)を使用して緩衝液交換透析によってPBSに除去した。11692010遺伝子産物を濃縮した馴化培地を4で貯蔵した。

【0367】

この11692010遺伝子産物のプロテアーゼ活性を阻害する能力を決定するために、コードされたタンパク質を異なる2つのアリコートサイズ(すなわち、257 μ lおよび50 μ l)で、約350ngの酵素を含有する標準希釈のトリプシンに添加した。得られた混合物および適切な陽性コントロールおよび陰性コントロール(すなわち、それぞれ、血清およびモックトランスフェクション由来の馴化培地)を、次いで、PDQ Protease Assay™(Athena Environmental Sciences, Inc.; Baltimore, MD)を使用して、トリプシン活性についてアッセイした。簡潔には、このアッセイは、特許の物質(すなわち、タンパク質および色素-タンパク質結合体を含む架橋マトリクス)を使用する比色アッセイであり、そして広範なプロテアーゼを同定し得る。プロテアーゼ活性および推定阻害物質を含む試験サンプルを、バイアルに等分し、そして37℃で8時間インキュベートした。プロテアーゼ活性を、分光光度計で450nmで検出し、酵素活性が増加するにつれて光学密度が増加した。

【0368】

図8に示される結果は、25 μ lの濃縮された馴化培地の添加に対応する50%阻害レベルで、11692010遺伝子産物がトリプシンを阻害することを示す。この50%のレベルは、モックトランスフェクションによる馴化培地を添加しないか、または添加しているトリプシンに関連する。

【0369】

クローン11692010.0.51タンパク質に対して幾分かの類似性を示すタンパク質は、以下のために潜在的に有用であると考えられる:(i)増殖の刺激およびケラチノサイトの運動性;(ii)癌細胞(例えば、黒色腫)の増殖の阻害;(iii)新脈管形成および腫瘍血管新生の変調;(iv)皮膚炎症の変調;および(v)上皮細胞増殖の変調。

【0370】

さらに、クローン11692010.0.51によってコードされるタンパク質はまた、フィブロモジュリン(細胞外マトリクスの再造形を潜在的に調節する

タンパク質)に対するある程度の類似性を有する。本明細書中に開示されるように、クローン11692010.0.51によってコードされるタンパク質は、プロテアーゼ活性を阻害し、このタンパク質はまた、腫瘍細胞転移および侵襲を阻害するように作用し得ることが可能であることがここで示される。

【0371】

(実施例17:クローン20468752.0.18-Uによってコードされるタンパク質、PRO2核酸によるNHost細胞の増殖の誘発)

ヒト一次骨芽細胞(NHost; Clonetics; San Diego, CA)を、40%のコンフルエンスでプレートし、そして10%ウシ胎児血清または10%ウシ血清を補充したDMEM中で24時間培養した。この培養培地を除去し、そしてpCEP4/Sec-20468752(実施例4、前出を参照のこと)またはpCEP4/Sec(モックトランスフェクションベクター; 実施例3、前出を参照のこと)を使用して、トランスフェクションを行ったこと以外は、実施例16に記載されるように調製した等量の濃縮馴化培地と共に再びプレート下した。約48時間後、この細胞をZeiss Axiovert 100で撮影した。次いで、トリプシン処理し、続いてCoulter Z1 Particle Counterを使用してカウントすることによって、細胞数を決定した。

【0372】

NHost細胞を、20468752.0.18-UでトランスフェクトしたHEK293細胞由来の馴化培地で処理することによって、モックトランスフェクションと比較して、2日間にわたって細胞数は2倍に増加した(図9を参照のこと)。関係のない増殖因子を含む陰性コントロールで処理した細胞は、増殖を示さなかった(図9)。

【0373】

(他の実施形態)

本発明は、その詳細な説明と共に記載されてきたが、上記の記載は、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲を例示し、制限することは意図しない。他の局面、利点および改変は、本発明の範囲内である。

【図面の簡単な説明】**【図1】**

図1は、クローン17931354.0.35.1および17931354.0.35.2によってコードされるタンパク質のアラインメントである。

【図2】

図2は、クローン7520500.0.54__1；クローン7520500.0.54__2；クローン7520500.0.54__3；クローン7520500.0.54__4；およびクローン7520500.0.21によってコードされるタンパク質のアラインメントである。

【図3】

図3は、HEK293細胞における20468752.0.18-Uタンパク質の発現を示す、ゲル電気泳動図である。

【図4】

図4は、HEK293細胞における11692010.0.51タンパク質の発現を示す、電気泳動図である。

【図5】

図5は、HEK293細胞における27835981.0.1タンパク質の発現を示す、電気泳動図である。

【図6】

図6は、HEK293細胞における21399247.0.1タンパク質の発現を示す、電気泳動図である。

【図7】

図7は、HEK293細胞における17941787.0.1タンパク質の発現を示す、電気泳動図である。

【図8】

図8は、クローン11692010.0.51によってコードされるタンパク質による、トリプシン活性の阻害を示す棒グラフである。

【図9】

図9は、クローン20468752.0.18-Uによってコードされるタン

パク質によって誘導されるNH_ost細胞の増殖を示すグラフである。

【図1】

```

cura_58_17931354.0.35.1 (SEQ ID NO: 14)
cura_58_17931354.0.35.2 (SEQ ID NO: 16)

cura_58_179313540351 MRPVALLLLPSLLALLAHGLSLEAPTVGKGQAPGIEETDGELTAAPTPEQPERGVHFVTT
cura_58_179313540352 MRPVALLLLPSLLALLAHGLSLEAPTVGKGQAPGIEETDGELTAAPTPEQPERGVHFVTT

cura_58_179313540351 APTLKLNNHHPLLEEFLOEGLKGEDEELRPALPFQDPPAPFTPSPLPRLANQDSRPVFT
cura_58_179313540352 APTLKLNNHHPLLEEFLOEGLKGEDEELRPALPFQDPPAPFTPSPLPRLANQDSRPVFT

cura_58_179313540351 SPTPAMA AVPTQPQSKGFWSPSESPMLRITAPLPPGPSMAVPTLGPGEIASTTTPPSRA
cura_58_179313540352 SPTPAMA AVPTQPQSKGFWSPSESPMLRITAPLPPGPSMAVPTLGPGEIASTTTPPSRA

cura_58_179313540351 WTPTQEGPGDMGRPWVAEVVVSQGAGIGIQGTITSSTASGDDEETTTTTITTTITTVQT
cura_58_179313540352 WTPTQEGPGDMGRPWVAEVVVSQGAGIGIQGTITSSTASGDDEETTTTTITTTITTVQT

cura_58_179313540351 PGPCSWNFSGPEGSLSPTDLSSTPDVGLDCFFYISVYPGYVEIKVQNISLREGETVTV
cura_58_179313540352 PGPCSWNFSGPEGSLSPTDLSSTPDVGLDCFFYISVYPGYVEIKVQNISLREGETVTV

cura_58_179313540351 EGLGGPDPLPLANQSFLLRGQVIRSPTHQAALRFQSLPPPAGPGTFHFHYQAYLLSCHFP
cura_58_179313540352 EGLGGPDPLPLANQSFLLRGQVIRSPTHQAALRFQSLPPPAGPGTFHFHYQAYLLSCHFP

cura_58_179313540351 RRQAYEDVTVTSIHPPGGSARFHCATGYQLKGARHLTCLNATQPIWDSKEPVCIAACGGVI
cura_58_179313540352 RRQAYEDVTVTSIHPPGGSARFHCATGYQLKGARHLTCLNATQPIWDSKEPVCIAACGGVI

cura_58_179313540351 RNATTGRIVSPGFPNGYSNNLTCHWLLLEAPEGQRLHLHLFEKVS LAEDDDR LIIRNGDNVE
cura_58_179313540352 RNATTGRIVSPGFPNGYSNNLTCHWLLLEAPEGQRLHLHLFEKVS LAEDDDR LIIRNGDNVE

cura_58_179313540351 APPVYDSYEVEYLP IEGLLSSGKHFVVELSTDSSGAAAGMALRYEAFQQGHCEYEPFVKYG
cura_58_179313540352 APPVYDSYEVEYLP IEGLLSSGKHFVVELSTDSSGAAAGMALRYEAFQQGHCEYEPFVKYG

cura_58_179313540351 NFSSSTPTYVPGTTVEFSCDPGYTLEQGSIIIECVDPHDPQWNETEPACRAVCSGEITDS
cura_58_179313540352 NFSSSTPTYVPGTTVEFSCDPGYTLEQGSIIIECVDPHDPQWNETEPACRAVCSGEITDS

cura_58_179313540351 AGVVLSPNWPEPYSRQDCI WGVHVEEDKRIMLDIRVLRIGPGDVLTFYDGDLLTARVLG
cura_58_179313540352 AGVVLSPNWPEPYSRQDCI WGVHVEEDKRIMLDIRVLRIGPGDVLTFYDGDLLTARVLG

cura_58_179313540351 QYSGPRSHFKLFTSMADV TIQFQSDPGT SVLGYQQGFVIHF FEVPRNDTCPELPEIPNGW
cura_58_179313540352 QYSGPRSHFKLFTSMADV TIQFQSDPGT SVLGYQQGFVIHF FEVPRNDTCPELPEIPNGW

cura_58_179313540351 KSPSQPELVHGTVVVTYQCYPGYQVVGSSVLMCQWDLT WSEDLPSCQRVTSCHDPGDVEHS
cura_58_179313540352 KSPSQPELVHGTVVVTYQCYPGYQVVGSSVLMCQWDLT WSEDLPSCQRVTSCHDPGDVEHS

cura_58_179313540351 RRLISSPKFPVGATVQYICDQGFVLTGSSILTCHDRQAGSPKWS DRAPKCLLEQLKPCHG
cura_58_179313540352 RRLISSPKFPVGATVQYICDQGFVLTGSSILTCHDRQAGSPKWS DRAPKCLLEQLKPCHG

cura_58_179313540351 LSAPENGARSPEKQLHPAGATIHFSCAPGYVLKGQASIKCVPGHPSEWSDPPPICRAASL
cura_58_179313540352 LSAPENGARSPEKQLHPAGATIHFSCAPGYVLKGQASIKCVPGHPSEWSDPPPICRAASL

cura_58_179313540351 DGFYNSRSLDVAKAPAASSTLDAAHIAAAIFLPLVAMVLLVGGVYFYFSRLQGKSSLQLP
cura_58_179313540352 DGFYNSRSLDVAKAPAASSTLDAAHIAAAIFLPLVAMVLLVGGVYFYFSRLQGKSSLQLP

cura_58_179313540351 RPRRPRYNRITIESAFDNPTYETGETREYEVSI-
cura_58_179313540351 RPRRPRYNRITIESAFDNPTYETGSLSFAGDERI

```

Fig. 1

【図2】

```

7520500.0.54.3_Cura_59 .....MRPVALLLEPSLEALLAHGL
7520500.0.54.2_Cura_59 .....MRPVALLLEPSLEALLAHGL
7520500.0.54.1_Cura_59 .....MRPVALLLEPSLEALLAHGL
7520500.0.54.4_Cura_59 RLRPRSLYPAGFGSAPAPKPHQAPRPPAAVPAQGAAATSTMRPVALLLEPSLEALLAHGL
7520500.0.21_Cura_59 RLRPRSLYPAGFGSAPAPKPHQAPRPPAAVPAQGAAATSTMRPVALLLEPSLEALLAHGL

7520500.0.54.3_Cura_59 SLEAPTVGKGOAPGLEETDGETAAPTPEQPERGVHEVTTAPTCLKLNHHPLLEEFFLQEG
7520500.0.54.2_Cura_59 SLEAPTVGKGOAPGLEETDGETAAPTPEQPERGVHEVTTAPTCLKLNHHPLLEEFFLQEG
7520500.0.54.1_Cura_59 SLEAPTVGKGOAPGLEETDGETAAPTPEQPERGVHEVTTAPTCLKLNHHPLLEEFFLQEG
7520500.0.54.4_Cura_59 SLEAPTVGKGOAPGLEETDGETAAPTPEQPERGVHEVTTAPTCLKLNHHPLLEEFFLQEG
7520500.0.21_Cura_59 SLEAPTVGKGOAPGLEETDGETAAPTPEQPERGVHEVTTAPTCLKLNHHPLLEEFFLQEG

7520500.0.54.3_Cura_59 LEKGDDEELRPALPFQDDPPAPETPSPLPRLANODSRPVFTSPTPAMAAVFTOPQSKEGPW
7520500.0.54.2_Cura_59 LEKGDDEELRPALPFQDDPPAPETPSPLPRLANODSRPVFTSPTPAMAAVFTOPQSKEGPW
7520500.0.54.1_Cura_59 LEKGDDEELRPALPFQDDPPAPETPSPLPRLANODSRPVFTSPTPAMAAVFTOPQSKEGPW
7520500.0.54.4_Cura_59 LEKGDDEELRPALPFQDDPPAPETPSPLPRLANODSRPVFTSPTPAMAAVFTOPQSKEGPW
7520500.0.21_Cura_59 LEKGDDEELRPALPFQDDPPAPETPSPLPRLANODSRPVFTSPTPAMAAVFTOPQSKEGPW

```

Fig. 2

【図2-1】

7520500.0.54.3_Cura_59 (SEQ ID NO:22)
7520500.0.54.2_Cura_59 (SEQ ID NO:20)
7520500.0.54.1_Cura_59 (SEQ ID NO:18)
7520500.0.54.4_Cura_59 (SEQ ID NO:24)
7520500.0.21_Cura_59 (SEQ ID NO:20)

7520500.0.54.3_Cura_59 SPSESPLRRTITAPLPPGSPMAVETLGPGETASTTPPSRAWPTQEGPGDMGRPWVAEVV
7520500.0.54.2_Cura_59 SPSESPLRRTITAPLPPGSPMAVETLGPGETASTTPPSRAWPTQEGPGDMGRPWVAEVV
7520500.0.54.1_Cura_59 SPSESPLRRTITAPLPPGSPMAVETLGPGETASTTPPSRAWPTQEGPGDMGRPWVAEVV
7520500.0.54.4_Cura_59 SPSESPLRRTITAPLPPGSPMAVETLGPGETASTTPPSRAWPTQEGPGDMGRPWVAEVV
7520500.0.21_Cura_59 SPSESPLRRTITAPLPPGSPMAVETLGPGETASTTPPSRAWPTQEGPGDMGRPWVAEVV

7520500.0.54.3_Cura_59 SQGAGIGIQGTTTSSSTASGDDEETTTTTTITTTTTITVOTPPGCSWNFSGPGSLDSPTD
7520500.0.54.2_Cura_59 SQGAGIGIQGTTTSSSTASGDDEETTTTTTITTTTTITVOTPPGCSWNFSGPGSLDSPTD
7520500.0.54.1_Cura_59 SQGAGIGIQGTTTSSSTASGDDEETTTTTTITTTTTITVOTPPGCSWNFSGPGSLDSPTD
7520500.0.54.4_Cura_59 SQGAGIGIQGTTTSSSTASGDDEETTTTTTITTTTTITVOTPPGCSWNFSGPGSLDSPTD
7520500.0.21_Cura_59 SQGAGIGIQGTTTSSSTASGDDEETTTTTTITTTTTITVOTPPGQLPAGLQMKWGWGRLRG

7520500.0.54.3_Cura_59 LSSPTDVGLDCFFYISVVPYGVVEIKVONISLREGETVIVEGLGGPDPPIPLANQSEFLRG
7520500.0.54.2_Cura_59 LSSPTDVGLDCFFYISVVPYGVVEIKVONISLREGETVIVEGLGGPDPPIPLANQSEFLRG
7520500.0.54.1_Cura_59 LSSPTDVGLDCFFYISVVPYGVVEIKVONISLREGETVIVEGLGGPDPPIPLANQSEFLRG
7520500.0.54.4_Cura_59 LSSPTDVGLDCFFYISVVPYGVVEIKVONISLREGETVIVEGLGGPDPPIPLANQSEFLRG
7520500.0.21_Cura_59 P-----

7520500.0.54.3_Cura_59 QVTRSETHOALRFQSLPPFAGPGTFHFHYQAYLLSCHFRRPAYGDVIVTSLHPGGSAR
7520500.0.54.2_Cura_59 QVTRSETHOALRFQSLPPFAGPGTFHFHYQAYLLSCHFRRPAYGDVIVTSLHPGGSAR
7520500.0.54.1_Cura_59 QVTRSETHOALRFQSLPPFAGPGTFHFHYQAYLLSCHFRRPAYGDVIVTSLHPGGSAR
7520500.0.54.4_Cura_59 QVTRSETHOALRFQSLPPFAGPGTFHFHYQAYLLSCHFRRPAYGDVIVTSLHPGGSAR
7520500.0.21_Cura_59 -----

7520500.0.54.3_Cura_59 FHCATGYOLKGRHLTCLNATOPFWDKPEVCIACGGVIRNGTIGRIVSPGFPGNYSNN
7520500.0.54.2_Cura_59 FHCATGYOLKGRHLTCLNATOPFWDKPEVCIACGGVIRNGTIGRIVSPGFPGNYSNN
7520500.0.54.1_Cura_59 FHCATGYOLKGRHLTCLNATOPFWDKPEVCIACGGVIRNGTIGRIVSPGFPGNYSNN
7520500.0.54.4_Cura_59 FHCATGYOLKGRHLTCLNATOPFWDKPEVCIACGGVIRNGTIGRIVSPGFPGNYSNN
7520500.0.21_Cura_59 -----

7520500.0.54.3_Cura_59 LTCHWLEAPEGORLHLHFEKVSIAEDDDRLITRNGDNVEAPPVYDSYEVYPPRRPRYN
7520500.0.54.2_Cura_59 LTCHWLEAPEGORLHLHFEKVSIAEDDDRLITRNGDNVEAPPVYDSYEVYPPRRPRYN
7520500.0.54.1_Cura_59 LTCHWLEAPEGORLHLHFEKVSIAEDDDRLITRNGDNVEAPPVYDSYEVYPPRRPRYN
7520500.0.54.4_Cura_59 LTCHWLEAPEGORLHLHFEKVSIAEDDDRLITRNGDNVEAPPVYDSYEVYPPRRPRYN
7520500.0.21_Cura_59 -----

7520500.0.54.3_Cura_59 RITTESAFDNFTYETGETREYEVSI
7520500.0.54.2_Cura_59 RITTESAFDNFTYETGETREYEVSI
7520500.0.54.1_Cura_59 RITTESAFDNFTYETGETREYEVSI
7520500.0.54.4_Cura_59 RITTESAFDNFTYETGSLSFAGDERI
7520500.0.21_Cura_59 -----

Fig. 2 (CONTINUED)

【図3】

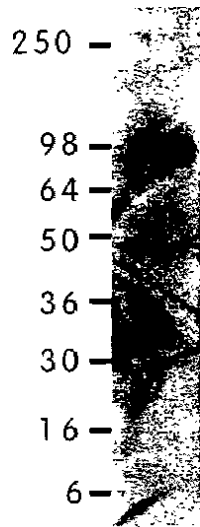


Fig. 3

【図4】

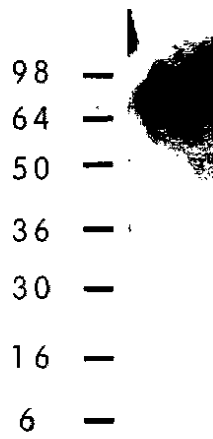


Fig. 4

【図5】

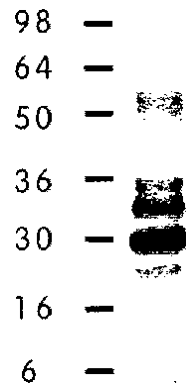


Fig. 5

【図6】

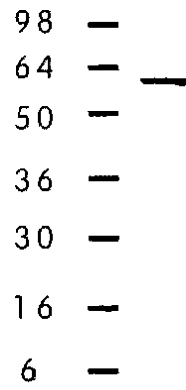


Fig. 6

【図7】

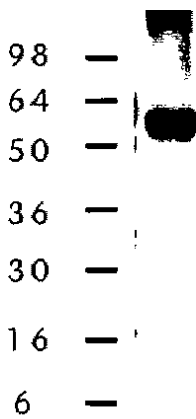
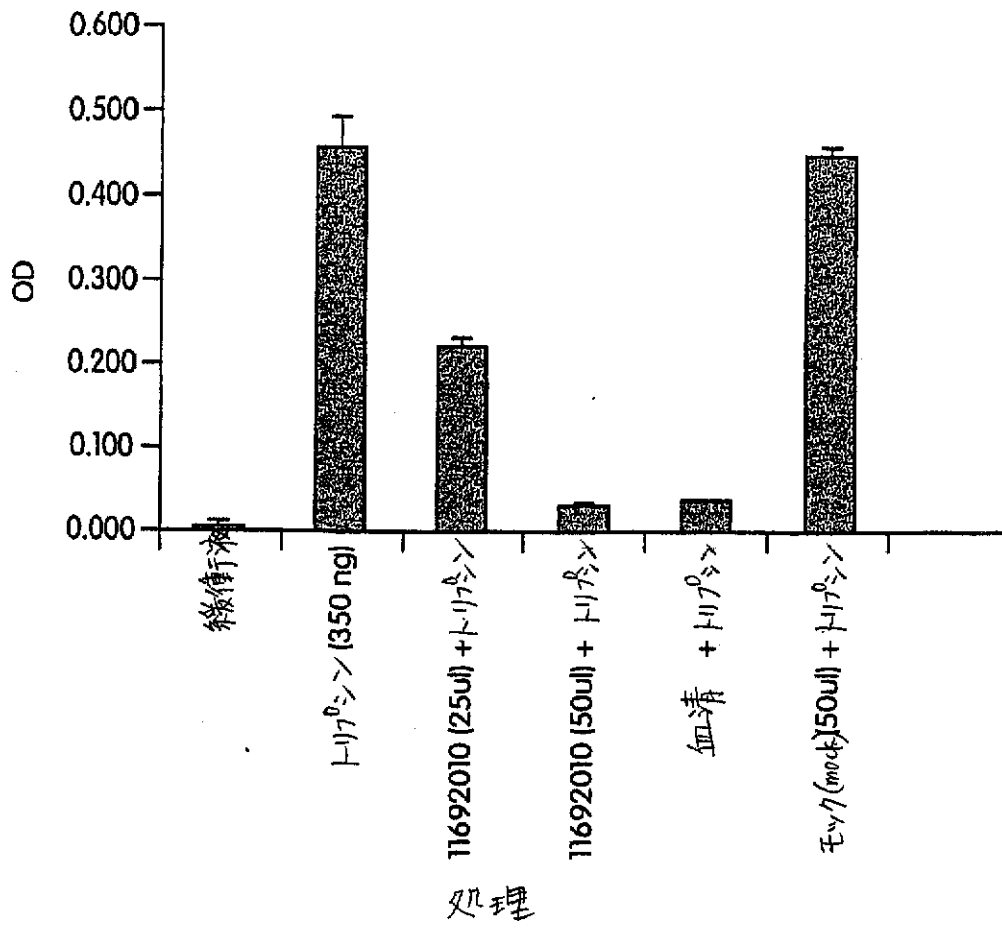
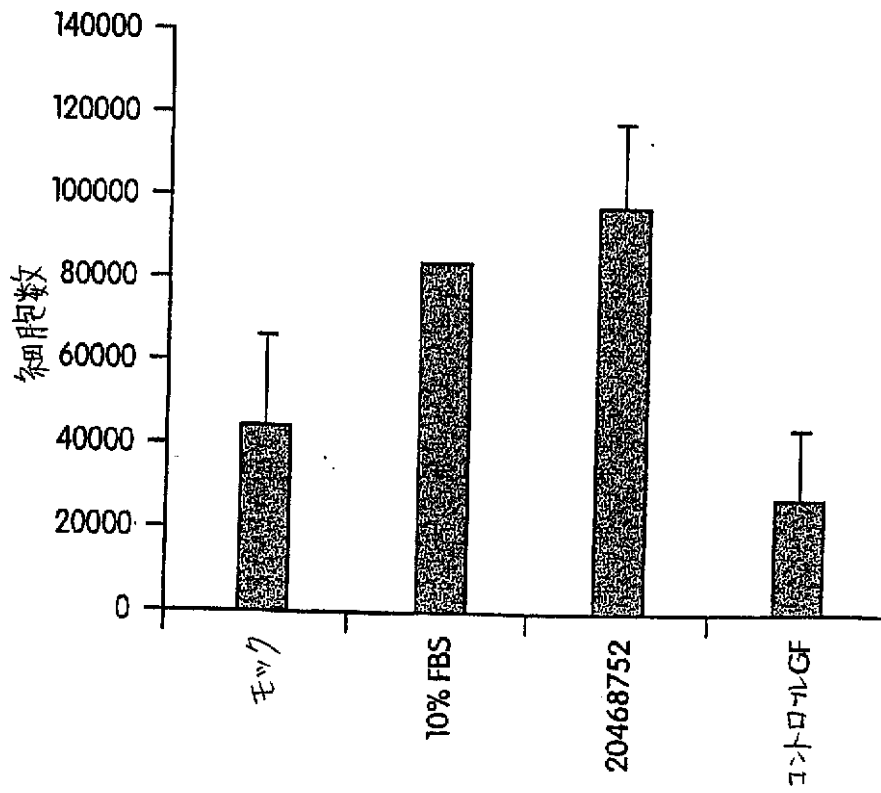


Fig. 7

【図8】



【図9】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International Application No PCT/US 00/21857
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12N15/12 C07K14/47 C12N15/63 A61K38/00 A61K48/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C12N C07K A61K		
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) EPD-Internal, EMBL, PAJ, WPI Data, MEDLINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 97 07198 A (GENETICS INST) 27 February 1997 (1997-02-27) page 1 -page 11 ---	1-41
Y	WO 98 25959 A (CHIRON CORP) 18 June 1998 (1998-06-18) page 21, line 23 -page 25, line 22 ---	1-41
Y	WO 99 05256 A (HARVARD COLLEGE) 4 February 1999 (1999-02-04) page 2, line 17 -page 4, line 4 ---	1-41
Y	WO 98 45712 A (HUMAN GENOME SCIENCES INC) 15 October 1998 (1998-10-15) page 2 -page 5; claims 1-23 ---	1-41
	-/--	
<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 8 March 2001		Date of mailing of the international search report 09.03.01
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Nichogiannopoulou, A

2

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Internat'l Application No
 PCT/US 00/21857

C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JACOBS K A ET AL: "A genetic selection for isolating cDNAs encoding secreted proteins" GENE, vol. 198, no. 1-2, 1 October 1997 (1997-10-01), pages 289-296, XP004116069 ISSN: 0378-1119 the whole document ---	1-14
Y	SHIROZU M ET AL: "CHARACTERIZATION OF NOVEL SECRETED AND MEMBRANE PROTEINS ISOLATED BY THE SIGNAL SEQUENCE TRAP METHOD" GENOMICS, vol. 37, no. 3, 1 November 1996 (1996-11-01), pages 273-280, XP002054773 ISSN: 0888-7543 the whole document ---	1-14
X	WO 99 06550 A (GENSET (FR)) 11 February 1999 (1999-02-11) the whole document & DATABASE EMBL [Online] Y11743, 18 June 1999 (1999-06-18) DUCLERT A ET AL: "Human 5' EST secreted protein SEQ ID No: 343" Protein with 97% identity with SEQ ID No: 2 over 103 aa abstract ---	1-14
P,X	WO 99 63088 A (GENENTECH INC (US)) 9 December 1999 (1999-12-09) cited in the application PRO1344 has 99.5% identity with SEQ ID No 2 over 565 aa and 99.7% identity with SEQ ID No:1 over 1766 nt the whole document ---	1-41
X	DATABASE EMBL [Online] HSM013345, 13 March 1999 (1999-03-13) DUESTERHOEFT A. ET AL.: "Homo sapiens mRNA; EST" XP002155624 EST with 96% identity with SEQ ID No: 1 over 702 nt abstract -----	5-14

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 00/21857**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 claim(s) 23-28 and 36-41 are directed to a diagnostic method practised on the human/animal body, or to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.:
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:
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.:
1-41 all partially

Remark on Protest

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

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. Claims: claims 1-41 all partially

Polypeptides and variants thereof, nucleic acids and variants thereof, vectors and host cells comprising the same, antibodies, diagnostic and therapeutic methods, pharmaceutical compositions and kits relating to PRO1 (SEQ ID NOs: 1 and 2).

2. Claims: claims 1-41 all partially

As subject 1 but relating to PRO2 (SEQ ID NOs: 3 and 4).

3. Claims: claims 1-41 all partially

As subject 1 but relating to PRO3 (SEQ ID NOs: 5 and 6).

4. Claims: claims 1-41 all partially

As subject 1 but relating to PRO4 (SEQ ID NOs: 7 and 8).

5. Claims: claims 1-41 all partially

As subject 1 but relating to PRO5 (SEQ ID NOs: 9 and 10).

6. Claims: claims 1-41 all partially

As subject 1 but relating to PRO6 (SEQ ID NOs: 11 and 12).

7. Claims: claims 1-41 all partially

As subject 1 but relating to PRO7 (SEQ ID NOs: 13 and 14).

8. Claims: claims 1-41 all partially

As subject 1 but relating to PRO8 (SEQ ID NOs: 15 and 16).

9. Claims: claims 1-41 all partially

As subject 1 but relating to PRO9 (SEQ ID NOs: 17 and 18).

10. Claims: claims 1-41 all partially

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

As subject 1 but relating to PRO10 (SEQ ID NOs: 19 and 20).

11. Claims: claims 1-41 all partially

As subject 1 but relating to PRO11 (SEQ ID NOs: 21 and 22).

12. Claims: claims 1-41 all partially

As subject 1 but relating to PRO12 (SEQ ID NOs: 23 and 24).

13. Claims: claims 1-41 all partially

As subject 1 but relating to PRO13 (SEQ ID NOs: 25 and 26).

14. Claims: claims 1-41 all partially

As subject 1 but relating to PRO14 (SEQ ID NOs: 27 and 28).

15. Claims: claims 1-41 all partially

As subject 1 but relating to PRO15 (SEQ ID NOs: 29 and 30).

16. Claims: claims 1-41 all partially

As subject 1 but relating to PRO16 (SEQ ID NOs: 31 and 32).

17. Claims: claims 1-41 all partially

As subject 1 but relating to PRO17 (SEQ ID NOs: 33 and 34).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No
PCT/US 00/21857

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9707198 A	27-02-1997	US 5707829 A	13-01-1998
		AU 727480 B	14-12-2000
		AU 6712396 A	18-02-1997
		AU 727489 B	14-12-2000
		AU 6768596 A	12-03-1997
		CA 2227220 A	06-02-1997
		CA 2229200 A	27-02-1997
		EP 0839196 A	06-05-1998
		EP 0851875 A	08-07-1998
		JP 11510045 T	07-09-1999
		US 6043344 A	28-03-2000
		WO 9704097 A	06-02-1997
		US 6074849 A	13-06-2000
US 5969093 A	19-10-1999		
WO 9825959 A	18-06-1998	AU 5796298 A	03-07-1998
		EP 0948531 A	13-10-1999
WO 9905256 A	04-02-1999	US 6066460 A	23-05-2000
WO 9845712 A	15-10-1998	AU 6952998 A	30-10-1998
		EP 0974058 A	26-01-2000
WO 9906550 A	11-02-1999	AU 8555198 A	22-02-1999
		EP 1000148 A	17-05-2000
WO 9963088 A	09-12-1999	AU 4328699 A	20-12-1999
		AU 2212299 A	26-07-1999
		WO 9935170 A	15-07-1999

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)	
A 6 1 K	48/00	C 0 7 K	14/47	4 C 0 8 5
A 6 1 P	35/00		16/28	4 C 0 8 6
C 0 7 K	14/47	C 1 2 N	1/15	4 H 0 4 5
	16/28		1/19	
C 1 2 N	1/15		1/21	
	1/19	C 1 2 P	21/02	C
	1/21	C 1 2 Q	1/68	A
	5/10	G 0 1 N	33/53	D
C 1 2 P	21/02			M
C 1 2 Q	1/68		33/566	
G 0 1 N	33/53	C 1 2 P	21/08	
		C 1 2 N	15/00	Z N A A
	33/566		5/00	A
// C 1 2 P	21/08	A 6 1 K	37/02	
(81)指定国	E P (A T , B E , C H , C Y , D E , D K , E S , F I , F R , G B , G R , I E , I T , L U , M C , N L , P T , S E) , O A (B F , B J , C F , C G , C I , C M , G A , G N , G W , M L , M R , N E , S N , T D , T G) , A P (G H , G M , K E , L S , M W , M Z , S D , S L , S Z , T Z , U G , Z W) , E A (A M , A Z , B Y , K G , K Z , M D , R U , T J , T M) , A E , A G , A L , A M , A T , A U , A Z , B A , B B , B G , B R , B Y , B Z , C A , C H , C N , C R , C U , C Z , D E , D K , D M , D Z , E E , E S , F I , G B , G D , G E , G H , G M , H R , H U , I D , I L , I N , I S , J P , K E , K G , K P , K R , K Z , L C , L K , L R , L S , L T , L U , L V , M A , M D , M G , M K , M N , M W , M X , M Z , N O , N Z , P L , P T , R O , R U , S D , S E , S G , S I , S K , S L , T J , T M , T R , T T , T Z , U A , U G , U S , U Z , V N , Y U , Z A , Z W			

Fターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA80 CA04 DA02
DA05 DA06 DA11 DA12 EA02
EA04 FA02 FA17 GA11 HA12
4B063 QA19 QA20 QQ08 QQ43 QR08
QR42 QR56 QS25 QS34 QX02
4B064 AG01 AG27 CA10 CA19 CA20
CC24 DA01 DA13
4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X
AB01 BA02 CA24 CA44 CA46
4C084 AA02 AA06 AA07 AA13 BA01
BA22 CA53 DC50 ZB262
4C085 AA13 AA14 BB11 DD63 DD88
4C086 AA01 AA03 AA04 EA16 MA01
MA04 ZB26
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10
CA40 DA75 DA76 EA20 EA50
FA72 FA74

专利名称(译)	新型多肽和编码它们的核酸		
公开(公告)号	JP2003508030A	公开(公告)日	2003-03-04
申请号	JP2001515709	申请日	2000-08-11
[标]申请(专利权)人(译)	CURAGEN CORP		
申请(专利权)人(译)	Kyurajen公司		
[标]发明人	シムケッツリチャードエイ フェルナンデスエルマ		
发明人	シムケッツ, リチャード エイ. フェルナンデス, エルマ		
IPC分类号	G01N33/53 A61K31/7088 A61K38/00 A61K39/395 A61K48/00 A61P35/00 C07K14/47 C07K14/705 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1/68 G01N33/566		
CPC分类号	C07K14/705 A61K38/00 C07K14/47		
FI分类号	A61K31/7088 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K48/00 A61P35/00 C07K14/47 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/68.A G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12P21/08 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA06 4B024 /DA11 4B024/DA12 4B024/EA02 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024/FA17 4B024/GA11 4B024/HA12 4B063/QA19 4B063/QA20 4B063/QQ08 4B063/QQ43 4B063/QR08 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063 /QS25 4B063/QS34 4B063/QX02 4B064/AG01 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084 /AA07 4C084/AA13 4C084/BA01 4C084/BA22 4C084/CA53 4C084/DC50 4C084/ZB262 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/DD63 4C085/DD88 4C086/AA01 4C086/AA03 4C086/AA04 4C086 /EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/ZB26 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045 /FA74		
优先权	60/148433 1999-08-11 US 09/635949 2000-08-10 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了在本文中设计为PROX多肽的多肽，编码PROX多肽的多核苷酸以及与PROX多肽或多核苷酸免疫特异性结合的抗体或其衍生物或变体，变体或片段。本发明进一步提供了使用PROX多肽，多核苷酸和抗体来检测，预防和治疗多种病理状况的方法。

