(19)日本国特許庁（ＪＰ）　(12) **公表特許公報**（Ａ）　(11)特許出願公表番号

特表2003－534779
(P2003－534779A)

(43)公表日 平成15年11月25日(2003.11.25)

(51)Int.Cl[7]	識別記号	ＦＩ		テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｎ 15/09	ZNA	Ａ６１Ｋ 39/395	Ｄ	２Ｇ０４５
Ａ６１Ｋ 38/00			Ｎ	４Ｂ０２４
39/395		48/00		４Ｂ０６３
		Ａ６１Ｐ 3/10		４Ｂ０６４
48/00		9/00		４Ｂ０６５

審査請求　未請求　予備審査請求（全231数）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2001－572593(P2001－572593)

(86)(22)出願日　平成13年3月30日(2001.3.30)
(85)翻訳文提出日　平成14年9月27日(2002.9.27)
(86)国際出願番号　PCT/US01/10241
(87)国際公開番号　WO01/074904
(87)国際公開日　平成13年10月11日(2001.10.11)
(31)優先権主張番号　60/193,664
(32)優先日　平成12年3月31日(2000.3.31)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/194,614
(32)優先日　平成12年4月5日(2000.4.5)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　キュラジェン　コーポレイション
アメリカ合衆国　コネチカット州　06511　ニュー　ヘイブン　ロング　ウォーフ　ドライブ　555
(72)発明者　マジュムデル，　クムド
アメリカ合衆国　コネチカット　06905，スタンフォード，　シルバー　ヒル　レーン　140
(72)発明者　ヴェルネ，　コリーヌ　アー．　エム．
アメリカ合衆国　コネチカット　06471，ノース　ブランフォード，　ボックス　エル，　フォクソン　ロード　1739
(74)代理人　弁理士　大塩　竹志

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　Ｇタンパク質結合レセプターおよびこのＧタンパク質結合レセプターをコードする核酸

(57)【要約】
Ｇタンパク質結合レセプター関連ポリペプチドをコードする核酸配列が、本明細書中で開示される。これらの核酸配列によってコードされるポリペプチド、およびこのポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体、ならびにこれらのポリペプチド、ポリヌクレオチドまたは抗体の、誘導体、改変体、変異体、またはフラグメントもまた、開示される。本発明はさらに、これらの新規なヒト核酸およびタンパク質のいずれか１つに関与する障害を診断、処置、および予防するための、治療方法、診断方法、および研究方法を開示する。

【特許請求の範囲】

【請求項１】　単離されたポリペプチドであって、以下：

（ａ）配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３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、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３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、該改変体中の１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り、ただし、該改変体は、該成熟形態のアミノ酸配列と、そのアミノ酸残基のうちの１５％以下が異なる、改変体；

（ｃ）配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３からなる群より選択されるアミノ酸配列；ならびに

（ｄ）配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３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、該改変体中の１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り、ただし、該改変体は、該アミノ酸配列と、アミノ酸残基のうちの１５％以下が異なる、改変体；

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

【請求項２】　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、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３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、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１

、８０、および８２からなる群から選択される核酸配列と単一ヌクレオチドで異なる核酸配列の翻訳物であるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

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

【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、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３からなる群から選択されるアミノ酸配列の成熟形態；

（ｂ）配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３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、該改変体の１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り、ただし、該改変体は、該成熟形態のアミノ酸配列と、そのアミノ酸残基のうちの１５％以下が異なる、改変体；

（ｃ）配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３からなる群より選択されるアミノ酸配列；

（ｄ）配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３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、該改変体の１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り、ただし、該改変体は、該アミノ酸配列と、アミノ酸残基のうちの１５％以下が異なる、改変体；

（ｅ）配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３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、該改変体の１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り、ただし、該改変体は、該アミノ酸配列と、アミノ酸残基のうちの１５％以下が異なる、核酸フラグメント；ならびに

（ｆ）　（ａ）、（ｂ）、（ｃ）、（ｄ）または（ｅ）の相補体を含む、核酸分子、

からなる群から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、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２からなる群から選択される核酸配列と単一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、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２からなる群より選択されるヌクレオチド配列；

（ｂ）配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２からなる群より選択されるヌクレオチド配列と１つ以上のヌクレオチドが異なる、ヌクレオチド配列であって、ただし、そのヌクレオチドの２０％以下が、該ヌクレオチド配列と異なる、ヌクレオチド配列；

（ｃ）（ａ）の核酸フラグメント；ならびに

（ｄ）（ｂ）の核酸フラグメント；

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、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、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１

、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２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鎖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、該核酸分子は、以下：

（ａ）第１ヌクレオチド配列であって、前記アミノ酸配列をコードするコード配列と１以上のヌクレオチド配列が異なるコード配列を含み、ただし、該第１ヌクレオチド配列中のコード配列におけるヌクレオチドの２０％以下が、該コード配列と異なる、第１ヌクレオチド配列；

（ｂ）該第１ポリヌクレオチドの相補体である、単離された第２ポリヌクレオチド；ならびに

（ｃ）（ａ）または（ｂ）の核酸フラグメント；

からなる群から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決定するための方法であって、該方法は、以下：

（ａ）該サンプルを提供する工程；

（ｂ）該サンプルを、該ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体と接触させる工程；および

（ｃ）該ポリペプチドに結合した抗体の存在または量を決定して、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決定する工程、

を包含する、方法。

【請求項１９】　サンプル中の請求項５に記載の核酸分子の存在または量を決定するための方法であって、該方法は、以下：

（ａ）該サンプルを提供する工程；

（ｂ）該サンプルを、該核酸分子に結合するプローブと接触させる工程；および

（ｃ）該核酸分子に結合した該プローブの存在または量を決定して、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決定する工程、

を包含する、方法。

【請求項２０】　請求項１９に記載の方法であって、前記核酸分子の存在または量が、細胞型または組織型についてのマーカーとして使用される、方法。

【請求項２１】　前記細胞型または組織型が癌性である、請求項２０に記載の方法。

【請求項２２】　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決定する工程；

を包含する、方法。

【請求項２３】　前記因子が、細胞レセプターまたは下流エフェクターである、請求項２２に記載の方法。

【請求項２４】　請求項１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ための方法であって、該方法は、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）該因子と該細胞を接触させる工程；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決定する工程、

を包含し、それによって、該ペプチドの発現または活性における変化が、該ポリペプチドの発現または活性を調節する因子を示す、方法。

【請求項２５】　請求項１に記載のポリペプチドの活性を調節するための方

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

【請求項２６】　ＧＰＣＲＸ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、該被験体における該ＧＰＣＲＸ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２７】　前記障害が、心筋症およびアテローム硬化症からなる群から選択される、請求項２６に記載の方法。

【請求項２８】　前記障害が、細胞シグナルのプロセシングおよび代謝経路の調節に関連する、請求項２６に記載の方法。

【請求項２９】　前記被験体がヒトである、請求項２６に記載の方法。

【請求項３０】　ＧＰＣＲＸ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、請求項５に記載の核酸を、該被験体における該ＧＰＣＲＸ関連障害を処置または予防するに十分な量で投与する工程を包含する、方法。

【請求項３１】　前記障害が、心筋症およびアテローム硬化症からなる群から選択される、請求項３０に記載の方法。

【請求項３２】　前記障害が、細胞シグナルのプロセシングおよび代謝経路の調節に関連する、請求項３０に記載の方法。

【請求項３３】　前記被験体がヒトである、請求項３０に記載の方法。

【請求項３４】　ＧＰＣＲＸ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、請求項１５に記載の抗体を、該被験体における該ＧＰＣＲＸ関連障害を処置または予防するに十分な量で投与する工程を包含する、方法。

【請求項３５】　前記障害が糖尿病である、請求項３４に記載の方法。

【請求項３６】　前記障害が、細胞シグナルのプロセシングおよび代謝経路の調節に関連する、請求項３４に記載の方法。

【請求項３７】　前記被験体がヒトである、請求項３４に記載の方法。

【請求項３８】　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３９】　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４０】　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４１】　請求項３８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４２】　請求項３９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４３】　請求項４０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４４】　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該疾患に対する素因を決定するための方法であって、該方法は、以下：

（ａ）該第１の哺乳動物被験体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、

を包含し、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ポリ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に対する素因を示す、方法。

【請求項４５】　前記素因が癌に対するものである、請求項４４に記載の方法。

【請求項４６】　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に対する素因を決定するための方法であって、該方法は、以下：

（ａ）該第１の哺乳動物被験体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、

を包含し、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に対する素因を示す、方法。

【請求項４７】前記素因が癌に対するものである、請求項４６に記載の方法。

【請求項４８】　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、ポリペプチドを該哺乳動物に、該病理状態を緩和するに十分な量で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、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３のうちの少なくとも１つのアミノ酸配列を含むポリペプチドまたはそれらの生物学的に活性なフラグメントと、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４９】　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、請求項１５に記載の抗体を該哺乳動物に、該病理学的状態を緩和するに十分な量で投与する工程を包含する、方法。

【請求項５０】　配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３からなる群から選択される嗅覚レセプターポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体と相互作用する候補物質をスクリーニングするための方法であって、該方法は、以下の工程：

ａ）配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３の配列からなる群から選択されるポリペプチド、あるいはそのペプチドフラグメントまたは改変体を提供する工程；

ｂ）候補物質を得る工程；

ｃ）該ポリペプチドを、該候補物質と接触させる工程；ならびに

ｄ）該ポリペプチドと該候補物質との間で形成した複合体を検出する工程、

を包含する、方法。

【請求項５１】　配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３からなる群から選択される嗅覚レセプターポリペプチドと相互作用するリガンド分子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）配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３のアミノ酸配列を含むポリペプチドからなる群から選択されるポリペプチドをコードする核酸を含む組換え真核生物宿主細胞を提供する工程；

ｂ）該組換え真核生物宿主細胞の膜抽出物を調製する工程；

ｃ）工程ｂ）で調製した膜抽出物を、選択したリガンド分子と接触させる工程；ならびに

ｄ）セカンドメッセンジャー代謝産物の産生レベルを検出する工程、

を包含する、方法。

【請求項５２】　配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３からなる群から選択される嗅覚レセプターポリペプチドと相互作用するリガンド分子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）配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３のアミノ酸配列を含むポリペプチドからなる群から選択されるポリペプチドをコードする核酸を含むアデノウイルスを提供する工程；

ｂ）嗅覚上皮に該アデノウイルスを感染させる工程；

ｃ）工程ｂ）の嗅覚上皮を、選択したリガンド分子と接触させる工程；ならびに

ｄ）該リガンド分子に対する応答の増加を検出する工程、

を包含する、方法。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

（発明の背景）

本発明は、一般に、核酸およびポリペプチドに関する。より詳細には、本発明は、新規なＧタンパク質結合レセプター（ＧＰＣＲ）ポリペプチドをコードする核酸、ならびにこれらの核酸およびポリペプチドを産生するためのベクター、宿主細胞、抗体および組換え方法に関する。

【０００２】

（発明の要旨）

本発明は、新規ポリペプチドをコードする核酸配列の発見に一部基づく。これらの新規核酸およびポリペプチドは、本明細書中でＧＰＣＲＸ、あるいはＧＰＣＲ１、ＧＰＣＲ２、ＧＰＣＲ３、ＧＰＣＲ４、ＧＰＣＲ５、ＧＰＣＲ６、ＧＰＣＲ７、ＧＰＣＲ８およびＧＰＣＲ９の核酸およびポリペプチドと呼ばれる。これらの核酸およびポリペプチド、ならびにそれらの誘導体、ホモログ、アナログおよびフラグメントを、本明細書中以降、まとめて、「ＧＰＣＲＸ」の核酸配列またはポリペプチド配列と称する。

【０００３】

１つの局面において、本発明は、ＧＰＣＲＸポリペプチドをコードする単離されたＧＰＣＲＸ核酸分子を提供し、これは、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２に開示される核酸に対して同一性を有する核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、このＧＰＣＲＸ核酸分子は、ＧＰＣＲＸ核酸配列のタンパク質コード配列を含む核酸分子に相補的な核酸配列に、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする。本発明はまた、ＧＰＣＲＸポリペプチド、あるいはそのフラグメント、ホモログ、アナログまたは誘導体をコードする、単離された核酸を包含する。例えば、この核酸は、配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１および８３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８０％同一であるポリペプチドをコードし得

る。この核酸は、例えば、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２のいずれかの核酸配列を含む、ゲノムＤＮＡフラグメントまたはｃＤＮＡ分子であり得る。

【０００４】

オリゴヌクレオチド（例えば、ＧＰＣＲＸ核酸（例えば、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２）の少なくとも６個連続するヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドまたはそのオリゴヌクレオチドの相補体）もまた、本発明に含まれる。

【０００５】

実質的に精製されたＧＰＣＲＸポリペプチド（配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１および８３）もまた、本発明に含まれる。特定の実施形態において、このＧＰＣＲＸポリペプチドは、ヒトＧＰＣＲＸポリペプチドのアミノ酸配列に実質的に同一であるアミノ酸配列を含む。

【０００６】

本発明はまた、ＧＰＣＲＸポリペプチド、あるいはそのフラグメント、ホモログ、アナログまたは誘導体に免疫選択的に結合する抗体を特徴とする。

【０００７】

別の局面において、本発明は、治療的有効量または予防的有効量の治療剤および薬学的に受容可能なキャリアを含む、薬学的組成物を包含する。この治療剤は、例えば、ＧＰＣＲＸ核酸、ＧＰＣＲＸポリペプチド、またはＧＰＣＲＸポリペプチドに特異的な抗体であり得る。さらなる局面において、本発明は、１以上の容器に、この薬学的組成物の治療的有効量または予防的有効量を含む。

【０００８】

さらなる局面において、本発明は、ポリペプチドを産生する方法を包含し、この方法は、ＧＰＣＲＸ核酸を含む細胞を、このＤＮＡによってコードされるＧＰＣＲＸポリペプチドの発現を可能にする条件下で培養することによる。所望の場

合、次いで、このＧＰＣＲＸポリペプチドを回収し得る。

【０００９】

別の局面において、本発明は、サンプル中のＧＰＣＲＸポリペプチドの存在を検出する方法を包含する。この方法において、サンプルを、このポリペプチドに選択的に結合する化合物と、このポリペプチドとこの化合物との間での複合体の形成を可能にする条件下で接触させる。この複合体は、存在する場合、検出され、それによって、このサンプル中のＧＰＣＲＸポリペプチドを同定する。

【００１０】

本発明はまた、ＧＰＣＲＸの発現に基づいて特定の細胞型または組織型を同定するための方法を包含する。

【００１１】

サンプル中のＧＰＣＲＸ核酸分子の存在を検出する方法もまた本発明に包含され、この方法は、このサンプルを、ＧＰＣＲＸ核酸プローブまたはプライマーに接触させ、そしてこの核酸プローブまたはプライマーが、このサンプル中のＧＰＣＲＸ核酸分子に結合したか否かを検出することによる。

【００１２】

さらなる局面において、本発明は、ＧＰＣＲＸポリペプチドの活性を調節するための方法を提供し、この方法は、このＧＰＣＲＸポリペプチドを含む細胞サンプルを、このＧＰＣＲＸポリペプチドに結合する化合物に、この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ことによる。この化合物は、例えば、本明細書中にさらに記載されるような、低分子（例えば、核酸、ペプチド、ポリペプチド、ペプチド模倣物、糖質、脂質または他の有機分子（炭素含有）または無機分子）であり得る。

【００１３】

例えば、以下を含む障害または症候群を処置または予防するための医薬の製造における治療剤の使用もまた、本発明の範囲内にある：糖尿病、肥満に関連する代謝障害、代謝症候群Ｘ、食欲不振、慢性疾患に関連するるいそう障害、代謝障害、糖尿病、肥満、感染性疾患、食欲不振、癌関連悪液質、癌、神経変性障害、アルツハイマー病、パーキンソン病、免疫障害および造血障害、または細胞シグ

ナルプロセシングおよび代謝経路調節に関連する他の障害。治療剤は、例えば、ＧＰＣＲＸ核酸、ＧＰＣＲＸポリペプチド、またはＧＰＣＲＸ特異的抗体、あるいはそれらの生物学的に活性な誘導体またはフラグメントであり得る。

【００１４】

例えば、本発明の組成物は、以下に罹患している患者の処置に対する効力を有する：発生疾患、ＭＨＣＩＩおよびＩＩＩ疾患（免疫疾患）、味覚および嗅覚の検出能の障害、バーキットリンパ腫、皮質神経性（ｃｏｒｔｉｃｏｎｅｕｒｏｇｅｎｉｃ）疾患、シグナル伝達経路障害、網膜疾患（光受容性に関連する疾患を含む）、細胞増殖速度障害；細胞形状障害、摂食障害；摂食の制御；過食に起因する潜在的肥満；飢餓（食欲の欠如）に起因する潜在的障害、非インスリン依存性糖尿病（ＮＩＤＤＭ１）、細菌感染、真菌感染、原生生物感染およびウイルス感染（特に、ＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２によって引き起こされる感染）、疼痛、癌（新生物；腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌を含むが、これらに限定されない）、食欲不振、過食症、ぜん息、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、残尿、骨粗しょう症、クローン病；多発性硬化症；オールブライト遺伝性骨形成異常症、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、ぜん息、アレルギー、良性前立腺肥大、ならびに精神学的および神経学的障害（不安、精神分裂病、躁鬱、せん妄、痴呆、重篤な精神遅滞、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症（ＤＲＰＬＡ）、低リン酸血症性くる病、常染色体優性（２）先端脳梁（Ａｃｒｏｃａｌｌｏｓａｌ）症候群およびジスキネジー（例えば、ハンティングトン病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群）を含む）ならびに／または他の同様の病態および障害など。

【００１５】

ポリペプチドは、本発明に特異的な抗体を産生するための免疫原として、およびワクチンとして使用され得る。これらはまた、潜在的なアゴニスト化合物およびアンタゴニスト化合物についてスクリーニングするために使用され得る。例えば、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸは、それを必要とする被験体に投与される場合に有用であり得る。非限定的な例として、本発明の組成物は、以下に罹患している患者の処置に対する効力を有する：細菌感染、真菌感染、原生生物感染およびウイルス感染（特

に、ＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２によって引き起こされる感染）、疼痛、癌（新生物；腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌を含むが、これらに限定されない）、食欲不振、過食症、ぜん息、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、残尿、骨粗しょう症、クローン病；多発性硬化症；およびオールブライト遺伝性骨形成異常症の処置、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、ぜん息、アレルギー、良性前立腺肥大、ならびに精神学的および神経学的障害（不安、精神分裂病、躁鬱、せん妄、痴呆、重篤な精神遅滞およびジスキネジー（例えば、ハンティングトン病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群）を含む）、ならびに／または他の病態および障害。

【００１６】

本発明はさらに、例えば、以下を含む障害または症候群のモジュレーターについてスクリーニングするための方法を包含する：糖尿病、肥満に関連する代謝障害、代謝症候群Ｘ、食欲不振、慢性疾患に関連するるいそう障害、代謝障害、糖尿病、肥満、感染性疾患、食欲不振、癌関連悪液質、癌、神経変性障害、アルツハイマー病、パーキンソン病、免疫障害および造血障害、または細胞シグナルプロセシングおよび代謝経路調節に関連する他の障害。この方法は、試験化合物をＧＰＣＲＸポリペプチドに接触させる工程、およびこの試験化合物がこのＧＰＣＲＸポリペプチドに結合するか否かを決定する工程を包含する。ＧＰＣＲＸポリペプチドへの試験化合物の結合は、この試験化合物が、前述の障害または症候群に対する活性あるいは前述の障害または症候群に対する潜伏または素因のモジュレーターであることを示す。

【００１７】

また、本発明の範囲には、以下を含む障害もしくは症候群の活性のモジュレーター、または以下を含む障害もしくは症候群の潜伏もしくは素因のモジュレーターについてスクリーニングする方法が含まれる：例えば、糖尿病、肥満に関連する代謝障害、代謝症候群Ｘ、食欲不振、慢性病に関連する消耗障害、代謝障害、糖尿病、肥満、感染性疾患、食欲不振、癌に関連した悪液質、癌、神経変性障害、アルツハイマー病、パーキンソン障害、免疫障害、および造血障害、または、細胞のシグナルプロセシングおよび代謝経路調節に関連した他の障害。このスク

リーニング方法は、上述の障害または症候群についての危険性の増大した試験動物に対して、試験化合物を投与することによる。試験動物は、ＧＰＣＲＸ核酸によってコードされる組換えポリペプチドを発現する。次いで、ＧＰＣＲＸポリペプチドの発現または活性を、この試験動物において測定し、同様に、コントロール動物（これは、ＧＰＣＲＸポリペプチドを組換え的に発現し、かつ上記の障害についての危険性も上記の症候群についての危険性も増大していない）におけるこのタンパク質の発現または活性を測定する。次いで、試験動物およびコントロール動物の両方におけるＧＰＣＲＸポリペプチドの発現を比較する。コントロール動物と比較した、試験動物におけるＧＰＣＲＸポリペプチドの活性の変化は、この試験化合物が、上記の障害または症候群の潜伏のモジュレーターであることを示す。

【００１８】

なお別の局面において、本発明は、被験体（例えば、ヒト被験体）におけるＧＰＣＲＸポリペプチド、ＧＰＣＲＸ核酸またはその両方のレベルの変化に関連した疾患の存在または素因を決定するための方法を含む。この方法は、この被験体由来の試験サンプル中のＧＰＣＲＸポリペプチドの量を測定する工程、およびコントロールサンプル中に存在するＧＰＣＲＸポリペプチドの量に対して、この試験サンプル中のこのポリペプチドの量を比較する工程を包含する。コントロールサンプルと比較した場合の試験サンプルにおけるＧＰＣＲＸポリペプチドレベルの変化は、この被験体における疾患の存在または素因を示す。好ましくは、この素因としては、以下の素因が挙げられる：例えば、糖尿病、肥満に関連する代謝障害、代謝症候群Ｘ、食欲不振、慢性疾患に関連するるいそう障害、代謝障害、糖尿病、肥満、感染性疾患、食欲不振、癌に関連した悪液質、癌、神経変性障害、アルツハイマー病、パーキンソン障害、免疫障害、および造血障害。本発明の新規なポリペプチドの発現レベルはまた、種々の癌についてスクリーニングするための方法および癌の病期を決定するための方法において使用され得る。

【００１９】

さらなる局面において、本発明は、病理学的状態を緩和または予防するに十分な量で、被験体（例えば、ヒト被験体）にＧＰＣＲＸポリペプチド、ＧＰＣＲＸ

核酸、またはＧＰＣＲＸ特異的抗体を投与することによって、哺乳動物における障害に関連した病理学的状態を処置または予防する方法を包含する。好ましい実施形態では、この障害としては、例えば、以下が挙げられる：糖尿病、肥満に関連する代謝障害、代謝症候群Ｘ、食欲不振、慢性疾患に関連する消耗障害、代謝障害、糖尿病、肥満、感染性疾患、食欲不振、癌に関連した悪液質、癌、神経変性障害、アルツハイマー病、パーキンソン障害、免疫障害、および造血障害。

【００２０】

なお別の局面では、本発明は、当該分野において一般的に使用される多数の技術のうちのいずれか１つによって、本発明の細胞性レセプターおよび下流エフェクターを同定するための方法において使用され得る。これらの技術としては、ツーハイブリッドシステム、アフィニティ精製、抗体または他の特異的な相互作用分子を用いる共沈が挙げられるが、これらに限定されない。

【００２１】

他に規定されない限り、本明細書中において使用されるすべての専門用語および科学用語は、本発明が属する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た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を以下に記載する。本明細書中で引用されたすべての刊行物、特許出願、特許および他の参考文献は、その全体が本明細書中で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中が支配する。さらに、材料、方法および例は、例示にすぎず、限定されることを意図しない。

【００２２】

本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および上記の特許請求の範囲から明らかである。

【００２３】

（発明の詳細な説明）

本発明は、一部、新規なポリペプチドをコードする新規な核酸配列の発見に基づく。この新規な核酸およびそれによりコードされるポリペプチドを、個々に、ＧＰＣＲ１、ＧＰＣＲ２、ＧＰＣＲ３、ＧＰＣＲ４、ＧＰＣＲ５、ＧＰＣＲ６、

ＧＰＣＲ７、ＧＰＣＲ８およびＧＰＣＲ９という。これらの核酸およびこれらによってコードされるポリペプチドを、本明細書中では集合的に、「ＧＰＣＲＸ」と称する。

【００２４】

本発明の新規なＧＰＣＲＸ核酸は、表１Ａ、１Ｄ、１Ｅ、２Ａ、３Ａ、４Ａ、４Ｆ、４Ｊ、５Ａ、５Ｄ、５Ｆ、６Ａ、６Ｄ、７Ａ、７Ｆ、７Ｉ、８Ａ、８Ｄ、８Ｆ、８Ｈ、８Ｊ、９Ａ、９Ｄおよび９Ｆ（包括的な、「表１Ａ～９Ｆ」）に配列が提供される核酸、またはそれらのフラグメント、誘導体、アナログもしくはホモログを含む。本発明の新規なＧＰＣＲＸタンパク質は、表１Ｂ、１Ｆ、２Ｂ、３Ｂ、４Ｂ、４Ｇ、５Ｂ、５Ｅ、５Ｇ、６Ｂ、６Ｅ、７Ｃ、７Ｇ、７Ｊ、８Ｂ、８Ｅ、８Ｇ、８Ｉ、８Ｋ、９Ｂ、９Ｅおよび９Ｇ（包括的な、「表１Ｂ～９Ｇ」）に配列が提供されるタンパク質フラグメントを含む。個々のＧＰＣＲＸの核酸およびタンパク質を、以下に記載する。細胞のシグナル伝達または代謝経路調節に関連した障害の処置または予防において、これらの核酸およびペプチドを使用する方法は、本発明の範囲内である。

【００２５】

Ｇタンパク質結合レセプタータンパク質（ＧＰＣＲ）は、多数の種において、Ｇタンパク質結合レセプターの大きなファミリーとして同定された。これらのレセプターは、多くの神経伝達物質レセプターおよびホルモンレセプターと、７回膜貫通ドメイン構造を共有し、そして種々のシグナルの認識およびＧタンパク質媒介性伝達の根底をなすようである。ヒトＧＰＣＲは、一般的に、イントロンを含まず、そして高い配列可変性を示す４つの異なる遺伝子サブファミリーに属する。これらの遺伝子は、主に、嗅覚上皮において発現される。例えば、Ｂｅｎ－Ａｒｉｅら、Ｈｕｍ．Ｍｏｌ．Ｇｅｎｅｔ．１９９４　３：２２９－２３５；およびＯｎｌｉｎｅ　Ｍｅｎｄｅｌｉａｎ　Ｉｎｈｅｒｉｔａｎｃｅ　ｉｎ　Ｍａｎ（ＯＭＩＭ）エントリー番号１６４３４２（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｅｎｔｒｅｚ／ｄｉｓｐｏｍｉｍ．ｃｇｉ？）を参照のこと。

【００２６】

嗅覚レセプター（ＯＲ）遺伝子ファミリーは、最大のＧＰＣＲ多重遺伝子ファミリーの１つを構成し、そしてヒトゲノムにおける多くの染色体部位に分布している。Ｒｏｕｑｕｉｅｒら、Ｈｕｍ．Ｍｏｌ．Ｇｅｎｅｔ．７（９）：１３３７－４５（１９９８）；Ｍａｌｎｉｃら、Ｃｅｌｌ　９６：７１３－２３（１９９９）を参照のこと。嗅覚レセプターは、Ｇタンパク質結合レセプターの中でも最大のファミリーを構成し、推定上１０００までものメンバーを有する。Ｖａｎｄｅｒｈａｅｇｈｅｎら、Ｇｅｎｏｍｉｃｓ　３９（３）：２３９－４６（１９９７）；Ｘｉｅら、Ｍａｍｍ．Ｇｅｎｏｍｅ　１１（１２）：１０７０－７８（２０００）；Ｉｓｓｅｌ－Ｔａｒｖｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９３（２０）：１０８９７－９０２（１９９６）を参照のこと。嗅覚レセプターによる臭気物質の認識は、臭気の識別における第一段階である。Ｋｒａｕｔｗｕｒｓｔら、Ｃｅｌｌ　９５（７）：９１７－２６（１９９８）；Ｂｕｃｋら、Ｃｅｌｌ　６５（１）：１７５－８７（１９９１）を参照のこと。多くのＯＲは、いくつかの特徴的な配列モチーフを共有し、そして推定リガンド結合部位に対応する中心的な可変領域を有する。Ｉｓｓｅｌ－Ｔａｒｖｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９３：１０８９７－９０２（１９９６）を参照のこと。

【００２７】

ＧＰＣＲに関連した７回膜貫通タンパク質の他の例は、化学受容体である。Ｔｈｏｍａｓら、Ｇｅｎｅ　１７８（１－２）：１－５（１９９６）を参照のこと。化学受容体は、味覚組織、嗅覚組織、および雄性生殖組織において同定された。同上；Ｗａｌｅｎｓｋｙら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７３（１６）：９３７８－８７（１９９８）；Ｐａｒｍｅｎｔｉｅｒら、Ｎａｔｕｒｅ　３５５（６３５９）：４５３－５５（１９９２）；Ａｓａｉら、Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．２２１（２）：２４０－４７（１９９６）を参照のこと。

【００２８】

（ＧＰＣＲ１）

ＧＰＣＲ１は、以下に開示される、３つの新規なＧタンパク質結合レセプター

（「ＧＰＣＲ」）タンパク質のファミリーを含む。開示されたタンパク質は、ＧＰＣＲ１ａ、ＧＰＣＲ１ｂおよびＧＰＣＲ１ｃと命名された。これらのタンパク質は、嗅覚レセプターに関連する。

【００２９】

（ＧＰＣＲ１ａ）

１０５０ヌクレオチドの開示されたＧＰＣＲ１ａ核酸を、表１Ａに示す。開示されたＧＰＣＲ１ａのオープンリーディングフレーム（「ＯＲＦ」）は、表１Ａにおいて太字で示された、ヌクレオチド６～８のＡＴＧ開始コドンで始まる。コードされるポリペプチドは、本明細書中では代替的に、ＧＰＣＲ１ａまたはｒｐ１１－５０７ｎ２０＿Ａといわれる。開示されたＧＰＣＲ１ａのＯＲＦは、ヌクレオチド１０４４～１０４６のＴＧＡコドンで終結する。表１Ａに示されるように、開始コドンに対して５’側および停止コドンに対して３’側の推定非翻訳領域に下線を付す。そして開始コドンおよび停止コドンは太字である。

【００３０】

【表１】

表 1A. GPCR1a ヌクレオチド配列（配列番号１）

CCGCCATGTACAACGGGTCGTGCTGCCGCATCGAGGGGGACACCATCTCCCAGGTGATGCCGCCGCTGCTCATTGTG
GCCTTTGTGCTGGGCGCACTAGGCAATGGGGTCGCCCTGTGTGGTTTCTGCTTCCACATGAAGACCTGGAAGCCCAG
CACTGTTTACCTTTTCAATTTGGCCGTGGCTGATTTCCTCCTTATGATCTGCCTGCCTTTTCGGACAGACTATTACC
TCAGACGTAGACACTGGGCTTTTGGGGACATTCCCTGCCGAGTGGGGCTCTTCACGTTGGCCATGAACAGGGCCGGG
AGCATCGTGTTCCTTACGGTGGTGGCTGCGGACAGGTATTTCAAAGTGGTCCACCCCCACCACGCGGTGAACACTAT
CTCCACCCGGGTGGCGGCTGGCATCGTCTGCACCCTGTGGGCCCTGGTCATCCTGGGAACAGTGTATCTTTTGCTGG
AGAACCATCTCTGCGTGCAAGAGACGGCCGTCTCCTGTGAGAGCTTCATCATGGAGTCGGCCAATGGCTGGCATGAC
ATCATGTTCCAGCTGGAGTTCTTTATGCCCCTCGGCATCATCTTATTTTGCTCCTTCAAGATTGTTTGGAGCCTGAG
GCGGAGGCAGCAGCTGGCCAGACAGGCTCGGATGAAGAAGGCGACCCGGTTCATCATGGTGGTGGCAATTGTGTTCA
TCACATGCTACCTGCCCAGCGTGTCTGCTAGACTCTATTTCCTCTGGACGGTGCCCTCGAGTGCCTGCGATCCCTCT
GTCCATGGGGCCCTGCACATAACCCTCAGCTTCACCTACATGAACAGCATGCTGGATCCCCTGGTGTATTATTTTTC
AAGCCCCTCCTTTCCCAAATTCTACAACAAGCTCAAAATCTGCAGTCTGAAACCCAAGCAGCCAGGACACTCAAAAA
CACAAAGGCCGGAAGAGATGCCAATTTCGAACCTCGGTCGCAGGAGTTGCATCAGTGTGGCAAATAGTTTCCAAAGC
CAGTCTGATGGGCAATGGGATCCCCACATTGTTGAGTGGCACTGAACAA

開示された、コードされるＧＰＣＲ１ａタンパク質は、３４６アミノ酸残基を有し、ＧＰＣＲ１ａタンパク質と呼ばれる。ＧＰＣＲ１ａタンパク質を、シグナルペプチドの予測および細胞の局在について分析した。ＳｉｇｎａｌＰの結果は、ＧＰＣＲ１ａが、配列番号２の３２位と３３位との間で（すなわち、アミノ酸配列ＡＬＧ－ＮＧにおいて）切断されると予測している。ＰｓｏｒｔおよびＨｙｄｒｏｐａｔｈｙプロフィールはまた、ＧＰＣＲ１が、シグナルペプチドを含み

、かつ小胞体（確実度０．６８５０）または原形質膜（確実度＝０．６４００）に局在する可能性があることを予測する。開示された、３９２９４．８ダルトンの分子量を有するＧＰＣＲ１ポリペプチド配列は、一文字アミノ酸コードを使用して、表１Ｂに示される。

【００３１】

【表２】

表 1B. コードされたGPCR1aタンパク質配列（配列番号2）

MYNGSCCRIEGDTISQVMPPLLIVAFVLGALGNGVALCGFCFHMKTWKPSTVYLFNLAVADFLLMICLPFRTDYYLR
RRHWAFGDIPCRVGLFTLAMNRAGSIVFLTVVAADRYFKVVHPHHAVNTISTRVAAGIVCTLWALVILGTVYLLLEN
HLCVQETAVSCESFIMESANGWHDIMFQLEFFMPLGIILFCSFKIVWSLRRRQQLARQARMKKATRFIMVVAIVFIT
CYLPSVSARLYFLWTVPSSACDPSVHGALHITLSFTYMNSMLDPLVYYFSSPSFPKFYNKLKICSLKPKQPGHSKTQ
RPEEMPISNLGRRSCISVANSFQSQSDGQWDPHIVEWH

ＧＰＣＲ１ａは、ＧｅｎＢａｎｋによって利用可能にされたＧｅｎｏｍｉｃ　Ｄａｉｌｙ　Ｆｉｌｅｓに対して実行したＧタンパク質結合レセプタープローブまたはホモログについての専有配列ファイルのＴｂｌａｓｔＮ分析によって、第１２染色体上に初めに同定された。専有ソフトウエアプログラム（ＧｅｎＳｃａｎ™）を使用して、核酸配列およびエキソンの選択をさらに予測した。得られた配列を、ＢＬＡＳＴ検索を用いて類似性によってさらに改変した。次いでこの配列を、明確な不一致について手動で補正し、それによって全長タンパク質をコードする配列を得た。

【００３２】

ＧＰＣＲ１ａ核酸配列の領域は、１．９×１０$^{-71}$のＥ値で、Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ　ＧＰＣＲ　ｍＲＮＡ（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＨＵＭＨＭ７４｜ａｃｃ：Ｄ１０９２３）に対して、７４６塩基のうちの５１７塩基（６９％）同一な塩基を有する。本明細書中における全てのＢＬＡＳＴアラインメントにおいて、「Ｅ値」または「期待値」の値は、整列された配列が、検索されたデータベース内で、単なる偶然でＢＬＡＳＴ問合わせ配列に対するそれらの類似性を達成し得る確率の数値表示である。例えば、ＧＰＣＲ１ａ　ＢＬＡＳＴ分析から検索された対象（「Ｓｂｊｃｔ」）（例えば、Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ　ＧＰＣＲ）が、問合せＧＰＣＲ１ａ配列と純粋に偶然によって一致する確率は、１．９×

１０$^{-71}$である。

【００３３】

ＢＬＡＳＴＸ検索を、公共のタンパク質データベースに対して行った。本発明のタンパク質の全長アミノ配列は、種由来の３８７アミノ酸残基のタンパク質（ｐｔｎｒ：ＳＷＩＳＳＰＲＯＴ－ＡＣＣ：Ｐ４９０１９）に対して、３３９アミノ酸残基のうち１７８残基（５２％）同一なアミノ酸残基、そして３３９残基のうち２２７残基（６６％）陽性なアミノ酸残基を有することが見出された。

【００３４】

ＧＰＣＲ１ａのアミノ酸配列はまた、表１Ｃに示すように、他のタンパク質に対して高い相同性を有した。

【００３５】

【表3】

表 1C. GPCR1aのBLASTXアラインメント

高スコアのセグメント対を生成する配列：

	リーディングフレーム	高スコア	最小の和の確率 P(N)
ptnr:SWISSPROT-ACC:O00270 PROBABLE G PROTEIN-COUPLED R...	+3	447	2.6e-41
ptnr:TREMBLNEW-ACC:AAF26668 G PROTEIN COUPLED RECEPTOR...	+3	441	1.1e-40
ptnr:SWISSPROT-ACC:P34996 P2Y PURINOCEPTOR 1 (ATP RECE...	+3	357	8.8e-32
ptnr:SWISSPROT-ACC:P49652 P2Y PURINOCEPTOR 1 (ATP RECE...	+3	357	8.8e-32
patp:W94654 G-protein coupled receptor HM74A protein -	+3	887	4.7e-88
patp:Y90672 Human mutant G protein-coupled receptor HM	+3	883	1.2e-87
patp:Y90637 Human G protein-coupled receptor HM74 - Ho.	+3	882	1.6e-87
patp:W88460 Human 7-transmembrane receptor HEOAD54 - H.	+3	524	1.4e-49
patp:Y94339 Human cell surface receptor protein #6 - H.	+3	524	1.4e-49

（ＧＰＣＲ１ｂ）

本発明において、以前に同定された標的配列（登録番号ｒｐ１１－５０７ｎ２０＿Ａ）を、配列を確認するためにエキソン結合プロセスに供した。ＰＣＲプライマーを、順方向プライマーについては使用可能な最も上流の配列、および逆方向プライマーについては利用可能な最も下流の配列において開始することによって設計した。各場合において、独特であるかまたは高度に選択性であるかのいずれかの適切な配列に遭遇するまで、あるいは逆方向プライマーの場合には、終止コドンに到達するまで、それぞれの末端からコード配列に内向きに走査して、この配列を試験した。このようなプライマーを、全長ｃＤＮＡ、ＤＮＡの一部（１

以上のエキソン）または標的配列のタンパク質配列についてのインシリコ（ｉｎｓｉｌｉｃｏ）予測に基づいて、または密接に関連したヒト配列または他種由来の配列に対する推定エキソンの翻訳相同性によって、設計した。次いで、これらのプライマーを、以下のヒトｃＤＮＡのプールに基づいて、ＰＣＲ増幅において使用した：副腎、骨髄、脳－扁桃、脳－小脳、脳－海馬、脳－黒質、脳－視床、脳－全脳、胎児脳、胎児腎臓、胎児肝臓、胎児肺、心臓、腎臓、リンパ腫－ラージ、乳腺、膵臓、下垂体、胎盤、前立腺、唾液腺、骨格筋、小腸、脊髄、脾臓、胃、精巣、甲状腺、気管、子宮。通常、得られたアンプリコンをゲル精製し、クローニングし、そして高い重複性となるまで配列決定した。全てのクローンから得られた配列を、それ自体と、ＣｕｒａＧｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎのデータベースにおける他のフラグメントと、および公共のＥＳＴと組み立てた。組み立ての別の成分とのフラグメントおよびＥＳＴの同一性の程度が５０ｂｐにわたって少なくとも９５％である場合には、これらのフラグメントおよびＥＳＴを、組み立てのための成分として含めた。さらに、配列のトレースを手動で評価し、そして適切である場合には、補正のために編集した。これらの手順は、以下に報告する配列を提供し、これは、登録番号ｒｐ１１－５０７ｎ２０＿Ａ＿ｄａ１と命名される。

【００３６】

１０５０ヌクレオチドの開示されたＧＰＣＲ１ｂ（ｒｐ１１－５０７ｎ２０＿Ａ＿ｄａ１ともいわれる）核酸を、表１Ｄに示す。ヌクレオチド６～８のＡＴＧ開始コドンで始まり、そしてヌクレオチド１０４４～１０４６のＴＧＡコドンで終結するオープンリーディングフレームが同定された。表１Ｄにおいて、開始コドンから上流および終止コドンから下流の推定非翻訳領域に下線を付す。そして開始コドンおよび終止コドンは太字である。

【００３７】

【表４】

表 1D. GPCR1b 核酸配列　　(配列番号 3).

TCGCCATGTACAACGGGTCGTGCTGCCGCATCGAGGGGGACACCATCTCCCAGGTGATGCCGCCGCTGCTCATTGTGG
CCTTTGTGCTGGGCGCACTAGGCAATGGGGTCGCCCTGTGTGGTTTCTGCTTCCACATGAAGACCTGGAAGCCCAGCA
CTGTTTACCTTTTCAATTTGGCCGTGGCTGATTTCGTCCTTATGATCTGCCTGCCTTTTCGGACAGACTATTACCTCA
GACGTAGACACTGGGCTTTTGGGGACATTCCCTGCCGAGTGGGGCTCTTCACGTTGGCCATGAACAGGGCCGGGAGCA
TCGTGTTCCTTACGGTGGTGGCTGCGGACAGGTATTTCAAAGTGGTCCACCCCCACCACGCGGTGAACACTATCTCCA
CCCGGGTGGCGGCTGGCATCGTCTGCACCCTGTGGGCCCTGGTCATCCTGGGAACAGTGTATCTTTTGCTGGAGAACC
ATCTCTGCGTGCAAGAGACGGCCGTCTCCTGTGAGAGCTTCATCATGGAGTCGGCCAATGGCTGGCATGACATCATGT
TCCAGCTGGAGTTCTTTATGCCCCTCGGCATCATCTTATTTTGCTCCTTCAAGATTGTTTGGAGCCTGAGGCGGAGGC
AGCAGCTGGCCAGACAGGCTCGGATGAAGAAGGCGACCCGGTTCATCATGGTGGTGGCAATTGTGTTCATCACATGCT
ACCTGCCCAGCGTGTCTGCTAGACTCTATTTCCTCTGGACGGTGCCCTCGAGTGCCTGCGATCCCTCTGTCCATGGGG
CCGTGCACATAACCCTCAGCTTCACCTACATGAACAGCATGCTGGATCCCCTGGTGTATTATTTTTCAAGCCCCTCCT
TTCCCAAATTCTACAACAAGCTCAAAATCTGCAGTCTGAAACCCAAGCAGCCAGGACACTCAAAAACACAAAGGCCGG
AAGAGATGCCAATTTCGAACCTCGGTCGGAGGAGTTGCATCAGTGTGGCAAATAGTTTCCAAAGCCAGTCTGATGGGC
AATGGGATCCCCACATTGTTGAGTGGCACTGAACAA

コードされるタンパク質は、ＧＰＣＲ１ａに関するタンパク質と同じであり、そして表１Ｂにおいて上に開示される。

【００３８】

（ＧＰＣＲ１ｃ）

エキソン結合によって見出された、開示された１１０４ヌクレオチドのＧＰＣＲ１ｃ（ＡＣ０１１７１１＿ｄａｌとも呼ばれる）核酸を、表１Ｅに示す。ヌクレオチド６０～６２のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド１０９８～１１００のＴＧＡコドンで終止するオープンリーディングフレームを同定した。開始コドンに対して５’および停止コドンに対する３’の推定非翻訳領域は、表１Ｅにおいて下線を付し、そして開始コドンおよび停止コドンは太字である。

【００３９】

配列データベースの検索において、例えば、この核酸配列が、Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ由来のｇｂ：ＧＥＮＢＡＮＫ登録番号：ＨＵＭＨＭ７４｜ａｃｃ：Ｄ１０９２３．１　ｍＲＮＡ（ＨＭ７４についてのヒトｍＲＮＡ）に対して７７０塩基のうち５３０塩基（６８％）が同一であることを見出した。

【００４０】

【表５】

表. 1E. GPCR1c 核酸配列　(配列番号 4).

GTGCCATTGTGGGGACTCCCTGGGCTGCTCTGCACCCGGACACTTGCTCTGTCCCCGCCATGTACAACGGGTCGTGCTG
CCGCATCGAGGGGGACACCATCTCCCAGGTGATGCCGCCGCTGCTCATTGTGGCCTTTGTGCTGGGCGCACTAGACAAT
GGGGTCGCCCTGTGTGGTTTCTGCTTCCACATGAAGACCTGGAAGCCCAGCACTGTTTACCTTTTCAATTTGGCCGTGG
CTGATTTCCTCCTTATGATCTGCCTGCCTTTTCGGACAGACTATTACCTCAGACGTAGACACTGGGCTTTTGGGGACAT
TCCCTGCCGAGTGGGGCTCTTCACGTTGGCCATGAACAGGGCCGGGAGCATCGTGTTCCTTACGGTGGTGGCTGCGGGC
AGGTATTTCAAAGTGGTCCACCCCCACCACGCGGTGAACACTATCTCCACCCGGGTGGCGGCTGGCATCGTCTGCACCC
TGTGGGCCCTGGTCATCCTGGGAACAGTGTATCTTTGCTGGAGAACCATCTCTGCGTGCAAGAGACGGCCGTCTCCTG
TGAGAGCTTCATCATGGAGTCGGCCAATGGCTGGCATGACATCATGTTCCAGCTGGAGTTCTTTATGCCCCTCGGCATC
ATCTTATTTTGCTCCTTCAAGATTGTTTGGAGCCTGAGGCGGAGGCAGCAGCTGGCCAGACAGGCTCGGATGAAGAAGG
CGACCCGGTTCATCATGGTGGTGGCAATTGTGTTCATCACATGCTACCTGCCCAGCGTGTCTGCTAGACTCTATTTCCT
CTGGACGGTGCCCTCGAGTGCCTGCGATCCCTCTGTCCATGGGGCCCTGCACATAACCCTCAGCTTCACCTACATGAAC
AGCATGCTGGATCCCCTGGTGTATTATTTTTCAAGCCCCTCCTTTCCCAAATTCTACAACAAGCTCAAAATCTGCAGTC
TGAAACCCAAGCAGCCAGGACACTCAAAAACACAAAGGCCGGAAGAGATGCCAATTTCGAACCTCGGTCGCAGGAGTTG
CATCAGTGTGGCAAATAGTTTCCAAAGCCAGTCTGATGGGCAATGGGATCCCCACATTGTTGAGTGGCACTGAACAA

３４６のアミノ酸残基を有する、開示されたＧＰＣＲ１ｃタンパク質を、表１Ｆにおいて一文字コードを用いて示す。ＰＳＯＲＴプログラムを使用する分析は、ＡＣ０１１７１１＿ｄａｌタンパク質が、０．６４００の確実性で原形質膜中に局在化すると予測する。このタンパク質は、最も可能性のある切断部位が残基３６と３７（表１ＦのＧＶＡ－ＬＣ）との間にあるシングルペプチドを有することもまた予測される。

【００４１】

【表６】

表. 1F. コードされた GPCR1c タンパク質配列 (配列番号 5).

MYNGSCCRIEGDTISQVMPPLLIVAFVLGALDNGVALCGFCFHMKTWKPSTVYLFNLAVADFLLMICLPFR
TDYYLRRRHWAFGDIPCRVGLFTLAMNRAGSIVFLTVVAAGRYFKVVHPHHAVNTISTRVAAGIVCTLWAL
VILGTVYLLLENHLCVQETAVSCESFIMESANGWHDIMFQLEFFMPLGIILFCSFKIVWSLRRRQQLARQA
RMKKATRFIMVVAIVFITCYLPSVSARLYFLWTVPSSACDPSVHGALHITLSFTYMNSMLDPLVYYFSSPS
FPKFYNKLKICSLKPKQPGHSKTQRPEEMPISNLGRRSCISVANSFQSQSDGQWDPHIVEWH

ＢＬＡＳＴＸ検索を、公共のタンパク質データベースに対して行った。本発明のタンパク質の全長アミノ配列は、Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ（ヒト）由来の３８７アミノ酸残基　ｐｔｎｒ：ＳＷＩＳＳＰＲＯＴ－ＡＣＣ：Ｐ４９０１９タンパク質（ＰＲＯＢＡＢＬＥ　Ｇ　ＰＲＯＴＥＩＮ－ＣＯＵＰＬＥＤ　ＲＥＣＥＰＴＲＯＲ　ＨＭ７４）に対して３１７アミノ酸残基のうち２７０アミノ残基、３３９アミノ酸残基のうち１７６アミノ残基（５１％）が同一であり、およびこのタンパク質に対して類似な３３９アミノ残基のうち２２５アミノ残基（６６％）が類似であることが見出された。以下の位置において、ヌクレオチド配列の１つ

以上のコンセンサス位置は、単一ヌクレオチド多型（ＳＮＰ）として同定された。「深さ」は、ＳＮＰの領域をカバーするクローンの数を示す。推定対立遺伝子頻度（ＰＡＦ）は、ＳＮＰを含む全てのクローンの画分である。記号「＞」は、「に変更される」を意味する：ＧＰＣＲ１ｃに見られる可能なＳＮＰは、表１Ｇにおいて列挙される。

【００４２】

【表７】

表 1G: SNPs

コンセンサス位置	深さ	塩基変化	PAF
334	71	T>C	0.028
677	92	T>C	0.022
719	79	T>C	0.025

３つのＧＰＣＲ１タンパク質間のアミノ酸相違を、表１Ｈに示す。欠失を、デルタ（Δ）によって標識する。この３つのタンパク質間の相違は、数個の異なる領域に局在化されるようである。従って、これらのタンパク質は、類似の機能性（例えば、嗅覚またはケモカインレセプター（以下を参照のこと）としての役目を果たす）を有し得る。

【００４３】

【表８】

表 1H. GPCR1タンパク質の差異

位置	32	112
GPCR1a	G	D
GPCR1c	D	G

本発明の開示されたタンパク質と関連したＯＲタンパク質配列とを比較するＣｌｕｓｔａｌＷ分析を、表１Ｉを提供し、この表で、ＧＰＣＲ１ａは１行目に示し、そしてＧＰＣＲ１ｃは２行目に示す。

【００４４】

ＧＰＣＲ１ａタンパク質のＣｌｕｓｔａｌＷアラインメント、および本明細書

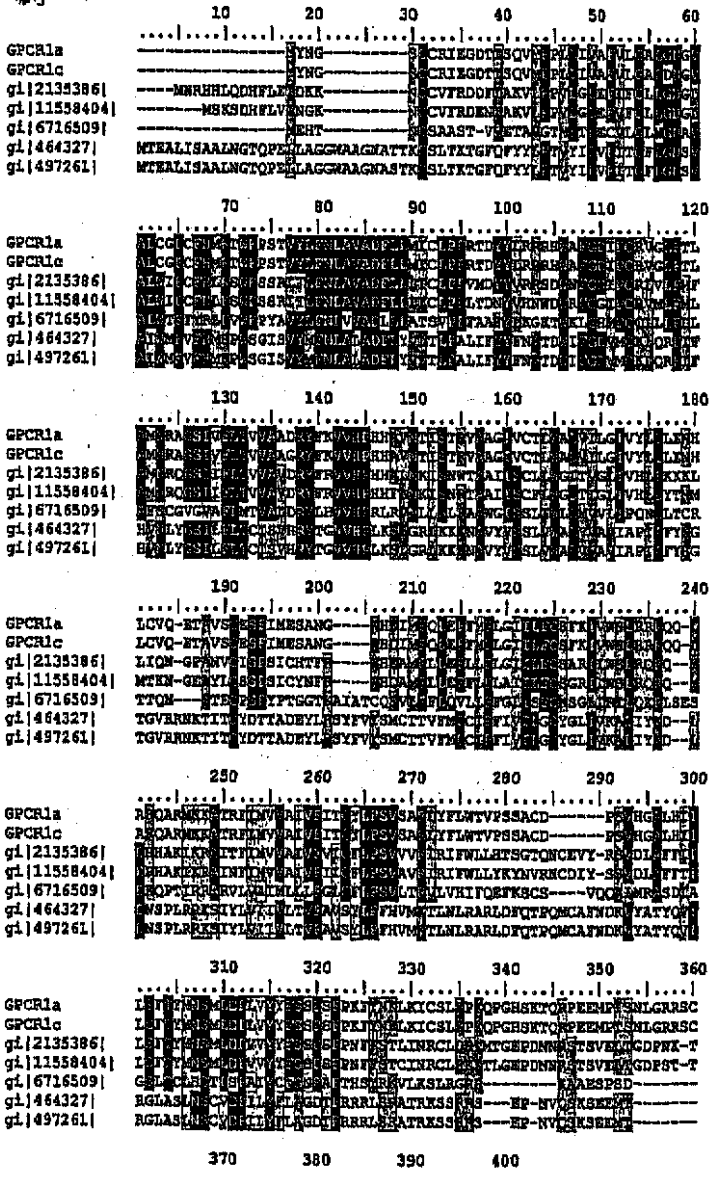
中の全ての他のＣｌｕｓｔａ１W分析において、黒で輪郭をとられているアミノ酸残基は、保存配列領域（すなわち、構造的特性または機能的特性を保存するために必要とされ得る領域）を示す。それに対して、強調されていないアミノ酸残基は、ほとんど保存されず、そしてタンパク質の構造または機能を変えることなしに、非常に広範な範囲まで潜在的に変異され得る。ＧＰＣＲ１ａ、ＧＰＣＲ１ｂまたはＧＰＣＲ１ｃとして特に示さない限り、ＧＰＣＲ１に対する任意の参考は、全ての改変体を含むことが推定される。本明細書中における任意のＧＰＣＲＸ改変体配列間の残基相違は、「ａ」改変体における残基および「ａ」変異体についての残基位置を示すために描かれる。個々のＧＰＣＲ改変体の間で異なる、全ての以下の配列アラインメントにおけるＧＰＣＲ残基を、本明細書中の全てのアラインメントにおける変異体残基上で、囲みで強調しており、そして（ｏ）記号で標識する。全てのＧＰＣＲ１タンパク質は、嗅覚レセプター（ＯＲ）タンパク質に対して有意な相同性を有する。

【００４５】

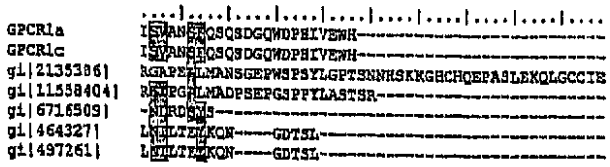
【表９】

表. 1I. GPCR 上の Clustal W 分析

1) 新規 GPCR1a (配列番号 2)
2) 新規 GPCR1c (配列番号 5)
3). gi|2135386|pir||I69202 G タンパク質結合型プリン受容体 - HUMAN ヒト) (配列番号 43)
4) gi|11558404|emb|CAC17790.1| (AJ300198) 予想 7 回膜貫通型スパニングルセプター [Mus musculus] (配列番号 44)
5) gi|6716509|gb|AAF26668.1|AF140708_1 (AF140708) G タンパク質結合レセプター [Mus musculus]) (配列番号 45)
6) gi|464327|sp|P34996|P2YR_CHICK P2Y PURINOCEPTOR 1 (ATP RECEPTOR) (P2Y1) (プリン作動性レセプター) (配列番号 46)
7) gi|497261|gb|AAA18784.1| (U09842) P2Y プリン作動性レセプター [Meleagris gallopavo] (配列番号 47)



【表９】の続き



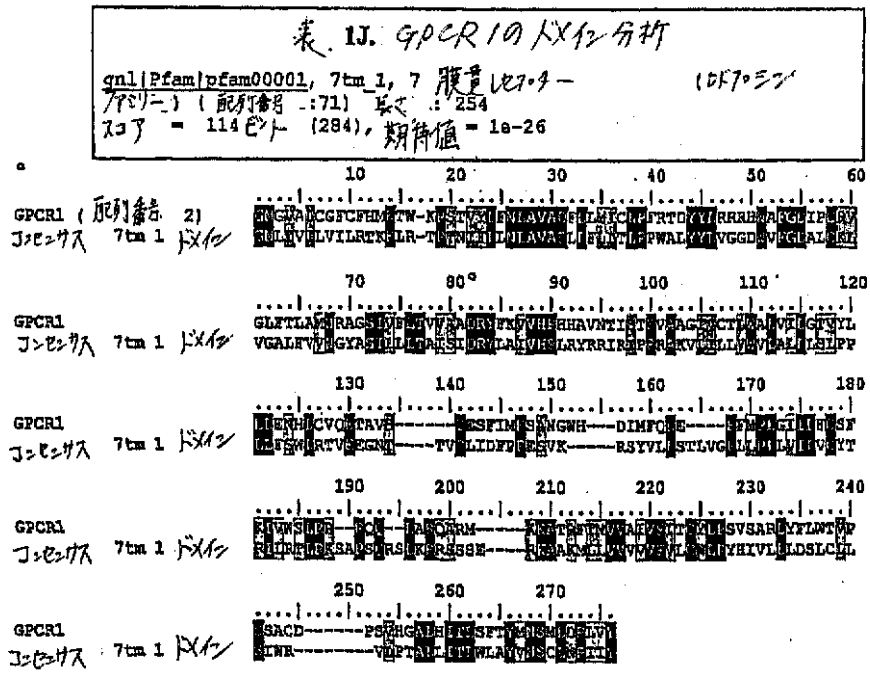
ＧＰＣＲ１、ならびに全ての他のＧＰＣＲＸタンパク質における同定可能なドメインの存在を、ソフトウェアアルゴリズム（例えば、ＰＲＯＳＩＴＥ、ＤＯＭＡＩＮ、Ｂｌｏｃｋｓ、Ｐｆａｍ、ＰｒｏＤｏｍａｉｎ、およびＰｒｉｎｔｓ）を使用する検索によって決定し、次いでＩｎｔｅｒｐｒｏ番号をＩｎｔｅｒｐｒｏウェブサイト（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｅｂｉ．ａｃ．ｕｋ／ｉｎｔｅｒｐｒｏ）を使用するドメイン適合（または数）に横線を引くことによって決定した。例えば、表１Ｊに開示されるようなＧＰＣＲ１についてのＤＯＭＡＩＮの結果は、Ｒｅｖｅｒｓｅ　Ｐｏｓｉｔｉｏｎ　Ｓｐｅｃｉｆｉｃ　ＢＬＡＳＴ分析を用いて、Ｃｏｎｓｅｒｖｅｄ　Ｄｏｍａｉｎ　Ｄａｔａｂａｓｅ（ＣＤＤ）から収集した。このＢＬＡＳＴ分析ソフトウェアは、ＳｍａｒｔおよびＰｆａｍ収集において見出されたドメインをサンプリングする。表１Ｊおよび全ての連続したＤＯＭＡＩＮ配列整列について、完全に保存された単一の残基が、黒い影によって示され、そして「強い」半保存残基が灰色の影によって示される。この保存されたアミノ酸残基の「強い」群は、アミノ酸の以下の群のいずれか１つであり得る：ＳＴＡ、ＮＥＱＫ、ＮＨＱＫ、ＮＤＥＱ、ＱＨＲＫ、ＭＩＬＶ、ＭＩＬＦ、ＨＹ、ＦＹＷ。

【００４６】

表１Ｊは、ＧＰＣＲ１に対するＤＯＭＡＩＮ分析結果からのドメインの説明を列挙する。このことは、ＧＰＣＲ１配列が、このドメインを含むことが知られている他のタンパク質の特性、ならびに３７７個のアミノ酸の７ｔｍドメイン自体の特性に類似する特性を有することを示す。

【００４７】

【表１０】



この７回膜貫通レセプターファミリーは、多くの異なるタンパク質（例えば、セロトニンレセプター、ドーパミンレセプター、ヒスタミンレセプター、アドレナリン作動性レセプター、カンナビノイドレセプター、アンギオテンシンＩＩレセプター、ケモカインレセプター、オピオイドレセプター、Ｇタンパク質結合レセプター（ＧＰＣＲ）タンパク質、嗅覚レセプター（ＯＲ）などを含む）を含む。いくつかのタンパク質およびＰｒｏｔｅｉｎ　Ｄａｔａ　Ｂａｓｅ　Ｉｄｓ／遺伝子インデックスは、例えば、以下を含む：ロドプシン（１２９２０９）；５－ヒドロキシトリプタミンレセプター；（１１２８２１、８４８８９６０、１１２８０５、２３１４５４、１１６８２２１、３９８９７１、１１２８０６）；Ｇタンパク質結合レセプター（１１９１３０、５４３８２３、１７３０１４３、１３２２０６、１３７１５９、６１３６１５３、４１６９２６、１１６９８８１、１３６８８２、１３４０７９）；味覚レセプター（５４４４６３、４６２２０８）；ｃ－ｘ－ｃケモカインレセプター（４１６７１８、１２８９９９、４１６８０２、５４８７０３、１３５２３３５）；オプシン（１２９１９３、１２９１９７、１２９２０３）；および臭覚レセプター様タンパク質（１２９０９１、１１７１８９３、４００６７２、５４８４１７）。

【００４８】

ＧＰＣＲ１は、少なくとも以下の組織に発現する：網膜色素上皮の尖微小柔毛、動脈（大動脈）、基底前脳、脳、バーキットリンパ腫細胞株、脳梁、心臓（房および室）、尾状核、ＣＮＳおよび末梢組織、小脳、大脳皮質、結腸、皮質性神経原性細胞、内皮（冠状動脈および臍静脈）細胞、血小板上皮、眼、新生児の眼、前頭皮質、胎児造血細胞、心臓、海馬、視床下部、白血球、肝臓、胎児肝臓、肺、肺リンパ腫細胞株、胎児リンパ組織、成体リンパ組織、ＭＨＣ　ＩＩおよびＭＨＣ　ＩＩＩを発現する細胞、神経組織、髄質、視床下核、卵巣、膵臓、下垂体、胎盤、橋、前立腺、被殻、血清、骨格筋、小腸、平滑筋（大動脈における冠状動脈）脊髄、脾臓、胃、舌の味覚受容細胞、精巣、視床、および胸腺組織。この情報は、本発明に含まれた配列の組織供給源、専有のデータベース供給源、公共のＥＳＴ供給源、文献の供給源、および／またはＲＡＣＥ供給源が挙げられるが、これらに限定されない）を決定することによって誘導された。

【００４９】

ＧＰＣＲ１の核酸およびタンパク質は、種々のＧＰＣＲ関連または嗅覚レセプター（ＯＲ）関連の病状および／または障害に関係した潜在的な治療適用において有用である。例えば、Ｇタンパク質結合レセプター様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Ｇタンパク質結合レセプター様タンパク質は、それを必要性とする被験体に投与される場合、有用であり得る。ＧＰＣＲ１タンパク質、またそのフラグメントをコードする新規な核酸は、診断適用においてさらに有用であり得、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。これらの材料は、治療方法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産生においてさらに有用である。このＧＰＣＲＸ核酸およびタンパク質は、以下に記載される種々の疾患および障害ならびに／または他の病状に関係する潜在的な診断適用および治療適用において有用である。例えば、本発明の組成物は、以下を患う患者の処置のための効力を有する：発生疾患、ＭＨＣ　ＩＩおよびＭＨＣ　ＩＩＩ疾患（免疫疾患）、味覚および嗅覚の検出能の障害、バーキットリンパ腫、皮質神経性（ｃｏｒｔｉｃｏｎｅｕｒｏｇｅｎｉｃ）疾患、シグナル伝達経路障害、網膜疾患（光受容性に関連する疾患を含む）、細胞増殖速度障害；細胞形状障害、摂

食障害；摂食の制御；過食に起因する潜在的肥満；飢餓（食欲の損失）に起因する潜在的障害、非インスリン依存性糖尿病（ＮＩＤＤＭ１）、細菌、真菌、原生生物およびウイルス感染（特に、ＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２によって引き起こされる感染）、疼痛、癌（新生物；腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌を含むが、これらに限定されない）、食欲不振、過食症、ぜん息、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、尿閉の処置、骨粗しょう症、クローン病；多発性硬化症；オールブライト遺伝性骨形成異常症病状障害、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、ぜん息、アレルギー、良性前立腺肥大、ならびに精神学的および神経学的障害（不安、精神分裂病、躁鬱、せん妄、痴呆、重篤な精神遅滞、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症（ＤＲＰＬＡ）、低リン酸血症性くる病、常染色体優性（２）先端脳梁（Ａｃｒｏｃａｌｌｏｓａｌ）症候群およびジスキネジー（例えば、ハンティングトン病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群）を含む）ならびに／または他の病状および障害など。非限定的な例によって、本発明の組成物は、以下を患う患者の処置のための効力を有する：新生物、腺癌、リンパ腫、前立腺癌、子宮癌、免疫応答、ＡＩＤＳ、喘息、クローン病、多発性硬化症、およびオールブライト遺伝性骨形成異常症。さらなるＧＰＣＲ関連疾患および障害は、本明細書を通して言及される。

【００５０】

さらに、ＧＰＣＲ１に関するタンパク質類似性情報、発現パターン、およびマップ配置は、ＧＰＣＲ１がＧＰＣＲファミリーの重要な構造的および／または生理学的機能の特徴を有し得ることを示唆する。ポリペプチドは、本発明のための特異的な抗体を産生するための免疫原およびワクチンとして使用され得る。これらはまた、潜在的なアゴニスト化合物およびアンタゴニスト化合物についてスクリーニングするために使用され得る。例えば、ＧＰＣＲ１をコードするｃＤＮＡは、遺伝子治療において有用であり、そしてＧＰＣＲ１は、それらを必要とする被験体に投与される場合、有用であり得る。非限定的な目的として、本発明の組成物は、以下を患う患者の処置に効果を有する：細菌感染、真菌感染、原性動物感染およびウイルス感染（特に、ＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２によって発生する感染）、疼痛、癌（新生物；腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌を含むが、これ

らに限定されない）、食欲不振、過食症、ぜん息、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、尿閉の処置、骨粗しょう症、クローン病；多発性硬化症；オールブライト遺伝性骨形成異常症病状障害、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、ぜん息、アレルギー、良性前立腺肥大、ならびに精神学的および神経学的障害（不安、精神分裂病、躁鬱、せん妄、痴呆、重篤な精神遅滞、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症（ＤＲＰＬＡ）、低リン酸血症性くる病、常染色体優性（２）先端脳梁（Ａｃｒｏｃａｌｌｏｓａｌ）症候群およびジスキネジー（例えば、ハンティングトン病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群））、ならびに／あるいは他の症状および障害など。ＯＲ様タンパク質をコードする新規な核酸、および本発明のＯＲ様タンパク質、またはそれらのフラグメントは、診断適用において、さらに有用であり得、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。これらの材料は、治療方法または診断方法における使用のために、本発明の新規な物質に対して免疫特異的に結合する抗体の産生において、さらに有用である。

【００５１】

これらの材料は、治療方法または診断方法における使用のための新規ＧＰＣＲ１物質に免疫特異的に結合する抗体の産生においてさらに有用である。これらの抗体は、以下の「抗ＧＰＣＲＸ抗体」の節に記載されるように、疎水性チャートからの推測によって、当該分野で公知の方法に従って作製され得る。開示されるＧＰＣＲ１タンパク質は、複数の親水性領域を有し、これらの各々は免疫原として使用される。１つの実施形態において、意図されるＧＰＣＲ１エピトープは、約アミノ酸１～１０である。別の実施形態において、ＧＰＣＲ１エピトープは、約アミノ酸７５～１００である。さらなる実施形態において、ＧＰＣＲ１エピトープは、アミノ酸１３０～１４０、２１０～２３０、およびアミノ酸の２７０～３３０である。これらの新規なタンパク質をまた使用して、機能分析に関するアッセイシステムを開発し得る。

【００５２】

（ＧＰＣＲ２）

本発明のさらなるＧＰＣＲ様タンパク質（本明細書中でＧＰＣＲ２と称される）は、嗅覚レセプター（「ＯＲ」）様タンパク質である。１１４９ヌクレオチド

の新規な核酸（８０２５０３１９＿ＥＸＴ、配列番号６）（これは、第５染色体にマップされ、新規なＧタンパク質結合レセプター様タンパク質をコードする）が、図２Ａに示される。

【００５３】

【表１１】

表 2A. GPCR ヌクレオチド配列 (配列番号 6)

ATGGCCGATGCAGCCACGATAGCCACCATGAATAAGGCAGCAGGCGGGGACAAGCTAGCAGAACTCTTCAGTCTGGT
CCCGGACCTTCTGGAGGCGGCCAACACGAGTGGTAACGCGTCGCTGCAGCTTCCGGACTTGTGGTGGGAGCTGGGGC
TGGAGTTGCCGGACGGCGCGCCGCCAGGACATCCCCCGGGCAGCGGCGGGGCAGAGAGCGCGGACACAGAGGCCCGG
GTGCGGATTCTCATCAGCGTGGTGTACTGGGTGGTGTGCGCCCTGGGGTTGGCGGGCAACCTGCTGGTTCTCTACCT
GATGAAGAGCATGCAGGGCTGGCGCAAGTCCTCTATCAACCTCTTCGTCACCAACCTGGCGCTGACGGACTTTCAGT
TTGTGCTCACCCTGCCCTTCTGGGCGGTGGAGAACGCTCTTGACTTCAAATGGCCCTTCGGCAAGGCCATGTGTAAG
ATCGTGTCCATGGTGACGTCCATGAACATGTACGCCAGCGTGTTCTTCCTCACTGCCATGAGTGTGACGCGCTACCA
TTCGGTGGCCTCGGCTCTGAAGAGCCACCGGACCCGAGGACACGGCCGGGGCGACTGCTGCGGCCGGAGCCTGGGGG
ACAGCTGCTGCTTCTCGGCCAAGGCGCTGTGTGTGTGGATCTGGGCTTTGGCCGCGCTGGCCTCGCTGCCCAGTGCC
ATTTTCTCCACCACGGTCAAGGTGATGGGCGAGGAGCTGTGCACTGGTGCGTTTCCCGGACAAGTTGCTGGGCCGCG
ACAGGCAGTTCTGGCTGGGCCTCTACCACTCGCAGAAGAAGCTGCTGGGGTACCGGCTTACTTAGCATATATTTTTA
TTCCAAAACAATTCTTTAGATCACTACCTCTTTCTTACGACCTCTTGTATTTTCCGCCCCTCTCTTACCCTTCCGTT
ATCCGCAACATTTCCTCCTTACCGCCACAACACGATAAACCGCGTAGGACCTGGTGTCCACCCCCATGGACTGGACC
CGCCAGTCCAGACCAGATTGAAAATACGTATAGATTTGCTACCTGCTATGTACATCACTATGAATTTCTGGCATTTA
AATCAAACAGATTTTCAGGAACTAGCCTGGGGACTCAGACACCATTTAAACCTTGGGAAAGCATGTTTTGA

ＧＰＣＲ２についてのオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）が、ヌクレオチド１～１１４６に同定された。配列番号６によってコードされる開示されたＧＰＣＲ２ポリペプチド（配列番号７）は、４１６６９．７ダルトンの分子量を有する３８２アミノ酸残基であり、そして表２Ｂに一文字表記を使用して示される。ＧＰＣＲ２タンパク質は、シグナルペプチド予測および細胞局在化について分析された。ＰｓｏｒｔおよびＨｙｄｒｏｐａｔｈｙプロフィールはまた、ＧＰＣＲ２が、シグナルペプチドを含み、そして原形質膜に局在化するようであることを予測する（０．６０００の確実性）。

【００５４】

【表１２】

表 2B. コードされたGPCR2タンパク質配列 (配列番号 7).

MADAATIATMNKAAGGDKLAELFSLVPDLLEAANTSGNASLQLPDLWWELGLELPDGAPPGHPPGSGGAESADTEAR
VRILISVVYWVVCALGLAGNLLVLYLMKSMQGWRKSSINLFVTNLALTDFQFVLTLPFWAVENALDFKWPFGKAMCK
IVSMVTSMNMYASVFFLTAMSVTRYHSVASALKSHRTRGHGRGDCCGRSLGDSCCFSAKALCVWIWALAALASLPSA
IFSTTVKVMGEELCTGAFPGQVAGPRQAVLAGPLPLAEEAAGVPAYLAYIFIPKQFFRSLPLSYDLLYFPPLSYPSV
IRNISSLPPQHDKPRRTWCPPPWTGPASPDQIENTYRFATCYVHHYEFLAFKSNRFSGTSLGTQTPFKPWESMF

ＧＰＣＲ２核酸配列は、米国特許第５４３６１５５号からの配列番号９（ＧＥ

ＮＢＡＮＫ－ＩＤ：Ｉ１３４０６）に６４８ヌクレオチドのうち４０５ヌクレオチド（６２％）が同一である。

【００５５】

本発明のタンパク質の全アミノ酸配列は、Ｒａｔｔｕｓ　ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ由来の３５９アミノ酸残基のタンパク質（ＳＷＩＳＳＰＲＯＴ－ＡＣＣ：Ｐ２９０８９）に、１７０アミノ酸残基のうち６２アミノ酸残基が同一（３６％）であり、１７０アミノ酸残基のうち９６アミノ酸残基が陽性（５６％）であることが見出された。ＧＰＣＲ２（配列番号６）によってコードされるこのタンパク質は、嗅覚、臭気物質、および味覚の化学レセプターに有意な相同性を有し、そしてＧタンパク質結合レセプター（ＧＰＣＲ）のファミリーに属する。この遺伝子ファミリーは、低分子薬物の標的として使用され、そしてＧＰＣＲは、原形質膜に発現され、そしてまた、タンパク質薬様の治療抗体、細胞傷害性抗体、および診断抗体に対する適切な標的である。

【００５６】

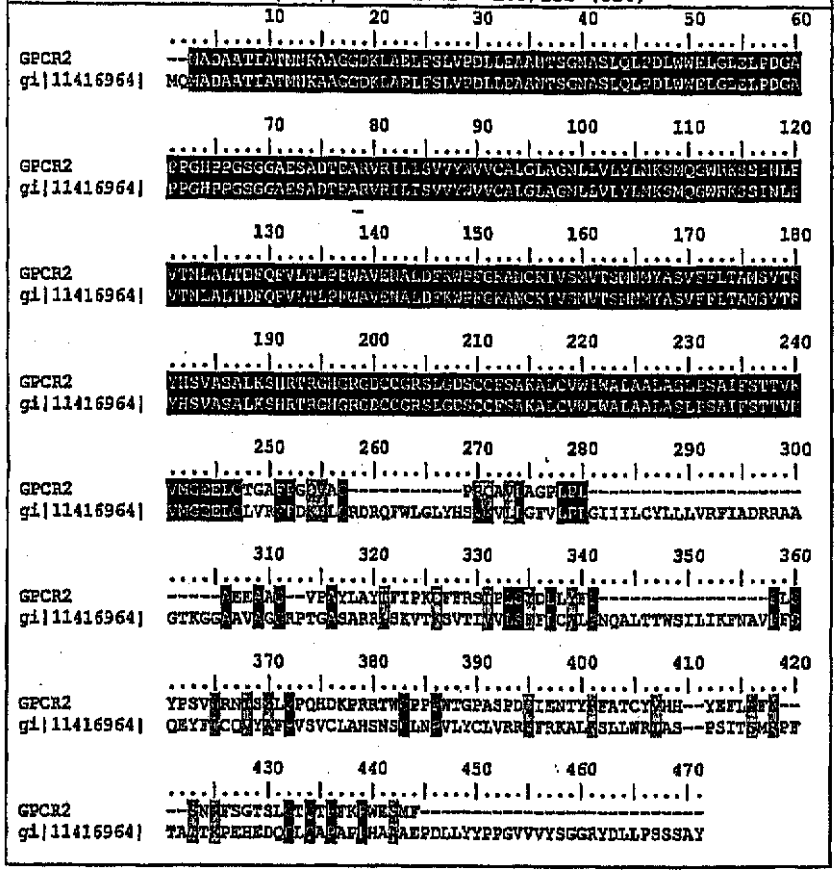
ＧｅｎＢａｎｋ登録番号：ＸＰ＿００３８７４．１（４７１アミノ酸Ｇ－タンパク質結合レセプターＳＡＬＰＲ；Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ由来のソマトスタチンおよびアンギオテンシン様ペプチドレセプタータンパク質）に対するＢＬＡＳＴは、２４５個のフラグメントとＧＰＣＲ２のアミノ酸１～２４７との間に１００％の同一性を生じた（表２Ｃ）。

【００５７】

【表１３】

表 2C: gi|11416964|ref|xp 00387.4|G タンパク質結合レセプター-
SALPRとのGPCR2のアライメント；ソマトスタチンおよびアンギオテンシン
様ペプチドレセプター[Homo sapiens]（配列番号 48）

Score = 396 bits (1018), Expect = e-109
Identities = 207/255 (81%), Positives = 209/255 (81%)



ＣｌｕｓｔａｌＷ分析に使用される配列を含む他のＢＬＡＳＴ結果を、表２Ｄに示す。他のＢＬＡＳＴアライメントのデータを、表２Ｅに示す。

【００５８】

【表１４】

表　2D. GPCR2についてのBLAST結果

遺伝子指標/識別子	タンパク質/特徴	長さ(aa)	同一性(%)	陽性(%)	予想
Gi|12188901|emb|CAC21550.1| (AJ301623)	angiotensin II type 1 receptor [Cavia porcellus]	359	46/109 (42%)	61/109 (55%)	6e-16
>gi|8927995|sp|Q9WV26|AG2R_CAVPO	TYPE-1 ANGIOTENSIN II RECEPTOR (AT1) [Cavia porcellus]	359	45/109 (41%)	61/109 (55%)	1e-15
Gi|90297|pir||JH0621	angiotensin II receptor 1A - mouse	359	44/109 (40%)	61/109 (55%)	2e-15
Gi|249946|gb|AAB22269.1| (S37484)	Angiotensin II receptor isoform 1a, AT-1a receptor Balb/c, liver	359	44/109 (40%)	61/109 (55%)	2e-15

【００５９】

【表１５】

表 2E. GPCR2のBLASTXアライメント

高スコアのセグメント対を生じる配列：	リーディングフレーム	高スコア	最小合計確率 P(N)
patp:Y92934 Human G-protein coupled receptor clone hOT	+1	1297	6.1e-145
patp:Y92932 Rat G-protein coupled receptor clone rOT7T	+1	1134	1.7e-125
patp:Y92933 Rat G-protein coupled receptor clone rOT7T	+1	1134	1.7e-125
patp:W92645 Human membrane penetrating type receptor p	+1	314	2.4e-27

この情報は、ＧＰＣＲ２を関連タンパク質配列と比較するＣｌｕｓｔａｌ Ｗ分析のように、表２Ｆに提供する複数配列アライメントにグラフで表す（ＧＰＣＲ２を１行目に示す）。

（表２Ｆ．ＣｌｕｓｔａｌＷタンパク質に関する情報）

１）新規ＧＰＣＲ２（配列番号６）

２）ｇｉ｜１１４１６９６４｜ｒｅｆ｜ＸＰ＿００３８７４．１｜Ｇ－タンパク質連結レセプターＳＡＬＰＲ；ソマトスタチンおよびアンギオテンシン様ペプチドレセプター［Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ］（配列番号４８）

３）ｇｉ｜１２１８８９０１｜ｅｍｂ｜ＣＡＣ２１５５０．１｜（ＡＪ３０１６２３）アンギオテンシンＩＩ　１型レセプター［Ｃａｖｉａ　ｐｏｒｃｅｌｌｕ

ｓ］（配列番号４９）

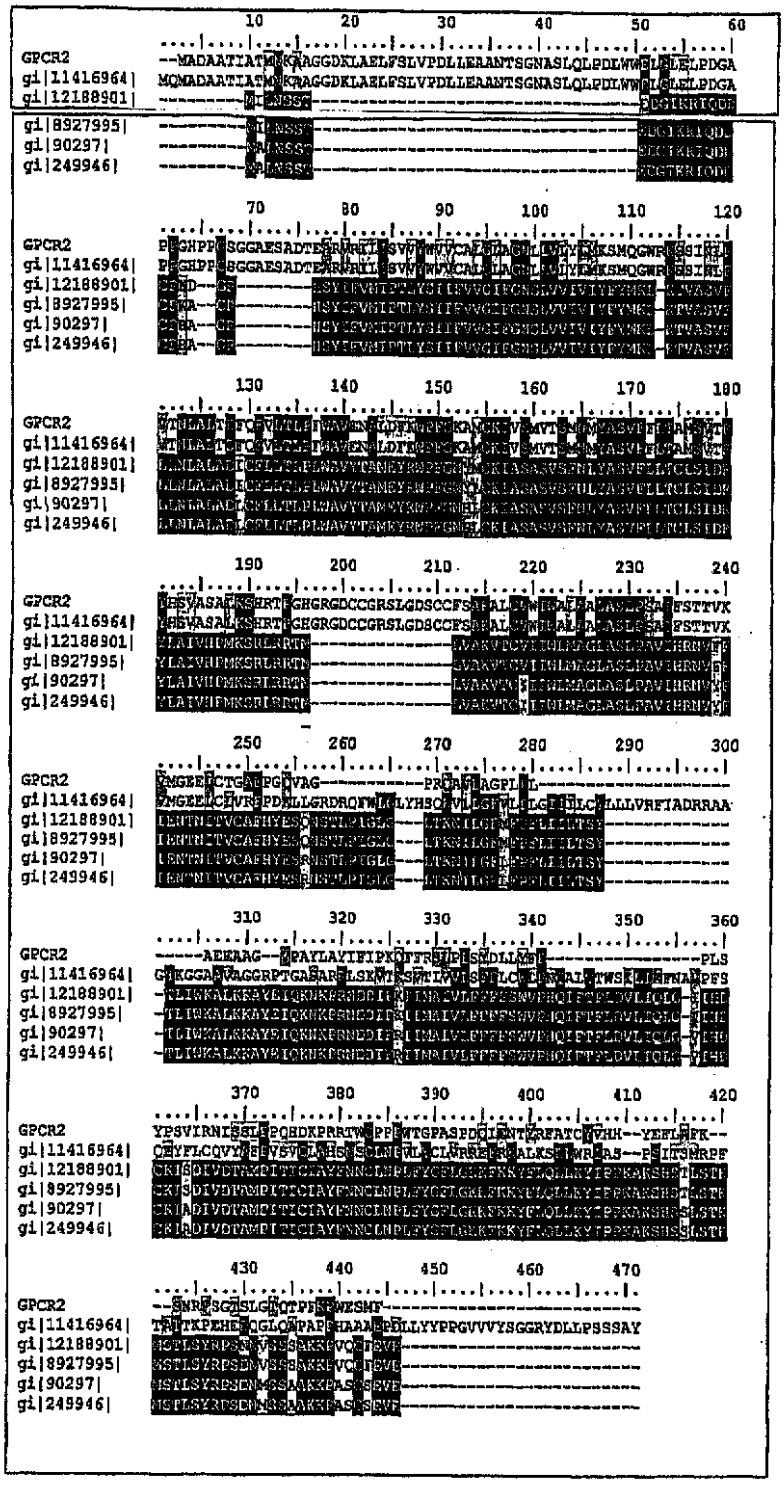
４）ｇｉ｜８９２７９９５｜ｓｐ｜Ｑ９ＷＶ２６｜ＡＧ２Ｒ＿ＣＡＶＰＯ　ＴＹＰＥ－１　ＡＮＧＩＯＴＥＮＳＩＮ　ＩＩ　ＲＥＣＥＰＴＯＲ（ＡＴ１）（配列番号５０）

５）ｇｉ｜９０２９７｜ｐｉｒ｜｜ＪＨ０６２１アンギオテンシンＩＩレセプター１Ａ－マウス（配列番号５１）

６）ｇｉ｜２４９９４６｜ｇｂ｜ＡＡＢ２２２６９．１（Ｓ３７４８４）アンギオテンシンＩＩレセプターアイソタイプｌａ，ＡＴ－１ａレセプター（配列番号５２）

【００６０】

【表１６】

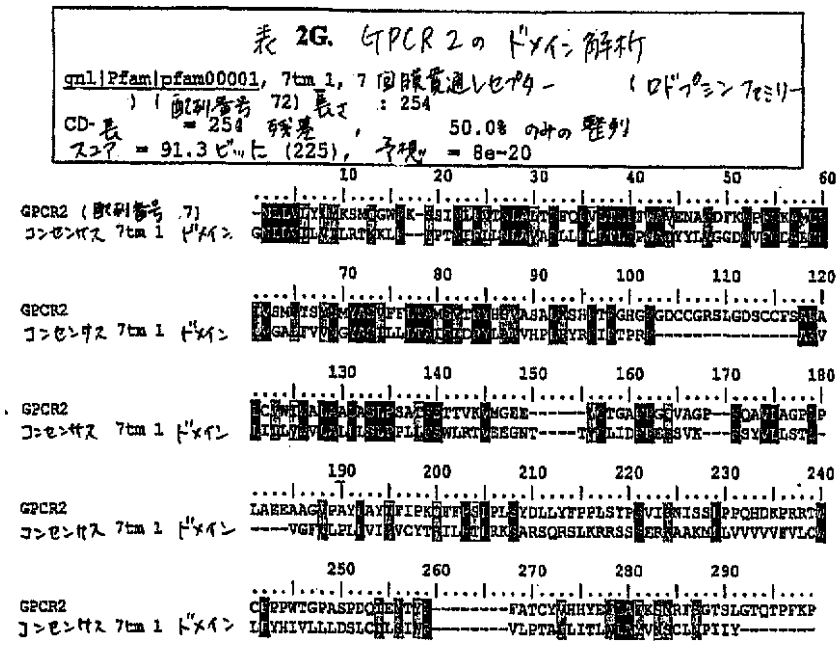


ＧＰＣＲ２に関するＤＯＭＡＩＮの結果は、Ｒｅｖｅｒｓｅ Ｐｏｓｉｔｉｏｎ Ｓｐｅｃｉｆｉｃ ＢＬＡＳＴを用いてＣｏｎｓｅｒｖｅｄ Ｄｏｍａｉｎ Ｄａｔａｂａｓｅ（ＣＤＤ）から収集した。このＢＬＡＳＴサンプルドメインは、Ｓｍａｒｔ ａｎｄ Ｐｆａｍコレクションから見出された。７ｔｍ＿１（７回膜貫通レセプター（ロドプシンファミリー））は、ＧＰＣＲ２に対する相同

性を有することが示された。（Ｅ＝８ｅ－２０）。これは、ＧＰＣＲ２配列が、７ｔｍ＿１ドメイン自体と同様にこのドメインを含む公知の他のタンパク質に類似した特性を有することを示す（表２Ｇ）。

【００６１】

【表１７】



ＳＷＩＳＳＰＲＯＴ－ＡＣＣ：Ｐ２９０８９　ＴＹＰＥ－１Ｂ　ＡＮＧＩＯＴＥＮＳＩＮ　ＩＩ　ＲＥＣＥＰＴＯＲ（ＡＴ１Ｂ）（ＡＴ３）－Ｒａｔｔｕｓ　ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ（ラット）の発現において利用可能な情報に基づくと、ＧＰＣＲ２が心臓組織、腎臓組織、および血管組織においてアンギオテンシンとして発現されるのと同様に、最近隣のＧタンパク質結合レセプターファミリーメンバーはこれらの組織において発現される。

【００６２】

ＧＰＣＲ２は、配列が表２Ａに提供される核酸またはそのフラグメントを含む。本発明はまた、いずれかの塩基が表２Ａに示される対応塩基から変更され得るが、そのＧタンパク質結合レセプター様活性および生理機能を保持するタンパク質をなおコードする変異核酸または改変核酸、またはこのような核酸のフラグメントを含む。ＧＰＣＲ２は、配列がまさに記載される核酸に対して相補的な核酸

（まさに記載される核酸のいずれかに相補的な核酸フラグメントを含む）をさらに含む。ＧＰＣＲ２は、核酸もしくは核酸フラグメント、またはそれに対する相補体さらに含み、これらの構造は、化学修飾を含む。このような修飾物は、非限定例として、修飾された塩基、および糖リン酸骨格が修飾されるかまたは誘導体化される核酸を含む。これらの修飾物は、修飾された核酸の化学的安定性を少なくとも部分的に促進するようになされ、その結果、これらの修飾物は、例えば、被験体の治療適用においてアンチセンス結合核酸として用いられ得る。変異核酸または改変核酸、およびこれらの相補物において、これらの塩基の約３８％までがそのように変更され得る。

【００６３】

本発明の核酸およびタンパク質は、以下にさらに記載される、種々のＧＰＣＲ関連病理学的障害および／またはＯＲ関連病理学的障害に関する有力な治療適用において有用である。例えば、嗅覚レセプター様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、そしてこの嗅覚レセプター様タンパク質は、これを必要とする被験体に投与される場合に有用であり得る。非限定例として、本発明の組成物は、以下に罹患した患者の処置に効力を有する：心臓血管障害、高血圧、糖尿病、自己免疫疾患、腎動脈狭窄、間質性腎炎、糸球体腎炎、多発性嚢胞腎疾患、全身性エリテマトーデス、尿細管性アシドーシス、ＩｇＡ腎症、高カルシウム血症、レッシュ－ナイハン症候群、心筋症、アテローム性動脈硬化症、高血圧、先天性心伝導欠損症、大動脈狭窄、大動脈中隔欠損症（ＡＳＤ）、房室性（Ａ－Ｖ）管欠損症、動脈管、肺動脈弁狭窄、大動脈弁下部狭窄、心室中隔欠損症（ＶＳＤ）、弁疾患、結節硬化症、強皮症、肥満、細胞シグナル伝達障害、癌、筋肉の退化、代謝障害および内分泌障害、呼吸障害、組織／細胞増殖調節障害、ならびに発育障害。他のＧＰＣＲ関連疾患および障害は企図される。

【００６４】

本発明のＧＰＣＲ様タンパク質をコードする新規核酸、またはそのフラグメントは、診断適用にさらに有用であり得、ここで、この核酸またはタンパク質の存在または量は評価されるべきである。これらの材料は、治療方法または診断方法

における使用のための本発明の新規物質に免疫特異的に結合する抗体の作製においてさらに有用である。これらの抗体は、以下の「抗ＧＰＣＲＸ抗体」の節に記載されるように、疎水性チャートからの予測を用いて、当該分野で公知の方法に従って作製され得る。この開示されたＧＰＣＲ２タンパク質は、複数の親水性領域を有し、この親水性領域のそれぞれは、免疫原として用いられ得る。１つの実施形態において、意図されるＧＰＣＲ２エピトープは、アミノ酸約５０～９０である。別の実施形態において、ＧＰＣＲ２エピトープは、アミノ酸約１８０～２３０である。さらなる実施形態において、ＧＰＣＲ２エピトープは、アミノ酸３１０～３６０である。

【００６５】

これらの新規タンパク質は、種々のヒトの障害の機能分析のためのアッセイ系に使用され得、これは、疾患の病理学の理解および種々の障害のための新規薬物標的の開発を補助する。

【００６６】

（ＧＰＣＲ３）

本発明のさらなるＧＰＣＲ様タンパク質（本明細書においてＧＰＣＲ３と称される）は、嗅覚レセプター（「ＯＲ」）様タンパク質である。この新規核酸は、ＧＰＣＲプローブもしくはホモログに関するＣｕｒａＧｅｎ社配列ファイルを用いたＴｂｌａｓｔＮによって、ＧｅｎＢａｎｋによって利用可能なＧｅｎｏｍｉｃ　Ｄａｉｌｙ　Ｆｉｌｅに対して実行され、第１１染色体上に同定された。この核酸はさらに、プログラムＧｅｎＳｃａｎ™によって予測された（エキソンの選択を含む）。これらはさらに、ＢＬＡＳＴ検索を用いて類似性によって改変された。次いでこの配列は、明らかな不一致が手動で訂正され、それによって、全長タンパク質をコードする配列を得た。新規嗅覚レセプター様タンパク質をコードする９７０ヌクレオチドの新規核酸（ＡＣ０２０５９７、配列番号８）を、表３Ａに示す。ヌクレオチド２７～２９のＡＴＧ開始コドンで開始し、ヌクレオチド９４７～９４９のＴＡＡコドンで終わるオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）を同定した。開始コドンの上流および終止コドンの下流である推定非翻訳領域は、表３Ａにおいて下線が引かれ、そして開始コドンおよび終止コドンは太

字である。

【００６７】

【表１８】

表 3A. GPCR3 ヌクレオチド配列（配列番号8）

AAAAAGTTCCCAGAAGAACGGCCTCAATGAATACCACTCTATTTCATCCTTACTCTTTCCTTCTTCTGGGAATTC
CTGGGCTGGAAAGTATGCATCTCTGGGTTGGTTTTCCTTTCTTTGCTGTGTTCCTGACAGCTGTCCTTGGGAATA
TCACCATCCTTTTTGTGATTCAGACTGACAGTAGTCTCCATCATCCCATGTTCTACTTCCTGGCCATTCTGTCAT
CTATTGACCCGGGCCTGTCTACATCCACCATCCCTAAAATGCTTGGCACCTTCTGGTTTACCCTGAGAGAAATCT
CCTTTGAAGGATGCCTTACCCAGATGTTCTTCATCCACCTGTGCACTGGCATGGAATCAGCTGTGCTTGTGGCCA
TGGCCTATGATTGCTATGTGGCCATCTGTGACCCTCTTTGCTACACGTTGGTGCTGACAAACAAGGTGGTGTCAG
TTATGGCACTGGCCATCTTTCTGAGACCCTTAGTCTTTGTCATACCCTTTGTTCTATTTATCCTAAGGCTTCCAT
TTTGTGGACACCAAATTATTCCTCATACTTATGGTGAGCACATGGGCATTGCCCGCCTGTCTTGTGCCAGCATCA
GGGTTAACATCATCTATGGCTTATGTGCCATCTCTATCCTGGTCTTTGACATCATAGCAATTGTCATTTCCTATG
TACAGATCCTTTGTGCTGTATTTCTACTCTCTTCACATGATGCACGACTCAAGGCATTCAGCACCTGTGGCTCTC
ATGTGTGTGTCATGTTGACTTTCTATATGCCTGCATTTTTCTCATTCATGACCCATAGGTTTGGTCGGAATATAC
CTCACTTTATCCACATTCTTCTGGCTAATTTCTATGTAGTCATTCCACCTGCTCTCAACTCTGTAATTTATGGTG
TCAGAACCAAACAGATTAGAGCACAAGTGCTGAAAATGTTTTTCAATAAATAAAACATAGCTCATTTATA

配列データベースの検索において、例えば、ＧＰＣＲ３の核酸配列が、Ｍｕｓ ｍｕｓｃｕｌｕｓ臭気レセプターＳ４６遺伝子（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＡＦ１２１９７９）に対して９０４塩基のうち６２７塩基の同一性（６９％）を有することが見出された。

【００６８】

配列番号９によってコードされる開示されたＧＰＣＲ３ポリペプチド（配列番号９）は、３０８アミノ酸残基（分子量３４７１３．３ダルトン）であり、表３Ｂに一文字コードを用いて表示される。ＧＰＣＲ３タンパク質を、シグナルペプチド予測および細胞局在に関して分析した。ＳｉｇｎａｌＰ結果は、ＧＰＣＲ３が配列番号１０の４０位と４１位との間（すなわち、アミノ酸配列ＶＬＧ－ＮＩ中のスラッシュ）で切断されることを予測する。ＰｓｏｒｔおよびＨｙｄｒｏｐａｔｈｙプロフィールはまた、ＧＰＣＲ３がシグナルペプチドを含み、おそらく原形質膜に局在することを予測する（０．６４００の確実性）。

【００６９】

【表１９】

表 3B. コードされた GPCR3 タンパク質 配列（配列番号9）

MNTTLFHPYSPLLLGIPGLESMHLWVGFPFFAVFLTAVLGNITILFVIQTDSSLHHPMFYFLAILSSIDPGLSTS
TIPKMLGTFWFTLREISFEGCLTQMFFIHLCTGMESAVLVAMAYDCYVAICDPLCYTLVLTNKVVSVMALAIFLR
PLVFVIPFVLFILRLPFCGHQIIPHTYGEHMGIARLSCASIRVNIIYGLCAISILVFDIIAIVISYVQILCAVFL
LSSHDARLKAFSTCGSHVCVMLTFYMPAFFSFMTHRFGRNIPHFIHILLANFYVVIPPALNSVIYGVRTKQIRAQ
VLKMFFNK

本発明のタンパク質の全長アミノ酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ（マウス）（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｑ９ＷＵ９３）由来の３１８アミノ酸残基のタンパク質嗅覚レセプターＳ４６に、３０７アミノ酸残基のうち１７８アミノ酸残基が同一性（５７％）、および３０７残基のうち２３１残基が陽性（７５％）を有し、そしてＨｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ由来の３１２アミノ酸残基のタンパク質嗅覚レセプターＨＰＦＨ１　ＯＲ（ＴＲＥＭＢＬＮＥＷ－ＡＣＣ：ＡＡＤ５１２７９）に、３０６アミノ酸残基のうち１４６アミノ酸残基が同一性（４７％）、および３０６残基のうち２０８残基が陽性（６７％）有することが見出された。

【００７０】

開示されたＧＰＣＲ３タンパク質（配列番号９）はまた、表３Ｃおよび表３Ｄに示されるように多数の嗅覚レセプタータンパク質と良好な同一性を有する。

【００７１】

【表２０】

表3C. GPCR3についてのBLAST結果

遺伝子指標／識別子	タンパク質／生物種	長さ(aa)	同一性(%)	陽性性(%)	予想
gi|9935442|ref|NP_064688.1|	odorant receptor S46 gene [Mus musculus]	318	178/307 (57%)	231/307 (74%)	7e-86
gi|6532001|gb|AAD27596.2|AF121976_1 (AF121976)	odorant receptor S19 [Mus musculus]	339	159/291 (54%)	211/291 (71%)	1e-75
Gi|11908211|gb|AAG41676.1| (AF137396)	HOR 5'Beta14 [Homo sapiens]	318	157/299 (52%)	214/299 (71%)	5e-73
Gi|9938014|ref|NP_064686.1|	odorant receptor S18 gene [Mus musculus]	321	155/304 (50%)	213/304 (69%)	5e-73
Gi|7305349|ref|NP_038647.1|	olfactory receptor 67 [Mus musculus]	326	158/297 (53%)	213/297 (71%)	6e-71

【００７２】

【表２１】

表3D. GPCR3 のBLASTXアライメント

高スコアのセグメント対を生じる配列：	リーディングフレーム	高スコア	最小合計確率 P(N)
Patp:W01730 Human G-protein receptor HPRAJ70 - Homo sa	+3	721	1.8e-70
Patp:W56641 G-protein coupled prostate tissue receptor	+3	721	1.8e-70
Patp:Y92365 G protein-coupled receptor protein 5 - Hom	+3	718	3.8e-70
Patp:R27875 Odorant receptor clone I14 - Rattus rattus	+3	486	1.5e-45

この情報は、ＧＰＣＲ３を関連タンパク質配列と比較するＣｌｕｓｔａｌ Ｗ分析のように、表３Ｅに提供する複数配列アライメントにグラフで表す（ＧＰＣＲ３を１行目に示す）。

【００７３】

（表３Ｅ．ＣｌｕｓｔａｌＷタンパク質に関する情報）

１）新規ＧＰＣＲ３（配列番号９）

２）ｇｉ｜９９３５４４２｜ｒｅｆ｜ＮＰ＿０６４６８８．１｜嗅覚レセプターＳ４６遺伝子［Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ］（配列番号５３）

３）ｇｉ｜６５３２００１｜ｇｂ｜ＡＡＤ２７５９６．２｜ＡＦ１２１９７６＿１（ＡＦ１２１９７６）嗅覚レセプターＳ１９［Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ］（配列番号５４）

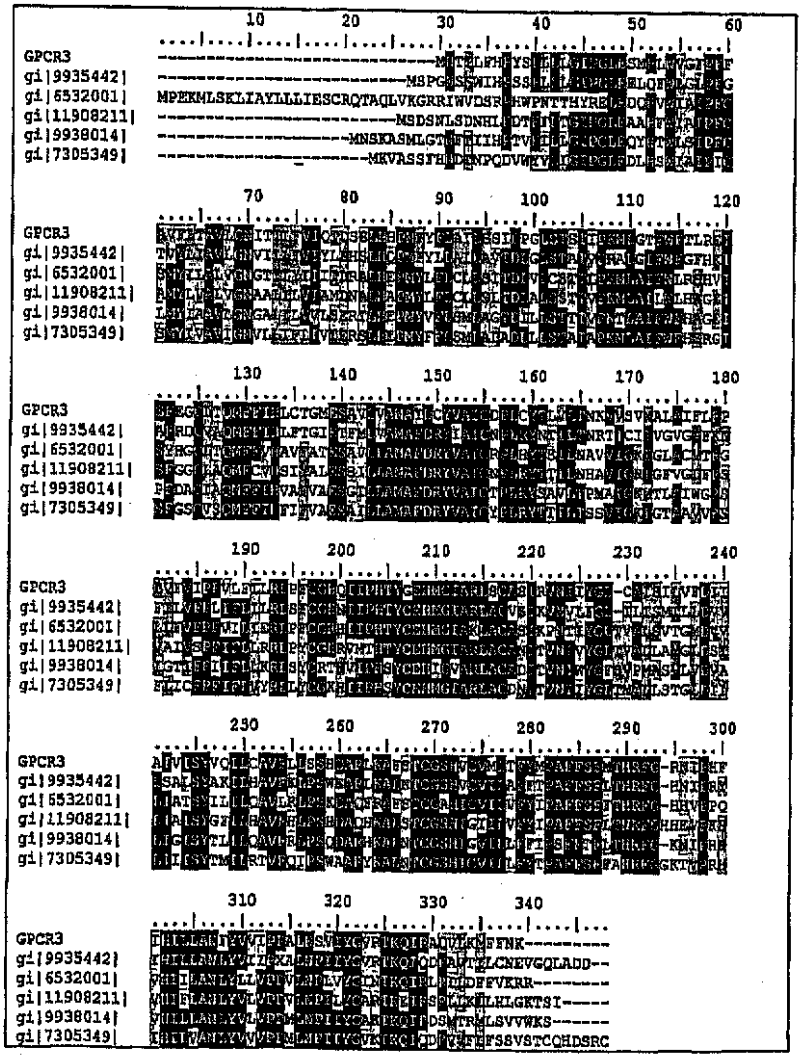
４）ｇｉ｜１１９０８２１１｜ｇｂ｜ＡＡＧ４１６７６．１｜（ＡＦ１３７３９６）ＨＯＲ　５’Ｂｅｔａｌ４　［Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ］（配列番号５５）

５）ｇｉ｜９９３８０１４｜ｒｅｆ｜ＮＰ＿０６４６８６．１｜嗅覚レセプターＳ１８遺伝子［Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ］（配列番号５６）

６）ｇｉ｜７３０５３４９｜ｒｅｆ｜ＮＰ＿０３８６４７．１｜嗅覚レセプター６７　［Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ］（配列番号５７）

【００７４】

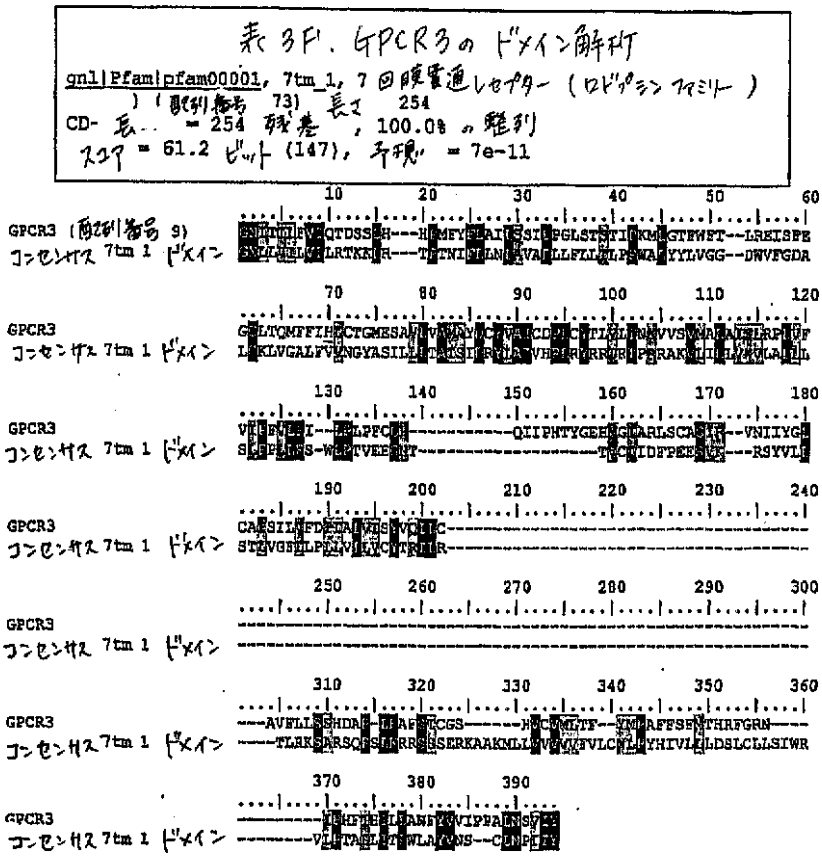
【表２２】



ＧＰＣＲ３に関するＤＯＭＡＩＮの結果は、Ｒｅｖｅｒｓｅ　Ｐｏｓｉｔｉｏｎ　Ｓｐｅｃｉｆｉｃ　ＢＬＡＳＴを用いてＣｏｎｓｅｒｖｅｄ　Ｄｏｍａｉｎ　Ｄａｔａｂａｓｅ（ＣＤＤ）から収集した。このＢＬＡＳＴサンプルドメインは、Ｓｍａｒｔ　ａｎｄ　Ｐｆａｍコレクションから見出された。７ｔｍ＿１（７回膜貫通レセプター（ロドプシンファミリー））は、ＧＰＣＲ３に対する有意な相同性を有する２つのセグメントを有することが示された。（Ｅ＝７ｅ－１１）。これは、ＧＰＣＲ３配列が、７ｔｍ＿１ドメイン自体と同様にこのドメインを含むことが公知の他のタンパク質に類似した特性を有することを示す。

【００７５】

【表２３】



本発明の核酸およびタンパク質は、以下でさらに記載される、様々なＧＰＣＲ関連の病理学的障害および／またはＯＲ関連の病理学的障害に関する潜在的な治療適用において有用である。例えば、嗅覚レセプター様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、そしてこの嗅覚レセプター様タンパク質は、これを必要とする被験体に投与される場合に有用であり得る。非限定的な例として、本発明の組成物は、以下に罹患している患者の処置のための効力を有する：感染（ｎｆｅｃｔｉｏｎｓ）（例えば、細菌感染、真菌感染、原生動物感染およびウイルス感染（特に、ＨＩＶ－１もしくはＨＩＶ－２によって引き起こされる感染））、疼痛、癌（新生物；腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌が挙げられるが、これらに限定されない）、食欲不振、過食症、喘息、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、尿閉、骨粗しょう症、クローン病；多発性硬化症；およびオールブライト遺伝性骨形成異常症、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、喘息、アレルギー、良性前立腺肥大、ならびに精神病性障害および神経学的障害（不安、精神分裂病、大うつ病、せん妄、痴呆、重篤な精神遅滞および運動障

害（例えば、ハンティングトン病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群）が挙げられる）ならびに／または他の病理学および障害。他のＧＰＣＲ関連疾患および障害が企図される。

【００７６】

本発明のＧＰＣＲ様タンパク質をコードする新規の核酸、またはそのフラグメントは、診断用途においてさらに有用であり得、ここで、この核酸またはタンパク質の存在または量は評価されるべきである。これらの材料は、治療方法または診断方法における使用のための本発明の新規の物質に免疫特異的に結合する抗体の作製において、さらに有用である。これらの抗体は、以下の「抗ＧＰＣＲＸ抗体」の節に記載されるように、疎水性チャートからの予測を用いて、当該分野で公知の方法に従って作製され得る。この開示されたＧＰＣＲ３タンパク質は、複数の親水性領域を有し、この親水性領域のそれぞれは、免疫原として用いられ得る。１つの実施形態において、意図されるＧＰＣＲ３エピトープは、アミノ酸約１６０～１９０である。別の実施形態において、ＧＰＣＲ３エピトープは、アミノ酸約２６０～２７０である。さらなる実施形態において、ＧＰＣＲ３エピトープは、アミノ酸２８０～３００である。

【００７７】

（ＧＰＣＲ４）

ＧＰＣＲ４は、以下に開示された３つの核酸のファミリーを含む。この開示された核酸は、ＧＰＣＲ様タンパク質をコードする。

【００７８】

（ＧＰＣＲ４ａ）

開示されたＧＰＣＲ４ａ（本明細書においてＡＣ０２０５９７＿Ｂと称される）は、核酸（９９４ヌクレオチド長（配列番号１０））によってコードされる。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド２３～２５においてＡＴＧ開始コドンで始まり、そしてヌクレオチド９６８～９７０においてＴＡＡコドンで終結することが同定された。開始コドンから上流であり、かつ終止コドンから下流の推定非翻訳領域は、表４Ａにおいて下線が引かれており、そして開始コドンおよび終止コドンは、太字である。３１５アミノ酸残基を有するコードされたタン

パク質は、表４Ｂにおいて一文字のコードを使用して表される（配列番号１１）。

【００７９】

【表２４】

表 4A. GPCR4a ヌクレオチド配列 （配列番号 10).

TGCTGAATTACTCAAAGTCACTATGGGAGACTGGAATAACAGTGATGCTGTGGAGCCCATATTTATCCTGAGGGG
TTTTCCTGGACTGGAGTATGTTCATTCTTGGCTCTCCATCCTCTTCTGTCTTGCATATTTGGTAGCATTTATGGG
TAATGTTACCATCCTGTCTGTCATTTGGATAGAATCCTCTCTCCATCAGCCCATGTATTACTTTATTTCCATCTT
AGCAGTGAATGACCTGGGGATGTCCCTGTCTACACTTCCCACCATGCTTGCTGTGTTATGGTTGGATGCTCCAGA
GATCCAGGCAAGTGCTTGCTATGCTCAGCTGTTCTTCATCCACACATTCACATTCCTGGAGTCCTCAGTGTTGCT
GGCCATGGCCTTTGACCGTTTTGTTGCTATCTGCCATCCACTGCACTACCCCACCATCCTCACCAACAGTGTAAT
TGGCAAAATTGGTTTGGCCTGTTTGCTACGAAGCTTGGGAGTTGTACTTCCCACACCTTTGCTACTGAGACACTA
TCACTACTGCCATGGCAATGCCCTCTCTCACGCCTTCTGTTTGCACCAGGATGTTCTAAGATTATCCTGTACAGA
TGCCAGGACCAACAGTATTTATGGGCTTTGTGTAGTCATTGCCACACTAGGTGTGGATTCAATCTTCATACTTCT
TTCTTATGTTCTGATTCTTAATACTGTGCTGGATATTGCATCTCGTGAAGAGCAGCTAAAGGCACTCAACACATG
TGTATCCCATTATCTGTGTGGTGCTTATCTTCTTTGTGCCAGTTATTGGGGTGTCAATGGTCCATCGCTTTGGGAA
GCATCTGTCTCCCATAGTCCACATCCTCATGGCAGACATCTACCTTCTTCTTCCCCCAGTCCTTAACCCTATTGT
CTATAGTGTCAGAACAAAGCAGATTCGTCTAGGAATTCTCCACAAGTTTGTCCTAAGGAGGAGGTTTTAAGTAAC
CTCTGTCCTCCAACTTTTC

開示された核酸ＧＰＣＲ４ａ配列は、Ｒａｔｔｕｓ　ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ　ＧＰＣＲ　ｍＲＮＡ（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＡＦ０７９８６４）に対して８６８塩基のうち５７１塩基の同一性（６５％）を有する。

【００８０】

配列番号１０によってコードされるＧＰＣＲ４ａポリペプチド（配列番号１１）は、表４Ｂにおいて１文字アミノ酸コードを使用して示される。ＧＰＣＲ４ａについてのＰｓｏｒｔプロフィールによって、この配列がシグナルペプチドを有すること、そして約０．６０００の確実性で原形質膜に存在するらしいことが予期される。ＧＰＣＲ４ａペプチドの最も可能な切断部位は、シグナルＰ結果に基づいて、アミノ酸４０と４１との間、すなわち、アミノ酸配列ＬＶＡ－ＦＭである。ＧＰＣＲ４ａは、分子量３５３６８．７を有する。

【００８１】

【表２５】

表 4B. GPCR4a タンパク質配列（配列番号 :11)

```
MGDWNNSDAVEPIFILRGFPGLEYVHSWLSILFCLAYLVAFMGNVTILSVIWIESSLHQPMYYFISILA
VNDLGMSLSTLPTMLAVLWLDAPEIQASACYAQLFFIHTFTFLESSVLLAMAFDRFVAICHPLHYPTIL
TNSVIGKIGLACLLRSLGVVLPTPLLLRHYHYCHGNALSHAFCLHQDVLRLSCTDARTNSIYGLCVVIA
TLGVDSIFILLSYVLILNTVLDIASREEQLKALNTCVSHICVVLIFFVPVIGVSMVHRFGKHLSPIVHI
LMADIYLLLPPVLNPIVYSVRTKQIRLGILHKFVLRRRF
```

開示されたＧＰＣＲ４ａポリペプチドの全長アミノ酸配列は、Ｇａｌｌｕｓｇａｌｌｕｓ（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｑ９ＹＨ５５）由来の３１９アミノ酸残基タンパク質に対して、３０１アミノ酸残基のうちの１５９残基（５２％）が同一であり、そして３０１残基のうちの２１７残基（７２％）がポジティブである。（Ｅ値＝１．０×１０$^{-84}$）

ＧＰＣＲ４ａを有するアライメントについての最高のヒットのＢＬＡＳＴＰ（非冗長複合体データベース）分析を、表４Ｃに列挙する。ＢＬＡＳＴＸ分析をまた行って、表４Ｄに示すようにＧＰＣＲ４ａと有意な同一性を有するタンパク質を決定した。

【００８２】

【表２６】

表 4C. ＧＰＣＲ４ａについてのＢＬＡＳＴＰ結果

Gene Index/ Identifier	Protein/ Organism	Length (aa)	Identity (%)	Positives (%)	Expact
ACC:Q9WVN4	MOR 5'BETA1 - Mus musculus	311	160/303 (52%)	219/303 (72%)	1.6e-83
ACC:O88628	PUTATIVE G-PROTEIN COUPLED RECEPTOR RA1C - Rattus norvegicus	320	152/296 (51%)	204/296 (68%)	5.3e-83
ACC:Q9Y5P1	HOR 5'BETA3 - Homo sapiens	312	145/312 (46%)	221/312 (70%)	1.9e-78

【００８３】

【表２７】

表 4D. ＧＰＣＲ４ａについてのＢＬＡＳＴＸ結果

Sequences producing High-scoring Segment Pairs:	Reading Frame	High Score	Smallest Sum Prob P(N)	N
Ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9YH55 OLFACTORY RECEPTOR-LIKE PROTE.	+2	856	1.2e-84	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVN4 MOR 5'BETA1 - Mus musculus (M.	+2	838	9.5e-83	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:O88628 PUTATIVE G-PROTEIN COUPLED RE.	+2	833	3.2e-82	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVN5 MOR 5'BETA2 - Mus musculus (M.	+2	830	6.7e-82	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVN6 MOR 5'BETA3 - Mus musculus (M.	+2	826	1.8e-81	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9Y5P1 HOR 5'BETA3 - Homo sapiens (H.	+2	790	1.2e-77	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WU90 ODORANT RECEPTOR S19 - Mus mu.	+2	764	6.6e-75	1
patp:Y92365 G protein-coupled receptor protein 5 - Hom	+2	829	6.5e-82	1
patp:W01730 Human G-protein receptor HFRAJ70 - Homo sa	+2	818	9.6e-81	1
patp:W56641 G-protein coupled prostate tissue receptor	+2	818	9.6e-81	1
patp:R27874 Odorant receptor clone I9 - Rattus rattus,	+2	440	1.1e-40	1
patp:R27875 Odorant receptor clone I14 - Rattus rattus	+2	440	1.1e-40	1

ＧＰＣＲ４ａについて見出された可能なＳＮＰを表４Ｅに列挙する。

【００８４】

【表２８】

表 4E: SNPs

塩基位置	前の塩基	後の塩基
115	A	G(4)
140	G	ギャップ(2)
141	C	ギャップ(2)
174	A	ギャップ(17)
175	C	ギャップ(17)
176	A	ギャップ(6)
177	C	ギャップ(6)
178	A	ギャップ(5)
179	C	ギャップ(5)
180	ギャップ	A(22)
181	ギャップ	C(22)
182	ギャップ	A(21)
183	C	ギャップ(20)
185	C	ギャップ(10)
229	ギャップ	A(2)
252	A	ギャップ(2)
256	ギャップ	A(2)
548	T	C(2)
553	G	ギャップ(2)
614	G	A(2)
1445	C	A(2)
1446	C	G(2)
1447	A	G(2)
1448	A	C(2)
1453	G	A(2)
1454	G	T(2)
1455	A	G(2)
1456	C	T(2)
1460	G	C(2)
1462	G	T(2)

（ＧＰＣＲ４ｂ）

開示されるＧＰＣＲ４ｂ（また本明細書中でＡＣ０２０５８７Ｂ１と称される）は、９９４ヌクレオチド長（配列番号１２）の核酸によってコードされる。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド２３～２５でＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド９６８～９７０でＴＡＡコドンで終了することが同定された。推定非翻訳領域の、開始コドンの上流および末端コドンの下流を、表４Ｆにおいて下線を引き、そして開始コドンおよび終止コドンは、太字である。

３１２個のアミノ酸残基を有するコードタンパク質は、表４Ｇにおいて１文字アミノ酸コードを使用して示される（配列番号１３）。

【００８５】

【表２９】

表　4F. GPCR4b　　ヌクレオチド配列（配列番号　12)

```
TGCTGAATTACTCAAAGTCACTATGGGAGACTGGAATAACAGTGATGCTGTGGAGCCCATATTTATC
CTGAGGGGTTTTCCTGGACTGGAGTATGTTCATTCTTGGCTCTCCATCCTCTTCTGTCTTGCATATT
TGGTAGCATTTATGGGTAATGTTACCATCCTGTCTGTCATTTGGATAGAATCCTCTCTCCATCAGCC
CATGTATTACTTTATTTCCATCTTGGCAGTGAATGACCTGGGGATGTCCCTGTCTACACTTCCCACC
ATGCTTGCTGTGTTATGGTTGGATGCTCCAGAGATCCAGGCAAGTGCTTGCTATGCTCAGCTGTTCT
TCATCCACACATTCACATTCCTGGAGTCCTCAGTGTTGCTGGCCATGGCCTTTGACCGTTTTGTTGC
TATCTGCCATCCACTGCACTACCCCACCATCCTCACCAACAGTGTAATTGGCAAAATTGGTTTGGCC
TGTTTGCTACGAAGCTTGGGAGTTGTACTTCCCACACCTTTGCTACTGAGACACTATCACTACTGCC
ATGGCAATGCCCTCTCTCACGCCTTCTGTTTGCACCAGGATGTTCTAAGATTATCCTGTACAGATGC
CAGGACCAACAGTATTTATGGGCTTTGTGTAGTCATTGCCACACTAGGTGTGGATTCAATCTTCATA
CTTCTTTCTTATGTTCTGATTCTTAATACTGTGCTGGATATTGCATCTCGTGAAGAGCAGCTAAAGG
CACTCAACACATGTGTATCCCATATCTGTGTGGTGCTTATCTTCTTTGTGCCAGTTATTGGGGTGTC
AATGGTCCATGCGTTTGGGAAGCATCTGTCTCCCATAGTCCACATCCTCATGGCAGACATGTACCTT
CTTCTTCCCCCAGTCCTTAACCCTATTGTCTATAGTGTCAGAACAAAGCAGATTCGTCTAGGAATTC
TCCACAAGTTTGTCCTAAGGAGGAGGTTTTAAGTAACCTCTGTCCTCCAACTTTTC
```

開示されたＧＰＣＲ４ｂ　嗅覚レセプター様タンパク質についてのＳｉｇｎａｌＰ、Ｐｓｏｒｔおよび／またはＨｙｄｒｏｐａｔｈｙ（疎水性親和性）プロフィールは、この配列がシグナルペプチドを有し、そして０．６０００の確実度で、原形質膜に局在化するようであることを予測する。ＳｉｇｎａｌＰは、シグナル配列が、表４ＧにおけるＬＶＡ／ＦＭの間で、アミノ酸４０と４１との間で切断部位を有する最初の３６アミノ酸についてコードされることを示す。ＧＰＣＲ４ｂの分子量は、３５３８６．７Ｄａである。これは、このタイプの膜タンパク質で代表的である。

【００８６】

【表３０】

Table 4G. GPCR4b アミノ酸 配列　　(配列番号　13)

```
MGDWNNSDAVEPIFILRGFPGLEYVHSWLSILFCLAYLVAFMGNVTILSVIWIESSLHQPMYYFISILAVNDL
GMSLSTLPTMLAVLWLDAPEIQASACYAQLFFIHTFTFLESSVLLAMAFDRFVAICHPLHYPTILTNSVIGKI
GLACLLRSLGVVLPTPLLLRHYHYCHGNALSHAFCLHQDVLRLSCTDARTNSIYGLCVVIATLGVDSIFILLS
YVLILNTVLDIASREEQLKALNTCVSHICVVLIFFVPVIGVSMVHRFGKHLSPIVHILMADMYLLLPPVLNPI
VYSVRTKQIRLGILHKFVLRRRF
```

ＢＬＡＳＴＰ整列はまた、ＧＰＣＲ４ｂと表４Ｈにおいて示される他のタンパク質との間に高い相同性を示す。

【００８７】

【表３１】

表　4H. ＧＰＣＲ４ｂについてのＢＬＡＳＴＰ結果

遺伝子指標／識別子	タンパク質／器官	長さ (aa)	同一性 (%)	ポジティブ (%)	期待値
SPTREMBL-ACC:Q9YH55	OLFACTORY RECEPTOR-LIKE PROTEIN COR3'BETA - Gallus gallus (Chicken),	319	159/301 (52%)	217/301 (72%)	2.7e-85
SPTREMBL-ACC:Q9WVN4	MOR 5'BETA1 - Mus musculus (Mouse)	311	160/303 (52%)	219/303 (72%)	2.2e-83
ACC:Q9Y5P1	HOR 5'BETA3 - Homo sapiens (Human)	312	144/312 (46%)	221/312 (70%)	3.4e-78

開示されたＧＰＧＲ４ｂは、表４Ｉに示されるように、多数の嗅覚レセプタータンパク質に相同性である。

【００８８】

【表３２】

表　4L ＧＰＣＲ４ｂについてのＢＬＡＳＴＸ結果

高スコアセグメント対を産生する配列	リーディングフレーム	高スコア	最小和の合計確定値 P(N)	N
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9YH55 OLFACTORY RECEPTOR-LIKE PROTE.+2		854	1.6e-84	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVN4 MOR 5'BETA1 - Mus musculus (M +2		836	1.3e-82	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:O88628 PUTATIVE G-PROTEIN COUPLED RE.+2		831	4.5e-82	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVN5 MOR 5'BETA2 - Mus musculus (M.+2		828	9.3e-82	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVN6 MOR 5'BETA3 - Mus musculus (M.+2		823	3.1e-81	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9Y5P1 HOR 5'BETA3 - Homo sapiens (H.+2		787	2.1e-77	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WU90 ODORANT RECEPTOR S19 - Mus mu.+2		760	1.5e-74	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVD9 MOR 3'BETA1 - Mus musculus (M.+2		751	1.3e-73	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WU89 ODORANT RECEPTOR S18 - Mus mu.+2		749	2.2e-73	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9Y5P0 HOR 5'BETA1 - Homo sapiens (H.+2		745	5.8e-73	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVD7 MOR 3'BETA3 - Mus musculus (M.+2		710	3.0e-69	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVD8 MOR 3'BETA2 - Mus musculus (M.+2		705	1.0e-68	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WU93 ODORANT RECEPTOR S46 - Mus mu.+2		703	1.6e-68	1
ptnr:TREMBLNEW-ACC:CAB89291 OLFACTORY RECEPTOR - Homo +2		532	1.8e-54	2

（ＧＰＣＲ４ｃ）

開示されるＧＰＣＲ４ｃ（また本明細書中でＡＣ０２０５９７Ｂ２と称される）は、９９４ヌクレオチド長（配列番号１４）の核酸によってコードされる。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド２３～２５のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド９６８～９７０のＴＡＡコドンで終了することが同定された。開始コドンの上流および末端コドンの下流の推定非翻訳領域を、表４Ｊにおいて下線を引き、そして開始コドンおよび終止コドンは、太字である。３１２個のアミノ酸残基を有するコードタンパク質は、表４Ｊにおいて１文字アミ

ノ酸コードを使用して示される（配列番号１２）。

【００８９】

【表３３】

表　4J. GPCR4c　　ヌクレオチド配列（配列番号 :14).

TGCTGAATTACTCAAAGTCACTATGGGAGACTGGAATAACAGTGATGCTGTGGAGCCCATATTTATCCTGAGGGG
TTTTCCTGGACTGGAGTATGTTCATTCTTGGCTCTCCATCCTCTTCTGTCTTGCATATTTGGTAGCATTTATGGG
TAATGTTACCATCCTGTCTGTCATTTGGATAGAATCCTCTCTCCATCAGCCCATGTATTACTTTATTTCCATCTT
GGCAGTGAATGACCTGGGGATGTCCCTGTCTACACTTCCCACCATGCTTGCTGTGTTATGGTTGGATGCTCCAGA
GATCCAGGCAAGTGCTTGCTATGCTCAGCTGTTCTTCATCCACACATTCACATTCCTGGAGTCCTCAGTGTTGCT
GGCCATGGCCTTTGACCGTTTTGTTGCTATCTGCCATCCACTGCACTACCCCACCATCCTCACCAACAGTGTAAT
TGGCAAAATTGGTTTGGCCTGTTTGCTACGAAGCTTGGGAGTTGTACTTCCCACACCTTTGCTACTGAGACACTA
TCACTACTGCCATGGCAATGCCCTCTCTCACGCCTTCTGTTTGCACCAGGATGTTCTAAGATTATCCTGTACAGA
TGCCAGGACCAACAGTATTTATGGGCTTTGTGTAGTCATTGCCACACTAGGTGTGGATTCAATCTTCATACTTCT
TTCTTATGTTCTGATTCTTAATACTGTGCTGGATATTGCATCTCGTGAAGAGCAGCTAAAGGCACTCAACACATG
TGTATCCCATATCTGTGTGGTGCTTATCTTCTTTGTGCCAGTTATTGGGGTGTCAATGGTCCATCGCTTTGGGAA
GCATCTGTCTCCCATAGTCCACATCCTCATGGCAGACATCTACCTTCTTCTTCCCCCAGTCCTTAACCCTATTGT
CTATAGTGTCAGAACAAAGCAGATTCGTCTAGGAATTCTCCACAAGTTTGTCCTAAGGAGGAGGTTTTAAGTAAC
CTCTGTCCTCCAACTTTTC

このコードタンパク質は、上の表４Ｂにおいて開示されるＧＰＣＲ４ａと同じである。

【００９０】

ＧＰＣＲ４ａまたはＧＰＣＲ４ｂとして具体的にいわない場合、ＧＰＣＲ４に対する任意の言及は、全ての改変体を含むとみなす。本明細書中の任意のＧＰＣＲＸ改変体配列の間で異なる残基を、「ａ」改変体中の残基および「ａ」改変体に対する残基位置を示すために書く。以下の全ての配列アラインメントにおいて、ＧＰＣＲ４ａタンパク質配列が使用される。

【００９１】

開示されたＧＰＣＲ４タンパク質（配列番号１２）はまた、多くの嗅覚レセプタータンパク質に良好な相同性を有する。ＣｌｕｓｔａｌW分析のために使用される同定の情報は、表４Ｋにおいて示される。

【００９２】

【表３４】

表 4K. ＧＰＣＲ４についてのＢＬＡＳＴ結果

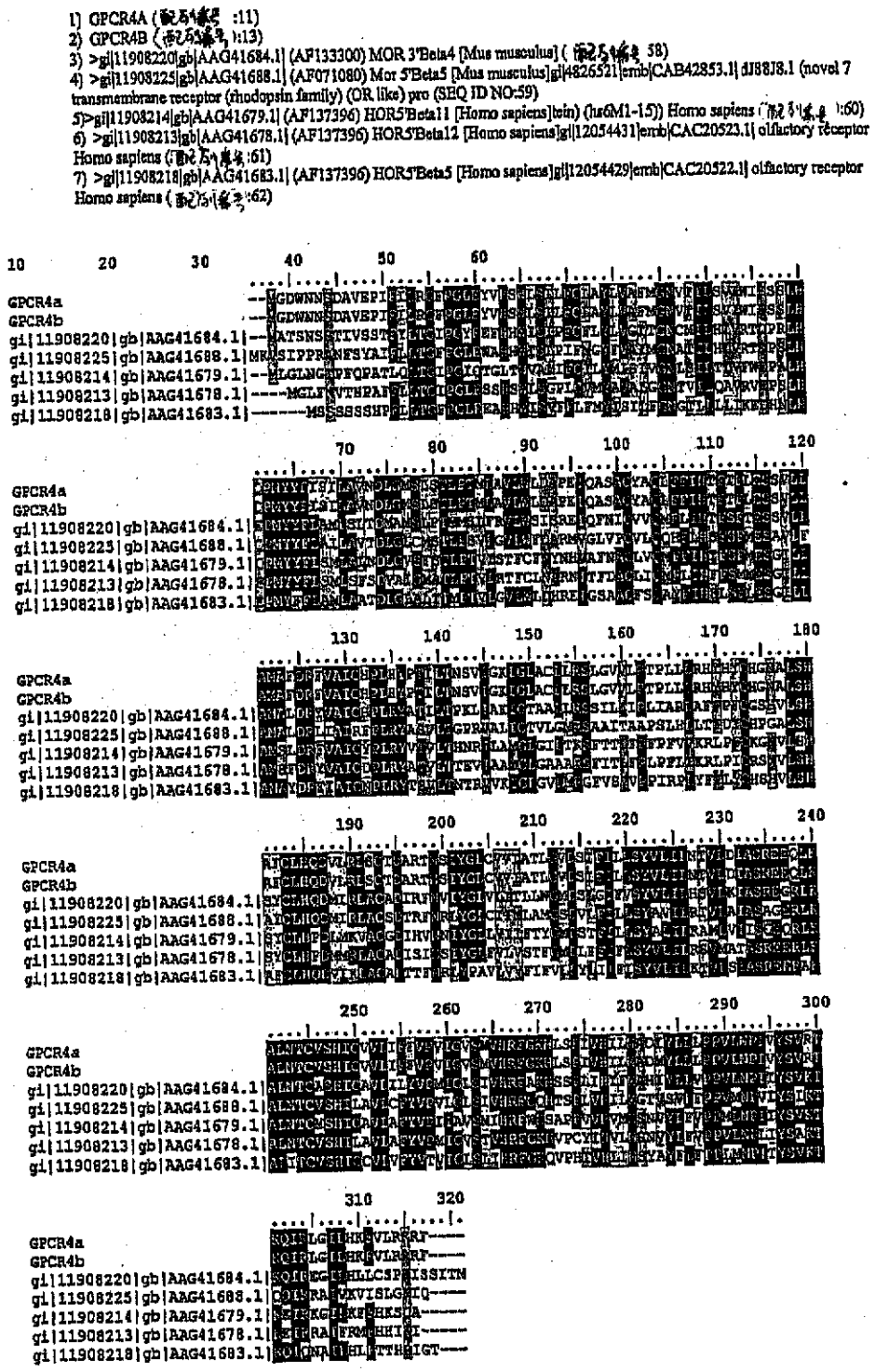
遺伝子指標／識別子	タンパク質／器官	長さ (aa)	同一性 (%)	ポジティブ (%)	期待値
gi|11908220|gb|AAG41684.1| (AF133300)	MOR 3'Beta4 [Mus musculus]	303	174/307 (56%)	223/307 (71%)	2e-81
gi|11908225|gb|AAG41688.1| (AF071080)	Mor 5'Beta5 [Mus musculus]	317	160/294 (54%)	215/294 (72%)	3e-79
gi|11908214|gb|AAG41679.1| (AF137396)	HOR5'Beta11 [Homo sapiens]	314	152/294 (51%)	226/294 (76%)	9e-79
gi|11908213|gb|AAG41678.1| (AF137396)	HOR5'Beta12 [Homo sapiens]	312	160/296 (54%)	211/296 (71%)	2e-78
gi|11908218|gb|AAG41683.1| (AF137396)	HOR5'Beta5 [Homo sapiens]	312	160/300 (53%)	220/300 (73%)	2e-77

この情報を、ＧＰＣＲ４を関連するＯＲ配列と比較するＣｌｕｓｔａｌＷ分析として、表４Ｌに与えられる複数の配列アラインメントに図式的に示す（ＧＰＣＲ４を１行目に示して）。

【００９３】

【表３５】

表 4L ＣｌｕｓｔａｌＷﾀﾝﾊﾟｸ質についての情報



ＧＰＣＲ４についてのＤＯＭＡＩＮの結果を、Ｃｏｎｓｅｒｖｅｄ Ｄｏｍａｉｎ Ｄａｔａｂａｓｅ（ＣＤＤ）からＲｅｖｅｒｓｅ Ｐｏｓｉｔｉｏｎ Ｓｐｅｃｉｆｉｃ ＢＬＡＳＴによって収集した。このＢＬＡＳＴは、Ｓｍａｒ

ｔおよびＰｆａm収集に見出されるドメインをサンプリングする。ＧＰＣＲ４の２つの領域は、上記のように３７７アミノ酸７ＴＭドメインと同一性を有する。７ｔｍ＿１すなわち７回膜貫通レセプター（ロドプシンファミリー）は、ＧＰＣＲ４に対して相同性を有することが示された（Ｅ＝４ｅ－１７）（表４Ｍ）。

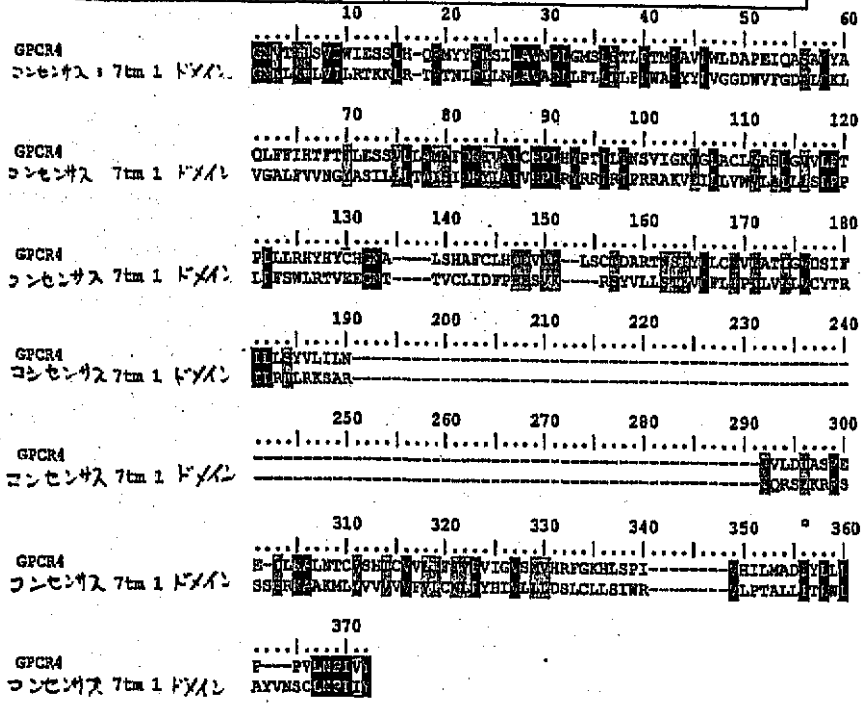
【００９４】

【表３６】

表　4M: ＧＰＣＲ４と7Tm_1,7膜貫通レセプター（ロドプシンファミリー）との間のドメインアラインメント（配列番号７４）

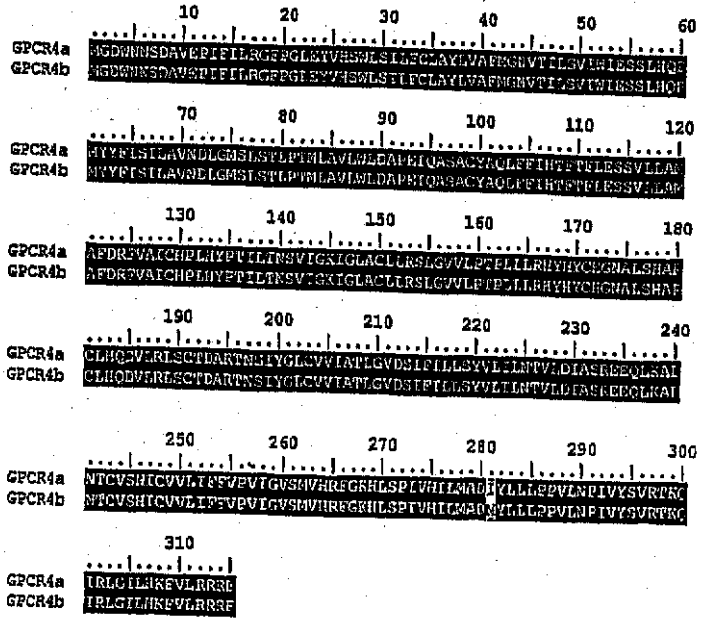
CD-長さ　= 254 同様　100.0% 整列

スコア = 82.0 bits (201), 期待値 = 4e-17



GPCR4aおよびbアミノ酸配列アラインメントを表4Nにする

表　4N. ＧＰＣＲ４ａとｂとの間のアラインメント



ＧＰＣＲ４の核酸およびタンパク質は、以下に記載される、種々のＧＰＣＲ関連病理学的障害および／またはＯＲ関連病理学的障害に関連する潜在的な治療適用において有用である。例えば、嗅覚レセプター様タンパク質をコードする、ｃ

ＤＮＡは、遺伝子治療に有用であり得、そして嗅覚レセプター様タンパク質は、それを必要とする被験体に投与される場合に、有用であり得る。本明細書において開示されるタンパク質類似性情報、発現パターン、ならびに嗅覚レセプター様タンパク質および核酸についてのマッピング位置は、嗅覚レセプターファミリーの重要な構造および／または病理学的機能特性を有し得ることを示唆する。従って、本発明の核酸およびタンパク質は、潜在的な診断および治療適用において、ならびにリサーチツールとして有用である。これらとしては以下が挙げられる：特異的もしくは選択的な、核酸もしくはタンパク質診断および／または予後標識として働き、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、そして以下のような潜在的な治療適用に役立つ：（ｉ）タンパク質治療、（ｉｉ）小分子薬物標的、（ｉｉｉ）抗体標的（治療学的抗体、診断的抗体、薬物標識／細胞障害性抗体）、（ｉｖ）遺伝子治療に有用な核酸（遺伝子送達／遺伝子切除）、（ｖ）インビトロおよびインビボにおいて組織再生を促進する組成物、ならびに（ｖｉ）生物学的防御剤。

【００９５】

本発明の核酸およびタンパク質は、以下に記載される種々の疾患および障害ならびに／または症状に関連している可能性のある診断適用および治療適用において有用である。例えば、本発明の組成物は、以下を患った患者の処置に対して有効性を有する：細菌、真菌、原生生物およびウイルス感染（特に、ＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２によって引き起こされる感染）、疼痛、癌（新生物；腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌を含むが、これらに限定されない）、食欲不振、過食症、ぜん息、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、残尿、骨粗しょう症、クローン病；多発性硬化症；ならびにオールブライト遺伝性骨形成異常症、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、ぜん息、アレルギー、良性前立腺肥大、ならびに精神学的および神経学的障害（不安、精神分裂病、躁鬱、せん妄、痴呆、重篤な精神遅滞およびジスキネジー（例えば、ハンティングトン病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群）を含む）、ならびに／または他の病態および障害。このポリペプチドを、本発明に特異的な抗体をするための免疫原産生として使用し得る。そしてワクチンとして使用し得る。これらはまた、潜在的なアゴニスト化合物およびア

ンタゴニスト化合物についてスクリーニングするために、使用され得る。例えば、ＯＲ様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ＯＲ様タンパク質は、投与の必要がある被験体に投与される場合に、有用であり得る。非限定的な例として、本発明の組成物は、細菌感染、真菌感染、原虫感染、およびウイルス感染（特に、ＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２によって引き起こされる感染）、疼痛、癌（新生物；腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌が挙げられるがこれらに限定されない）、食欲不振、過食症、喘息、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、尿停留、骨粗しょう症、クローン病；多発性硬化症を罹患する患者の処置；ならびに以下の処置：オールブライト遺伝性骨形成異常症、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、喘息、アレルギー、良性前立腺肥大、ならびに精神病性および神経学的な障害（不安、精神分裂病、躁うつ病、せん妄、痴呆、重篤な精神遅滞を、およびジスキネジー（例えば、ハンティングトン病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群）含む）ならびに／または他の病理および障害のために、効力を有する。他のＧＰＣＲ－４疾患および障害は意図される。

【００９６】

本発明のＧＰＣＲ様タンパク質をコードする新規な核酸、またはそれらのフラグメントは、診断適用において、さらに有用であり、ここで、この核酸またはタンパク質の存在または量が、評価される。これらの材料は、治療方法または診断方法における使用のために、本発明の新規な物質に対して免役特異的に結合する抗体の産生において、さらに有用であり得る。これらの抗体は、以下の節の「抗－ＧＰＣＲＸ抗体」において記載されるように、疎水性チャートからの予測値を使用して、当該分野で公知の方法に従って産生され得る。開示されるＧＰＣＲ４タンパク質は、複数の親水性領域を有し、そのそれぞれは、免疫原として使用され得る。１つの実施形態において、意図されるＧＰＣＲ４エピトープは、アミノ酸約１１６から２００由来である。別の実施形態において、ＧＰＣＲ４エピトープは、アミノ酸約２３０から２５０由来である。さらなる実施形態において、ＧＰＣＲ４エピトープは、アミノ酸２９０から３０５由来である。

【００９７】

（ＧＰＣＲ５）

ＧＰＣＲ５は、以下に記載されるような、３種の類似の核酸および３種の類似のタンパク質のファミリーを含む。開示された核酸は、ＧＰＣＲ、ＯＲ様タンパク質をコードする。

【００９８】

（ＧＰＣＲ５ａ）

開示された新規の、９８５ヌクレオチドのＧＰＣＲ５ａ核酸（これはまた、１ＡＣ０２０５９７＿Ｃとも呼ばれる）は、表５Ａに示される。ＯＲＦは、ヌクレオチド２７～２９のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド９６０～９６２のＴＡＡコドンで終了する。開始コドンの上流および末端コドンの下流の推定非翻訳領域を、表５Ａにおいて下線を引き、そして開始コドンおよび終止コドンは、太字である。

【００９９】

【表３７】

表　5A. GPCR5a　ヌクレオチド配列（配列番号　15）

GTTCTCCTACACTGTGATTTGGAAAAATGTTTTATCACAACAAGAGCATATTTCACCCAGTCACATTTTTCCTCA
TTGGAATCCCAGGTCTGGAAGACTTCCACATGTGGATCTCCGGGCCTTTCTGCTCTGTTTACCTTGTGGCTTGC
TGGGCAATGCCACCATTCTGCTAGTCATCAAGGTAGAACAGACTCTCCGGGAGCCCATGTTCTACTTCCTGGCCA
TTCTTTCCACTATTGATTTGGCCCTTTCTGCAACCTCTGTGCCTCGCATGCTGGGTATCTTCTGGTTTGATGCTC
ACGAGATTAACTATGGAGCTTGTGTGGCCCAGATGTTTCTGATCCATGCCTTCACTGGCATGGAGGCTGAGGTCT
TACTGGCTATGGCTTTTGACCGTTATGTGGCCATCTGTGCTCCACTACATTACGCAACCATCTTGACATCCCTAG
TGTTGGTGGGCATTAGCATGTGCATTGTAATTCGTCCCGTTTTACTTACACTTCCCATGGTCTATCTTATCTACC
GCCTACCCTTTTGTCAGGCTCACATAATAGCCCATTCCTACTGTGAGCACATGGGCATTGCAAAATTGTCCTGTG
GAAACATTCGTATCAATGGTATCTATGGGCTTTTTGTAGTTTCTTTCTTTGTTCTGAACCTGGTGCTCATTGGCA
TCTCGTATGTTTACATTCTCCGTGCTGTCTTCCGCCTCCCATCACATGATGCTCAGGTAAAAGCCCTAAGCACGT
GTGGCGCTCATGTTGGAGTCATCTGTGTTTTCTATATCCCTTCAGTCTTCTCTTTCCTTACTCATCGATTTGGAC
ACCAAATACCAGGTTACATTCACATTCTTGTTGCCAATCTCTATTTGATTATCCCACCCTCTCTCAACCCCATCA
TTTATGGGGTGAGGACCAAACAGATTCGAGAGCGAGTGCTCTATGTTTTTACTAAAAAATAAGACTCTTACCATG
TTATTTTACT

配列番号（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：）１５によってコードされたＧＰＣＲ５ａタンパク質は、３１１のアミノ酸残基を有し、そして表５Ｂ中で１文字コードを使用して提示される。ＧＰＣＲ５ａに対するＰｓｏｒｔプロフィールによって、この配列がシグナルペプチドを有し、そして０．６４００の確実度で原形質膜において局在化するようであることが予測される。最も起こり得るペプチドの切断部位は、アミノ酸４９とアミノ酸５０との間、すなわちＳｉｇｎａｌＰ結果に基づくＩＬＬ－ＶＩの間である。このＧＰＣＲ５ａの分子量は、３５０５９．６ダルトンである。

【０１００】

【表３８】

表5B. コードされたGPCR5aタンパク質配列(配列番号16)

MFYHNKSITHPVTFFLIGIPGLEDFHMWISGPFCSVYLVALLGNATILLVIKVEQTLREPMFYFLAILSTIDL
ALSATSVPRMLGIFWFDAHEINYGACVAQMFLIHAFTGMEAEVLLAMAFDRYVAICAPLHYATILTSLVLVGI
SMCIVIRPVLLTLPMVYLIYRLPFCQAHIIAHSYCEHMGIAKLSCGNIRINGIYGLFVVSFTVLNLVLIGISY
VYILRAVFRLPSHDAQLKALSTCGAHVGVICVFYIPSVFSFLTHRFGHQIPGYIHILVANLYLIIPPSLNPII
YGVRTKQIRERVLYVFTKK

GPCR５aについて開示された核酸配列は、Mus musculusのGPCR mRNA（GENBANK－ID：AF12979）に対して、９８９塩基のうち６３３塩基（６４％）が同一である（E＝7．２e^{-60}）。

【０１０１】

全長GPCR５aアミノ酸配列は、Mus musculusに由来する３１８アミノ酸残基の嗅覚レセプターS４６タンパク質（ptnr：SPTREMBL－ACC：Q9WU９３）に対して、３０３アミノ酸残基のうち１７４アミノ酸残基（５７％）が同一であり、そして３０３アミノ酸残基のうち２３１残基（７６％）が陽性である（E＝l．９e^{-92}）。また、この全長GPCR５aアミノ酸配列は、ヒト由来である３１２アミノ酸残基の嗅覚レセプターHPFH1OR（ptnr：TREMBLNEW－ACC：AAD５１２７９）に対して、３１０アミノ酸残基のうち１４６アミノ酸残基（４７％）が同一であり、そして３１０残基のうち２１２アミノ酸残基（６８％）が陽性である（E＝２．１e^{-77}）。

【０１０２】

GPCR５aはまた、表５C中のBLASTによるアライメント結果に示されるように他のタンパク質に対して相同性を有する。

【０１０３】

【表３９】

表5C. GPCR5aついてのBLASTXの結果

HSP(High-Scoring Segment Pairs)をはじる配列	リーディングフレーム	高スコア	最小総確率 P(N)	N
92365 G protein-coupled receptor protein 5 - Hom...	+3	778	1.7e-76	1
01730 Human G-protein receptor HPRAJ70 - Homo sa..	+3	735	6.0e-72	1
56641 G-protein coupled prostate tissue receptor...	+3	735	6.0e-72	1
27875 Odorant receptor clone I14 - Rattus rattus...	+3	460	8.3e-43	1
27874 Odorant receptor clone I9 - Rattus rattus,...	+3	438	1.8e-40	1

（ＧＰＣＲ５ｂ）

ＧＰＣＲ５ａ（ＡＣ０２０５９７＿Ｃ）を、この配列を確認するためにエキソン結合プロセスに供した。ＰＣＲプライマーを、順方向プライマーについて利用可能な最も上流の配列で開始するか、または逆方向プライマーについて利用可能な最も下流の配列で開始することによって設計した。各場合において、それぞれの末端からコード配列へ向かって独特であるかもしくは高度に選択的であるかのいずれかである適切な配列に出くわすまで内側に移動（ｗａｌｋｉｎｇ）しながら、または逆方向プライマーの場合においては、終止コドンに達するまで移動しながらこの配列を調べた。次いで、このような適切な配列を、広範囲のｃＤＮＡライブラリーに基づくＰＣＲ増幅における順方向プライマーおよび逆方向プライマーとして使用した。得られたアンプリコンをゲル精製し、クローン化し、そして高度な冗長性まで配列決定し、ＧＰＣＲ５ｂを得た。ＧＰＣＲ５ｂは、ＣＧ５３６６８－０２ともまた称される。

【０１０４】

ＧＰＣＲ５ｂ（９４７ｂｐ、配列番号１７）についてのヌクレオチド配列が、表５Ｄに提示される。

【０１０５】

【表４０】

表5D. GPCR5bヌクレオチド配列(配列番号17)

TGAAAAATGTTTTATCACAACAAGAGCATATTTCACCCAGTCACATTTTTCCTCATTGGAATCCCAGGTCTGGAA
GACTTCCACATGTGGATCTCCGGGCCTTTCTGCTCTGTTTACCTTGTGGCTTTGCTGGGCAATGCCACCATTCTG
CTAGTCATCAAGGTAGAACAGACTCTCCGGGAGCCCATGTTCTACTTCCTGGCCATTCTTTCCACTATTGATTTG
GCCCTTTCTACAACCTCTGTGCCTCGCATGCTGGGTATCTTCTGGTTTGATGCTCACGAGATTAACTATGGAGCT
TGTGTGGCCCAGATGTTTCTGATCCATGCCTTCACTGGCATGGAGGCTGAGGTCTTACTGGCTATGGCTTTTGAC
CGTTATGTGGCCGTCTGTGCTCCACTACATTACGCAACCATCTTGACATCCCAAGTGTTGGTGGGCATTAGCATG
TGCATTGTAATCCGTCCCGTTTTACTTACACTTCCCATGGTCTATCTTATCTACCGCCTACCCTTTTGTCAGGCT
CACATAATAGCCCATTCCTACTGTGAGCACATGGGCATTGCAAAATTGTCCTGTGGAAACATTCGTATCAATGGT
ATCTATGGGCTTTTTGTAGTTTCCTTCTTTGTTCTGAACCTGGTGCTCATTGGCATCTCGTATGTTTACATTCTC
CGTGCTGTCTTCCGCCTCCCATCACATGATGCTCAGCTAAAGCCCTAAGCACGTGTGGCGCTCATGTTGGAGTC
ATCTGTGTTTTCTATATCCCTTCAGTCTTCTCTTTCCTTACTCATCGATTTGGACACCAAATACCAGGTTACATT
CACATTCTTGTTGCCAATCTCTATTTGATTATCCCACCCTCTCTCAACCCCATCATTTATGGGGTGAGGACCAAA
CAGATTCGAGAACGAGTGCTCTATGTTTTTACTAAAAAATAAGACTA

コードされたＧＰＣＲ５ｂタンパク質を、表５Ｅに提示する。この開示されたタンパク質は、３１１アミノ酸長であり、そして配列番号１８で表される。ＧＰＣＲ５ｂは、3アミノ酸変化（７７位のA→T、１２８位のＩ→Vおよび１４１位のＬ→Q）の分だけＧＰＣＲ５ａと異なる。ＧＰＣＲ５ａと同様に、ＧＰＣＲ５ｂに対するＰｓｏｒｔプロフィールによって、この配列がシグナルペプチドを有し、そして０．６４００の確実度で原形質膜において局在化するようであることが予測される。最も起こり得るペプチドの切断部位は、アミノ酸４９とアミノ酸５０との間、すなわちＳｉｇｎａｌＰ結果に基づくアミノ酸ＩＬＬ－ＶＩにおけるスラッシュにおいてである。

【０１０６】

【表４１】

表5E. コードされたGPCR5bタンパク質配列(配列番号18)

MFYHNKSIFHPVTFFLIGIPGLEDFHMWISGPFCSVYLVALLGNATILLVIKVEQTLREPMFYFLAILSTIDLAL
STSVPRMLGIFWFDAHEINYGACVAQMFLIHAFTGMEAEVLLAMAFDRYVAVCAPLHYATILTSQVLVGISMCI
VIRPVLLTLPMVYLIYRLPFCQAHIIAHSYCEHMGIAKLSCGNIRINGIYGLFVVSFFVLNLVLIGISYVYILRA
VFRLPSHDAQLKALSTCGAHVGVICVFYIPSVFSFLTHRFGHQIPGYIHILVANLYLIIPPSLNPIIYGVRTKQI
RERVLYVFTKK

ＧＰＣＲ５ｂについて開示された核酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ嗅覚レセプターＳ４６　mRNA（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＡＦ１２１９７９）に対して９２１のうち５９８（６４％）が同一である（Ｅ＝９．５e^{-60}）。

【０１０７】

全長ＧＰＣＲ５アミノ酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ由来である３１８アミノ酸残基の嗅覚レセプターＳ４６タンパク質（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ

－ＡＣＣ：Ｑ９ＷＵ９３）に対して、３０３アミノ酸残基のうち１７４アミノ酸残基（５７％）が同一であり、そして３０３アミノ酸残基のうち２３３（７６％）が陽性である（Ｅ＝９．７ｅ$^{-92}$）。

【０１０８】

ＧＰＣＲ５ｂは、少なくとも以下の組織において発現される：網膜色素上皮の先端微絨毛（Ａｐｉｃａｌ ｍｉｃｒｏｖｉｌｌｉ ｏｆ ｒｅｔｉｎａｌ ｐｉｇｍｅｎｔ ｅｐｉｔｈｅｌｉｕｍ）、動脈（大動脈）、基底前脳（ｂａｓａｌ ｆｏｒｅｂｒａｉｎ）、脳、バーキットリンパ腫細胞株、脳梁、心臓（心房および心室）、尾状核、ＣＮＳおよび末梢組織、小脳、大脳皮質、結腸、皮質神経細胞、内皮（冠状動脈および臍静脈）細胞、口蓋上皮、眼、新生児の眼、前頭皮質、胎児の造血細胞、心臓、海馬、視床下部、白血球、肝臓、胎児の肝臓、肺、肺リンパ腫細胞株、胎児のリンパ組織、成人のリンパ組織、ＭＨＣ ＩＩおよびＭＨＣ ＩＩＩの発現細胞、神経、髄質、視床下核、卵巣、膵臓、下垂体、胎盤、橋、前立腺、被殻、血清、骨格筋、小腸、平滑筋（大動脈における冠状動脈）、脊髄、脾臓、胃、舌の味覚レセプター細胞、精巣、視床、ならびに胸腺組織。この情報は、以下を含むがこれらに限定されない、本発明に含まれる配列の組織供給源を決定することによって、導き出された：ＳｅｑＣａｌｌｉｎｇ提供源、公開されたＥＳＴ提供源、文献出典、および／またはＲＡＣＥ提供源。

【０１０９】

（ＧＰＣＲ５ｃ）

別のヌクレオチド配列が、ＧＰＣＲ５ａ（ＡＣ０２０５９７＿Ｃ）を、配列を確認するためにエキソン結合プロセスに供したときに得られた。ＰＣＲプライマーを、順方向プライマーについて利用可能な最も上流の配列で開始するか、または逆方向プライマーについて利用可能な最も下流の配列で開始することによって設計した。各場合において、それぞれの末端からコード配列へ向かって独特であるかもしくは高度に選択的であるかのいずれかである適切な配列に出くわすまで内側に移動（ｗａｌｋｉｎｇ）しながら、または逆方向プライマーの場合においては、終止コドンに達するまで移動しながらこの配列を調べた。次いで、このような適切な配列を、広範囲のｃＤＮＡライブラリーに基づくＰＣＲ増幅における

順方向プライマーおよび逆方向プライマーとして使用した。得られたアンプリコンをゲル精製し、クローン化し、そして高度な冗長性まで配列決定し、下記で報告する配列を得た。このは配列は、登録番号ＡＣ０２０５９７Ｂ＿ｄａｌ、またはＧＰＣＲ５ｃとして示される。

【０１１０】

ＧＰＣＲ５ｃ（９４５ｂｐ、配列番号１９）についてのヌクレオチド配列を、表５Ｆに提示する。

【０１１１】

【表４２】

表5F. GPCR5cヌクレオチド配列(配列番号19)

GAAAAATGTTTTATCACAACAAGAGCATATTTCACCCAGTCACATTTTTCCTCATTGGAATCCCAGGTCT
GGAAGACTTCCACATGTGGATCTCCGGGCCTTTCTGCTCTGTTTACCTTGCGGCTTTGCTGGGCAATGCC
ACCATTCTGCTAGTCATCAAGGTAGAACAGACTCTCCGGGAGCCCATGTTCTACTTCCTGGCCATTCTTT
CCACTATTGATTTGGCCCTTTCTACAACCTCTGTGCCTCGCATGCTGGGTATCTTCTGGTTTGATGCTCA
CGAGATTAACTATGGAGCTTGTGTGGCCCAGATGTTTCTGATCCATGCCTTCACTGGCATGGAGGCTGAG
GTCTTACTGGCTATGGCTTTTGACCGTTATGTGGCCGTCTGTGCTCCACTACATTACGCAACCATCTTGA
CATCCCAAGTGTTGGTGGGCATTAGCATGTGCATTGTAATTCGTCCCGTTTTACTTACACTTCCCATGGT
CTATCTTATCTACCGCCTACCCTTTTGTCAGGCTCACATAATAGCCCATTCCTACTGTGAGCACATGGGC
ATTGCAAAATTGTCCTGTGGAAACATTCGTATCAATGGTATCTATGGGCTTTTTGTAGTTTCTTTCTTTG
TTCTGAACCTGGTGCTCATTGGCATCTCGTATGTTTACATTCTCCGTGCTGTCTTCCGCCTCCCATCACA
TGATGCTCAGCTAAAAGCCCTAAGCACGTGTGGCGCTCATGTTGGAGTCATCTGTGTTTTCTATATCCCT
TCAGTCTTCTCTTTCCTTACTCATCGATTTGGACACCAAATACCAGGTTACATTCACATTCTTGTTGCCA
ATCTCTATTTGATTATCCCACCCTCTCTCAACCCCATCATTTATGGGGTGAGGACCAAACAGATTCGAGA
ACGAGTGCTCTATGTTTTTACTAAAAAATAAGACT

ＧＰＣＲ５ｃのコード領域は、６～９３８のヌクレオチドであり、表５Ｇに提示されるようなコードされたＧＰＣＲ５ｃタンパク質を与える。この開示されたタンパク質は、３１１アミノ酸長であり、そして配列番号２０として示される。ＧＰＣＲ５ｃに対するＰｓｏｒｔプロフィールによって、この配列がシグナルペプチドを有し、そして０．６８５０の確実度で小胞体において局在化するようであることが予測され、または０．６４００の確実度で原形質膜において局在化するようであることが予測される。最も起こり得るペプチドの切断部位は、アミノ酸４９とアミノ酸５０との間、すなわちＳｉｇｎａｌＰ結果に基づくＩＬＬ－ＶＩの間である。このＧＰＣＲ５ｃの分子量は、３５０６２．６ダルトンである。

【０１１２】

【表４３】

表5G. コードされたGPCR5cタンパク質配列(配列番号20)

MFYHNKSIFHPVTFFLIGIPGLEDFHMWISGPFCSVYLAALLGNATILLVIKVEQTLREPMFYFLAILSTI
DLALSTTSVPRMLGIFWFDAHEINYGACVAQMFLIHAFTGMEAEVLLAMAFDRYVAVCAPLHYATILTSQV
LVGISMCIVIRPVLLTLPMVYLIYRLPFCQAHIIAHSYCEHMGIAKLSCGNIRINGIYGLFVVSFFVLNLV
LIGISYVYILRAVFRLPSHDAQLKALSTCGAHVGVICVFYIPSVFSFLTHRFGHQIPGYIHILVANLYLII
PPSLNPIIYGVRTKQIRERVLYVFTKK

全長ＧＰＣＲ５ｃアミノ酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ由来である３１８アミノ酸残基の嗅覚レセプターＳ４６タンパク質（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｑ９ＷＵ９３）に対して、３０３アミノ酸残基のうち１７４アミノ酸残基（５７％）が同一であり、そして３０３アミノ酸残基のうち２３２（７６％）が陽性である（Ｅ＝２．２ｅ$^{-92}$）。かつ、この全長ＧＰＣＲ５ｃアミノ酸配列は、ヒト由来である３１２アミノ酸残基の嗅覚レセプター　ＨＰＦＨ１ＯＲ（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｑ９ＵＫＬ２）に対して、３１０アミノ酸残基のうち１４６アミノ酸残基（４７％）が同一であり、そして３１０アミノ酸残基のうち２１２（６８％）が陽性である（Ｅ＝２．１ｅ$^{-77}$）。

【０１１３】

ＧＰＣＲ５ｃに対して見出された、可能性のあるＳＮＰを、表５Ｈに列挙する。

【０１１４】

【表４４】

表5H: SNP

塩基位置	前の塩基	後の塩基
63	T	C(3)
94	C	T(4)
110	C	T(4)
114	A	G(4)
157	G	T(2)
170	T	C(2)
197	G	C(2)
242	T	C(3)
262	G	A(2)
290	G	A(3)
299	G	C(3)
314	G	T(2)
316	A	C(2)
329	C	T(2)
332	A	C(3)
333	T	A(3)
356	A	C(3)
376	A	G(3)
377	C	T(2)
396	A	G(3)
428	C	T(2)
453	A	G(2)

開示されたＧＰＣＲ５タンパク質（配列番号１９）は、多くの嗅覚レセプタータンパク質と十分な同一性を有する。ＣｌｕｓｔａｌW解析に使用される同一性の情報を、表５Ｊに提示する。ＧＰＣＲ５ａ、ＧＰＣＲ５ｂ、またはＧＰＣＲ５ｃとして具体的に呼ばない限り、ＧＰＣＲ５に対する任意の参照は、全ての改変体を包含することを想定する。全てのＧＰＣＲ５タンパク質は、嗅覚レセプター（ＯＲ）タンパク質に対する有意な相同性を有する：ＣｌｕｓｔａｌWにおけるタンパク質のための、ＢＬＡＳＴＸアライメントによる相同性情報を、表５Ｉに提示する。

【０１１５】

【表４５】

表：5I. GPCR5に対するBLASTの結果

遺伝子インデックス/識別子	タンパク質/生物種	長さ (aa)	同一性 (%)	陽性 (%)	期待値
gi|11908211|gb|AAG41676.1| (AF137396)	HOR 5'Beta14 [Homo sapiens]	318	166/297 (55%)	217/297 (72%)	7e-81
gi|9935442|ref|NP_064688.1|	嗅覚レセプター、S46遺伝子 [Mus musculus]	318	168/303 (55%)	218/303 (71%)	1e-80
gi|6532001|gb|AAD27596.2|AF121976_1 (AF121976)	嗅覚レセプター S19 [Mus musculus]	339	162/291 (55%)	208/291 (70%)	1e-79
gi|9938014|ref|NP_064686.1|	嗅覚レセプター S18遺伝子 [Mus musculus]	321	158/299 (52%)	218/299 (72%)	1e-79
gi|7305349|ref|NP_038647.1|	嗅覚レセプター 67 [Mus musculus]	326	164/309 (53%)	222/309 (71%)	5e-78

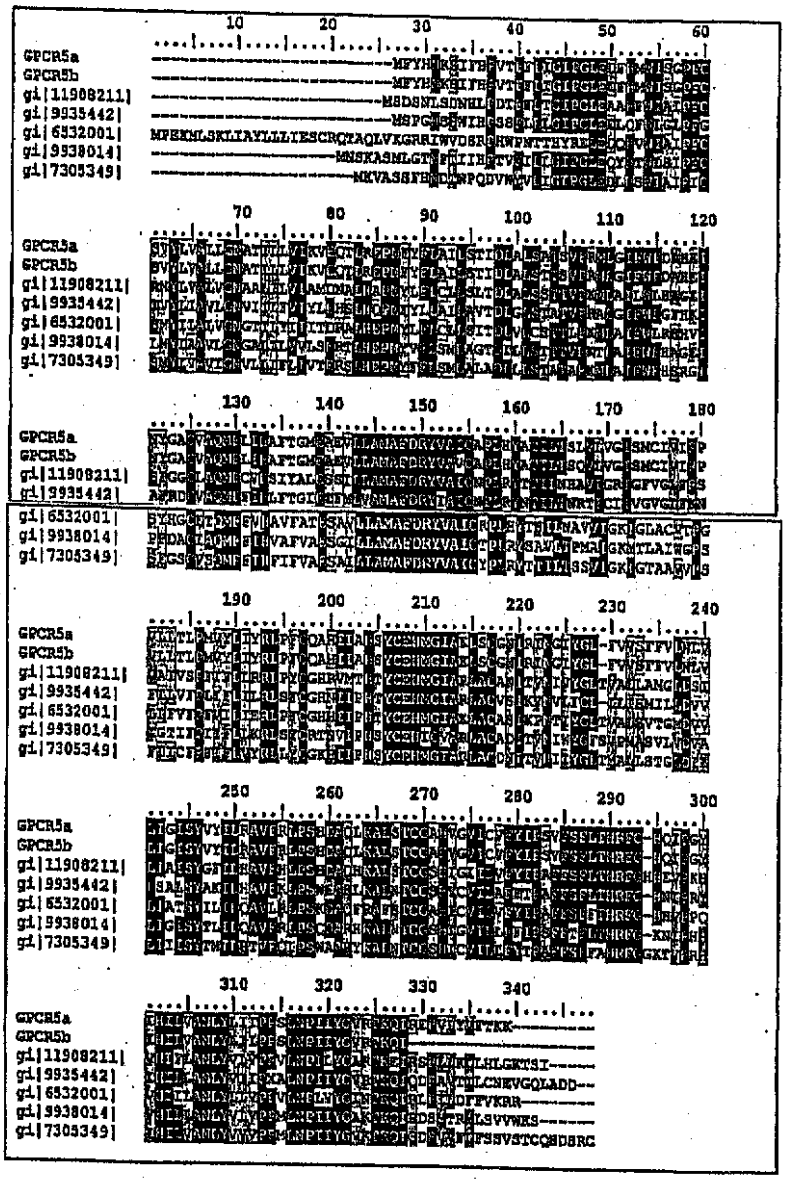
この情報は、ＧＰＣＲ５と関連するタンパク質配列とを比較したＣｌｕｓｔａｌW解析として、表５Ｊで与えられるマルチプル配列アライメント（ＧＰＣＲ５ａは１行目に示され、ＧＰＣＲ５ｂは２行目に示される）で図解として提示される。

【０１１６】

【表４６】

表5J. ClustalWタンパク質についての情報:

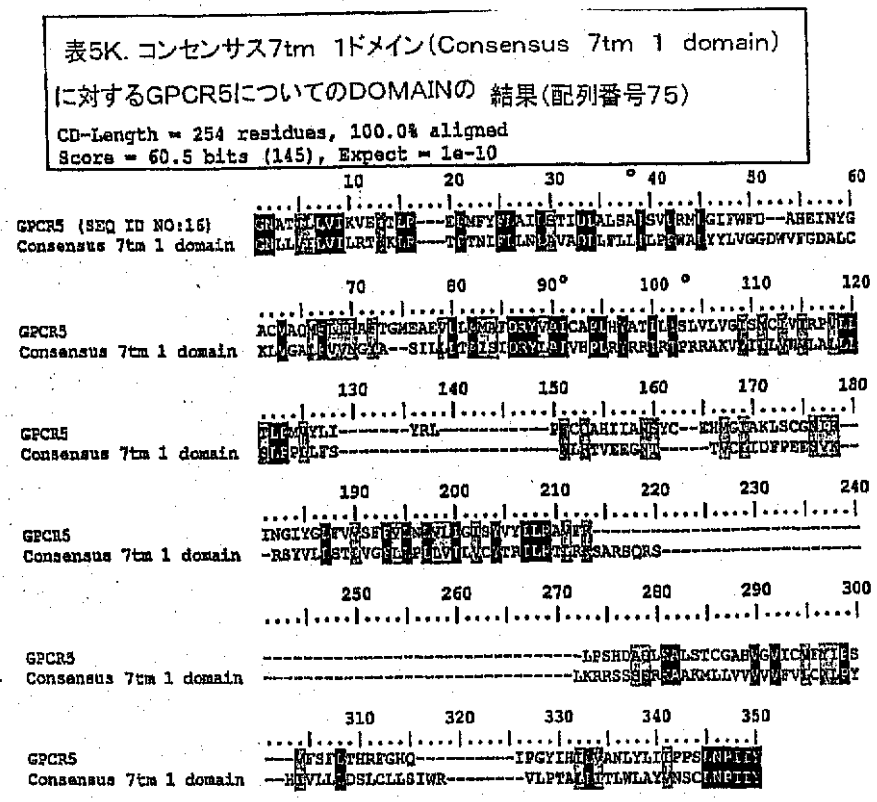
1) GPCR5a (SEQ ID NO:16)
2) GPCR5b (SEQ ID NO:18)
3) gi|11908211|gb|AAG41676.1| (AF137396) HOR 5'Beta14 [Homo sapiens] (SEQ ID NO:55)
4) gi|9935442|ref|NP_064688.1| odorant receptor S46 gene [Mus musculus] (SEQ ID NO:63)
5) gi|6532001|gb|AAD27596.2|AF121976_1 (AF121976) odorant receptor S19 [Mus musculus] (SEQ ID NO:54)
6) gi|9938014|ref|NP_064686.1| odorant receptor S18 gene [Mus musculus] (SEQ ID NO:56)
7) gi|7305349|ref|NP_038647.1| olfactory receptor 67 [Mus musculus] (SEQ ID NO:57)



ＧＰＣＲ５に対するＤＯＭＡＩＮの結果を、Ｒｅｖｅｒｓｅ　Ｐｏｓｉｔｉｏｎ　Ｓｐｅｃｉｆｉｃ　ＢＬＡＳＴを使用してＣｏｎｓｅｒｖｅｄ　Ｄｏｍａｉｎ　Ｄａｔａｂａｓｅ（ＣＤＤ）から収集した。このＢＬＡＳＴは、ＳｍａｒｔおよびＰｆａｍの収集結果において見出されるドメインをサンプリングする。この結果を、統計およびドメインの説明と共に表５Ｋに列挙する。

【０１１７】

【表４７】



ＧＰＣＲ５の核酸およびタンパク質は、以下にさらに記載されるような様々なＧＰＣＲ関連病理障害および／またはＯＲ関連病理障害に関連する潜在的な治療用途において有用であり得る。例えば、ＧＰＣＲ（または嗅覚レセプター）様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、そしてこのレセプター様タンパク質は、これらを必要とする被験体に投与された場合、有用であり得る。本発明の核酸およびタンパク質はまた、以下を処置するのに使用される潜在的な治療用途においても有用である：発達疾患、ＭＨＣＩＩおよびＩＩＩの疾患（免疫疾患）、嗅覚および味覚の検知障害、バーキットリンパ腫、皮質神経性（ｃｏｒｔｉｃｏｎｅｕｒｏｇｅｎｉｃ）疾患、シグナル伝達経路障害、網膜疾患（光受容性に関連する疾患を含む）、細胞増殖速度障害、細胞形状障害、摂食障害、過食に起因する潜在的肥満、飢餓に起因する潜在性障害（食欲不振）、非インスリン依存性糖尿病（ＮＩＤＤＭ１）、細菌性感染、真菌性感染、原生動物性感染およびウイルス感染（特にＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２に起因する

感染）、疼痛、癌（新生物；腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌を含むがこれらに限定されない）、食欲不振、過食症、ぜん息、アレルギー、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、尿停留、骨粗しょう症、クローン病、多発性硬化症、オールブライト遺伝性骨形成異常症、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、良性前立腺肥大、精神病性障害および神経性障害（不安、精神分裂病、躁鬱、せん妄、痴呆、重篤な精神遅滞を含む）、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症（ｄｅｎｔａｔｏｒｕｂｒｏ－ｐａｌｌｉｄｏｌｕｙｓｉａｎ　ａｔｒｏｐｈｙ）（ＤＲＰＬＡ）、低リン酸血症性くる病、常染色体優性（２）先端脳梁（Ａｃｒｏｃａｌｌｏｓａｌ）症候群およびジスキネジー（例えば、ハンティングトン病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群）ならびに／または他の病態および障害など。他のＧＰＣＲ関連疾患および障害も意図される。

【０１１８】

このポリペプチドは、本発明について特定な抗体を産生する免疫源、またはワクチンとして使用され得る。これらはまた、潜在的なアゴニスト化合物およびアンタゴニスト化合物をスクリーニングするために使用され得る。例えば、ＧＰＣＲ様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、そしてこのＧＰＣＲ様タンパク質は、これらを必要とする被験体に投与される場合に有用であり得る。非限定的な例として、本発明の組成物は、以下に罹患した患者の処置に効力を有する：発達疾患、ＭＨＣＩＩおよびＩＩＩの疾患（免疫疾患）、嗅覚および味覚の検知障害、バーキットリンパ腫、皮質神経性（ｃｏｒｔｉｃｏｎｅｕｒｏｇｅｎｉｃ）疾患、シグナル伝達経路障害、網膜疾患（光受容性に関連する疾患を含む）、細胞増殖速度障害、細胞形状障害、摂食障害、過食に起因する潜在的肥満、飢餓に起因する潜在性障害（食欲不振）、非インスリン依存性糖尿病（ＮＩＤＤＭ１）、細菌性感染、真菌性感染、原生動物性感染およびウイルス感染（特にＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２に起因する感染）、疼痛、癌（新生物；腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌を含むがこれらに限定されない）、食欲不振、過食症、ぜん息、アレルギー、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、尿停留、骨粗しょう症、クローン病、多発性硬化症、オールブライト遺伝性骨形成異常症、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、良性前立腺肥大、精神病性障害お

よび神経性障害（不安、精神分裂病、躁鬱、せん妄、痴呆、重篤な精神遅滞を含む）、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症（ｄｅｎｔａｔｏｒｕｂｒｏ－ｐａｌｌｉｄｏｌｕｙｓｉａｎ　ａｔｒｏｐｈｙ）（ＤＲＰＬＡ）、低リン酸血症性くる病、常染色体優性（２）先端脳梁（Ａｃｒｏｃａｌｌｏｓａｌ）症候群およびジスキネジー（例えば、ハンティングトン病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群）ならびに／または他の病態および障害など。ＧＰＣＲ様タンパク質をコードする新規の核酸、および本発明のＧＰＣＲ様タンパク質、またはこれらのフラグメントはさらに、診断用途において有用であり得、ここで、これらの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、治療方法または診断方法における用途のための本発明の新規の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。これらの抗体は、以下の「抗ＧＰＣＲＸ抗体」の節に記載されるような疎水性チャートからの予測を使用し、当該分野で公知の方法に従って生成され得る。例えば、この開示されたＧＰＣＲ５タンパク質疎水性は複数の領域を有し、これらの各々は免疫源として使用され得る。１つの実施形態において、熟慮された（ｃｏｎｔｅｍｐｌａｔｅｄ）ＧＰＣＲ５エピトープは、約１７０～２００アミノ酸である。別の実施形態において、ＧＰＣＲ５エピトープは、約２３０～２５０アミノ酸である。さらなる実施形態において、ＧＰＣＲ５エピトープは、２７０～３１０アミノ酸である。この新規のタンパク質はまた、様々なヒトの障害の機能分析のための強力なアッセイシステムの開発における価値を有し、これらの分析は、疾患の病理の理解および様々な障害に対する新規の薬物標的の開発を助ける。

【０１１９】

（ＧＰＣＲ６）

（ＧＰＣＲ６ａ）

１０１２ヌクレオチドの開示された新規のＧＰＣＲ６ａ核酸（これはまた、ＡＣ０２０５９７＿Ｄとして称される）を、表６Ａに示す。オープンリーディングは、ヌクレオチド１６～１８のＡＴＧ開始コドンで始まり、そしてヌクレオチド９９１～９９３のＴＧＡコドンで終止する。開始コドンの上流の推定非翻訳領域および終止コドンの下流の推定非翻訳領域に表６Ａにおいて下線を引き、そして

開始コドンおよび終止コドンを太字とする。

【０１２０】

【表４８】

表6A. GPCR6aヌクレオチド配列(配列番号21)

GCATTCACAAGCAGGATGTTCCTTCCCAATGACACCCAGTTTCACCCCTCCTCCTTCCTGTTGCTGGGGATCCCA
GGACTAGAAACACTTCACATCTGGATCGGCTTTCCCTTCTGTGCTGTGTACATGATCGCACTCATAGGGAACTTC
ACTATTCTACTTGTGATCAAGACTGACAGCAGCCTACACCAGCCCATGTTCTACTTCCTGGCCATGTTGGCCACC
ACTGATGTGGGTCTCTCAACAGCTACCATCCCTAAGATGCTTGGAATCTTCTGGATCAACCTCAGAGGGATCATC
TTTGAAGCCTGCCTCACCCAGATGTTTTTTATCCACAACTTCACACTTATGGAGTCAGCAGTCCTTGTGGCAATG
GCTTATGACAGCTATGTGGCCATCTGCAATCCACTCCAATATAGCGCCATCCTCACCAACAAGGTTGTTTCTGTG
ATTGGTCTTGGTGTGTTTGTGAGGGCTTTAATTTTCGTCATTCCCTCTATACTTCTTATATTGCGGTTGCCCTTC
TGTGGGAATCATGTAATTCCCCACACCTACTGTGAGCACATGGGTCTTGCTCATCTATCTTGTGCCAGCATCAAA
ATCAATATTATTTATGGTTTATGTGCCATTTGTAATCTGGTGTTTGACATCACAGTCATTGCCCTCTCTTATGTG
CATATTCTTTGTGCTGTTTTCCGTCTTCCTACTCATGAGCCCCGACTCAAGTCCCTCAGCACATGTGGTTCACAT
GTGTGTGTAATCCTTGCCTTCTATACACCAGCCCTCTTTTCCTTTATGACTCATTGCTTTGGCCGAAATGTGCCC
CGCTATATCCATATACTCCTAGCCAATCTCTATGTTGTGGTGCCACCAATGCTCAATCCTGTCATATATGGAGTC
AGAACCAAGCAGATCTATAAATGTGTAAAGAAAATATTATTGCAGGAACAAGGAATGGAAAAGGAAGAGTACCTA
ATACATACGAGGTTCTGAATGCAATTTTATGAAATTT

開示された核酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ嗅覚レセプターＳ４６　ｍＲＮＡ（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＡＦ１２１９７９）に対して１００５塩基のうち６６２塩基（６５％）が同一である（Ｅ値＝１．８ｅ$^{-70}$）。

【０１２１】

配列番号２１によってコードされたＧＰＣＲ６ａタンパク質は、３２５アミノ酸残基を有し、そして表６Ｂ（配列番号２２）中で１文字コードを使用して提示される。ＧＰＣＲ６ａについてのＰｓｏｒｔプロフィールによって、この配列は、シグナルペプチドを有し、そして小胞体に０．６８５０の確実度で局在するか、または原形質膜に０．６４００の確実度で局在するようであることが予測される。

最も起こり得るペプチドの切断部位は、アミノ酸５５とアミノ酸５６との間、ＳｉｇｎａｌＰ結果に基づくＴＤＳ－ＳＬである。ＧＰＣＲ６ａの分子量は３６６０２．５ダルトンである。

【０１２２】

【表４９】

表6B. コードされたGPCR6aタンパク質配列(配列番号22).

MFLPNDTQFHPSSFLLLGIPGLETLHIWIGFPFCAVYMIALIGNFTILLVIKTDSSLHQPMFYFLAMLATTDVGL
STATIPKMLGIFWINLRGIIFEACLTQMFFIHNFTLMESAVLVAMAYDSYVAICNPLQYSAILTNKVVSVIGLGV
FVRALIFVIPSILLILRLPFCGNHVIPHTYCEHMGLAHLSCASIKINIIYGLCAICNLVFDITVIALSYVHILCA
VFRLPTHEPRLKSLSTCGSHVCVILAFYTPALFSFMTHCFGRNVPRYIHILLANLYVVVPPMLNPVIYGVR
TKQIYKCVKKILLQEQGMEKEEYLIHTRF

ＧＰＣＲ６ａの全長アミノ酸配列が、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ由来の３１８アミノ酸残基の嗅覚レセプターＳ４６（ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｑ９ＷＵ９３）に対して、３０９アミノ酸残基のうち１９２アミノ酸残基（６２％）が同一であり、そして３０９残基のうち２３９残基（７７％）が陽性であることを見出した（Ｅ値＝２．３e^{-103}）。そして、このＧＰＣＲ６ａの全長アミノ酸配列が、ヒト由来の３１２アミノ酸残基の嗅覚レセプターＨＰＦＨ１ＯＲ（ＴＲＥＭＢＬＮＥＷ－ＡＣＣ：ＡＡＤ５１２７９）に対して、３０２アミノ酸残基のうち１５２アミノ酸残基（５０％）が同一であり、そして３０２残基のうち２１１残基（６９％）が陽性であることを見出した（Ｅ値＝１．８e^{-8}）。

【０１２３】

ＧＰＣＲ６ａはまた、表６ＣのＢＬＡＳＴアライメント中に示されるタンパク質に対して相同性を有した。

【０１２４】

【表５０】

表６Ｃ．GPCR6aに対するBLASTX結果

ハイスコアセグメント対を産生する配列	リーディングフレーム	ハイスコア	最小合計 Prob P(N)	N
patp:Y92365 Gタンパク質結合レセプタータンパク質 5	- Hom..+1	731	1.6e-71	1
patp:W01730 ヒトGタンパク質レセプターHPRAJ70	- Homo sa..+1	730	2.0e-71	1
patp:W56641 Gタンパク質結合前立腺組織レセプター	..+1	730	2.0e-71	1
patp:R27875 臭覚レセプタークローン114	- Rattus rattus..+1	495	1.6e-46	1
patp:R27868 臭覚レセプタークローンF5	- Rattus rattus,. +1	494	2.1e-46	1

（ＧＰＣＲ６ｂ）

本発明において、以前に同定された標的配列（登録番号ＡＣ０２０５９７Ｄ）は、エキソン連結プロセスに供されて、この配列を確認した。ＰＣＲプライマーは、順方向プライマーに対して利用可能な最も上流の配列で、および逆方向プラ

イマーに対して利用可能な最も下流の配列で開始することによって設計された。それぞれの場合において、この配列は、独特かまたは高度に選択的であるかのいずれかの適切な配列に遭遇するまで、あるいは逆方向プライマーの場合、停止コドンに到着するまで、コード配列に向けてそれぞれの末端から内側へ進むように試験された。次いで、このような適切な配列は、ｃＤＮＡライブラリーの広範な範囲に基づくＰＣＲ増幅において順方向プライマーおよび逆方向プライマーとして利用された。得られたアンプリコンは、ゲル精製され、クローニングされ、そして高い重複性に対して配列決定されて、下に報告される配列（登録番号ＡＣ０２０５９７Ｄ１で表わされる）を提供した。得られたヌクレオチド配列は、登録番号ＡＣ０２０５９７Ｄで与えられる１０１２塩基のうちの５つで異なる。これは、残基２３４および２６４でのアミノ酸配列における差異を導く。

【０１２５】

１０１２ヌクレオチドの開示された新規なＧＰＣＲ６ｂ核酸（ＡＣ０２０５９７__Ｄ１ともまた称される）は、表６Ｄに示される。オープンリーディングは、ＡＴＧ開始コドンでヌクレオチド１６～１８において開始し、そしてＴＧＡコドンでヌクレオチド９９１～９９３において終結する。開始コドンの上流および終止コドンの下流の推定の未翻訳領域は、表６Ｄにおいて下線を引かれ、そして開始コドンおよび終止コドンは、太字である。

【０１２６】

【表５１】

表６Ｄ．GPCR6bヌクレオチド配列（配列番号２３）

GCATTCACAAGCAGGATGTTCCTTCCCAATGACACCCAGTTTCACCCCTCCTCCTTCCTGTTGCTGGGGATCCCA
GGACTAGAAACACTTCACATCTGGATCGGCTTTCCCTTCTGTGCTGTGTACATGATCGCACTCATAGGGAACTTC
ACTATTCTACTTGTGATCAAGACTGACAGCAGCCTACACCAGCCCATGTTCTACTTCCTGGCCATGTTGGCCACC
ACTGATGTGGGTCTCTCAACAGCTACCATCCCTAAGATGCTTGGAATCTTCTGGATCAACCTCAGAGGGATCATC
TTTGAAGCCTGCCTCACCCAGATGTTTTTATCCACAACTTCACACTTATGGAGTCAGCAGTCCTTGTGGCAATG
GCTTATGACAGCTATGTGGCCATCTGCAATCCACTCCAATATAGCGCCATCCTCACCAACAAGGTTGTTTCTGTG
ATTGGTCTTGGTGTGTTTGTGAGGGCTTTAATTTTCGTCATTCCCTCTATACTTCTTATATTGCGGTTGCCCTTC
TGTGGGAATCATGTAATTCCCCACACCTACTGTGAGCACATGGGTCTTGCTCATCTATCTTGTGCCAGCATCAAA
ATCAATATTATTTATGGTTTATGTGCCATTTGTAATCTAGTGTTTGACATCACAGTCATTGCCCTCTCTTATGTG
CATATTCTTTGTGCTGTTTTCCGTCTTCCTACTCATGAAGCCCGACTCAAGTCCCTCAGCACATGTGGTTCACAT
GTGTGTGTAATCCTTGCCTTCTATACACCAGCCCTCTTTTCCTTTATGACTCATCGCTTTGGCCGAAATGTGCCC
CGCTATATCCATATACTCCTAGCCAATCTCTATGTTGTGGTGCCACCAATGCTCAATCCTGTCATATATGGAGTC
AGAACCAAGCAGATCTATAAATGTGTGAAGAAAATATTATTGCAGGAACAAGGAATGGAAAAGGAAGAGTACCTA
ATACATACGAGGTTCTGAATGCAATTTTATGAAATTT

配列番号２１によってコードされるＧＰＣＲ６ｂタンパク質は、３２５アミノ酸残基を有し、そして表６Ｅにおいて１文字コードを使用して示される（配列番号２４）。ＧＰＣＲ６ｂに対するＰｓｏｒｔプロフィールは、この配列がシグナルペプチドを有し、そして０．６８５０の確実性で小胞体または０．６４００の確実性で原形質膜に局在されるようであることを予測する。未切断N末端シグナル配列を有するようである。ペプチドに対する最も可能性の高い切断部位は、１つしか存在しない場合、アミノ酸５５と５６との間（ＳｉｇｎａｌＰ結果に基づくＴＤＳ－ＳＬ）である。ＧＰＣＲ６ｂの分子量は、３６６２９．６ダルトンである。

【０１２７】

【表５２】

表６Ｅ．コードされたGPCR6bタンパク質配列（配列番号２４）

MFLPNDTQFHPSSFLLLGIPGLETLHIWIGFPFCAVYMIALIGNFTILLVIKTDSSLHQPMFYFLAMLATTDVGL
STATIPKMLGIFWINLRGIIFEACLTQMFFIHNFTLMESAVLVAMAYDSYVAICNPLQYSAILTNKVVSVIGLGV
FVRALIFVIPSILLILRLPFCGNHVIPHTYCEHMGLAHLSCASIKINIIYGLCAICNLVFDITVIALSYVHILCA
VFRLPTHEARLKSLSTCGSHVCVILAFYTPALFSFMTHRFGRNVPRYIHILLANLYVVVPPMLNPVIYGVRTKQI
YKCVKKILLQEQGMEKEEYLIHTRF

ＢＬＡＳＴＰ結果は、表６Ｆに列挙されるものを含む。

【０１２８】

【表５３】

表６Ｆ．GPCR6bに対するBLASTP結果

遺伝子指標／識別子	タンパク質/生物	長さ (aa)	同一性 (%)	陽性 (%)	予測
SPTREMBL-ACC:Q9WU93	臭気物質レセプター S46 - Mus musculus	318	194/309 (62%)	241/309 (77%)	1.6e-105
SPTREMBL-ACC:Q9WVD9	MOR 3'β1 - Mus musculus （マウス）	326	172/298 (57%)	226/298 (75%)	4.4e-94
SPTREMBL-ACC:Q9Y5P1	HOR 5'β3 - Homo sapiens （ヒト）	312	131/305 (42%)	195/305 (63%)	4.0e-68

開示されるＧＰＣＲ６タンパク質は、多数の嗅覚レセプタータンパク質との良好な同一性を有する。ＣｌｕｓｔａｌＷ分析のために使用した同一性情報は、表６Ｇに示される。ＧＰＣＲ６タンパク質は、嗅覚レセプター（ＯＲ）タンパク質

に対して有意な同一性を有する：

【０１２９】

【表５４】

表６Ｇ．GPCR6に対するBLAST結果

遺伝子指標／識別子	タンパク質/生物	長さ (aa)	同一性 (%)	陽性 (%)	予測
gi|9935442|ref|NP_064688.1|	臭気物質レセプター S46 遺伝子 [Mus musculus]	318	192/310 (61%)	239/310 (76%)	6e-98
gi|7305349|ref|NP_038647.1|	O 臭覚レセプター 67 [Mus musculus]	326	70/298 (57%)	224/298 (75%)	1e-86
gi|9938014|ref|NP_064686.1|	臭気物質レセプター S18 遺伝子 [Mus musculus]	321	157/305 (51%)	225/305 (73%)	1e-83
gi|6532001|gb|AAD27596.2|AF121976_1 (AF121976)	臭気物質レセプター S19 [Mus musculus]	339	158/280 (56%)	209/280 (74%)	4e-83
gi|11908211|gb|AAG41676.1| (AF137396)	HOR 5' β14 [Homo sapiens]	313	160/300 (53%)	221/300 (73%)	1e-82

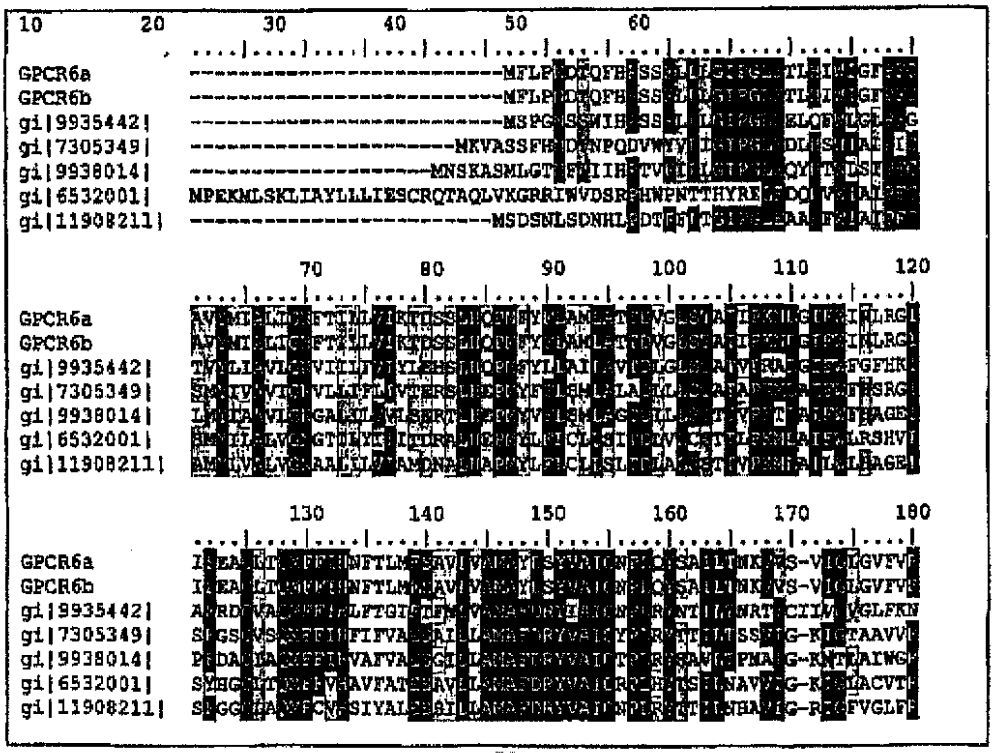
この情報は、関連するタンパク質配列とＧＰＣＲ６とを比較するＣｌｕｓｔａｌW分析として、表６Ｈに与えられる複数配列アライメントにおいて、図式的に提供される（ＧＰＣＲ６ａが１行目に示され、そしてＧＰＣＲ６ｂが２行目に示される）。

【０１３０】

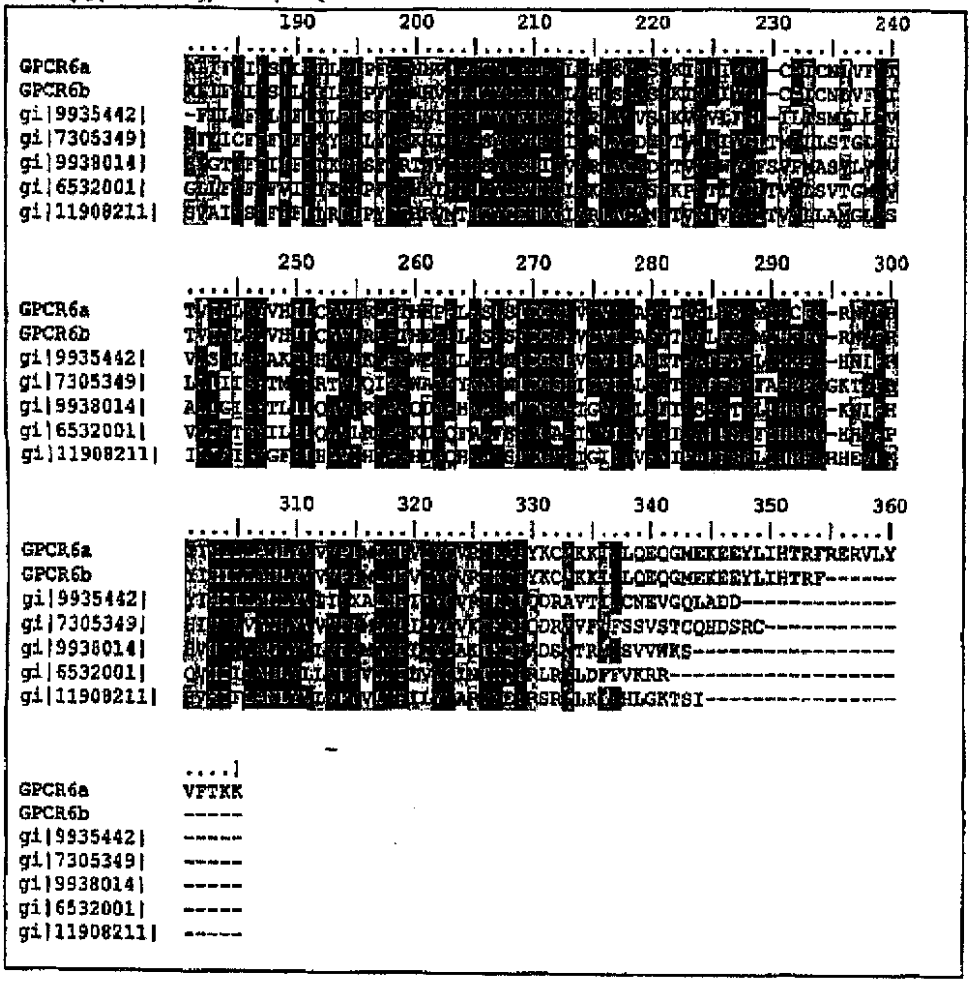
【表５５】

表6H ClustalWタンパク質に対する情報

1) GPCR6a (配列番号 22)
2) GPCR6b (配列番号 24)
3) gi|9935442|ref|NP_064688.1| 臭気レセプター S46遺伝子 [Mus musculus] (配列番号 53)
4) gi|7305349|ref|NP_038647.1| 臭覚レセプター 67 [Mus musculus] (配列番号 57)
5) gi|9938014|ref|NP_064686.1| 臭気レセプター S18遺伝子 [Mus musculus] (配列番号 56)
6) gi|6532001|gb|AAD27596.2|AF121976_1 (AF121976) 臭気レセプター S19 [Mus musculus] (配列番号 54)
7) gi|11908211|gb|AAG41676.1| (AF137396) HOR 5' β14 [Homo sapiens] (配列番号 55)



〔表55〕の続き



ＧＰＣＲ６における同定可能なドメインの存在は、ＰＲＯＳＩＴＥ、Ｂｌｏｃｋｓ、Ｐｆａｍ、ＰｒｏＤｏｍａｉｎ、Ｐｒｉｎｔｓのようなアルゴリズムを使用する検索によって決定され、次いで、Ｉｎｔｅｒｐｒｏウェブサイト（ｈｔｔｐ：ｗｗｗ．ｅｂｉ．ａｃ．ｕｋ／ｉｎｔｅｒｐｒｏ／）を使用してドメインの一致（または数）を交差させることによって、Ｉｎｔｅｒｐｒｏ数を決定した。

【０１３１】

ＧＰＣＲ６についてのＤＯＭＡＩＮ結果は、Ｒｅｖｅｒｓｅ　Ｐｏｓｉｔｉｏｎ　Ｓｐｅｃｉｆｉｃ　ＢＬＡＳＴでのＣｏｎｓｅｒｖｅｄ　Ｄｏｍａｉｎ　Ｄａｔａｂａｓｅ（ＣＤＤ）から収集された。このＢＬＡＳＴは、ＳｍａｒｔおよびＰｆａｍ収集において見出されたドメインをサンプリングする。これらの結果は、統計およびドメインの説明とともに表６Ｉに列挙される。これらの結果は、ＧＰＣＲ６が７ｔｍ＿１（ＩｎｔｅｒＰｒｏ）７回膜貫通レセプター（ロドプシ

ンファミリー）（Ｉｎｔｅｒｐｒｏによって定義されるような）と相同性を有することを示す。このことは、ＧＰＣＲ６の配列が、この／これらのドメインを含むことが既知である他のタンパク質の特性と類似の特性、およびこれらのドメインの特性と類似の特性を有することを示す。

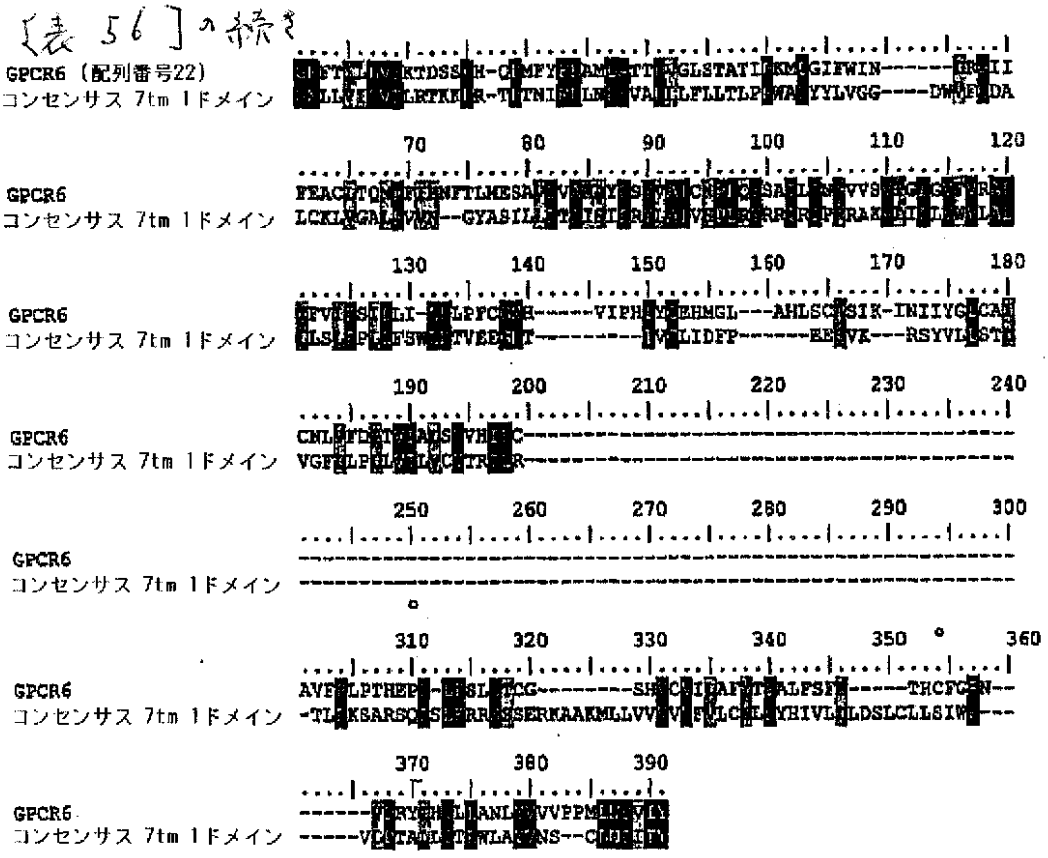
【０１３２】

【表５６】

表61.コンセンサス7tm1ドメイン(配列番号76)に対するGPCR6についてのDOMAIN結果

CD-長　　= 254 残基　　, 100.0% 整列
スコア　= 77.4 ビット (182),　期待値　= 1e-15

10　20　30　40　50　60



本明細書中に開示されるＧＰＣＲ６タンパク質と核酸とに関する類似性情報は、ＧＰＣＲ６が嗅覚レセプターファミリーおよびＧＰＣＲファミリーに特徴的な重要な構造的および／または生理的機能を有し得ることを示唆する。従って、本発明の核酸およびタンパク質は、潜在的な診断用途および治療用途において、な

らびに研究ツールとして、有用である。これらとしては、核酸もしくはタンパク質の存在または量が評価される、特異的または選択的な核酸またはタンパク質の診断マーカーおよび／または予後マーカーとして働くこと、ならびに以下のような潜在的な治療用途が挙げられる：（ｉ）タンパク質治療、（ｉｉ）低分子薬物標的、（ｉｉｉ）抗体標的（治療的、診断的、薬物標的化／細胞傷害性抗体）、（ｉｖ）遺伝子治療において有用な核酸（遺伝子送達／遺伝子切除）ならびに（ｖ）インビトロおよびインビボでの組織再生を促進する組成物、（ｖｉ）生物学的防御兵器。ＧＰＣＲ６をコードする新規核酸、および本発明のＧＰＣＲ６タンパク質またはそのフラグメントは、この核酸もしくはタンパク質の存在または量が評価される診断用途において、さらに有用であり得る。

【０１３３】

本発明の核酸およびタンパク質は、以下に記載する種々の疾患および障害ならびに／または他の病理に関連する潜在的な診断および治療の用途において、有用である。例えば、本発明の組成物は、細菌感染、真菌感染、原虫感染、およびウイルス感染（特に、ＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２によって引き起こされる感染）、疼痛、癌（新生物；腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌が挙げられるがこれらに限定されない）、食欲不振、過食症、喘息、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、尿停留、骨粗しょう症、クローン病；多発性硬化症；ならびに以下の処置：オールブライト遺伝性骨形成異常症、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、喘息、アレルギー、良性前立腺肥大、ならびに精神病性および神経学的な障害（不安、精神分裂病、躁うつ病、せん妄、痴呆、重篤な精神遅滞を含む）、およびジスキネジー（例えば、ハンティングトン病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群）ならびに／または他の病理および障害などに罹患する患者の処置のために、効力を有する。

【０１３４】

このポリペプチドを、本発明に特異的な抗体を産生するための免疫原として、そしてワクチンとして使用し得る。これらはまた、潜在的なアゴニスト化合物およびアンタゴニスト化合物についてスクリーニングするために、使用され得る。例えば、ＯＲ様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ＯＲ様タンパク質は、投与の必要がある被験体に投与される場合に、有用であり得る。非限定的な例として、本発明の組成物は、細菌感染、真菌感染、原虫感染、およびウイルス感染（特に、ＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２によって引き起こされる感染）、疼痛、癌（新生物；腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌が挙げられるがこれらに限定されない）、食欲不振、過食症、喘息、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、尿停留、骨粗しょう症、クローン病；多発性硬化症；ならびに以下の処置：オールブライト遺伝性骨形成異常症、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、喘息、アレルギー、良性前立腺肥大、ならびに精神病性および神経学的な障害（不安、精神分裂病、躁うつ病、せん妄、痴呆、重篤な精神遅滞を含む）、およびジスキネジー（例えば、ハンティングトン病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群）ならびに／または他の病理および障害に罹患する患者の処置のために、効力を有する。

【０１３５】

ＯＲ様タンパク質をコードする新規核酸、および本発明のＯＲ様タンパク質またはそのフラグメントは、この核酸またはタンパク質の存在または量が評価される診断用途において、さらに有用であり得る。

【０１３６】

ＧＰＣＲ様タンパク質をコードする新規核酸、および本発明のＧＰＣＲ様タンパク質またはそのフラグメントは、この核酸またはタンパク質の存在または量が評価される診断用途において、さらに有用であり得る。これらの物質は、治療方法または診断方法において使用するための本発明の新規な基質に免疫特異的に結合する抗体の生成において、さらに有用である。これらの抗体は、以下の「抗ＧＰＣＲＸ抗体」の節において記載されるような、疎水性チャートからの予測を使用して、当該分野において公知の方法によって生成され得る。例えば、開示されたＧＰＣＲ６タンパク質は、複数の親水性領域を有し、そのそれぞれは免疫原として使用され得る。１つの実施形態において、意図されるＧＰＣＲ６エピトープは、約１７０～１８０アミノ酸である。別の実施形態において、ＧＰＣＲ６エピトープは、約２３０～２４０アミノ酸である。さらなる実施形態において、ＧＰＣＲ６エピトープは、２５０～２８０アミノ酸および２９０～３１０アミノ酸で

ある。この新規タンパク質はまた、種々のヒト障害の機能的分析のための強力なアッセイ系の開発に価値を有し、疾患の病理の理解および種々の障害に対する新規薬物標的の開発の助けとなる。

【０１３７】

（ＧＰＣＲ７）

（ＧＰＣＲ７ａ）

新規ＧＰＣＲ核酸が、ＴｂｌａｓｔＮによって、ＧＰＣＲプローブまたはホモログに関するＣｕｒａＧｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎの配列ファイルを使用し、そしてＧｅｎＢａｎｋによって利用可能にされるＧｅｎｏｍｉｃ　Ｄａｉｌｙ　Ｆｉｌｅｓに対して実行されて、同定された。この核酸はさらに、エキソンの選択を含むプログラムＧｅｎＳｃａｎ™によってさらに予測された。これらは、ＢＬＡＳＴ検索を使用する類似性によって、さらに改変された。次いで、これらの配列は、明らかな不一致に関して手動で補正され、これによって、全長タンパク質をコードする配列を得た。開示される９６８ヌクレオチドの新規ＧＰＣＲ７核酸（ＡＣ０２５２４９＿Ａともまた称される）は、表７Ａに示される。オープンリーディングフレームは、ＡＴＧ開始コドンでヌクレオチド６～８において開始し、そしてＴＡＧコドンでヌクレオチド９６０～９６２において終結する。開始コドンの上流および終止コドンの下流の推定の未翻訳領域は、表７Ａにおいて下線を引かれており、そして開始コドンおよび終止コドンは、太字である。

【０１３８】

【表５７】

表7A. GPCR7aヌクレオチド配列(配列番号25)

TCTTCATGATGGTGGATCCCAATGGCAATGAATCCAGTGCTACATACTTCATCCTAATAGGCCTCCCTGGTTTAGAAG
AGGCTCAGTTCTGGTTGGCCTTCCCATTGTGCTCCCTCTACCTTATTGCTGTGCTAGGTAACTTGACAATCATCTACA
TTGTGCGGACTGAGCACAGCCTGCATGAGCCCATGTATATATTTCTTTGCATGCTTTCAGGCATTGACATCCTCATCT
CCACCTCATCCATGCCCAAAATGCTGGCCATCTTCTGGTTCAATTCCACTACCATCCAGTTTGATGCTTGTCTGCTAC
AGATGTTTGCCATCCACTCCTTATCTGGCATGGAATCCACAGTGCTGCTGGCCATGGCTTTTGACCGCTATGTGGCCA
TCTGTCACCCACTGCGCCATGCCACAGTACTTACGTTGCCTCGTGTCACCAAAATTGGTGTGGCTGCTGTGGTGCGGG
GGGCTGCACTGATGGCACCCCTTCCTGTCTTCATCAAGCAGCTGCCCTTCTGCCGCTCCAATATCCTTTCCCATTCCT
ACTGCCTACACCAAGATGTCATGAAGCTGGCCTGTGATGATATCCGGGTCAATGTCGTCTATGGCCTTATCGTCATCA
TCTCCGCCATTGGCCTGGACTCACTTCTCATCTCCTTCTCATATCTGCTTATTCTTAAGACTGTGTTGGGCTTGACAC
GTGAAGCCCAGGCCAAGGCATTTGGCACTTGCGTCTCTCATGTGTGTGCTGTGTTCATATTCTATGTACCTTTCATTG
GATTGTCCATGGTGCATCGCTTTAGCAAGCGGCGTGACTCTCCGCTGCCCGTCATCTTGGCCAATATCTATCTGCTGG
TTCCTCCTGTGCTCAACCCAATTGTCTATGGAGTGAAGACAAAGGAGATTCGACAGCGCATCCTTCGACTTTCCATG
TGGCCACACACGCTTCAGAGCCCTAGGTGTCA

ＧＰＣＲ７ａは、表７Ｂに記載されるＢＬＡＳＴＮアラインメントにおける核酸を含むいくつかの他の核酸に高い相同性を有する。

【０１３９】

【表５８】

表7B. GPCR7aに対するBLASTN結果

遺伝子指標／識別子	タンパク質/生物	長さ (bp)	同一性 (%)	期待値
gb:GENBANK-ID:AF079864|acc:AF079864	Rattus norvegicus 推定 G-タンパク質結合レセプター RA1c mRNA, 完全 cds	2910	596/879 (67%)	2.4e-68
gb:GENBANK-ID:AR009514|acc:AR009514	米国特許第5756309号由来の配列１	1474	594/874 (67%)	7.0e-69
patn:X40518	ヒト分泌タンパク質 5' EST	381	242/242 (100%)	3.8e-49
patn:X40528	ヒト分泌タンパク質 5' EST	399	280/286 (97%)	4.1e-57
gb:GENBANK-ID:AI557139|acc:AI557139	PT2.1_13_H11.r tumor2 Homo sapiens cDNA 3', mRNA 配列 - Homo sapiens	1000	165/173 (95%)	5.5e-28

配列番号２５にコードされるＧＰＣＲ７ａタンパク質は、３１８アミノ酸残基を有し、そして表７Ｂにおいて１文字コードを用いて示される（配列番号２６）。ＧＰＣＲ７ａについてのこのＳｉｇｎａｌＰ、Ｐｓｏｒｔおよび／またはＨｙｄｒｏｐａｔｈｙプロフィールによって、ＧＰＣＲ７ａがシグナルペプチドを有すること、そして０．６４００の確実性で原形質膜に局在するらしいことが予期される。このＳｉｇｎａｌＰは、シグナル配列が、最初の４４アミノ酸（アミノ酸５４と５５との間）に、すなわち、ＶＲＴ－ＥＨで切断部位とともに、コードされていることを示す。これは、このタイプの膜タンパク質に代表的である。ＧＰＣＲ７ｂの分子量は、３５４０１．９ダルトンである。

【０１４０】

【表５９】

表7C. コードされたGPCR7タンパク質配列(配列番号26)
MMVDPNGNESSATYFILIGLPGLEEAQFWLAFPLCSLYLIAVLGNLTIIYIVRTERSLHEPMYIFLCMLSGIDIL ISTSSMPKMLAIFWFNSTTIQFDACLLQMFAIHSLSGMESTVLLAMAFDRYVAICHPLRHATVLTLPRVTKIGVA AVVRGAALMAPLPVFIKQLPFCRSNILSHSYCLHQDVMKLACDDIRVNVVYGLIVIISAIGLDSLLISFSYLLIL KTVLGLTREAQAKAFGTCVSHVCAVFIFYVPFIGLSMVHRFSKRRDSPLPVILANIYLLVPPVLNPIVYGVKTKE IRQRILRLFHVATHASEP

本発明のタンパク質の全アミノ酸配列は、表７Ｄおよび７ＥにおけるＢＬＡＳＴＸアラインメントのポリペプチドを含む多数のポリペプチドに高い相同性を有することがわかった。

【０１４１】

【表６０】

表 7D. BLAST 結果 （ GPCR7a ）

遺伝子インデックス/識別子	タンパク質/生物	長さ(a.a)	同一性(%)	陽性(%)	期待
ptnr:SPTREMBL-ACC:O88628	推定Gタンパク質共役レセプター RA1C - Rattus norvegicus (ラット)	320	183/305 (60%)	235/305 (77%)	1.5e-98
patp:W01730	ヒトGタンパク質レセプター HPRAJ70 - Homo sapiens	320	181/305 (59%)	235/305 (77%)	1.8e-97
patp:Y11796	ヒト 5' EST 仮説タンパク質	21	20/20 (100%)	20/20 (100%)	1.3e-05
gi|6532001|gb|AAD27596.2|AF121976_1 (AF121976)	嗅覚レセプター S19 [Mus musculus]	339	158/280 (56%)	209/280 (74%)	4e-83

表 7E. BLASTX 結果 （ GPCR7a ）

高スコアセグメント対を生成する配列：	リーディングフレーム	合計スコア	最小Sum Prob P(N)	N
Patp:Y92365 Gタンパク質共役レセプタータンパク質 5 - Hom +3		1623	4.8e-166	1
Patp:W01730 ヒトGタンパク質レセプター HPRAJ70 - Homo sa.+3		971	5.9e-97	1
Patp:W56641 Gタンパク質共役前立腺特異的レセプター +3		971	5.9e-97	1
patp:R27875 嗅覚 レセプター クローン I14 - Rattus rattus.+3		425	4.2e-39	1

（ＧＰＣＲ７ｂおよびｃ）

本発明において、以前に同定された標的配列（登録番号ＡＣ０２５２４９＿Ａ）をエキソン連結プロセスに供し、配列を確認した。ＰＣＲプライマーを、正方向プライマーとして利用可能な最も上流の配列および逆方向プライマーとして利用可能な最も下流の配列で始まるように設計した。各々の場合、固有であるかまたは高度に選択的であるかのいずれかである適切な配列に遭遇するまで（逆方向プライマーの場合、終止コドンに到達するまで）、各末端からコードの配列の方

に内向きにウォーキングさせ、配列を試験した。次いで、このような適切な配列を、広範なｃＤＮＡ種を含むライブラリーに対するＰＣＲ増幅において、正方向プライマーおよび逆方向プライマーとして用いた。得られた２つのアンプリコンをゲル精製し、クローニングし、そして高重複性になるまで配列決定して、以下に報告する配列（ＧＰＣＲ７ｂ（登録番号ＡＣ０２５２４９＿Ａ１）およびＧＰＣＲ７ｃ（ＡＣ０２５２４９＿Ａ＿ｄａ３と命名した）を提供した。ＧＰＣＲ７ｂの配列は、２４７位でＧＰＣＲ７ａとの１つのアミノ酸の相違（アラニンがバリンにより置換されている）を含む。ＧＰＣＲ７ｃの配列は、１８３位で異なる１つのアミノ酸（ロイシンがプロリンにより置換されている）を有する。

【０１４２】

（ＧＰＣＲ７ｂ）

新規ＧＰＣＲ核酸が、ＧＰＣＲプローブまたはホモログに関するＣｕｒａＧｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎの配列ファイルを使用したＴｂｌａｓｔＮによって、およびＧｅｎＢａｎｋによって利用可能にされたＧｅｎｏｍｉｃ　Ｄａｉｌｙ　Ｆｉｌｅｓに対する実行によって同定された。この核酸を、プログラムＧｅｎＳｃａｎ™によってさらに予測（エキソンの選択を含む）した。これらを、ＢＬＡＳＴ検索を使用して類似性によって、さらに改変した。次いで、これらの配列を、明らかな不一致に関して手動で補正し、これによって、全長タンパク質をコードする配列を得た。開示される９６９ヌクレオチドの新規ＧＰＣＲ７核酸（ＡＣ０２５２４９＿Ａ１とも呼ばれる）を、表７Ｆに示す。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド７～９のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド９６１～９６３のＴＡＧコドンで終結する。開始コドンの上流および終止コドンの下流の推定の未翻訳領域は、表７Ｆにおいて下線で示され、そして開始コドンおよび終止コドンは、太字で示される。

【０１４３】

【表６１】

表 7F. GPCR7 ヌクレオチド配列（配列番号27）

TTCTTCATGATGGTGGATCCCAATGGCAATGAATCCAGTGCTACATACTTCATCCTAATAGGCCTCCCTGGTTTAGAA
GAGGCTCAGTTCTGGTTGGCCTTCCCATTGTGCTCCCTCTACCTTATTGCTGTGCTAGGTAACTTGACAATCATCTAC
ATTGTGCGGACTGAGCACAGCCTGCATGAGCCCATGTATATATTTCTTTGCATGCTTTCAGGCATTGACATCCTCATC
TCCACCTCATCCATGCCCAAAATGCTGGCCATCTTCTGGTTCAATTCCACTACCATCCAGTTTGATGCTTGTCTGCTA
CAGATGTTTGCCATCCACTCCTTATCTGGCATGGAATCCACAGTGCTGCTGGCCATGGCTTTTGACCGCTATGTGGCC
ATCTGTCACCCACTGCGCCATGCCACAGTACTTACGTTGCCTCGTGTCACCAAAATTGGTGTGGCTGCTGTGGTGCGG
GGGGCTGCACTGATGGCACCCCTTCCTGTCTTCATCAAGCAGCTGCCCTTCTGCCGCTCCAATATCCTTTCCCATTCC
TACTGCCCACACCAAGATGTCATGAAGCTGGCCTGTGATGATATCCGGGTCAATGTCGTCTATGGCCTTATCGTCATC
ATCTCCGCCATTGGCCTGGACTCACTTCTCATCTCCTTCTCATATCTGCTTATTCTTAAGACTGTGTTGGGCTTGACA
CGTGAAGCCCAGGCCAAGGCATTTGGCACTTGCGTCTCTCATGTGTGTGCTGTGTTCATATTCTATGTACCTTTCATT
GGATTGTCCATGGTGCATCGCTTTAGCAAGCGGCGTGACTCTCCACTGCCCGTCATCTTGGCCAATATCTATCTGCTG
GTTCCTCCTGTGCTCAACCCAATTGTCTATGGAGTGAAGACAAAGGAGATTCGACAGCGCATCCTTCGACTTTTCCAT
GTGGCCACACACGCTTCAGAGCCCTAGGTGTCA

配列番号２７にコードされるＧＰＣＲ７ｂタンパク質は、３１８アミノ酸残基を有し、そして表７Ｇにおいて１文字コードを用いて示される（配列番号２８）。ＧＰＣＲ７ａについてのこのＳｉｇｎａｌＰ、Ｐｓｏｒｔおよび／または疎水性親水性指標プロフィールによって、ＧＰＣＲ７ａがシグナルペプチドを有し、そして０．６４００の確実性で原形質膜に局在する可能性があることが予期される。このＳｉｇｎａｌＰは、シグナル配列が、最初の４４アミノ酸（すなわち、アミノ酸５４と５５との間のＶＲＴ－ＥＨの開裂部位と共に）コードされることを示す。これは、このタイプの膜タンパク質の典型である。ＧＰＣＲ７ｂの分子量は３５３８５．８ダルトンである。

【０１４４】

【表６２】

表 7G. コードされるGPCR7b タンパク質配列（配列番号28）

MMVDPNGNESSATYFILIGLPGLEEAQFWLAFPLCSLYLIAVLGNLTIIYIVRTEHSLHEPMYIFLCMLSGIDIL
ISTSSMPKMLAIFWFNSTTIQFDACLLQMFAIHSLSGMESTVLLAMAFDRYVAICHPLRHATVLTLPRVTKIGVA
AVVRGAALMAPLPVFIKQLPFCRSNILSHSYCPHQDVMKLACDDIRVNVVYGLIVIISAIGLDSLLISFSYLLIL
KTVLGLTREAQAKAFGTCVSHVCAVFIFYVPFIGLSMVHRFSKRRDSPLPVILANIYLLVPPVLNPIVYGVKTKE
IRQRILRLFHVATHASEP

ＧＰＣＲ７ｂの全長アミノ酸配列は、Ｒａｔｔｕｓ　ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ（ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｏ８８６２８）由来の３１９アミノ酸残基の推定Ｇタンパク質結合レセプターＲＡ１Ｃに対して、３０１アミノ酸残基のうち１５２アミノ酸残基（５０％）同一性であり、３０１残基のうち２１３アミノ酸残基（７０％）陽性であること（Ｅ値＝３．３ｅ$^{-81}$）、およびＨｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ（ｓｐｔｒＥＭＢＬ－Ｑ９ＵＫＬ２）由来の３１２アミノ酸残基の嗅覚レセプターＨＰＦＨ１ＯＲに対して、２９５アミノ酸残基のうち１４２残基（４８

％）同一であり、そして２９５残基のうち１９９アミノ酸残基（６７％）陽性であることが見出された（Ｅ値＝２．９ｅ－^{75}）。

【０１４５】

ＧＰＣＲ７ｂはまた、ＢＬＡＳＴＸアラインメントを通して見出された以下のタンパク質に対する高い相同性を有する。これを表７Ｈに示す。

【０１４６】

【表６３】

表7H. BLASTX 結果（GPCR7b）

高スコアセグメントを生成する配列：	リーディングフレーム	高スコア	最小 Sum Prob P(N)	N
Ptnr:SPTREMBL-ACC:O88628 推定Gタンパク質共役レセプター	.+1	981	6.6e-98	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9YH55 嗅覚レセプター 不揮タンパク質	+1	816	2.0e-80	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVD9 MOR 3'β 1 - Mus musculus (M.+1		812	5.3e-80	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WU90 嗅気レセプター S19 - Mus mu.+1		799	1.3e-78	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVN5 MOR 5'β 2 - Mus musculus (M.+1		777	2.7e-76	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVD8 MOR 3'β 2 - Mus musculus (M +1		769	1.9e-75	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WU89 嗅気 レセプター S18 - Mus mu.+1		769	1.9e-75	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVD7 MOR 3'β 3 - Mus musculus (M.+1		764	6.5e-75	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9UKL2 嗅覚レセプター HPFH1OR - .+1		760	1.7e-74	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVN6 MOR 5'β 3 - Mus musculus (M.+1		756	4.6e-74	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9Y5P1 HOR 5'β 3 - Homo sapiens (H.+1		723	1.4e-70	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVN4 MOR 5'β 1 - Mus musculus (M.+1		707	7.1e-69	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WU93 嗅気レセプター S46 - Mus mu.+1		701	3.1e-68	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9Y5P0 HOR 5'β 1 - Homo sapiens (H.+1		630	1.0e-60	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WU94 嗅気レセプター S50 - Mus mu.+1		578	3.3e-55	1

（ＧＰＣＲ７ｃ）

開示される９６８ヌクレオチドの新規ＧＰＣＲ７ｃ（ＡＣ０２５２４９＿Ａｄａ３とも呼ばれる）核酸を、表７Ｉに示す。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド７～９のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド９６１～９６３のＴＡＧコドンで終止する。開始コドンの上流および終止コドンの下流の推定の未翻訳領域は、表７Ｉにおいて下線で示され、そして開始コドンおよび終止コドンは、太字で示される。

【０１４７】

【表６４】

表7I. GPCR7 ヌクレオチド配列（配列番号29）

TTCTTCATGATGGTGGATCCCAATGGCAATGAATCCAGTGCTACATACTTCATCCTAATAGGCCTCCCTGGTTTAGAA
GAGGCTCAGTTCTGGTTGGCCTTCCCATTGTGCTCCCTCTACCTTATTGCTGTGCTAGGTAACTTGACAATCATCTAC
ATTGTGCGGACTGAGCACAGCCTGCATGAGCCCATGTATATATTTCTTTGCATGCTTTCAGGCATTGACATCCTCATC
TCCACCTCATCCATGCCCAAAATGCTGGCCATCTTCTGGTTCAATTCCACTACCATCCAGTTTGATGCTTGTCTGCTA
CAGATGTTTGCCATCCACTCCTTATCTGGCATGGAATCCACAGTGCTGCTGGCCATGGCTTTTGACCGCTATGTGGCC
ATCTGTCACCCACTGCGCCATGCCACAGTACTTACGTTGCCTCGTGTCACCAAAATTGGTGTGGCTGCTGTGGTGCGG
GGGGCTGCACTGATGGCACCCCTTCCTGTCTTCATCAAGCAGCTGCCCTTCTGCCGCTCCAATATCCTTTCCCATTCC
TACTGCCCACACCAAGATGTCATGAAGCTGGCCTGTGATGATATCCGGGTCAATGTCGTCTATGGCCTTATCGTCATC
ATCTCCGCCATTGGCCTGGACTCACTTCTCATCTCCTTCTCATATCTGCTTATTCTTAAGACTGTGTTGGGCTTGACA
CGTGAAGCCCAGGCCAAGGCATTTGGCACTTGCGTCTCTCATGTGTGTGCTGTGTTCATATTCTATGTACCTTTCATT
GGATTGTCCATGGTGCATCGCTTTAGCAAGCGGCGTGACTCTCCACTGCCCGTCATCTTGGCCAATATCTATCTGCTG
GTTCCTCCTGTGCTCAACCCAATTGTCTATGGAGTGAAGACAAAGGAGATTCGACAGCGCATCCTTCGACTTTTCCAT
GTGGCCACACACGCTTCAGAGCCCTAGGTGTA

配列番号２９にコードされるＧＰＣＲ７ｃタンパク質は、３１８アミノ酸残基を有し、そして表７Ｊにおいて１文字コードを用いて示される（配列番号３０）。ＧＰＣＲ７ａについてのこのＳｉｇｎａｌＰ、Ｐｓｏｒｔおよび／または疎水性親水性指標プロフィールによって、ＧＰＣＲ７ａがシグナルペプチドを有し、そして０．６４００の確実性で原形質膜に局在する可能性があることが予期される。このＳｉｇｎａｌＰは、シグナル配列が、最初の４４アミノ酸（すなわち、アミノ酸５４と５５との間のＶＲＴ－ＥＨの開裂部位と共に）コードされることを示す。これは、このタイプの膜タンパク質の典型である。ＧＰＣＲ７ｃの分子量は３５３８５．８ダルトンである。

【０１４８】

【表６５】

表7J. コードされるGPCR7c タンパク質配列（配列番号30）

MMVDPNGNESSATYFILIGLPGLEEAQFWLAFPLCSLYLIAVLGNLTIIYIVRTEHSLHEPMYIFLCMLSGIDIL
ISTSSMPKMLAIFWFNSTTIQFDACLLQMFAIHSLSGMESTVLLAMAFDRYVAICHPLRHATVLTLPRVTKIGVA
AVVRGAALMAPLPVFIKQLPFCRSNILSHSYCPHQDVMKLACDDIRVNVVYGLIVIISAIGLDSLLISFSYLLIL
KTVLGLTREAQAKAFGTCVSHVCAVFIFYVPFIGLSMVHRFSKRRDSPLPVILANIYLLVPPVLNPIVYGVKTKE
IRQRILRLFHVATHASEP

ＧＰＣＲ７ｃに対する相同タンパク質をＢＬＡＳＴＸを用いて検索した。アラインメントのいくつかは、表７Ｋに含まれる。

【０１４９】

【表６６】

表 7K. BLAST 結果 (GPCR7c)

遺伝子インデックス/識別子	タンパク質/生物	長さ (aa)	同一性 (%)	陽性 (%)	期待
ptnr:SPTREMBL-ACC:O88628	推定ヒトタンパク質 共役レセプター RA1C - Rattus norvegicus (ラット)	320	183/305 (60%)	235/305 (77%)	1.5e-98
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9YH55	嗅覚レセプター様タンパク質 COR3' β - Gallus gallus s	319	152/301 (50%)	213/301 (70%)	3.3e-81
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9UKL2	嗅覚レセプター HPFH1OR - Homo sapiens	312	142/295 (48%)	199/295 (67%)	2.9e-75

ＧＰＣＲ７ｃはまた、ＢＬＡＳＴＸアラインメントを通して見出された以下のタンパク質に対する高い相同性を有する。これを表７Ｌに示す。

【０１５０】

【表６７】

表 7L. BLASTX 結果 (GPCR7b)

高スコアセグメント対を生成する配列：	リーディングフレーム	高スコア	最小 Sum Prob P[N]	N
ptnr:SPTREMBL-ACC:O88628 推定ヒトタンパク質共役レセプター	+1	981	6.8e-98	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9YH55 嗅覚レセプター様タンパク質	+1	816	2.1e-80	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WVD9 MOR 3' β 1 - Mus musculus (M.	+1	812	5.5e-80	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9WU90 嗅覚レセプター S19 - Mus mu.	+1	799	1.3e-78	1

ＧＰＣＲ７ｃについて見出された可能性のあるＳＮＰを、表７Ｍに列挙する。

【０１５１】

【表６８】

表 7M: SNP

コンセンサス位置	深さ	塩基変化	PAF
446	18	A>-	0.111
513	17	T>C	0.118
555	16	T>C	0.125
827	9	A>G	0.333

開示されるＧＰＣＲ７タンパク質は、多くの嗅覚レセプタータンパク質と良好な同一性を有する。ＣｌｕｓｔａｌＷ分析に使用される同一性情報を表７Ｏに示

す。ＧＰＣＲ７タンパク質は、嗅覚レセプター（ＯＲ）タンパク質に対する有意な同一性を有する（表７Ｎ）。

【０１５２】

【表６９】

表 7N. BLAST 結果 （ GPCR7 ）

遺伝子インデックス/識別子	タンパク質/生物	長さ(aa)	同一性(%)	陽性(%)	期待
gi|3420759|gb|AAD12761.1| (AF079864)	推定Gタンパク質共役レセプター RA1c [Rattus norvegicus]	320	173/299 (57%)	221/299 (73%)	3e-88
gi|11875778|gb|AAG40776.1|AF311306_1 (AF311306)	前立腺特異的Gタンパク質共役レセプター；PSGR [Homo sapiens]	320	173/299 (57%)	223/299 (73%)	5e-88
gi|11908213|gb|AAG41678.1| (AF137396)	HOR5'β .12 [Homo sapiens]	312	157/304 (51%)	205/304 (66%)	4e-76
gi|11908220|gb|AAG41684.1| (AF133300)	MOR 3'β .4 [Mus musculus]	319	156/308 (50%)	207/308 (66%)	6e-73
gi|11908214|gb|AAG41679.1| (AF137396)	HOR5'β 11 [Homo sapiens]	314	143/310 (46%)	207/310 (66%)	2e-69

この情報は、ＧＰＣＲ７を関連タンパク質配列と比較するＣｌｕｓｔａｌ Ｗ分析のように、表７Ｏに提供する複数の配列アラインメントにおいて図解により表す（ＧＰＣＲ７を１行目に示す）。

【０１５３】

（表７Ｏ：ＣｌｕｓｔａｌＷタンパク質についての情報）

１）ＧＰＣＲ７ａ（配列番号２６）

２）ＧＰＣＲ７ｂ（配列番号２８）

２）ｇｉ｜３４２０７５９｜ｇｂ｜ＡＡＤ１２７６１．１｜（ＡＦ０７９８６４）推定Ｇタンパク質結合レセプターＲＡ１ｃ[Ｒａｔｔｕｓ ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ]（配列番号６４）

３）ｇｉ｜１１８７５７７８｜ｇｂ｜ＡＡＧ４０７７６．１｜ＡＦ３１１３０６＿１（ＡＦ３１１３０６）前立腺特異的Ｇタンパク質結合レセプター；ＰＳＧＲ[Ｈｏｍｏ ｓａｐｉｅｎｓ]（配列番号６５）

４）ｇｉ｜１１９０８２１３｜ｇｂ｜ＡＡＧ４１６７８．１｜（ＡＦ１３７３９６）ＨＯＲ５’β１２[Ｈｏｍｏ ｓａｐｉｅｎｓ]（配列番号６１）

５）ｇｉ｜１１９０８２２０｜ｇｂ｜ＡＡＧ４１６８４．１｜（ＡＦ１３３３

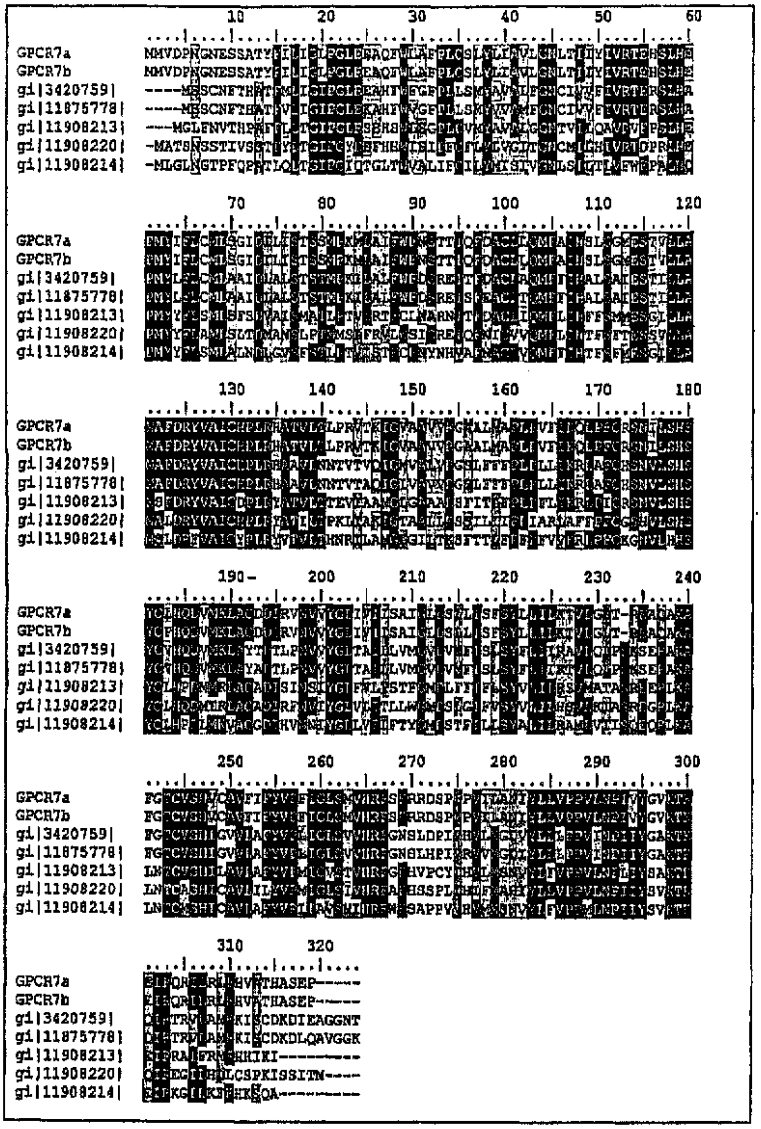
００）ＭＯＲ３’β４[Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ]（配列番号５８）

６）ｇｉ｜１１９０８２１４｜ｇｂ｜ＡＡＧ４１６７９．１｜（ＡＦ１３７３９

６）ＨＯＲ５’β１１[Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ]（配列番号６０）

【０１５４】

【表７０】



ＧＰＣＲ７における同定可能なドメインの存在は、ＰＲＯＳＩＴＥ、Ｂｌｏｃｋｓ、Ｐｆａｍ、ＰｒｏＤｏｍａｉｎ、Ｐｒｉｎｔｓのようなアルゴリズムを用いた検索により決定され、次いで、Ｉｎｔｅｒｐｒｏウエブサイト（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｅｂｉ．ａｃ．ｕｋ／ｉｎｔｅｒｐｒｏ／）を用いたドメイン適合（または数）を掛け合わせることによってＩｎｔｅｒｐｒｏ数を決定することに

より決定される。

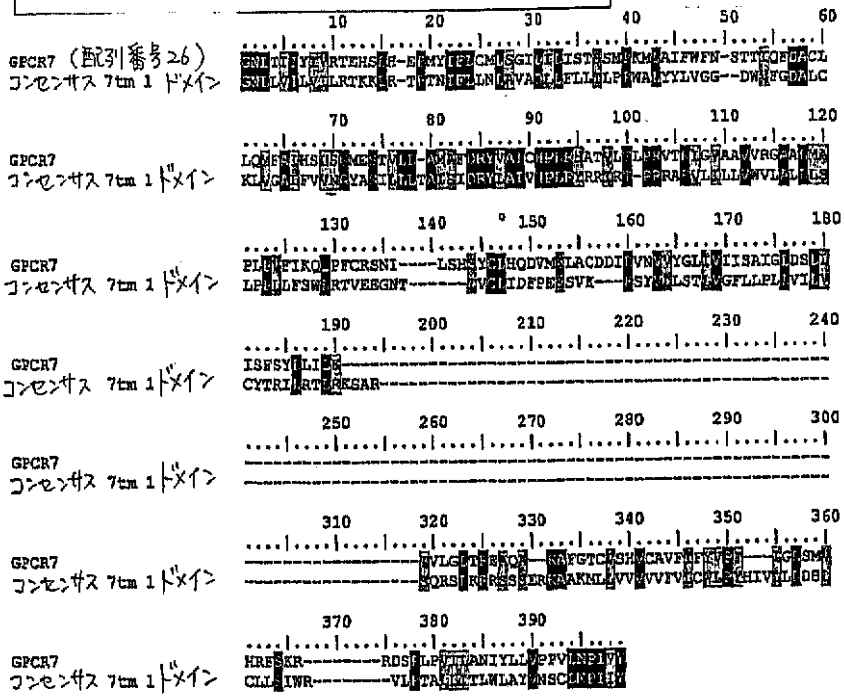
【０１５５】

ＧＰＣＲ７のＤＯＭＡＩＮ結果を、Ｒｅｖｅｒｓｅ　Ｐｏｓｉｔｉｏｎ　Ｓｐｅｃｉｆｉｃ　ＢＬＡＳＴを用いたＣｏｎｖｅｒｓｅｄ　Ｄｏｍａｉｎ　Ｄａｔａｂａｓｅ（ＣＤＤ）から収集した。このＢＬＡＳＴサンプルドメインは、ＳｍａｒｔおよびＰｆａｍコレクション中で見出した。この結果を、統計およびドメインの詳細とともに、表７Ｐに列挙する。この結果は、このタンパク質が示された位置で以下のタンパク質ドメイン（Ｉｎｔｅｒｐｒｏによって規定されるような）を含むことを示す：ドメイン名７ｔｍ＿１（ＩｎｔｅｒＰｒｏ）７回膜貫通レセプター（ロドプシンファミリー）。このことは、ＧＰＣＲ７の配列が、この／これらのドメインを含むことが公知の他のタンパク質の特性と類似の特性およびこれらのドメインの特性と類似の特性を有することを示す。

【０１５６】

【表７１】

表７Ｐ．コンセンサス７ｔｍ１ドメイン（配列番号７７）
に対するＧＰＣＲ７のＤＯＭＡＩＮ結果
CD長=254残基,100.0%整列
スコア=77.4ビット(189),期待=1e-15



本明細書に開示されるＧＰＣＲ７タンパク質および核酸についての類似性の情報は、ＧＰＣＲ７が、嗅覚レセプターファミリーおよびＧＰＣＲファミリーの重要な構造的および／または生理学的機能の特徴を有し得ることを示唆する。従って、本発明の核酸およびタンパク質は、潜在的な診断および治療適用において、ならびに検索ツールとして有用である。これらは、特異的または選択的な核酸またはタンパク質の診断および／または予測マーカーとしての作用（これにより、核酸またはタンパク質の存在または量が評価される）、ならびに以下のような潜在的な治療適用を含む：（ｉ）タンパク質治療剤、（ｉｉ）低分子薬物標的、（ｉｉｉ）抗体標的（治療抗体、診断抗体、薬物標的／細胞傷害性抗体）、（ｉｖ）遺伝子治療（遺伝子送達／遺伝子除去）において有用な核酸、（ｖ）インビトロおよびインビボで組織再生を促進する組成物、および（ｖｉ）生物学的防御手段。ＧＰＣＲ７をコードする新規な核酸、および本発明のＧＰＣＲ７タンパク質、またはそのフラグメントはさらに、診断適用（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）において有用であり得る。

【０１５７】

本発明の核酸およびタンパク質は、感染（例えば、細菌感染、真菌感染、原生動物感染およびウイルス感染（特にＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２により引き起こされる感染））、疼痛、癌（新生物；腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌が挙げられるがこれらに限定されない）、拒食症、過食症、喘息、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、尿閉、骨粗しょう症、クローン病の処置；多発性硬化症の処置；ならびにオールブライト遺伝性骨形成異常、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、喘息、アレルギー、良性前立腺肥大、ならびに精神障害および神経障害（不安、精神分裂病、躁うつ病、せん妄、痴呆、重度の精神遅滞およびジスキネジア（例えば、ハンチントン舞踏病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群）を含む）ならびに／または他の病理および障害の処置における使用に関連する潜在的な治療適用において有用である。

【０１５８】

開示されたＧＰＣＲ７ポリペプチドは、本発明に特異的な抗体を生成するための免疫原として、およびワクチンとして有用であり得る。それらはまた、潜在的

なアゴニスト化合物およびアンタゴニスト化合物をスクリーニングするために用いられ得る。例えば、ＧＰＣＲ様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ＧＰＣＲ様タンパク質は、それが必要な被験体に投与される場合に有用であり得る。非限定的な例として、本発明の組成物は、細菌感染、真菌感染、原生動物感染およびウイルス感染（特にＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２により引き起こされる感染）、疼痛、癌（新生物；腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌が挙げられるがこれらに限定されない）、拒食症、過食症、喘息、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、尿閉、骨粗しょう症、クローン病に罹患した患者の処置；多発性硬化症に罹患した患者の処置；ならびにオールブライト遺伝性骨形成異常、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、喘息、アレルギー、良性前立腺肥大、ならびに精神障害および神経障害（不安、精神分裂病、躁うつ病、せん妄、痴呆、重度の精神遅滞およびジスキネジア（例えば、ハンチントン舞踏病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群）を含む）ならびに／または他の病理および障害に罹患した患者の処置に有効性を有する。本発明のＧＰＣＲ様タンパク質をコードする新規の核酸およびＧＰＣＲ様タンパク質、またはそのフラグメントはさらに、診断適用（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）において有用であり得る。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に、本発明の新規物質に免疫特異的に結合する抗体を生成するのに有用である。

【０１５９】

本発明のＧＰＣＲ様タンパク質をコードする新規の核酸およびＧＰＣＲ様タンパク質、またはそのフラグメントはさらに、診断適用（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）において有用であり得る。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に、本発明の新規物質に免疫特異的に結合する抗体を生成するのに有用である。これらの抗体は、当該分野で公知の方法に従って（以下の「抗ＧＰＣＲＸ抗体」の節に記載されるような疎水性チャートからの予測を用いて）作製され得る。例えば、開示されるＧＰＣＲ７タンパク質は、複数の親水性領域を有し、各々が免疫原として用いられ得る。１つの実施形態において、意図されるＧＰＣＲ７エピトープは、約５０～６０アミノ

酸由来である。別の実施形態において、ＧＰＣＲ７エピトープは、約１７０～２００アミノ酸由来である。さらなる実施形態において、ＧＰＣＲ７エピトープは、２６０～２８０および２９０～３１０アミノ酸由来である。この新規タンパク質はまた、種々のヒト障害の機能分析に関する強力なアッセイシステムの開発において価値を有し得、疾患の病理の理解および種々の障害のための新規薬物標的の開発において役立つ。

【０１６０】

（ＧＰＣＲ８）

（ＧＰＣＲ８ａ）

新規核酸が、ＧＰＣＲプローブまたはホモログに関するＣｕｒａＧｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎの配列ファイルを使用したＴｂｌａｓｔＮによって、およびＧｅｎＢａｎｋによって利用可能にされたＧｅｎｏｍｉｃ　Ｄａｉｌｙ　Ｆｉｌｅｓに対する実行によって第１１染色体上で同定された。この核酸を、プログラムＧｅｎＳｃａｎ™によってさらに予測（エキソンの選択を含む）した。これらを、ＢＬＡＳＴ検索を使用して類似性によって、さらに改変した。次いで、これらの配列を、明らかな不一致に関して手動で補正し、これによって、全長タンパク質をコードする配列を得た。開示される９８０ヌクレオチドの新規ＧＰＣＲ８ａ核酸（ＡＣ０２５２４９＿Ｂとも呼ばれる）を、表８Ｃに示す。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド３～５のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド９７５～９７７のＴＡＧコドンで終結する。開始コドンの上流および終止コドンの下流の推定の未翻訳領域は、表８Ａにおいて下線で示され、そして開始コドンおよび終止コドンは、太字で示される。

【０１６１】

【表７２】

表 8A. GPCR8a ヌクレオチド配列（配列番号31）

TGATGCTGGGTCCAGCTTACAACCACACAATGGAAACCCCTGCCTCCTTCCTCCTTGTGGGTATCCCAGGACTGCA
ATCTTCACATCTTTGGCTGGCTATCTCACTGAGTGCCATGTACATCACAGCCCTGTTAGGAAACACCCTCATCGTG
ACTGCAATCTGGATGGATTCCACTCGGCATGAGCCCATGTATTGCTTTCTGTGTGTTCTGGCTGCTGTGGACATTG
TTATGGCCTCCTCCGTGGTACCCAAGATGGTGAGCATCTTCTGCTCGGGAGACAGCTCCATCAGCTTTAGTGCTTG
TTTCACTCAGATGTTTTTTGTCCACTTAGCCACAGCTGTGGAGACGGGGCTGCTGCTGACCATGGCTTTTGACCGC
TATGTAGCCATCTGCAAGCCTCTACACTACAAGAGAATTCTCACGCCTCAAGTGATGCTGGGAATGAGTATGGCCG
TCACCATCAGAGCTGTCACATTCATGACTCCACTGAGTTGGATGATGAATCATCTACCTTTCTGTGGCTCCAATGT
GGTTGTCCACTCCTACTGTAAGCACATAGCTTTGGCCAGGTTAGCATGTGCTGACCCCGTGCCCAGCAGTCTCTAC
AGTCTGATTGGTTCCTCTCTTATGGTGGGCTCTGATGTGGCCTTCATTGCTGCCTCCTATATCTTAATTCTCAGGG
CAGTATTTGATCTCTCCTCAAAGACTGCTCAGTTGAAAGCATTAAGCACATGTGGCTCCCATGTGGGGGTTATGGC
TTTGTACTATCTACCTGGGATGGCATCCATCTATGCGGCCTGGTTGGGGCAGGATATAGTGCCCTTGCACACCCAA
GTGCTGCTAGCTGACCTGTACGTGATCATCCCAGCCACTTTAAATCCCATCATCTATGGCATGAGGACCAAACA
ATTGCTGGAGGGAATATGGAGTTATCTGATGCACTTCCTCTTTGACCACTCCAACCTGGGTTCATGAACA

開示される核酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ臭気レセプターＳ１９遺伝子（コンプリートコード：（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＡＦ１２１９７６｜ａｃｃ：ＡＦ１２１９７６））に対して、８５８塩基中５３７塩基（６２％）の同一性を有する（Ｅ値＝３．５ｅ－41）。

【０１６２】

配列番号３１によってコードされたＧＰＣＲ８ａタンパク質は、３２４個のアミノ酸残基を有し、そして表８Ｂに１文字のコードを使用して示されている（配列番号３２）。ＧＰＣＲ８ａについてのＳｉｇｎａｌＰ、Ｐｓｏｒｔおよび／またはＨｙｄｒｏｐａｔｈｙプロフィールは、ＧＰＣＲ８ａがシグナルペプチドを有し、そして０．６４００の確実度で、原形質膜に局在化するようであることを予測する。ＳｉｇｎａｌＰは、アミノ酸５２と５３との間で配列ＶＴＡ－ＩＷにおけるスラッシュで切断部位を有するシグナル配列を示す。これは、このタイプの膜タンパク質で代表的である。ＧＰＣＲ８ａの分子量は、３５３８５．６Ｄａｌｔｏｎである。

【０１６３】

【表７３】

表8B. コードされたGPC8aタンパク質配列（配列番号32）

MLGPAYNHTMETPASFLLVGIPGLQSSHLWLAISLSAMYITALLGNTLIVTAIWMDSTRHEPMYCFLCVLAAVDIV
MASSVVPKMVSIFCSGDSSISFSACFTQMFFVHLATAVETGLLLTMAFDRYVAICKPLHYKRILTPQVMLGMSMAV
TIRAVTFMTPLSWMMNHLPFCGSNVVVHSYCKHIALARLACADPVPSSLYSLIGSSLMVGSDVAFIAASYILILRA
VFDLSSKTAQLKALSTCGSHVGVMALYYLPGMASIYAAWLGQDIVPLHTQVLLADLYVIIPATLNPIIYGMRTKQL
LEGIWSYLMHFLFDHSNLGS

本発明のタンパク質の全長アミノ酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ由来の３２１アミノ酸残基Ｏｄｏｒａｎｔ　Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（嗅覚レセプター）Ｓ１

８（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｑ９ＷＵ８９）（Ｅ値＝１．５ｅ－^{71}）に対して、３０８アミノ酸残基のうち同一な１４２アミノ酸残基（４６％）、および３０６アミノ酸残基のうち陽性な２０２アミノ酸残基（６５％）、ならびにＨｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ由来のＨＰＲＡＪ７０と命名された３２１アミノ残基Ｇタンパク質連結前立腺組織レセプター（ｐａｔｐ：Ｗ５６６４１）（Ｅ値＝１．９ｅ－^{65}）に対して、２９３アミノ酸残基のうち同一な１２３アミノ酸残基（４１％）、および２９３アミノ酸残基のうち陽性な１９２アミノ酸残基（６５％）を有することが見出された。

【０１６４】

ＧＰＣＲ８ａはまた、表８ＣのＢＬＡＳＴアライメントに示される以下のタンパク質に対して相同性を有する。

【０１６５】

【表７４】

表8C GPCR8aについてのBLASTXの結果

高いスコアリングセグメント対を生じる配列	リーディングフレーム	高いスコア	最小の合計確率 P(N)	N
patp:W01730 Human G-protein receptor HPRAJ70 - Homo sa +2		676	1.1e-65	1
patp:W56641 G-protein coupled prostate tissue receptor.+2		676	1.1e-65	1
patp:Y92365 G protein-coupled receptor protein 5 - Hom.+2		648	9.9e-63	1
patp:Y90873 Human G protein-coupled receptor GTAR14-3 .+2		425	4.2e-39	1

（ＧＰＣＲ８ｂ）

新規核酸を、ＴｂｌａｓｔＮによって、ＧＰＣＲプローブまたはホモログに関するＣｕｒａＧｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎの配列ファイルを使用し、そしてＧｅｎＢａｎｋによって利用可能にされるＧｅｎｏｍｉｃ　Ｄａｉｌｙ　Ｆｉｌｅｓに対して実行して、染色体１１上で同定した。この核酸をさらに、エキソンの選択を含むプログラムＧｅｎＳｃａｎ™によってさらに予測した。これらを、ＢＬＡＳＴ検索を使用する類似性によって、さらに改変した。次いで、これらの配列を、明らかな不一致に関して手動で補正し、これによって、全長タンパク質をコードする配列を得た。開示される９８５ヌクレオチドの新規ＧＰＣＲ８ｂ核酸（ＡＣ０２５２４９＿Ｃともまた称される）を、表８Ｃに示す。オープンリーディングフレームは、ＡＴＧ開始コドンでヌクレオチド５～７において開始し

、そしてＴＧＡコドンでヌクレオチド９７７～９７９において終結する。開始コドンの上流および終止コドンの下流の推定の未翻訳領域は、表８Ｄにおいて下線を引かれており、そして開始コドンおよび終止コドンは、太字である。

【０１６６】

【表７５】

表8D．GPCR8b ヌクレオチド配列（配列番号33）

TGTGATGCTGGGTCCAGCTTATAACCACACAATGGAAACCCCTGCCTCCTTCCTCCTTGTGGGTATCCCAGGACTG
CAATCTTCACATCTTTGGCTGGCTATCTCACTGAGTGCCATGTACATCATAGCCCTGTTAGGAAACACCATCATCG
TGACTGCAATCTGGATGGATTCCACTCGGCATGAGCCCATGTATTGCTTTCTGTGTGTTCTGGCTGCTGTGGACAT
TGTTATGGCCTCCTCGGTGGTACCCAAGATGGTGAGCATCTTCTGCTCAGGAGACAGCTCAATCAGCTTTAGTGCT
TGTTTCACTCAGATGTTTTTTGTCCACTTAGCCACAGCTGTGGAGACGGGGCTGCTGCTGACCATGGCTTTTGACC
GCTATGTAGCCATCTGCAAGCCTCTACACTACAAGAGAATTCTCACGCCTCAAGTGATGCTGGGAATGAGTATGGC
CATCACCATCAGAGCTATCATAGCCATAACTCCACTGAGTTGGATGGTGAGTCATCTACCTTTCTGTGGCTCCAAT
GTGGTTGTCCACTCCTACTGTGAGCACATAGCTTTGGCCAGGTTAGCATGTGCTGACCCCGTGCCCAGCAGTCTCT
ACAGTCTGATTGGTTCCTCTCTTATGGTGGGCTCTGATGTGGCCTTCATTGCTGCCTCCTATATCTTAATTCTCAA
GGCAGTATTTGGTCTCTCCTCAAAGACTGCTCAGTTGAAAGCATTAAGCACATGTGGCTCCCATGTGGGGGTTATG
GCTTTGTACTATCTACCTGGGATGGCATCCATCTATGCGGCCTGGTTGGGGCAGGATGTAGTGCCCTTGCACACCC
AAGTCCTGCTAGCTGACCTGTACGTGATCATCCCAGCCACCTTAAATCCCATCATCTATGGCATGAGGACCAAACA
ACTGCGGGAGAGAATATGGAGTTATCTGATGCATGTCCTCTTTGACCATTCCAACCTGGGTTCATGAACACAA

開示された核酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ嗅覚レセプターＳ１９遺伝子、完全ｃｄｓ（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＡＦ１２１９７６｜ａｃｃ：ＡＦ１２１９７６）（Ｅ値＝３．５ｅ$^{-41}$）に対して、８５８塩基のうち同一な５３３塩基（６２％）を有する。

【０１６７】

配列番号３３にコードされるＧＰＣＲ８ｂタンパク質は、３２４アミノ酸残基を有し、そして表８Ｅにおいて１文字コードを用いて示される（配列番号３４）。ＧＰＣＲ８ｂについてのＳｉｇｎａｌＰ、Ｐｓｏｒｔおよび／またはＨｙｄｒｏｐａｔｈｙプロフィールは、ＧＰＣＲ８ｂがシグナルペプチドを有し、そして０．６４００の確実度で、原形質膜に局在化するようであることを予測する。ＳｉｇｎａｌＰは、アミノ酸５２と５３との間で配列ＶＴＡ－ＩＷにおけるスラッシュで切断部位を有するシグナル配列を示す。これは、このタイプの膜タンパク質で代表的である。ＧＰＣＲ８ｂの分子量は、３５２７９．５Ｄａｌｔｏｎである。

【０１６８】

【表７６】

表8E．コードされたGPCR8bタンパク質配列（配列番号34）

MLGPAYNHTMETPASFLLVGIPGLQSSHLWLAISLSAMYIIALLGNTIIVTAIWMDSTRHEPMYCFLCVLAAVDIV
MASSVVPKMVSIFCSGDSSISFSACFTQMFFVHLATAVETGLLLTMAFDRYVAICKPLHYKRILTPQVMLGMSMAI
TIRAIIAITPLSWMVSHLPFCGSNVVVHSYCEHIALARLACADPVPSSLYSLIGSSLMVGSDVAFIAASYILILKA
VFGLSSKTAQLKALSTCGSHVGVMALYYLPGMASIYAAWLGQDVVPLHTQVLLADLYVIIPATLNPIIYGMRTKQL
RERIWSYLMHVLFDHSNLGS

本発明のタンパク質の全長アミノ酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ由来の３２１アミノ酸残基Ｏｄｏｒａｎｔ　Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（嗅覚レセプター）Ｓ１８（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｑ９ＷＵ８９）（Ｅ値＝８．２ｅ－[73]）に対して、３０６アミノ酸残基のうち同一な１４６アミノ酸残基（４７％）、および３０６アミノ酸残基のうち陽性な２０２アミノ酸残基（６６％）、ならびにＨｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ由来のＨＰＲＡＪ７０と命名された３２０アミノ残基Ｇタンパク質連結前立腺組織レセプター（ｐａｔｐ：Ｗ５６６４１）（Ｅ値＝３．４ｅ－[66]）に対して、２９７アミノ酸残基のうち同一な１２４アミノ酸残基（４１％）、および２９７アミノ酸残基のうち陽性な１９６アミノ酸残基（６５％）を有することが見出された。

【０１６９】

（ＧＰＣＲ８ｃ）

本発明において、以前に同定された標的配列（登録番号ＡＣ０２５２４９＿Ｃ）を、この配列を確認するためにエキソン連結プロセスに供した。ＰＣＲプライマーを、順方向プライマーについて利用可能な最も上流の配列で、そして逆方向プライマーについて利用可能な最も下流の配列で開始することによって設計した。それぞれの場合において、独特であるかまたは高く選択的であるかのいずれかである適切な配列に遭遇したか、逆方向プライマーの場合において、停止コドンに達するまで、それぞれの末端からコード配列に向かって内側に、ウォーキングしてこの配列を試験した。逆方向プライマーの場合、終止コドンに達するまでウォーキングして試験した。次いで、このような適切な配列を、広範なｃＤＮＡ種を含むライブラリーに基づいたＰＣＲ増幅において、前方向プライマーおよび逆方向プライマーとして使用した。生じたアンプリコンを、ゲル精製し、クローニングし、そして登録番号ＡＣ０２５２４９＿Ｃ１と呼ばれる、以下で報告される配列を提供する高度な重複に配列決定した。２個の配列間での違いは、１３塩基

である

開示された９８５ヌクレオチドの新規なＧＰＣＲ８ｃ核酸（ＡＣ０２５２４９＿Ｃ１とも呼ばれる）を表８Ｆに示す。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド５～７のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド９７７～９７９のＴＧＡコドンで終止する。表８Ｆにおいて、開始コドンからの推定非翻訳領域の上流および停止コドンからの下流に下線を付し、そして開始コドンおよび停止コドンは太字にしてある。

【０１７０】

【表７７】

表8F. GPCR8c ヌクレオチド配列（配列番号35）

TGTGATGCTGGGTCCAGCTTATAACCACACAATGGAAACCCCTGCCTCCTTCCTCCTTGTGGGTATCCCAGGACTG
CAATCTTCACATCTTTGGCTGGCTATCTCACTGAGTGCCATGTACATCACAGCCCTGTTAGGAAACACCATCATCG
TGACTGCAATCTGGATGGATTCCACTCGGCATGAGCCCATGTATTGCTTTCTGTGTGTTCTGGCTGCTGTGGACAT
TGTTATGGCCTCCTCGGTGGTACCCAAGATGGTGAGCATCTTCTGCTCAGGAGACAGCTCAATCAGCTTTAGTGCT
TGTTTCACTCAGATGTTTTTTGTCCACTTAGCCACAGCTGTGGAGACGGGGCTGCTGCTGACCATGGCTTTTGACC
GCTATGTAGCCATCTGCAAGCCTCTACACTACAAGAGAATTCTCACGCCTCAAGTGATGCTGGGAATGAGTATGGC
CATCACCATCAGAGCTATCATAGCCATAACTCCACTGAGTTGGATGGTGAGTCATCTACCTTTCTGTGGCTCCAAT
GTGGTTGTCCACTCCTACTGTGAGCACATAGCTTTGGCCAGGTTAGCATGTGCTGACCCCGTGCCCAGCAGTCTCT
ACAGTCTGATTGGTTCCTCTCTTATGGTGGGCTCTGATGTGGCCTTCATTGCTGCCTCCTATATCTTAATTCTCAG
GGCAGTATTTGATCTCTCCTCAAAGACTGCTCAGTTGAAAGCATTAAGCACATGTGGCTCCCATGTGGGGGTTATG
GCTTTGTACTATCTACCTGGGATGGCATCCATCTATGCGGCCTGGTTGGGGCAGGATATAGTGCCCTTGCACACCC
AAGTGCTGTTAGCTGACCTGTACGTGATCATCCCAGCCACTTTAAATCCCATCATCTATGGCATGAGGACCAAACA
ATTGCTGGAGGGAATATGGAGTTATCTGATGCACTTCCTCTTTGACCACTCCAACCTGGGTTCATGAACACAA

配列番号３５によってコードされたＧＰＣＲ８ｃタンパク質は、３２４個のアミノ酸残基を有し、そして表８Ｇに１文字のコードを使用して示されている（配列番号３６）。ＧＰＣＲ８ｃについてのＳｉｇｎａｌＰ、Ｐｓｏｒｔおよび／またはＨｙｄｒｏｐａｔｈｙプロフィールは、ＧＰＣＲ８ｃがシグナルペプチドを有し、そして０．６４００の確実度で、原形質膜に局在化するようであることを予測する。ＳｉｇｎａｌＰは、アミノ酸５２と５３との間で配列ＶＴＡ－ＩＷにおけるスラッシュで切断部位を有するシグナル配列を示す。これは、このタイプの膜タンパク質で代表的である。ＧＰＣＲ８ｃの分子量は、３５２７３．４Ｄａｌｔｏｎである。

【０１７１】

【表７８】

表8G. コードされたGPCR8cタンパク質配列（配列番号36）

MLGPAYNHTMETPASFLLVGIPGLQSSHLWLAISLSAMYITALLGNTIIVTAIWMDSTRHEPMYCFLCVLAAVDIV
MASSVVPKMVSIFCSGDSSISFSACFTQMFTVHLATAVETGLLLTMAFDRYVAICKPLHYKRILTPQVMLGMSMAI
TIRAIIAITPLSWMVSHLPFCGSNVVVHSYCEHIALARLACADPVPSSLYSLIGSSLMVGSDVAFIAASYILILRA
VTDLSSKTAQLKALSTCGSHVGVMALYYLPGMASIYAAWLGQDIVPLHTQVLLADLYVIIPATLNPIIYGMRTKQL
LEGIWSYLMHFLFDHSNLGS

本発明のタンパク質の全長アミノ酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ由来の３２１アミノ酸残基Ｏｄｏｒａｎｔ　Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（嗅覚レセプター）Ｓ１８（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｑ９ＷＵ８９）（Ｅ値＝６．８ｅ－[73]）に対して、３０６アミノ酸残基のうち同一な１４６アミノ酸残基（４７％）、および３０６アミノ酸残基のうち陽性な２０２アミノ酸残基（６６％）、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ由来の３２６アミノ酸残基ＭＯＲ　３’ＢＥＴＡ１（ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｑ９ＷＶＤ９）（Ｅ値＝２．１ｅ－[69]）に対して、３０３アミノ酸残基のうち同一な１３０アミノ酸残基（４２％）、および３０３アミノ酸残基のうち陽性な１９５アミノ酸残基（６４％）、ならびにＨｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ由来の３２１アミノ残基ＨＯＲ　５’ＢＥＴＡ３（ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｑ９Ｙ５Ｐ１）（Ｅ値＝４．０ｅ－[52]）に対して、２９７アミノ酸残基のうち同一な１０７アミノ酸残基（３６％）、および２９７アミノ酸残基のうち陽性な１７５アミノ酸残基（５８％）を有することが見出された。

【０１７２】

（ＧＰＣＲ８ｄ）

新規な核酸を、エキソン連結により同定した。開示された９８１ヌクレオチドの新規なＧＰＣＲ８ｄ核酸（ＧＣ５３８４５－０２とも呼ばれる）を表８Ｈに示す。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド３～５のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド９５４～９５６のＴＧＡコドンで終止する。表８Ｇにおいて、開始コドンからの推定非翻訳領域の上流および停止コドンからの下流に下線を付し、そして開始コドンおよび停止コドンは太字にしてある。

【０１７３】

【表７９】

表8H. GPCR8eヌクレオチド配列（配列番号80）

TGATGCTGGGTCCAGCTTATAACCACACAATGGAAACCCCTGCCTCCTTCCTCCTTGTGGGTATCCCAGGACTGCA
ATCTTCACATCTTTGGCTGGCTATCTCACTGAGTGCCATGTACATCATAGCCCTGTTAGGAAACACCCTCATCGTG
ACTGCAATCTGGATGGATTCCACTCGGCATGAGCCCATGTATTGCTTTCTGTGTGTTCTGGCTGCTGTGGACATTG
TTATGGCCTCCTCCGTGGTACCCAAGATGGTGAGCATCTTCTGCTCGGGAGACAGCTCCATCAGCTTTAGTGCTTG
TTTCACTCAGATGTTTTTTGTCCACTTAGCCACAGCTGTGGAGACGGGGCTGCTGCTGACCATGGCTTTTGACCGC
TATGTAGCCATCTGCAAGCCTCTACACTACAAGAGAATTCTCACGCCTCAAGTGATGCTGGGAATGAGTATGGCCG
TCACCATCAGAGCTGTCACATTCATGAGTCCACTGAGTTGGATGATGAATCATCTACCTTTCTGTGGCTCCAATGT
GGTTGTCCACTCCTACTGTAAGCACATAGCTTTGGCCAGGTTAGCATGTGCTGACCCCGTGCCCAGCAGTCTCTAC
AGTCTGATTGGTTCCTCTCTTATGGTGGGCTCTGATGTGGCCTTCATTGCTGCCTCCTATATCTTAATTCTCAGGG
CAGTATTTGATCTCTCCTCAAAGACTGCTCAGTTGAAAGCATTAAGCACATGTGGCTCCCATGTGGGGGTTATGGC
TTTGTACTATCTACCTGGGATGGCATCCATCTATGCGGCCTGGTTGGGGCAGGATATAGTGCCCTTGCACACCCAA
GTGCTGCTAGCTGACCTGTACGTGATCATCCCAGCCACTTTAAATCCCATCATCTATGGCATGAGGACCAAACAAT
TGCTGGAGGGAATATGGAGTTATCTGATGCACTGTCCTCTTTGACCACTCCAACCTGGGTTCATGAACA

開示された核酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ嗅覚レセプターＳ１９遺伝子、完全ｃｄｓ：（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＡＦ１２１９７６｜ａｃｃ：ＡＦ１２１９７６）（Ｅ値＝３．５ｅ$^{-41}$）に対して、８５８塩基のうち同一な５３８塩基（６２％）を有する。

【０１７４】

配列番号８０にコードされるＧＰＣＲ８ｄタンパク質は、３１７アミノ酸残基を有し、そして表８Ｉにおいて１文字コードを用いて示される（配列番号８１）。ＧＰＣＲ８ｄについてのＳｉｇｎａｌＰ、Ｐｓｏｒｔおよび／またはＨｙｄｒｏｐａｔｈｙプロフィールは、ＧＰＣＲ８ｄがシグナルペプチドを有し、そして０．６４００の確実度で、原形質膜に局在化するようであることを予測する。ＳｉｇｎａｌＰは、アミノ酸５２と５３との間で配列ＶＴＡ－ＩＷにおけるスラッシュで切断部位を有するシグナル配列を示す。これは、このタイプの膜タンパク質で代表的である。

【０１７５】

【表８０】

表8I. コードされたGPCR8dタンパク質配列（配列番号81）

MLGPAYNHTMETPASFLLVGIPGLQSSHLWLAISLSAMYIIALLGNTLIVTAIWMDSTRHEPMYCFLCVLAAVDIV
MASSVVPKMVSIFCSGDSSISFSACFTQMFFVHLATAVETGLLLTMAFDRYVAICKPLHYKRILTPQVMLGMSMAV
TIRAVTFMTPLSWMMNHLPFCGSNVVVHSYCKHIALARLACADPVPSSLYSLIGSSLMVGSDVAFIAASYILILRA
VFDLSSKTAQLKALSTCGSHVGVMALYYLPGMASIYAAWLGQDIVPLHTQVLLADLYVIIPATLNPIIYGMRTKQL
LEGIWSYLMHCPL

本発明のタンパク質の全長アミノ酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ由来の３２１アミノ酸残基Ｏｄｏｒａｎｔ　Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（嗅覚レセプター）　Ｓ１８（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｑ９ＷＵ８９）（Ｅ値＝１．５ｅ

－[71]）に対して、３０８アミノ酸残基のうち同一な１４２アミノ酸残基（４６％）、および３０８アミノ酸残基のうち陽性な２０２アミノ酸残基（６５％）を有することが見出された。

【０１７６】

ＧＰＣＲ８ｄは、少なくとも以下の組織において発現される：網膜色素上皮の先端の微絨毛、動脈（大動脈）、基底前脳、脳、バーキットリンパ腫細胞株、脳梁、心（房および室）、尾状核、ＣＮＳおよび末梢組織、小脳、大脳皮質、結腸、皮質神経細胞、内皮（冠状動脈および臍静脈）細胞、口蓋上皮、眼、新生児眼、前頭皮質、胎児造血細胞、心臓、海馬、視床下部、白血球、肝臓、胎児肝臓、肺、肺リンパ腫細胞株、胎児リンパ様組織、成人リンパ様組織、ＭＨＣＩＩおよびＩＩＩを発現する組織、神経組織、髄質、視床下核、卵巣、膵臓、下垂体、胎盤、橋、前立腺、被殻、血清、骨格筋、小腸、平滑筋（大動脈中の冠状動脈）、脊髄、脾臓、胃、舌の味覚レセプター細胞、精巣、視床、および胸腺組織。この情報は、ＳｅｑＣａｌｌｉｎｇ供給源、公のＥＳＴ供給源、文献供給源、および／またはＲＡＣＥ供給源を含むがこれらに限定されない、本発明に含まれる配列の組織供給源を決定することによって、引き出される。

【０１７７】

（ＧＰＣＲ８ｅ）

新規な核酸を、エキソン連結により同定した。開示された９８２ヌクレオチドの新規なＧＰＣＲ８ｅ核酸（ＣＧ５３８４５－０３とも呼ばれる）を表８Ｊに示す。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド４～６のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド９７８～９８０のＴＧＡコドンで終止する。表８Ｊにおいて、開始コドンからの推定非翻訳領域の上流および停止コドンからの下流に下線を付し、そして開始コドンおよび停止コドンは太字にしてある。

【０１７８】

【表８１】

表8J. GPCR8e ヌクレオチド配列（配列番号82）

TTGATGCTGGGTCCAGCTTACAACCACACAATGGAAACCCCTGCCTCCTTCCTCCTTGTGGGTATCCCAGGACTGC
AATCTTCACATCTTTGGCTGGCTATCTCACTGAGTGCCATGTACATCATAGCCCTGTTAGGAAACACCCTCATCGT
GACTGCAATCTGGATGGATTCCACTCGGCATGAGCCCATGTATTGCTTTCTGTGTGTTCTGGCTGCTGTGGACATT
GTTATGGCCTCCTCGGTGGTACCCAAGATGGTGAGCATCTTCTGCTCGGGAGACAGCTCCATCAGCTTTAGTGCTT
GTTTCACTCAGATGTTTTTTGTCCACTTAGCCACAGCTGTGGAGACGGGGCTGCTGCTGACCATGGCTTTTGACCG
CTATGTAGCCATCTGCAAGCCTCTACACTACAAGAGAATTCTCACGCCTCAAGTGATGCTGGGAATGAGTATGGCC
GTCACCATCAGAGCTGTCACATTCATGACTCCACTGAGTTGGATGATGAATCATCTACCTTTCTGTGGCTCCAATG
TGGTTGTCCACTCCTACTGTAAGCACATAGCTTTGGCCAGGTTAGCATGTGCTGACCCCGTGCCCAGCAGCCTCTA
CAGTCTGATTGGTTCCTCTCTTATGGTGGGCTCTGATGTGGCCTTCATTGCTGCCTCCTATATCTTAATTCTCAGG
GCAGTATTTGATCTCTCCTCAAAGACTGCTCAGTTGAAAGCATTAAGCACATGTGGCTCCCATGTGGGGGTTATGG
CTTTGTACTATCTACCTGGGATGGCATCCATCTATGCGGCCTGGTTGGGGCAGGATATAGTGCCCTTGCACACCCA
AGTGCTGCTAGCTGACCTGTACGTGATCATCCCAGCCACTTTAAATCCCATCATCTATGGCATGAGGACCAAACAA
TTGCTGGAGGGAATATGGAGTTATCTGATGCACTTCCTCTTTGACCACTCCAACCTGGGTTCATGAACAA

開示された核酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ嗅覚レセプターＳ１９遺伝子、完全ｃｄｓ：（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＡＦ１２１９７６｜ａｃｃ：ＡＦ１２１９７６）（Ｅ値＝４．５ｅ－４２）に対して、８５８塩基のうち同一な５３８塩基（６２％）を有する。

【０１７９】

配列番号８２にコードされるＧＰＣＲ８ｅタンパク質は、３２４アミノ酸残基を有し、そして表８Ｋにおいて１文字コードを用いて示される（配列番号８３）。ＧＰＣＲ８ｅについてのＳｉｇｎａｌＰ、Ｐｓｏｒｔおよび／またはＨｙｄｒｏｐａｔｈｙプロフィールは、ＧＰＣＲ８ｅがシグナルペプチドを有し、そして０．６４００の確実度で、原形質膜に局在化するようであることを予測する。ＳｉｇｎａｌＰは、アミノ酸５２と５３との間で配列ＶＴＡ－ＩＷにおけるスラッシュで切断部位を有するシグナル配列を示す。これは、このタイプの膜タンパク質で代表的である。

【０１８０】

【表８２】

表8K. コードされた GPCR8d タンパク質 配列（配列番号81）

MLGPAYNHTMETPASFLLVGIPGLQSSHLWLAISLSAMYIIALLGNTLIVTAIWMDSTRHEPMYCFLCVLAAVDIV
MASSVVPKMVSIFCSGDSSISFSACFTQMFFVHLATAVETGLLLTMAFDRYVAICKPLHYKRILTPQVMLGMSMAV
TIRAVTFMTPLSWMMNHLPFCGSNVVVHSYCKHIALARLACADPVPSSLYSLIGSSLMVGSDVAFIAASYILILRA
VFDLSSKTAQLKALSTCGSHVGVMALYYLPGMASIYAAWLGQDIVPLHTQVLLADLYVIIPATLNPIIYGMRTKQL
LEGIWSYLMHFLFDHSNLGS

本発明のタンパク質の全長アミノ酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ由来の３２１アミノ酸残基Ｏｄｏｒａｎｔ　Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（嗅覚レセプター）　Ｓ

１８（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｑ９ＷＵ８９）（Ｅ値＝１．５ｅ－[71]）に対して、３０８アミノ酸残基のうち同一な１４２アミノ酸残基（４６％）、および３０８アミノ酸残基のうち陽性な２０２アミノ酸残基（６５％）を有することが見出された。

【０１８１】

ＧＰＣＲ８ｅは、少なくとも以下の組織において発現される：網膜色素上皮の先端の微絨毛、動脈（大動脈）、基底前脳、脳、バーキットリンパ腫細胞株、脳梁、心（房および室）、尾状核、ＣＮＳおよび末梢組織、小脳、大脳皮質、結腸、皮質神経細胞、内皮（冠状動脈および臍静脈）細胞、口蓋上皮、眼、新生児眼、前頭皮質、胎児造血細胞、心臓、海馬、視床下部、白血球、肝臓、胎児肝臓、肺、肺リンパ腫細胞株、胎児リンパ様組織、成人リンパ様組織、ＭＨＣＩＩおよびＩＩＩを発現する組織、神経組織、髄質、視床下核、卵巣、膵臓、下垂体、胎盤、橋、前立腺、被殻、血清、骨格筋、小腸、平滑筋（大動脈中の冠状動脈）、脊髄、脾臓、胃、舌の味覚レセプター細胞、精巣、視床、および胸腺組織。発現情報は、ＣｕｒａＧｅｎ　Ａｃｃ番号ＣＧ５３８４５－０３の配列の誘導体に含まれる配列の組織供給源から誘導された。

【０１８２】

さらなるＢＬＡＳＴ分析によって、表８Ｌに列挙される重要な結果を得た。開示されたＧＰＣＲ８タンパク質は、嗅覚レセプタータンパク質の数と良好な同一性を有する。

【０１８３】

【表８３】

表8L. GPCR8についてのBLASTの結果

遺伝子指標/識別子	タンパク質/生物体	長さ(aa)	同一性(%)	陽性(%)	期待
gi|9938014|ref|NP_064686.1|	Odorant receptor S18 gene [Mus musculus]	321	142/308 (46%)	202/308 (65%)	2e-65
gi|11908211|gb|AAG41676.1| (AF137396)	HOR 5'Beta14 [Homo sapiens]	318	134/292 (45%)	187/292 (63%)	2e-64
gi|6532001|gb|AAD27596.2|AF121976_1 (AF121976)	Odorant receptor S19 [Mus musculus]	339	128/281 (45%)	185/281 (65%)	1e-63
gi|7305349|ref|NP_038647.1|	Olfactory receptor 67 [Mus musculus]	326	129/299 (43%)	192/299 (64%)	3e-62
gi|11875778|gb|AAG40776.1|AF311306_1 (AF311306)	Prostate specific G-protein coupled receptor; PSGR [Homo sapiens]	320	124/293 (42%)	190/293 (64%)	1e-60

この情報は、関連タンパク質配列とＧＰＣＲ７を比較するＣｌｕｓｔａｌ Ｗ分析として、表８Ｍ（ＧＰＣＲ８は１行目に示されている）において与えられた複数の配列アラインメントにおいて図示されている。

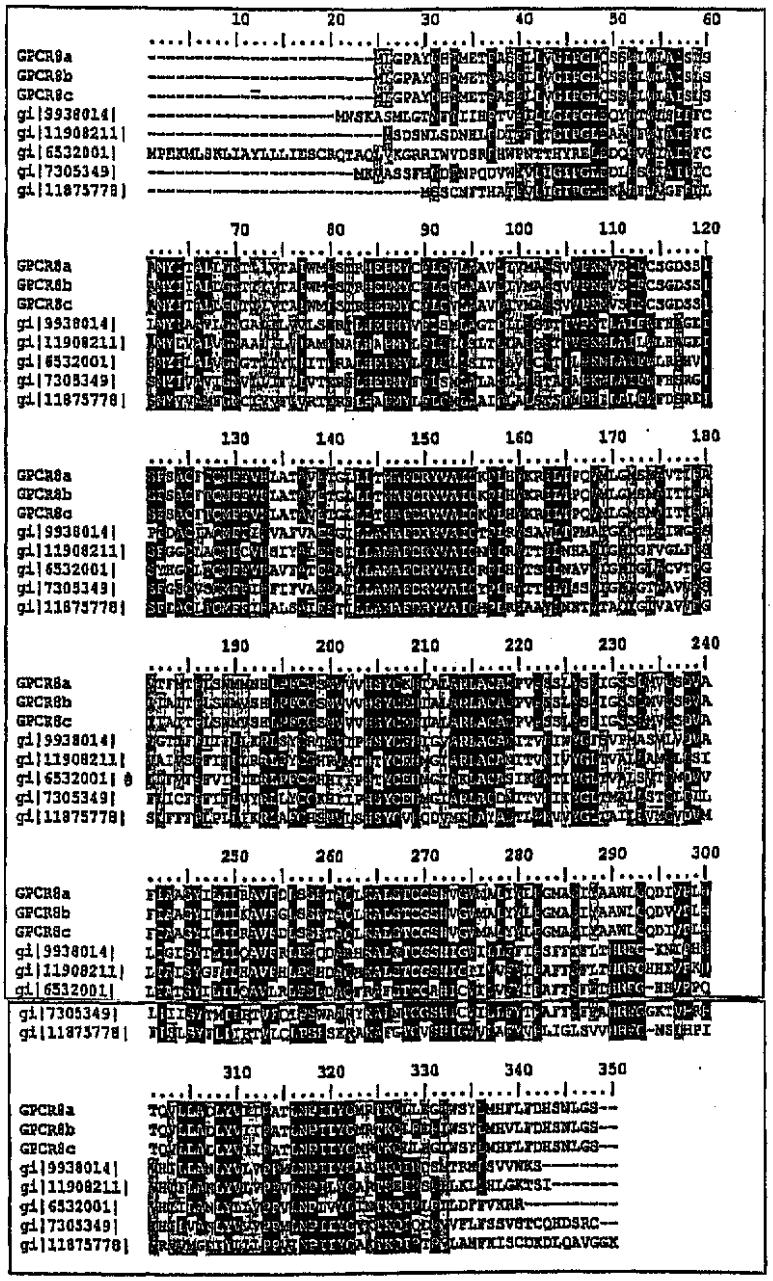
【０１８４】

表8M. ＣｌｕｓｔａｌＷタンパク質についての情報：

【０１８５】

【表８４】

1) GPCR8a（配列番号32）
2) GPCR8b（配列番号34）
3) GPCR8c（配列番号36）
2) gi|9938014|ref|NP_064686.1| 嗅覚レセプター S18遺伝子[Mus musculus]（配列番号56）
3) gi|11908211|gb|AAG41676.1| (AF137396) HOR 5'Beta14 [Homo sapiens]（配列番号55）
4) gi|6532001|gb|AAD27596.2|AF121976_1 (AF121976) 嗅覚レセプター S19 [Mus musculus]
（配列番号54）
5) gi|7305349|ref|NP_038647.1| 嗅覚レセプター 67 [Musculus]（配列番号57）
6) gi|11875778|gb|AAG40776.1|AF311306_1 (AF311306) 前立腺に特異的 Gタンパク質結合
（配列番号65）



ＧＰＣＲ８における同定可能なドメインの存在は、ＰＲＯＳＩＴＥ、Ｂｌｏｃｋｓ、Ｐｆａｍ、ＰｒｏＤｏｍａｉｎ、Ｐｒｉｎｔｓのようなアルゴリズムを用いて検索すること、次いで、Ｉｎｔｅｒｐｒｏウエブサイト（ｈｔｔｐ：ｗｗｗ．ｅｂｉ．ａｃ．ｕｋ／ｉｎｔｅｒｐｒｏ／）を用いてドメイン適合（または数

）を掛け合わせることによってＩｎｔｅｒｐｒｏ数を決定することによって決定される。

【０１８６】

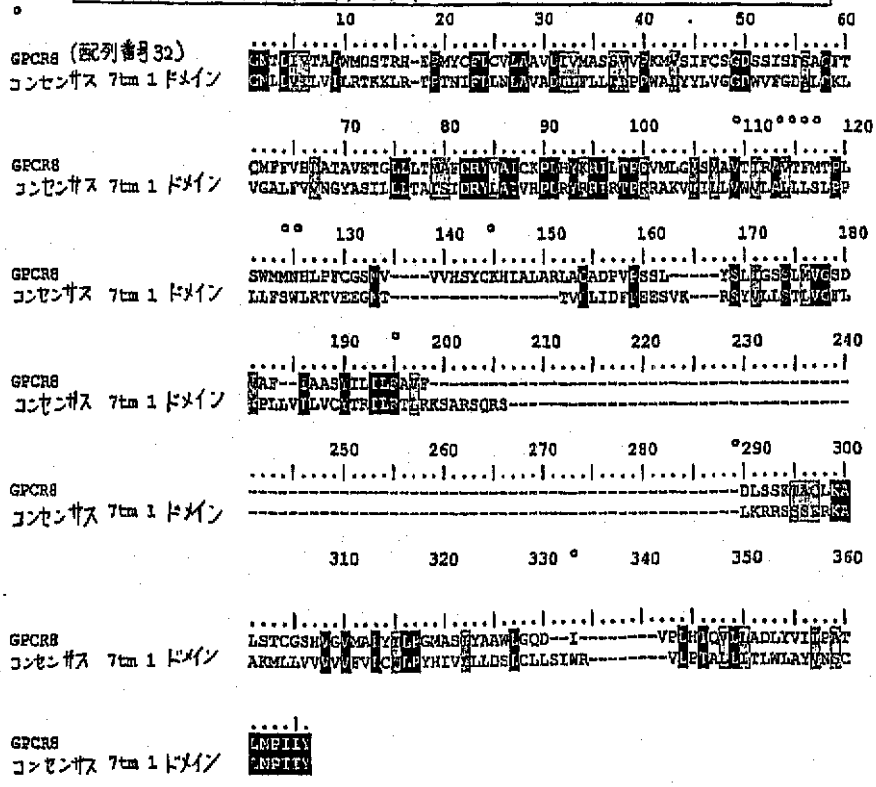
ＧＰＣＲ８のＤＯＭＡＩＮ結果を、Ｒｅｖｅｒｓｅ　Ｐｏｓｉｔｉｏｎ　Ｓｐｅｃｉｆｉｃ　ＢＬＡＳＴを用いたＣｏｎｖｅｒｓｅｄ　Ｄｏｍａｉｎ　Ｄａｔａｂａｓｅ（ＣＤＤ）から収集した。このＢＬＡＳＴサンプルドメインは、ＳｍａｒｔおよびＰｆａｍコレクション中で見出した。この結果を、統計およびドメインの詳細とともに、表８Ｎに列挙する。これらの結果は、ＧＰＣＲ８が、ドメイン名７ｔｍ＿１（ＩｎｔｅｒＰｒｏ）７回膜貫通レセプター（ロドプシンファミリー）ドメイン（ＩｎｔｅｒＰｒｏにより規定される）に対して相同性を有することを示す。このことは、このことは、ＧＰＣＲ８の配列が、このドメイン／これらのドメインを含むことが公知の他のタンパク質の配列と類似で、かつこれらのドメインの特性と類似の特性を有することを示す。

【０１８７】

【表８５】

表8N．コンセンサス 7tm 1 ドメインに対する GPCR8 についてのドメイン結果（配列番号78）

CD-長　= 254 残基，100.0% 整列
スコア = 79.7 ビット (195)，期待 = 2e-16



本明細書に開示されるＧＰＣＲ８タンパク質および核酸の類似の情報は、ＧＰＣＲ８が、Ｏｌｆａｃｔｏｒｙ　Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（嗅覚レセプター）ファミリーおよびＧＰＣＲファミリーの重要な構造的および／または生理学的機能の特徴を有し得ることを示唆する。従って、本発明の核酸およびタンパク質は、可能性のある診断および治療適用において、そして検索ツールとして有用である。これらは、特異的または選択的な、核酸またはタンパク質の、診断および／または予測マーカーとしての働き（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べきである）、ならびに以下のような可能性のある治療適用を含む：（ｉ）タンパク質治療剤、（ｉｉ）低分子薬物標的、（ｉｉｉ）抗体標的（治療抗体、診断抗体、薬物標的／細胞傷害性抗体）、（ｉｖ）遺伝子治療（遺伝子送達／遺伝子除去）において有用な核酸、および（ｖ）インビトロおよびインビボで組織再生を促進する組成物、（ｖｉ）生物学的防御手段。ＧＰＣＲ８をコードする新規な核酸、および本発明のＧＰＣＲ８タンパク質、またはそのフラグメントは

、さらに診断適用（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）において有用であり得る。

【０１８８】

本発明の開示されたＧＰＣＲ８核酸およびタンパク質は、以下に関連する潜在的な治療学的応用において有用である：細菌、真菌、原生動物およびウイルス感染（特にＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２によって起きる感染）、痛み、癌（新生物；腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌が挙げられるがこれらに限定されない）、食欲不振、過食症、喘息、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、尿貯留、骨粗しょう症、クローン病；多発性硬化症；およびオールブライト遺伝性骨形成異常症の処置、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、喘息、アレルギー、良性前立腺肥大ならびに精神病性障害および神経学的障害（不安、精神分裂病、躁鬱病、せん妄、痴呆、重症精神遅滞およびジスキネジー（例えば、ハンティングトン病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群を含む））ならびに／または他の病理学および障害。例えば、ＧＰＣＲ様タンパク質をコードするｃＤＮＡは、遺伝子治療に有用であり得、そしてＧＰＣＲ様タンパク質は、それらを必要とする被験者に投与される場合、有用であり得る。非限定的な例として、本発明の組成物は、細菌、真菌、原生動物およびウイルス感染（特にＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２によって起きる感染）、痛み、癌（新生物；腺癌；リンパ腫；前立腺癌；子宮癌が挙げられるがこれらに限定されない）、食欲不振、過食症、喘息、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、尿貯留、骨粗しょう症、クローン病；多発性硬化症；およびオールブライト遺伝性骨形成異常症の処置、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、喘息、アレルギー、良性前立腺肥大ならびに精神病性障害および神経学的障害（不安、精神分裂病、躁鬱病、せん妄、痴呆、重症精神遅滞およびジスキネジー（例えば、ハンティングトン病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群を含む））を患う患者の処置に効力を有する。ＧＰＣＲ様タンパク質をコードする新規の核酸、本発明のＧＰＣＲ様タンパク質またはそれらのフラグメントは、診断的適用においてさらに有用であり得、ここで、核酸またはタンパク質の存在または量は、評価される。これらの材料は、治療方法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産生においてさらに有用である

。これらの抗体は、以下の「抗ＧＰＣＲＸ抗体」の節に記載されるように、疎水性チャートからの推定を使用して、当該分野において公知の方法に従って産生され得る。例えば、開示されるＧＰＣＲ８タンパク質は、複数の親水性領域を有し、そのそれぞれが、免疫原として使用され得る。１つの実施形態において、意図されるＧＰＣＲ８エピトープは、およそアミノ酸５０～６０である。別の実施形態において、ＧＰＣＲ８エピトープは、およそアミノ酸１３０～１４０である。さらなる実施形態において、ＧＰＣＲ８エピトープは、およそアミノ酸２３０～２４０および２８０～３１０である。この新規なタンパク質はまた、種々のヒトの障害の機能的分析のための強力なアッセイ系の開発において価値を有し、これは、疾患の病理学の理解および種々の障害についての新規薬物標的の開発を補助する。

【０１８９】

（ＧＰＣＲ９）

（ＧＰＣＲ９ａ）

新規な核酸は、ＧＰＣＲプローブまたはホモログについてＣｕｒａＧｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎの配列ファイルを使用してＴｂｌａｓｔＮによって、ＧｅｎＢａｎｋによって入手可能になったＧｅｎｏｍｉｃ　Ｄａｉｌｙ　Ｆｉｌｅｓに対して実行して、第１１染色体上で同定した。核酸は、さらに、プログラムＧｅｎＳｃａｎ™によって推測された（エキソンの選択を含む）。これらはさらに、ＢＬＡＳＴ検索を用いて類似性によって改変された。次いでこの配列は、明らかな不一致が手動で訂正され、それによって、全長タンパク質をコードする配列を得た。９６０ヌクレオチドの開示された新規ＧＰＣＲ９ａ核酸（ＡＣ０２５２４９＿Ｄとも呼ばれる）は、表９Ａに示される。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド４～６のＡＴＧ開始コドンで開始し、ヌクレオチド９５１～９５３のＴＡＧコドンで終わる。開始コドンの上流および終止コドンの下流である推定非翻訳領域は、表９Ａの下線であり、そして開始コドンおよび終止コドンは太字である。

【０１９０】

この核酸配列は、Ｇタンパク質結合前立腺組織レセプター（Ｈｏｍｏ　ｓａｐ

ｉｅｎｓ由来のＨＰＲＡＪ７０　ｃＤＮＡと称される）（ｐａｔｎ：Ｖ３０１４３）に同一な、８８０塩基のうちの５６７塩基（６４％）を有する（Ｅ＝２．６ｅ－５３）。

【０１９１】

【表８６】

表　9A. GPCR9a ヌクレオチド配列　(配列番号 37)

GCCATGCTCACTTTTCATAATGTCTGCTCAGTACCCAGCTCCTTCTGGCTCACTGGCATCCCAGGGCTGGA
GTCCCTACACGTCTGGCTCTCCATCCCCTTTGGCTCCATGTACCTGGTGGCTGTGGTGGGGAATGTGACCA
TCCTGGCTGTGGTAAAGATAGAACGCAGCCTGCACCAGCCCATGTACTTTTTCTTGTGCATGTTGGCTGCC
ATTGACCTGGTTCTGTCTACTTCCACTATACCCAAACTTCTGGGAATCTTCTGGTTCGGTGCTTGTGACAT
TGGCCTGGACGCCTGCTTGGGCCAAATGTTCCTTATCCACTGCTTTGCCACTGTTGAGTCAGGCATCTTCC
TTGCCATGGCTTTTGATCGCTACGTGGCCATCTGCAACCCACTACGTCATAGCATGGTGCTCACTTATACA
GTGGTGGGTCGTTTGGGGCTTGTTTCTCTCCTCCGGGGTGTTCTCTACATTGGACCTCTGCCTCTGATGAT
CCGCCTGCGGCTGCCCCTTTATAAAACCCATGTTATCTCCCACTCCTACTGTGAGCACATGGCTGTAGTTG
CCTTGACATGTGGCGACAGCAGGGTCAATAATGTCTATGGGCTGAGCATCGGCTTTCTGGTGTTGATCCTG
GACTCAGTGGCTATTGCTGCATCCTATGTGATGATTTTCAGGGCCGTGATGGGGTTAGCCACTCCTGAGGC
TAGGCTTAAAACCCTGGGGACATGCGCTTCTCACCTCTGTGCCATCCTGATCTTTTATGTTCCCATTGCTG
TTTCTTCCCTGATTCACCGATTTGGTCAGTGTGTGCCTCCTCCAGTCCACACTCTGCTGGCCAACTTCTAT
CTCCTCATTCCTCCAATCCTCAATCCCATTGTCTATGCTGTTCGCACCAAGCAGATCCGAGAGAGCCTTCT
CCAAATACCAAGGATAGAAATGAAGATTAGATGATTA

配列番号３７によってコードされるＧＰＣＲ９ａタンパク質は、３１７アミノ酸残基を有し、そして表９Ｂに一文字コードを用いて表示される（配列番号３８）。ＧＰＣＲ９ａについてのＳｉｇｎａｌＰ、Ｐｓｏｒｔおよび／またはＨｙｄｒｏｐａｔｈｙプロフィールは、ＧＰＣＲ９ａがシグナルペプチドを有し、そして０．６０００の確実度で、原形質膜に局在化する可能性があること予測する。ＳｉｇｎａｌＰは、アミノ酸４３と４４との間の配列ＶＶＧ－ＮＶに切断部位を予測する。ＧＰＣＲ９ａの分子量は、３５０３６．８ダルトンである。

【０１９２】

【表８７】

表　9B. コードされる GPCR9 タンパク質配列　(配列番号 38)

MLTFHNVCSVPSSFWLTGIPGLESLHVWLSIPFGSMYLVAVVGNVTILAVVKIERSLHQPMYFFLCMLAAI
DLVLSTSTIPKLLGIFWFGACDIGLDACLGQMFLIHCFATVESGIFLAMAFDRYVAICNPLRHSMVLTYTV
VGRLGLVSLLRGVLYIGPLPLMIRLRLPLYKTHVISHSYCEHMAVVALTCGDSRVNNVYGLSIGFLVLILD
SVAIAASYVMIFRAVMGLATPEARLKTLGTCASHLCAILIFYVPIAVSSLIHRFGQCVPPPVHTLLANFYL
LIPPILNPIVYAVRTKQIRESLLQIPRIEMKIR

本発明のタンパク質の全長アミノ酸配列は、３２０アミノ酸残基のＲａｔｔｕｓ　ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ由来の推定Ｇタンパク質結合レセプターＲＡ１Ｃ（ｐ

ｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｏ８８６２８）に対して、３０１アミノ酸残基のうちの同一な１５７アミノ酸残基（５２％）、３０１残基のうちのポジティブな２１０残基（６９％）を有することが見出された（Ｅ値＝２．７ｅ－[81]）。

【０１９３】

ＧＰＣＲ９はまた、表９Ｃにおいて ＢＬＡＳＴアライメントで示されるタンパク質に対して相同性を有する。

【０１９４】

【表８８】

表 9C. GPCR9aについてのBLASTXの結果

配列名	説明	High Score	Smallest Sum Prob P(N)	N
patp:Y92365 G タンパク質共役レセプター タンパク質	5 - Hom.+1	831	4.0e-82	1
patp:W01730 ヒト G-タンパク質レセプター	HPRAJ70 - Homo sa.+1	802	4.7e-79	1
patp:W56641 G-タンパク質共役 脳下垂体組織 レセプター	.+1	802	4.7e-79	1
patp:R27869 嗅覚レセプタークローン	F6 - Rattus rattus,.+1	418	2.3e-38	1

（ＧＰＣＲ９ｂ）

本発明において、以前に同定された標的配列、登録番号ＡＣ０７９７５９　Ｄを、配列を確認するためにエキソン連結プロセスに供した。ＰＣＲプライマーは、順方向プライマーについて使用可能な最も上流の配列、および逆方向プライマーについて利用可能な最も下流の配列において開始することによって設計された。各場合において、独特であるかまたは高度に選択性であるかのいずれかの適切な配列に遭遇するまで、または逆方向プライマーの場合、終止コドンに到達するまで、それぞれの末端からコード配列まで内向きに走査して、この配列を試験した。このようなプライマーを、標的配列の全長ｃＤＮＡ、ＤＮＡの一部（一つ以上のエキソン）またはタンパク質配列についてのインシリコ（ｉｎ　ｓｉｌｉｃｏ）予測に基づいて、または密接に関連したヒト配列または他の種の配列に対する推定エキソンの翻訳相同性によって、設計した。次いで、これらのプライマーを以下のヒトｃＤＮＡのプールに基づくＰＣＲ増幅において使用した：副腎、骨髄、脳－扁桃、脳－小脳、脳－海馬、脳－黒質、脳－視床、脳－全脳、胎児脳、

胎児腎臓、胎児肝臓、胎児肺、心臓、腎臓、リンパ腫－ラージ、乳腺、膵臓、下垂体、胎盤、前立腺、唾液腺、骨格筋、小腸、脊髄、脾臓、胃、精巣、甲状腺、気管、子宮。通常、得られたアンプリコンを、ゲル精製し、クローン化し、そして高度な重複性まで配列決定した。全てのクローンから得られた配列を、互いに、ＣｕｒａＧｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎのデータベースにおける他のフラグメントと、および公共のＥＳＴと構築した。構築の別の成分とのフラグメントおよびＥＳＴの同一性の程度が５０ｂｐにわたって少なくとも９５％である場合には、これらのフラグメントおよびＥＳＴを、構築のための成分として含めた。さらに、配列の残りを手動で評価し、そして適切である場合には、補正のために編集した。これらの手順は、以下に報告する配列を提供し、これは、登録番号ＡＣ０７９７５９_ｄａ１と称される。これは、単一のアミノ酸変化を有する点で、以前に同定された配列（受託番号ＡＣ０７９７５９ _Ｄ）とは異なる。

【０１９５】

９９７ヌクレオチドの開示された新規なＧＰＣＲ９ｂ核酸（ＡＣ０２５２４９_ｄａ１とも呼ばれる）を、表９Ｄに示す。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド５～７のＡＴＧ開始コドンで開始し、ヌクレオチド９５６～９５８のＴＧＡコドンで終わる。開始コドンの上流および終止コドンの下流である推定非翻訳領域は、表９Ｄの下線であり、そして開始コドンおよび終止コドンは太字である。

【０１９６】

配列データベースのサーチにおいて、例えば、この核酸配列が、Ｒａｔｔｕｓ　ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓの推定Ｇタンパク質結合レセプターＲＡｌｃ　ｍＲＮＡ，完全ｃｄｓ（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＡＦ０７９８６４｜ａｃｃ：ＡＦ０７９８６４．１）に対して同一な、８９６塩基のうちの５８７塩基（６５％）を有することが見出された（Ｅ＝２．７ｅ－５３）。

【０１９７】

【表８９】

表　9D. GPCR9b ヌクレオチド配列　(配列番号 39)

AGCCATGCTCACTTTTCATAATGTCTGCTCAGTACCCAGCTCCTTCTGGCTCACTGGCATCCCAGGGCTGG
AGTCCCTACACGTCTGGCTCTCCATCCCCTTTGGCTCCATGTACCTGGTGGCTGTGGTGGGGAATGTGACC
ATCCTGGCTGTGGTAAAGATAGAACGCAGCCTGCACCAGCCCATGTACTTTTTCTTGTGCATGTTGGCTGC
CATTGACCTGGTTCTGTCTACTTCCACTATACCCAAACTTCTGGGAATCTTCTGGTTCGGTGCTTGTGACA
TTGGCCTGGATGCCTGCTTGGGCCAAATGTTCCTTATCCACTGCTTTGCCACTGTTGAGTCAGGCATCTTC
CTTGCCATGGCTTTTGATCGCTATGTGGCCATCTGCAACCCACTACGTCATAGCATGGTGCTCACTTATAC
AGTGGTGGGTCGTTTGGGGCTTGTTTCTCTCCTCCGGGGTGTTCTCTACATTGGACCTCTGCCTCTGATGA
TCCGCCTGCGGCTGCCCCTTTATAAAACCCATGTTATCTCCCACTCCTACTGTGAGCACATGGCTGTAGTT
GCCTTGACATGTGGCGACAGCAGGGTCAATAATGTCTATGGGCTGAGCATCGGCTTTCTGGTGTTGATCCT
GGACTCAGTGGCTATTGCTGCATCCTATGTGATGATTTTCAGGGCCGTGATGGGGTTAGCCACTCCTGAGG
CTAGGCTTAAAACCCTGGGGACATGCGCTTCTCACCTCTGTGCCATCCTGATCTTTTATGTTCCCATTGCT
GTTTCTTCCCTGATTCACCGATTTGGTCAGTGTGTGCCTCCTCCAGTCCACACTCTGCTGGCCAACTTCTA
TCTCCTCATTCCTCCAATCCTCAATCCCATTGTCTATGCTGTTCGCACCAAGCAGATCCGAGAGAGGCTTC
TCCAAATACCAAGGATAGAAATGAAGATTAGATGATTACTATTTTCTTCTCTCAAATAAGCTCATGGAG
AAG

配列番号３９によってコードされるＧＰＣＲ９ｂタンパク質は、３１７アミノ酸残基を有し、そして表９Ｅ（配列番号４０）に一文字コードを用いて表示される。ＧＰＣＲ９についてのＳｉｇｎａｌＰ、Ｐｓｏｒｔおよび／またはＨｙｄｒｏｐａｔｈｙプロフィールは、ＧＰＣＲ９がシグナルペプチドを有し、そして０．６０００の確実度で、原形質膜に局在化する可能性があることを予測する。ＳｉｇｎａｌＰは、アミノ酸４３と４４との間の配列ＶＶＧ－ＮＶに切断部位を予測する。

【０１９８】

【表９０】

表　9E. コードされる GPCR9b タンパク質配列　(配列番号　40)

MLTFHNVCSVPSSFWLTGIPGLESLHVWLSIPFGSMYLVAVVGNVTILAVVKIERSLHQPMYFFLCMLAAI
DLVLSTSTIPKLLGIFWFGACDIGLDACLGQMFLIHCFATVESGIFLAMAFDRYVAICNPLRHSMVLTYTV
VGRLGLVSLLRGVLYIGPLPLMIRLRLPLYKTHVISHSYCEHMAVVALTCGDSRVNNVYGLSIGFLVLILD
SVAIAASYVMIFRAVMGLATPEARLKTLGTCASHLCAILIFYVPIAVSSLIHRFGQCVPPPVHTLLANFYL
LIPPILNPIVYAVRTKQIRERLLQIPRIEMKIR

本発明のタンパク質の全長アミノ酸配列は、３２０アミノ酸残基の、Ｒａｔｔｕｓ　ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ由来の推定Ｇタンパク質結合レセプターＲＡ１Ｃ（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｏ８８６２８）に対して、３０１アミノ酸残基のうちの同一な１５８アミノ酸残基（５２％）、３０１残基のうちのポジティブな２１１残基（７０％）を有することが見出された（Ｅ値＝２．７ｅ－^{8}^{2}）。

【０１９９】

本発明に開示される嗅覚レセプターは、少なくとも以下の組織において発現される：網膜色素上皮の先端の微絨毛、動脈（大動脈）、基底前脳、脳、バーキットリンパ腫細胞株、脳梁、心（房および室）、尾状核、ＣＮＳおよび末梢組織、小脳、大脳皮質、結腸、皮質神経細胞、内皮（冠状動脈および臍静脈）細胞、口蓋上皮、眼、新生児眼、前頭皮質、胎児造血細胞、心臓、海馬、視床下部、白血球、肝臓、胎児肝臓、肺、肺リンパ腫細胞株、胎児リンパ様組織、成人リンパ様組織、ＭＨＣＩＩおよびＩＩＩを発現する細胞、神経、髄質、視床下核、卵巣、膵臓、下垂体、胎盤、橋、前立腺、被殻、血清、骨格筋、小腸、平滑筋（大動脈中の冠状動脈）、脊髄、脾臓、胃、舌の味覚レセプター細胞、精巣、視床、および胸腺組織。この情報は、ＳｅｑＣａｌｌｉｎｇ供給源、公のＥＳＴ供給源、文献供給源、および／またはＲＡＣＥ供給源を含むがこれらに限定されない、本発明に含まれる配列の組織供給源を決定することによって、引き出された。

【０２００】

（ＧＰＣＲ９ｃ）

本発明において、以前に同定された標的配列、登録番号ＡＣ０７９７５９　Ｄを、配列を確認するためにエキソン連結プロセスに供した。ＰＣＲプライマーは、順方向プライマーについて使用可能な最も上流の配列、および逆方向プライマーについて利用可能な最も下流の配列において開始することによって設計された。各場合において、独特であるかまたは高度に選択性であるかのいずれかの適切な配列に遭遇するまで、または逆方向プライマーの場合、終止コドンに到達するまで、それぞれの末端からコード配列まで内向きに走査して、この配列を試験した。このようなプライマーを、標的配列の全長ｃＤＮＡ、ＤＮＡの一部（一つ以上のエキソン）またはタンパク質配列についてのインシリコ予測に基づいて、または密接に関連したヒト配列または他の種の配列に対する推定エキソンの翻訳相同性によって、設計した。次いで、これらのプライマーを以下のヒトｃＤＮＡのプールに基づくＰＣＲ増幅において使用した：副腎、骨髄、脳－扁桃、脳－小脳、脳－海馬、脳－黒質、脳－視床、脳－全脳、胎児脳、胎児腎臓、胎児肝臓、胎児肺、心臓、腎臓、リンパ腫－ラージ、乳腺、膵臓、下垂体、胎盤、前立腺、唾

液腺、骨格筋、小腸、脊髄、脾臓、胃、精巣、甲状腺、気管、子宮。通常、得られたアンプリコンを、ゲル精製し、クローン化し、そして高度な重複性まで配列決定した。全てのクローンから得られた配列を、互いに、ＣｕｒａＧｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎのデータベースにおける他のフラグメントと、および公共のＥＳＴと構築した。構築の別の成分とのフラグメントおよびＥＳＴの同一性の程度が５０ｂｐにわたって少なくとも９５％である場合には、これらのフラグメントおよびＥＳＴを、構築のための成分として含めた。さらに、配列の残りを手動で評価し、そして適切である場合には、補正のために編集した。これらの手順は、以下に報告する配列を提供し、これは、登録番号ＡＣ０７９７５９ _ｄａ１と称される。これは、単一のアミノ酸変化を有する点で、以前に同定された配列（登録番号ＡＣ０７９７５９ _D）とは異なる。

【０２０１】

９９７ヌクレオチドの開示された新規なＧＰＣＲ９ｃ核酸（ＣＧ５０２２３ _０１とも呼ばれる）を、表９Ｆに示す。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド５～７のＡＴＧ開始コドンで開始し、ヌクレオチド９５８～９６０のＴＧＡコドンで終わる。開始コドンの上流および終止コドンの下流である推定非翻訳領域は、表９Ｆの下線であり、そして開始コドンおよび終止コドンは太字である。

【０２０２】

配列データベースのサーチにおいて、例えば、この核酸配列が、米国特許第５７５６３０９号由来の配列（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＡＲ００９５１４｜ａｃｃ：ＡＲ００９５１４．１）に対して同一な、８９１塩基のうちの５７３塩基（６４％）を有することが見出された（Ｅ＝３．７ｅ－５２）。

【０２０３】

【表９１】

表　9F. GPCR9c ヌクレオチド配列　(配列番号41)

AGCCATGCTCACTTTTCATAATGTCTGCTCAGTACCCAGCTCCTTCTGGCTCACTGGCATCCCAGGGCTGG
AGTCCCTACACGTCTGGCTCTCCATCCCCTTTGGCTCCATGTACCTGGTGGCTGTGGTGGGGAATGTGACC
ATCCTGGCTGTGGTAAAGATAGAACGCAGCCTGCACCAGCCCATGTACTTTTTCTTGTGCATGTTGGCTGC
CATTGACCTGGTTCTGTCTACTTCCACTATACCCAAACTTCTGGGAATCTTCTGGTTCGGTGCTTGTGACA
TTGGCCTGGATGCCTGCTTGGGCCAAATGTTCCTTATCCACTGCTTTGCCACTGTTGAGTCAGGCATCTTC
CTTGCCATGGCTTTTGATCGCTACGTGGCCATCTGCAACCCACTACGTCATAGCATGGTGCTCACTTATAC
AGTGGTGGGTCGTTTGGGGCTTGTTTCTCTCCTCCGGGGTGTTCTCTACATTGGACCTCTGCCTCTGATGA
TCCGCCTGCGGCTGCCCCTTTATAAAACCCATGTTATCTCCCACTCCTACTGTGAGCACATGGCTGTAGTT
GCCTTGACATGTGGCGACAGCAGGGTCAATAATGTCTATGGGCTGAGCATCGGCTTTCTGGTGTTGATCCT
GGACTCAGTGGCTATTGCTGCATCCTATGTGATGATTTTCAGGGCCGTGATGGGGTTAGCCACTCCTGAGG
CTAGGCTTAAAACCCTGGGGACATGCGCTTCTCACCTCTGTGCCATCCTGATCTTTTATGTTCCCATTGCT
GTTTCTTCCCTGATTCACCGATTTGGTCAGTGTGTGCCTCCTCCAGTCCACACTCTGCTGGCCAACTTCTA
TCTCCTCATTCCTCCAATCCTCAATCCCATTGTCTATGCTGTTCGCACCAAGCAGATCCGAGAGAGGCTTC
TCCAAATACCAAGGATAGAAATGAAGATTAGATGATTACTATTTTCTTCTCTCTCAAATAAGCTCATGGAG
AAG

配列番号４１によってコードされるＧＰＣＲ９ｃタンパク質は、３１７アミノ酸残基を有し、そして表９Ｇ（配列番号４２）に一文字コードを用いて表示される。ＧＰＣＲ９についてのＳｉｇｎａｌＰ、Ｐｓｏｒｔおよび／またはＨｙｄｒｏｐａｔｈｙプロフィールは、ＧＰＣＲ９がシグナルペプチドを有し、そして０．６０００の確実度で、原形質膜に局在化する可能性があることを予測する。ＳｉｇｎａｌＰは、アミノ酸４３と４４との間の配列ＶＶＧ－ＮＶに切断部位を予測する。

【０２０４】

【表９２】

表　9G. コドンされる GPCR9c タンパク質配列　(配列番号42)

MLTFHNVCSVPSSFWLTGIPGLESLHVWLSIPFGSMYLVAVVGNVTILAVVKIERSLHQPMYFFLCMLAAI
DLVLSTSTIPKLLGIFWFGACDIGLDACLGQMFLIHCFATVESGIFLAMAFDRYVAICNPLRHSMVLTYTV
VGRLGLVSLLRGVLYIGPLPLMIRLRLPLYKTHVISHSYCEHMAVVALTCGDSGVNNVYGLSIGFLVLILD
SVAIAASYVMIFRAVMGLATPEARLKTLGTCASHLCAILIFYIPIAVSSLIHRFGQCVPPPVHTLLANFYL
LIPPILNPIVYAVRTKQIRERLLQIPRIEMKIR

本発明のタンパク質の全長アミノ酸配列は、３２０アミノ酸残基のＲａｔｔｕｓ　ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ由来の推定Ｇタンパク質結合レセプターＲＡ１Ｃ（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｏ８８６２８）に対して、３０１アミノ酸残基のうちの同一な１５７アミノ酸残基（５２％）、３０１残基のうちのポジティブな２１１残基（７０％）を有することが見出された（Ｅ値＝５．６ｅ$^{-82}$）。

【０２０５】

ＧＰＣＲ９ｃは、少なくとも以下の組織において発現される：網膜色素上皮の先端の微絨毛、動脈（大動脈）、基底前脳、脳、バーキットリンパ腫細胞株、脳梁、心（房および室）、尾状核、ＣＮＳおよび末梢組織、小脳、大脳皮質、結腸、皮質神経細胞、内皮（冠状動脈および臍静脈）細胞、口蓋上皮、眼、新生児眼、前頭皮質、胎児造血細胞、心臓、海馬、視床下部、白血球、肝臓、胎児肝臓、肺、肺リンパ腫細胞株、胎児リンパ様組織、成人リンパ様組織、ＭＨＣＩＩおよびＩＩＩを発現する細胞、神経、髄質、視床下核、卵巣、膵臓、下垂体、胎盤、橋、前立腺、被殻、血清、骨格筋、小腸、平滑筋（大動脈中の冠状動脈）、脊髄、脾臓、胃、舌の味覚レセプター細胞、精巣、視床、および胸腺組織。この情報は、ＳｅｑＣａｌｌｉｎｇ供給源、公のＥＳＴ供給源、文献供給源、および／またはＲＡＣＥ供給源を含むがこれらに限定されない、本発明に含まれる配列の組織供給源を決定することによって、引き出された。

【０２０６】

ＧＰＣＲ９ｃについて見出された可能なＳＮＰは、表９Ｈに列挙される。

【０２０７】

【表９３】

表 9H: SNPs

コンセンサス位置	深さ	塩基変化	PAF
298	18	C>T	0.333
445	22	G>A	0.091

さらなるＢＬＡＳＴ分析によって、表９Ｉに列挙される重要な結果を得た。開示されたＧＰＣＲ９タンパク質は、多くの嗅覚レセプタータンパク質と良好な同一性を有する。

【０２０８】

【表９４】

表 9I. GPCR9についてのBLASTの結果

遺伝子バンクアクセス／識別子	タンパク質／生物	長さ (aa)	同一性 (%)	ポジティブ (%)	期待値
gi|11991867|gb|AAG42368.1| (AF289204)	odorant receptor HOR3'beta5 [Homo sapiens]	316	154/309 (49%)	193/309 (61%)	2e-71
gi|11908221|gb|AAG41685.1| (AF133300)	MOR 3'Beta6 [Mus musculus]	316	151/299 (50%)	189/299 (62%)	3e-70
gi|7305351|ref|NP_038648.1|	Olfactory receptor 68 [Mus musculus]	315	148/309 (47%)	188/309 (59%)	7e-68
gi|7305353|ref|NP_038649.1|	Olfactory receptor 69 [Mus musculus]	316	147/309 (47%)	187/309 (59%)	1e-66
gi|3927808|gb|AAD03349.1| (L17432)	olfactory receptor-like protein COR3'beta [Gallus gallus]	319	145/296 (48%)	196/296 (65%)	1e-66

この情報は、関連タンパク質配列とＧＰＣＲ９を比較するＣｌｕｓｔａｌＷ分析として、表９Ｊ（ＧＰＣＲ９ａは１行目に示され、ＧＰＣＲ９ｂは２行目に示され、そしてＧＰＣＲ９ｃは３行目に示される）において与えられる複数の配列アラインメントにおいて図示されている。

【０２０９】

（表９Ｊ．ＣｌｕｓｔａｌＷタンパク質についての情報：）

１）ＧＰＣＲ９ａ（配列番号３８）

２）ＧＰＣＲ９ｂ（配列番号４０）

３）ＧＰＣＲ９ｃ（配列番号４２）

４）ｇｉ｜１１９９１８６７｜ｇｂ｜ＡＡＧ４２３６８．１（ＡＦ２８９２０４）臭気レセプターＨＯＲ３’ｂｅｔａ５［Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ］（配列番号６６）

３）ｇｉ｜１１９０８２２１｜ｇｂ｜ＡＡＧ４１６８５．１｜（ＡＦ１３３００）ＭＯＲ３’Ｂｅｔａ６［Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ］（配列番号６７）

５）ｇｉ｜７３０５３５１｜ｒｅｆ｜ＮＰ＿０３８６４８．１｜ｏｌｆａｃｔｏｒｙ　ｒｅｃｅｐｔｏｒ　６８［Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ］（配列番号６８）

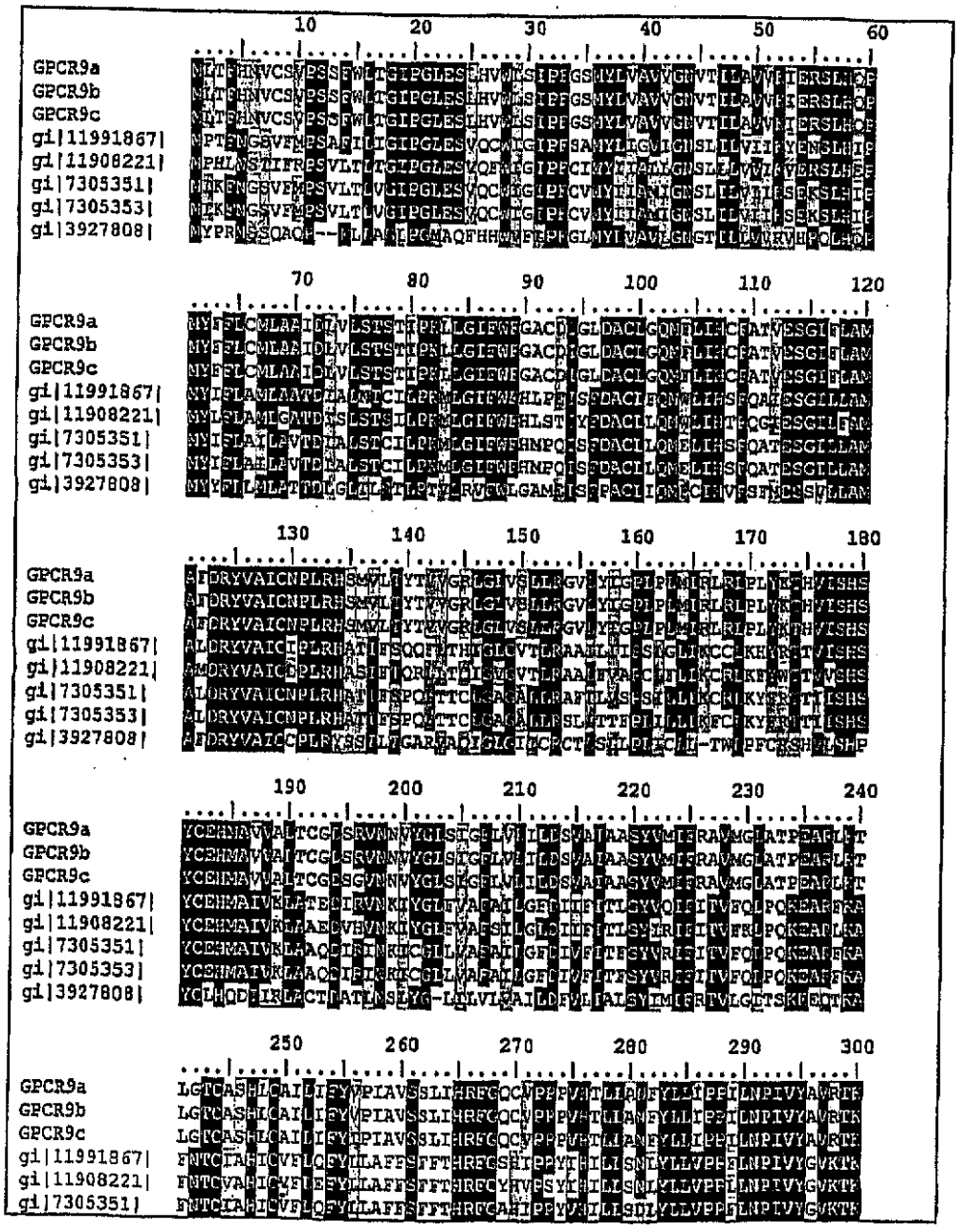
６）ｇｉ｜７３０５３５３｜ｒｅｆ｜ＮＰ＿０３８６４９．１｜ｏｌｆａｃｔｏｒｙ　ｒｅｃｅｐｔｏｒ　６９［Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ］（配列番号６９）

７）ｇｉ｜３９２７８０８｜ｇｂ｜ＡＡＤ０３３４９．１（Ｌ１７４３２）ｏｌ

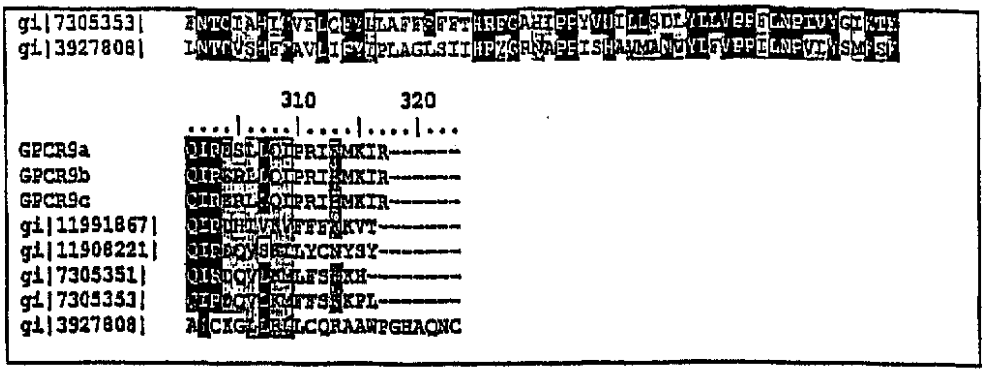
ｆａｃｔｏｒｙ ｒｅｃｅｐｔｏｒ－ｌｉｋｅ ｐｒｏｔｅｉｎ ＣＯＲ３’ｂｅｔａ［Ｇａｌｌｕｓ ｇａｌｌｕｓ］（配列番号７０）

【０２１０】

【表９５】



〔表95〕の続き



ＧＰＣＲ９における同定可能なドメインの存在は、ＰＲＯＳＩＴＥ、Ｂｌｏｃｋｓ、Ｐｆａｍ、ＰｒｏＤｏｍａｉｎ、Ｐｒｉｎｔｓのようなアルゴリズムを用いて検索すること、次いで、Ｉｎｔｅｒｐｒｏウエブサイト（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｅｂｉ．ａｃ．ｕｋ／ｉｎｔｅｒｐｒｏ／）を用いてドメイン適合（または数）を掛け合わせることによってＩｎｔｅｒｐｒｏ数を決定することによって決定される。

【０２１１】

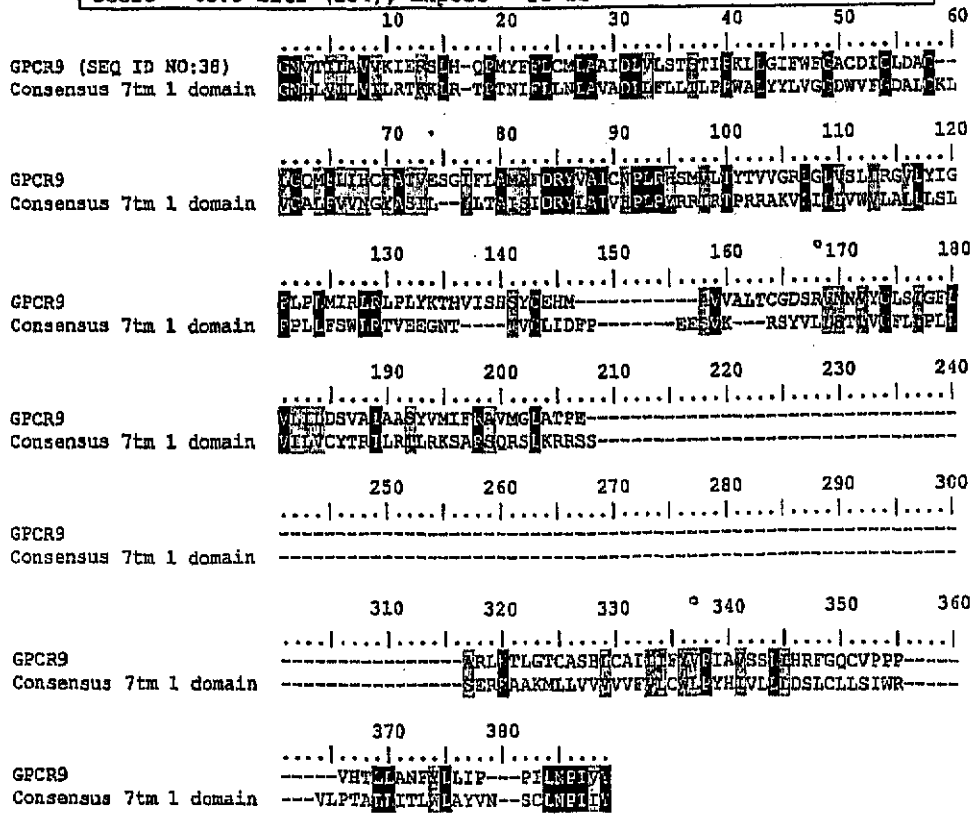
ＧＰＣＲ９のＤＯＭＡＩＮ結果を、Ｒｅｖｅｒｓｅ　Ｐｏｓｉｔｉｏｎ　Ｓｐｅｃｉｆｉｃ　ＢＬＡＳＴを用いたＣｏｎｖｅｒｓｅｄ　Ｄｏｍａｉｎ　Ｄａｔａｂａｓｅ（ＣＤＤ）から収集した。このＢＬＡＳＴサンプルドメインは、ＳｍａｒｔおよびＰｆａｍコレクション中で見出した。この結果を、統計およびドメインの詳細とともに、表９Ｋに列挙する。この結果は、ＧＰＣＲ９が（Ｉｎｔｅｒｐｒｏによって規定されるような）７ｔｍ＿１（ＩｎｔｅｒＰｒｏ）７回膜貫通レセプター（ロドプシンファミリー）ドメインに対する相同性を有することを示す。このことは、ＧＰＣＲ９の配列が、このドメイン／これらのドメインを含むことが公知の他のタンパク質の特性と類似で、かつこれらのドメインの特性と類似の特性を有することを示す。

【０２１２】

【表９６】

表９Ｋ．コンセンサス７ｔｍ１ドメインに対する
ＧＰＣＲ９についてのＤＯＭＡＩＮ結果（配列番号７９）

CD-Length = 254 residues, 100.0% aligned
Score = 63.9 bits (154), Expect = 1e-11



本明細書中に開示されるＧＰＣＲ９タンパク質および核酸についての類似性情報は、ＧＰＣＲ９が、嗅覚レセプターファミリーおよびＧＰＣＲファミリーに特徴的な重要な構造的および／または生理学的機能を有し得ることを示唆する。従って、本発明の核酸およびタンパク質は、潜在的な診断的適用および治療的適用においてならびに研究道具として有用である。これらは、特異的または選択的な核酸またはタンパク質の診断的および／または治療的マーカーとして働く工程を包含し、ここで、核酸またはタンパク質の存在または量、ならびに以下のような潜在的な治療的適用が評価される：（ｉ）タンパク質治療、（ｉｉ）低分子薬物標的、（ｉｉｉ）抗体標的（治療、診断、薬物標的化／細胞傷害性抗体）、（ｉｖ）遺伝子治療（遺伝子送達／遺伝子除去）において有用な核酸、および（ｖ）インビトロおよびインビボで組織再生を促進する組成物（ｖｉ）生物学的な防御武器。本発明のＧＰＣＲ９をコードする新規核酸およびＧＰＣＲ９タンパク質またはこれらのフラグメントは、さらに治療的適用において有用であり得、ここで

、この核酸またはタンパク質の存在または量が、評価される。

【０２１３】

本発明の核酸およびタンパク質は、発達疾患、ＭＨＣＩＩおよびＩＩＩ疾患（免疫疾患）、味および芳香の検出能疾患、バーキットリンパ腫、皮質神経性（Ｃｏｒｔｉｃｏｎｅｕｒｏｇｅｎｉｃ）疾患、シグナル伝達経路障害、網膜疾患（光受容に関与する疾患を含む）、細胞増殖速度障害；細胞形状障害、摂食障害；摂食の制御；過剰な摂食に起因する潜在的肥満；飢餓（アペタイト（ａｐｅｔｉｔｅ）の欠如）に起因する潜在的な障害、非インスリン依存性真性糖尿病（ＮＩＤＤＭ１）、細菌感染、真菌感染、原生動物感染、およびウイルス感染（特にＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２によって引き起こされる感染）、痛み、癌（新生物；線癌；リンパ種；前立腺癌；子宮癌を含むがこれらに限定されない）、食欲不振、過食症、喘息、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、尿停滞、骨粗鬆症、クローン病、多発性硬化症の処置において、そしてオールブライト遺伝性骨形成異常症、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、喘息、アレルギー、良性前立腺肥大、ならびに精神病性傷害および神経学的傷害（不安、精神分裂病、躁うつ病、せん妄、痴呆、深刻な精神遅滞を含む）の処置における使用において関連する、潜在的な治療的適用において有用である。デンタトルブローパリドルシアン萎縮（Ｄｅｎｔａｔｏｒｕｂｒｏ－ｐａｌｌｉｄｏｌｕｙｓｉａｎ ａｔｒｏｐｈｙ）（ＤＲＰＬＡ）低リン酸性くる病（Ｈｙｐｏｐｈｏｓｐｈａｔｅｍｉｃ ｒｉｃｋｅｔｓ）、常染色体優性（２）アクロカロサル（Ａｃｒｏｃａｌｌｏｓａｌ）症候群およびジスキネジー（例えば、ハンティングトン病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群および／または他の病理学および障害。

【０２１４】

このポリペプチドは、本発明に特異的な抗体を産生するための免疫源として、およびワクチンとして使用され得る。これらはまた、潜在的なアゴニスト化合物およびアンタゴニスト化合物をスクリーニングするために使用され得る。例えば、ＧＰＣＲ様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ＧＰＣＲ様タンパク質は、その必要がある被験体に投与される場合に有用であり得る。非限定的な例として、本発明の組成物は、以下に罹患した患

者の処置のための効力を有する：発達疾患、ＭＨＣＩＩおよびＩＩＩ疾患（免疫疾患）、味および芳香の検出能疾患、バーキットリンパ腫、皮質神経性疾患、シグナル伝達経路障害、網膜疾患（光受容に関与する疾患を含む）、細胞増殖速度障害；細胞形状障害、摂食障害；摂食の制御；過剰な摂食に起因する潜在的肥満；飢餓（アペタイトの欠如）に起因する潜在的な障害、非インスリン依存性真性糖尿病（ＮＩＤＤＭ１）、細菌感染、真菌感染、原生動物感染、およびウイルス感染（特にＨＩＶ－１またはＨＩＶ－２によって引き起こされる感染）、痛み、癌（新生物；線癌；リンパ種；前立腺癌；子宮癌を含むがこれらに限定されない）、食欲不振、過食症、喘息、パーキンソン病、急性心不全、低血圧、高血圧、尿停滞、骨粗鬆症、クローン病、多発性硬化症の処置において、そしてオールブライト遺伝性骨形成異常症、狭心症、心筋梗塞、潰瘍、喘息、アレルギー、良性前立腺肥大、ならびに精神病性傷害および神経学的傷害（不安、精神分裂病、躁うつ病、せん妄、痴呆、深刻な精神遅滞を含む）の処置における使用において関連する、潜在的な治療的適用において有用である。デンタトルブロ－パリドルシアン萎縮（ＤＲＰＬＡ）低リン酸性くる病、常染色体優性（２）アクロカロサル症候群およびジスキネジー（例えば、ハンティングトン病またはジル・ド・ラ・ツレット症候群および／または他の病理学および障害。ＧＰＣＲ様タンパク質をコードする新規な核酸、および本発明のＧＰＣＲ様タンパク質、またはそのフラグメントは、診断用途においてさらに有用であり得、ここで、この核酸またはタンパク質の存在または量が、評価される。

【０２１５】

これらの材料はさらに、治療または診断的方法における使用のための新規ＧＰＣＲ９物質に免疫特異的に結合する抗体の産生において有用である。これらの抗体を、以下の「抗ＧＰＣＲＸ抗体」の節で記載するように、疎水性チャートからの予測を使用して当該分野で公知の方法に従って産生し得る。例えば、開示されるＧＰＣＲ９タンパク質は、複数の親水性領域を有し、これらの各々は、免疫原として使用され得る。１つの実施形態において、意図されるＧＰＣＲ９エピトープは、およそアミノ酸１３０～１８０である。別の実施形態において、ＧＰＣＲ９エピトープは、およそアミノ酸２８０～３２０である。これらの新規なタンパ

ク質はまた、機能的分析のためのアッセイ系を開発するために使用され得る。

【０２１６】

本発明のＧＰＣＲＸ核酸およびタンパク質のまとめを、表１０に示す。

【０２１７】

（表１０：本発明の核酸およびタンパク質の要約）

【０２１８】

【表９７】

名前	表	クローン：ホモログの記載	核酸配列番号	アミノ酸配列番号
GPCR1	1A, 1B, 1D 1E, 1F	GPCR1a:, rp11-507n20_A GPCR GPCR1b:, 11-507n20_A_dal, GPCR GPCR1c: AX011711_dal, GPCR	1 3 4	2 5
GPCR2	2A, 2B	GPCR2: 80250319_EXT, GPCR	6	7
GPCR3	3A, 3B	GPCR3: AC020597, GPCR	8	9
GPCR4	4A, 4B, 4F, 4G 4J	GPCR4a: AC020597_B, GPCR GPCR4b: AC020597B1, GPCR GPCR4c: AC020597B2, GPCR	10 12 14	11 13
GPCR5	5A, 5B, 5D, 5E 5F, 5G	GPCR5a: AC020597_C, GPCR GPCR5b: CG53668-02, GPCR GPCR5c: AC020597B_dal, GPCR	15 17 19	16 18 20
GPCR6	6A, 6B 6D, 6E	GPCR6a: AC020597_D, GPCR GPCR6b: AC020597_D1, GPCR	21 23	22 24
GPCR7	7A, 7B 7F, 7G 7I, 7J	GPCR7a: AC020597_A, GPCR GPCR7b: AC020597_A1, GPCR GPCR7c: AC025249_Ada3, GPCR	25 27 29	26 28 30
GPCR8	8A, 8B 8D, 8E 8F, 8G 8H, 8I 8J, 8K	GPCR8a: AC025249_B, GPCR GPCR8b: AC025249_C, GPCR GPCR8c: AC025249_C1, GPCR GPCR8d: CG53845-02, GPCR GPCR8e: CG53845-03, GPCR	31 33 35 80 82	32 34 36 81 83
GPCR9	9A, 9B 9D, 9E 9F, 9G	GPCR9a: AC025249_D, GPCR GPCR9b: AC079759_D, GPCR GPCR9c: CG50223-01, GPCR	37 39 41	38 40 42

（ＧＰＣＲＸ核酸およびポリペプチド）

本発明の１つの局面は、ＧＰＣＲＸポリペプチドまたはその生物学的に活性なタンパク質をコードする、単離された核酸分子に関する。また、ＧＰＣＲＸをコードする核酸（例えば、ＧＰＣＲＸ　ｍＲＮＡ）を同定するためのハイブリダイゼーションプローブとしての使用について十分な核酸フラグメント、およびＧＰ

ＣＲＸ核酸分子の増幅および／または変異のためのＰＣＲプライマーとしての使用のためのフラグメントもまた、本発明に含まれる。本明細書中で使用される場合、用語「核酸分子」は、ＤＮＡ分子（例えば、ｃＤＮＡまたはゲノムＤＮＡ）、ＲＮＡ分子（例えば、ｍＲＮＡ）、ヌクレオチドアナログを使用して作成される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を意図する。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。

【０２１９】

ＧＰＣＲＸ核酸は、成熟ＧＰＣＲＸポリペプチドをコードし得る。本明細書中で使用される場合、本発明において開示されるポリペプチドの「成熟」形態またはタンパク質は、天然に存在するポリペプチドまたは前駆体形態またはプロタンパク質（ｐｒｏｐｒｏｔｅｉｎ）の生成をいう。天然に存在するポリペプチドまたは前駆体形態またはプロタンパク質としては、非限定的な例の目的のみとして、対応する遺伝子によりコードされる全長遺伝子産物が挙げられる。あるいは、これらは、本明細書中に開示されるＯＲＦによりコードされるポリペプチド、前駆体またはプロタンパク質として規定され得る。生成物「成熟」形態は、また非限定的な例の目的として、１以上の天然に存在するプロセシング工程（これらがこの遺伝子産物が生じる細胞または宿主細胞内で起こる場合）の結果として生じる。ポリペプチドまたはタンパク質の「成熟」形態に至るこのようなプロセシング工程の例としては、ＯＲＦの開始コドンによりコードされる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質分解切断が挙げられる。従って、残基１～Ｎ（残基１がＮ末端メチオニンである場合）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基２～Ｎを有する。あるいは、残基１～Ｎ（ここで、Ｎ末端シグナル配列（残基１～Ｍ）が切断される）を有する前駆体ポリペプチドまたはタンパク質から生じる成熟形態は、残りの残基Ｍ＋１～残基Ｎを有する。さらに、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「成熟」形態は、タンパク質分解事象ではなく、翻訳後修飾の工程から生じ得る。このようなさらなるプロセスとしては、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タンパク質は、これらのプロセスの１つのみまたはこれらの任意の組み合わせの操作から生じ得る。

【０２２０】

用語「プローブ」とは、本明細書中で使用される場合、種々の長さの核酸配列をいい、好ましくは、特定の用途に依存して、少なくとも約１０ヌクレオチド（ｎｔ）、１００ｎｔ、または例えば、約６，０００ｎｔ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、そしてより長さの短いオリゴマープローブよりもはるかに遅くハイブリダイズする。プローブは、一本鎖または二本鎖であり得、そしてＰＣＲ、膜ベースのハイブリダイゼーション技術、またはＥＬＩＳＡ様の技術において特異性を有するように設計される。

【０２２１】

用語「単離された」核酸分子は、本明細書中で使用される場合、この核酸の天然の供給源中に存在する他の核酸分子から分離された核酸分子である。好ましくは、「単離された」核酸は、この核酸が由来する生物のゲノムＤＮＡ中でこの核酸に天然に隣接する配列（すなわち、この核酸の５’末端および３’末端に位置する配列）を含まない。例えば、種々の実施形態において、単離されたＧＰＣＲＸ核酸分子は、この核酸が由来する細胞／組織（例えば、脳、心臓、肝臓、脾臓など）のゲノムＤＮＡ中でこの核酸に天然で隣接する、約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、組換え技術により産生される場合、その他の細胞物質または培養培地を実質的に含まないか、または化学的に合成される場合、化学物質前駆体もしくはその他の化学物質を実質的に含まないものであり得る。

【０２２２】

本発明の核酸分子、例えば、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７

、３９、４１、８０および８２のヌクレオチド配列を有する核酸分子、または上記のヌクレオチド配列の相補体は、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１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２の核酸の全部または一部を使用して、ＧＰＣＲＸ分子は、標準的なハイブリダイゼーションおよびクローニング技術（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に記載されるように）を用いて単離され得る。

【０２２３】

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、ＧＰＣＲＸ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。

【０２２４】

本明細書で用いられる場合、用語「オリゴヌクレオチド」は、一連の連結されたヌクレオチド残基をいい、このオリゴヌクレオチドは、ＰＣＲ反応で用いられるに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。本発明の１つの実施

形態では、１００ｎｔより少ない長さの核酸分子を含むオリゴヌクレオチドは、さらに、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２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もまた用いられ得る。

【０２２５】

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１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２に示されるヌクレオチド配列またはこのヌクレオチド配列の一部分（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ＧＰＣＲＸポリペプチドの生物学的に活性な部分をコードするフラグメント）の相補体である核酸分子を含む。配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２に示されるヌクレオチド配列に相補的である核酸分子は、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２に示されるヌクレオチド配列に十分相補的である核酸分子であり、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２に示される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核酸分子である。

【０２２６】

本明細書で用いる場合、用語「相補的」は、核酸分子のヌクレオチド単位間のＷａｔｓｏｎ－ＣｒｉｃｋまたはＨｏｏｇｓｔｅｅｎ塩基対形成をいい、そして用語「結合」は、２つのポリペプチドまたは化合物または関連ポリペプチドまたは化合物またはその組合せ間の物理的または化学的相互作用を意味する。結合は、イオン性、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、別のポリペプチドまたは化合物を介するか、またはその効果に起因し得る。直接的結合は、別のポリペプチドもしくは化合物を介して、またはその効果に起因して生じない、その他の実質的な化学的中間体がない相互作用をいう。

【０２２７】

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に十分な長さ）として規定され、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によってかのいずれかでネイティブな化合物から形成される核酸配列またはアミノ酸配列である。アナログは、ネイティブな化合物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。ホモログは、異なる種由来の特定の遺伝子の核酸配列またはアミノ酸配列である。

【０２２８】

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に比較した場合（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％、または９５％の同一性（好ましい同一性は、８０～９５％）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。

【０２２９】

「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、ＧＰＣＲＸ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（脊椎動物が挙げられるが、これに限定されず、従って、例えば、カエル、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ＧＰＣＲＸ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、相同的ヌクレオチド配列は、ヒトＧＰＣＲＸタンパク質をコードする正確なヌクレオチド配列を含まない。相同核酸配列は、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２の保存的アミノ酸置換（以下を参照のこと）、およびＧＰＣＲＸ生物学的活性を保有するポリペプチドをコードする核酸配列を含む。ＧＰＣＲＸタンパク質の種々の生物学的活性は以下に記載されている。

【０２３０】

ＧＰＣＲＸポリペプチドは、ＧＰＣＲＸ核酸のオープンリーディングフレーム（「ＯＲＦ」）によりコードされる。ＯＲＦは、ポリペプチドに潜在的に翻訳され得るヌクレオチド配列に対応する。ＯＲＦを含む核酸のストレッチは、終止コドンによって途切れない。全タンパク質についてのコード配列を表すＯＲＦは、

ＡＴＧ「開始」コドンで始まり、そして３つの「終止」コドン（すなわち、ＴＡＡ、ＴＡＧ、またはＴＧＡ）のうちの１つで終結する。本発明の目的で、ＯＲＦは、開始コドン、終止コドンまたはその両方を有するかまたは有さない、コード配列の任意の部分であり得る。ｂｏｎａ　ｆｉｄｅ細胞タンパク質をコードするための良好な候補としてみなされるＯＲＦについて、最小サイズの要求がしばしば、例えば、５０アミノ酸以上のタンパク質をコードするＤＮＡのストレッチを設定する。

【０２３１】

ヒトＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸホモログ、ならびに他の脊椎動物由来のＧＰＣＲＸホモログを同定および／またはクローニング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１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２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個の連続するセンス鎖ヌクレオチド配列；または配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２のアンチセンス鎖ヌクレオチド配列；あるいは配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２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。

【０２３２】

ヒトＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸをコードする核酸のレベルを測定すること（例えば、ＧＰＣＲＸ　ｍＲＮＡレベルを検出すること、またはゲノムＧＰＣＲＸ遺伝子が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。

【０２３３】

「ＧＰＣＲＸポリペプチドの生物学的に活性な部分を有するポリペプチド」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。「ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸの生物学的活性（ＧＰＣＲＸタンパク質の生物学的活性は、以下に記載される）を有するポリペプチドをコードする、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２の一部を単離し、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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。

【０２３４】

（ＧＰＣＲＸ核酸およびポリペプチドの改変体）

本発明はさらに、遺伝コードの縮重に起因して、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２に示されるヌクレオチド配列とは異なる核酸分子を包含し、従って、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２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ＧＰＣＲＸ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２、４、６、８、１０、１２、１７、１９、２１、２３、２５、２９、３１、３３、３５、３７、および８３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。

【０２３５】

配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２に示されるＧＰＣＲＸヌクレオチド配列に加えて、このＧＰＣＲＸポリペプチド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。ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸタンパク質、好ましくは脊椎動物のＧＰＣＲＸ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（ＯＲＦ）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、ＧＰＣＲＸ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、そしてこのＧＰＣＲＸポリペプチドの機能的活性を変化させない、ＧＰＣＲＸポリペプチド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。

【０２３６】

さらに、他の種由来のＧＰＣＲＸタンパク質をコードし、従って、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２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は、本発明の範囲内にあることが意図される。本発明のＧＰＣＲＸ　ｃＤＮＡの天然の対立遺伝子改変体およびホモログに対応する核酸分子は、本明細書中に開示されるヒトＧＰＣＲＸ核酸に対するその相同性に基づいて、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件

下で、標準的なハイブリダイゼーション技術に従うハイブリダイゼーションプローブとしてヒトｃＤＮＡまたはその一部を用いて単離され得る。

【０２３７】

従って、別の実施形態では、本発明の単離された核酸分子は、少なくとも６ヌクレオチド長であり、そしてストリンジェントな条件下で配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２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、少なくとも１０、２５、５０、１００、２５０、５００、７５０、１０００、１５００もしくは２０００またはそれより多くのヌクレオチド長である。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。本明細書中で用いられる場合、用語「ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする」とは、ハイブリダイゼーションおよび洗浄に関して、互いに少なくとも６０％相同なヌクレオチド配列が代表的に互いにハイブリダイズしたままである条件を記載することを意図する。

【０２３８】

ホモログ（すなわち、ヒト以外の種由来のＧＰＣＲＸタンパク質をコードする核酸）または他の関連配列（例えば、パラログ（ｐａｒａｌｏｇ））は、特定のヒト配列の全てまたは一部をプローブとし、核酸ハイブリダイゼーションおよびクローニングに関して当該分野で周知の方法を使用して、低い、中程度の、または高いストリンジェンシーのハイブリダイゼーションによって入手され得る。

【０２３９】

本明細書で用いられる場合、語句「ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件」とは、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、より短い配列よりも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（Ｔｍ）より約５℃低いように選択される。この

Ｔｍ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、Ｔｍ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、脱安定化剤の添加で達成され得る。

【０２４０】

ストリンジェントな条件は、当業者に公知であり、そしてＡｕｓｕｂｅｌら（編）、ＣＵＲＲＥＮＴ ＰＲＯＴＯＣＯＬＳ ＩＮ ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ ＢＩＯＬＯＧＹ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｎ．Ｙ．（１９８９），６．３．１－６．３．６に見出され得る。好ましくは、この条件は、互いに少なくとも約６５％、約７０％、約７５％、約８５％、約９０％、約９５％、約９８％または約９９％相同な配列が、代表的には互いにハイブリダイズしたままであるような条件である。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の非限定的な例は、６×ＳＳＣ、５０ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ（ｐＨ７．５）、１ｍＭ ＥＤＴＡ、０．０２％ ＰＶＰ、０．０２％ Ｆｉｃｏｌｌ、０．０２％ ＢＳＡ、および５００ｍｇ／ｍｌ変性サケ精子ＤＮＡを含む高塩緩衝液中での６５℃でのハイブリダイゼーション、続いて、０．２×ＳＳＣ、０．０１％ ＢＳＡ中での５０℃での１回以上の洗浄である。ストリンジェントな条件下で配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２の配列に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対応する。本明細書中で使用される場合、「天然に存在する」核酸分子とは、天然に存在する（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分子またはＤＮＡ分子をいう。

【０２４１】

第２の実施形態では、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２のヌクレオチド配列またはそれらのフラグメント、アナログもしくは誘導体を含む核酸分子に、中程度のストリンジェンシー条件下でハイブリダイズし得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限定的な例は、５５℃での６×ＳＳＣ、５×デンハルト溶液、０．５％　ＳＤＳおよび１００ｍｇ／ｍｌ変性サケ精子ＤＮＡ中でのハイブリダイゼーション、続いて１×ＳＳＣ、０．１％　ＳＤＳ中での３７℃での１回以上の洗浄である。用いられ得る中程度のストリンジェンシーの他の条件は、当該分野で周知である。例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら（編），１９９３，ＣＵＲＲＥＮＴ　ＰＲＯＴＯＣＯＬＳ　ＩＮ　ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ　ＢＩＯＬＯＧＹ，Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　＆　Ｓｏｎｓ，ＮＹおよびＫｒｉｅｇｌｅｒ，１９９０；ＧＥＮＥ　ＴＲＡＮＳＦＥＲ　ＡＮＤ　ＥＸＰＲＥＳＳＩＯＮ，Ａ　ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＹ　ＭＡＮＵＡＬ，Ｓｔｏｃｋｔｏｎ　Ｐｒｅｓｓ，ＮＹを参照のこと。

【０２４２】

第３の実施形態では、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２のヌクレオチド配列、またはそれらのフラグメント、アナログもしくは誘導体を含む核酸分子に、低ストリンジェンシー条件下でハイブリダイズする核酸が提供される。低ストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件の非限定的な例は、３５％ホルムアミド、５×ＳＳＣ、５０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ（ｐＨ７．５）、５ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．０２％　ＰＶＰ、０．０２％　Ｆｉｃｏｌｌ、０．２％　ＢＳＡ、１００ｍｇ／ｍｌの変性サケ精子ＤＮＡ、１０％（重量／容量）硫酸デキストラン中での４０℃でのハイブリダイゼーション、続いて２×ＳＳＣ、２５ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ（ｐＨ７．４）、５ｍＭ　ＥＤＴＡおよび０．１％　ＳＤＳ中、５０℃での１回以上の洗浄である。用いられ得る低ストリンジェンシーの他の条件は、当該分野で周知である（例えば

、種交差ハイブリダイゼーションについて用いられるように）。例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら（編），１９９３，ＣＵＲＲＥＮＴ ＰＲＯＴＯＣＯＬＳ ＩＮ ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ ＢＩＯＬＯＧＹ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，ＮＹならびに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。

【０２４３】

（保存的変異）

集団中に存在し得る、ＧＰＣＲＸ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、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２のヌクレオチド配列への変異によって変化が導入され得、それによって、ＧＰＣＲＸタンパク質の機能的能力を変更することなく、コードされるＧＰＣＲＸタンパク質のアミノ酸配列に変化がもたらされることをさらに理解する。例えば、「非必須」アミノ酸残基にてアミノ酸置換をもたらすヌクレオチド置換は、配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３の配列において行われ得る。「非必須」アミノ酸残基は、その生物学的活性を変更することなく、ＧＰＣＲＸの野生型配列から、変更され得る残基であり、一方、「必須」アミノ酸残基は、そのような生物学的活性に必要とされる。例えば、本発明のＧＰＣＲＸタンパク質の間で保存されているアミノ酸残基は、特に変更を受け入れ難いと予測される。保存的置換が作製され得るアミノ酸は、当該分野で周知である。

【０２４４】

本発明の別の局面は、活性に必須ではないアミノ酸残基の変化を含む、ＧＰＣＲＸタンパク質をコードする核酸分子に関する。このようなＧＰＣＲＸタンパク質は、アミノ酸配列が、配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２

０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３とは異なるが、生物学的活性をなお保持する。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２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３のアミノ酸配列に少なくとも約４５％の相同性であるアミノ酸配列を含む。好ましくは、この核酸分子によってコードされるタンパク質は、配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３に少なくとも約６０％相同性であり；より好ましくは配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３に少なくとも約７０％相同性であり；さらにより好ましくは、配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３に少なくとも約８０％相同性であり；なおより好ましくは、配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３に少なくとも約９０％相同性であり；そして最も好ましくは配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３に少なくとも約９５％相同性である。

【０２４５】

配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３のタンパク質に相同なＧＰＣＲＸタンパク質をコードする単離された核酸分子は、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２のヌクレオチド配列に１以上のヌクレオチドの置換、付加または欠失を導入することにより作製され得、その結果、１以上のアミノ酸の置換、付加または欠失が、コードされるタンパク質に導入される。

【０２４６】

変異は、標準技術（例えば、部位特異的変異誘発およびＰＣＲ媒介変異誘発）によって配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３に導入され得る。好ましくは、保存的アミノ酸置換が、１以上の推定非必須アミノ酸残基にて作製される。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置換される、アミノ酸置換である。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当該分野で定義されている。これらのファミリーとしては、以下が挙げられる：塩基性側鎖を有するアミノ酸（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖を有するアミノ酸（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）、β分枝側鎖を有するアミノ酸（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）および芳香族側鎖を有するアミノ酸（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）。従って、ＧＰＣＲＸタンパク質中の推定された非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖のファミリー由来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、ＧＰＣＲＸコード配列の全てまたは一部に沿って（例えば、飽和変異誘発（ｓａｔｕｒａｔｉｏｎ　ｍｕｔａｇｅｎｅｓｉｓ）によって）ランダムに導入され得、そして得られる変異体は、ＧＰＣＲＸの生物学的活性についてスクリーニングされて、活性を維持する変異体を同定し得る。配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２の変異誘発に続いて、コードされるタンパク質は、当該分野で公知の任意の組換え技術によって発現され得、そしてこのタンパク質の活性が決定され得る。

【０２４７】

アミノ酸ファミリーの関連性はまた、側鎖の相互作用に基づいて決定され得る。置換されたアミノ酸は、完全に保存された「強い」残基であるか、または完全

に保存された「弱い」置換であり得る。保存されたアミノ酸残基の「強い」群は、以下の群のうちのいずれか１つであり得る：ＳＴＡ、ＮＥＱＫ、ＮＨＱＫ、ＮＤＥＱ、ＱＨＲＫ、ＭＩＬＶ、ＭＩＬＦ、ＨＹ、ＦＹＷ（ここで、一文字アミノ酸コードが、互いに置換され得るアミノ酸によってグループ化されている）。同様に、保存された残基の「弱い」群は、以下のうちのいずれか１つであり得る：ＣＳＡ、ＡＴＶ、ＳＡＧ、ＳＴＮＫ、ＳＴＰＡ、ＳＧＮＤ、ＳＮＤＥＱＫ、ＮＤＥＱＨＫ、ＮＥＱＨＲＫ、ＶＬＩＭ、ＨＦＹ（ここで、各群内の文字が、一文字アミノ酸コードを示す）。

【０２４８】

１つの実施形態では、変異体ＧＰＣＲＸタンパク質は、以下についてアッセイされ得る：（１）他のＧＰＣＲＸタンパク質、他の細胞表面タンパク質、またはそれらの生物学的に活性な部分と、タンパク質：タンパク質相互作用を形成する能力、（２）変異体ＧＰＣＲＸタンパク質とＧＰＣＲＸのリガンドとの間の複合体形成；または（３）変異体ＧＰＣＲＸタンパク質が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能力；（例えば、アビジンタンパク質）。

【０２４９】

なお別の実施形態において、変異体ＧＰＣＲＸタンパク質は、特定の生物学的機能を調節する能力（例えば、インスリン放出の調節）についてアッセイされ得る。

【０２５０】

（アンチセンス核酸）

本発明の別の局面は、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２のヌクレオチド配列またはそのフラグメント、アナログもしくは誘導体を含む核酸分子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（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、少なくとも約１０、約２５、約５０、約１００、約２５０もしくは約５００ヌクレオチドまたは全体のＧＰＣＲＸコード鎖、またはそれらの一部のみに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２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３のＧＰＣＲＸタンパク質のフラグメント、ホモログ、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１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２のＧＰＣＲＸの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。

【０２５１】

１つの実施形態では、アンチセンス核酸分子は、ＧＰＣＲＸタンパク質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」に対してアンチセンスである。用語「コード領域」とは、アミノ酸残基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、ＧＰＣＲＸタンパク質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」に対してアンチセンスである。用語「非コード領域」とは、コード領域に隣接する、アミノ酸に翻訳されない、５’配列および３’配列をいう（すなわち、５’非翻訳領域および３’非翻訳領域ともいわれる）。

【０２５２】

本明細書中に開示されるＧＰＣＲＸタンパク質をコードするコード鎖配列を考慮すれば、本発明のアンチセンス核酸は、ＷａｔｓｏｎおよびＣｒｉｃｋまたはＨｏｏｇｓｔｅｅｎの塩基対形成の規則に従って設計され得る。アンチセンス核酸分子は、ＧＰＣＲＸ　ｍＲＮＡのコード領域全体に相補的であり得るが、より好ましくは、ＧＰＣＲＸ　ｍＲＮＡのコード領域または非コード領域の一部に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、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＧＰＣＲＸ　ｍＲＮＡの翻訳開始部位を取り囲む領域に相補的であり得る。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、例えば、長さが約５、約１０、約１５、約２０、約２５、約３０、約３５、約４０、約４５または約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て、化学合成または酵素連結反応を用いて構築され得る。例えば、アンチセンス核酸（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）は、天然に存在するヌクレオチド、またはこの分子の生物学的安定性を増大させるように、もしくはアンチセンス核酸とセンス核酸との間で形成される二重鎖の物理的安定性を増大させるように設計された種々に改変されたヌクレオチドを用いて化学的に合成され得る（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ヌクレオチドが用いられ得る）。

【０２５３】

アンチセンス核酸を作製するために用いられ得る改変されたヌクレオチドの例としては以下が挙げられる：５－フルオロウラシル、５－ブロモウラシル、５－クロロウラシル、５－ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、４－アセチルシトシン、５－（カルボキシヒドロキシメチル）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－ガラクトシルクエオシン（ｇａｌａｃｔｏｓｙｌｑｕｅｏｓｉｎｅ）、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－マンノシルクエオシン（ｍａｎｎｏｓｙｌｑｕｅｏｓｉｎｅ）、５’－メトキシカルボキシメチルウラシル、５－メトキシウラシル、２－メチルチオ－Ｎ６－イソペンテニルアデニン、ウラシル－５－オキシ酢酸（ｖ）、ワイブトキソシン、シュードウラシル、クエオシン（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、（ａｃｐ３）ｗ、および２，６－ジアミノプリン。あるいは、このアンチセンス核酸は、核酸がアンチセンス方向でサブクローニングされた発現ベクターを用いて

生物学的に生成され得る（すなわち、挿入された核酸から転写されたＲＮＡは、以下の小節にさらに記載される、目的の標的核酸に対してアンチセンス方向である）。

【０２５４】

本発明のアンチセンス核酸分子は、代表的には被験体に投与されるか、またはインサイチュで生成され、その結果それらは、ＧＰＣＲＸタンパク質をコードする細胞性ｍＲＮＡおよび／またはゲノムＤＮＡとハイブリダイズするか、またはそれに結合し、それによってこのタンパク質の発現を（例えば転写および／または翻訳を阻害することによって）阻害する。ハイブリダイゼーションは、安定な二重鎖を形成する従来のヌクレオチド相補性によってか、または例えばＤＮＡ二重鎖に結合するアンチセンス核酸分子の場合には、二重らせんの主溝における特異的相互作用を介してであり得る。本発明のアンチセンス核酸分子の投与経路の例としては、組織部位での直接的注射が挙げられる。あるいは、アンチセンス核酸分子は、選択された細胞を標的化するように改変され得、次いで全身に投与される。例えば、全身投与のために、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（これは、例えば、そ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）。アンチセンス核酸分子はまた、本明細書中に記載されるベクターを用いて細胞に送達され得る。十分な核酸分子を達成するために、アンチセンス核酸分子が強力なｐｏｌ　ＩＩプロモーターまたはｐｏｌ　ＩＩＩプロモーターの制御下に置かれているベクター構築物が、好ましい。

【０２５５】

なお別の実施形態において、本発明のアンチセンス核酸分子は、α－アノマー核酸分子である。α－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（ここで、通常のβ－ユニットとは対照的に、鎖は、互いに平行に走行する）を形成する。例えば、Ｇａｕｌｔｉｅｒら（１９８７）Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．１５：６６２５～６６４１を参照のこと。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（例えば、Ｉｎｏｕｅら、（１

９８７）Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．１５：６１３１～６１４８を参照のこと）またはキメラＲＮＡ－ＤＮＡアナログ（例えば、Ｉｎｏｕｅら（１９８７）ＦＥＢＳ　Ｌｅｔｔ．２１５：３２７～３３０を参照のこと）を含み得る。

【０２５６】

（リボザイムおよびＰＮＡ部分）

核酸の改変としては、改変塩基およびその糖リン酸骨格が改変もしくは誘導体化された核酸が挙げられるが、これらに限定されない。これらの改変は、少なくとも一部分、改変される核酸の化学的安定性を増強するために実行され、その結果、この改変された核酸は、例えば、被験体の治療適用においてアンチセンス結合核酸として使用され得る。

【０２５７】

１つ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、一本鎖核酸（例えば、ｍＲＮＡ）を切断し得るリボヌクレアーゼ活性を有する触媒性ＲＮＡ分子であり、これらは、その一本鎖核酸に対して相補領域を有する。従って、リボザイム（例えば、ハンマーヘッド型リボザイム（ＨａｓｅｌｈｏｆｆおよびＧｅｒｌａｃｈ（１９８８）Ｎａｔｕｒｅ　３３４：５８５～５９１に記載される））を使用して、ＧＰＣＲＸ　ｍＲＮＡ転写物を触媒的に切断し、それによってＧＰＣＲＸ　ｍＲＮＡの翻訳を阻害し得る。ＧＰＣＲＸをコードする核酸に特異性を有するリボザイムは、本明細書中に開示されるＧＰＣＲＸ　ｃＤＮＡのヌクレオチド配列（すなわち、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２）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、ＧＰＣＲＸをコードするｍＲＮＡ内で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。ＧＰＣＲＸ　ｍＲＮＡをまた使用して、ＲＮＡ分子のプールから、特異的なリボヌクレアーゼ活性を有する触媒性ＲＮＡを選択し得る。例えば、Ｂａｒｔｅｌら（１９９３）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２６１：１４１１～１４１８を参照のこと。

【０２５８】

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

【０２５９】

種々の実施形態において、ＧＰＣＲＸ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。例えば、Ｈｙｒｕｐら（１９９６）ＢｉｏｏｒｇＭｅｄ 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 ９３：１４６７０～６７５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。

【０２６０】

ＧＰＣＲＸ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、例えば転写また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。ＧＰＣＲＸのＰＮＡはまた、遺伝子における一塩基対変異の分析（例えばＰＮＡ指向性ＰＣＲクランピング）において；他の酵素

（例えば、S_1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ら（１９９６）上記）；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）上記；Ｐｅｒｒｙ－Ｏ’Ｋｅｅｆｅ（１９９６）、上記）、使用され得る。

【０２６１】

別の実施形態において、ＧＰＣＲＸ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に脂溶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、またはリポ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、ＧＰＣＲＸ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、ＲＮａｓｅＨ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ら（１９９６）上記を参照のこと）。ＰＮＡ－ＤＮＡキメラの合成は、Ｈｙｒｕｐら（１９９６）上記およびＦｉｎｎら（１９９６）Ｎｕｃｌ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ ２４：３３５７～６３において記載されるように行われ得る。例えば、ＤＮＡ鎖は、標準的なホスホラ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－チミジンホスホラミダイト）が、ＰＮＡとＤＮＡの５’末端との間に使用され得る。例えば、Ｍａｇら（１９８９）Ｎｕｃｌ Ａｃｉｄ Ｒｅｓ １７：５９７３～５９８８を参照のこと。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。例えば、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．５：１１１９～１１２４を参照のこと。

【０２６２】

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）、または血液脳関門を横切る輸送を容易にする因子（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。

【０２６３】

（ＧＰＣＲＸポリペプチド）

本発明のＧＰＣＲＸポリペプチドは、その配列が配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３に提供されるＧＰＣＲＸ様タンパク質を含む。本発明はまた、そのＧＰＣＲＸ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なおコードするが、その任意の残基が配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１、および８３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。

【０２６４】

一般に、ＧＰＣＲＸ様機能を保持するＧＰＣＲＸ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た任意の改変体を含み、そしてさらに、親タンパク質の２つの残基の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。任意のアミノ酸の置換、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、上記で規定されるような保存的置換である。

【０２６５】

本発明の１つの局面は、単離されたＧＰＣＲＸタンパク質、およびその生物学的に活性な部分、またはそれらの誘導体、フラグメント、アナログもしくはホモログに関する。抗ＧＰＣＲＸ抗体を惹起するための免疫原としての使用のために適切なポリペプチドフラグメントもまた提供される。１つの実施形態において、ネイティブなＧＰＣＲＸタンパク質は、標準的なタンパク質精製技術を用いる適切な精製スキームによって、細胞または組織供給源から単離され得る。別の実施形態において、ＧＰＣＲＸタンパク質は、組換えＤＮＡ技術によって産生される。組換え発現に代わるものとして、ＧＰＣＲＸ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術を用いて化学合成され得る。

【０２６６】

「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あるいはそれらの生物学的に活性な部分は、ＧＰＣＲＸ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も他の夾雑タンパク質も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も他の化学物質も実質的に含まない。用語「細胞性物質を実質的に含まない」は、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸタンパク質が分離されている、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸタンパク質を約２０％未満、なおより好ましくは非ＧＰＣＲＸタンパク質を約１０％未満、そして最も好ましくは非ＧＰＣＲＸタンパク質を約５％未満有する、ＧＰＣＲＸタンパク質の調製物を含む。ＧＰＣＲＸ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、調製物はまた好ましくは、培養培地を実質的に含まない。すなわち、培養培地は、ＧＰＣＲＸ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％未満に相当する。

【０２６７】

用語「化学前駆体も他の化学物質も実質的に含まない」は、ＧＰＣＲＸタンパク質が、そのタンパク質の合成に関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ＧＰＣＲＸ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「化学前駆体も他の化学物質も実質的に含まない」は、化学前駆体または非ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ化学物質を約５％未満有する、ＧＰＣＲＸタンパク質の調製物を含む。

【０２６８】

ＧＰＣＲＸタンパク質の生物学的に活性な部分は、全長ＧＰＣＲＸタンパク質よりも少ないアミノ酸を含み、そしてＧＰＣＲＸタンパク質の少なくとも１つの活性を示す、ＧＰＣＲＸタンパク質のアミノ酸配列（例えば、配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１および８３に示されるアミノ酸配列）に十分に相同なアミノ酸配列、またはＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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。ＧＰＣＲＸ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残基であるポリペプチドであり得る。

【０２６９】

さらに、この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ＧＰＣＲＸ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。

【０２７０】

１つの実施形態において、ＧＰＣＲＸタンパク質は、配列番号２、５、７、９

、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１および８３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、ＧＰＣＲＸタンパク質は、配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１および８３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体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２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１および８３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、ＧＰＣＲＸタンパク質は、配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１および８３のアミノ酸配列に少なくとも約４５％相同なアミノ酸配列を含み、そして、配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１および８３のＧＰＣＲＸタンパク質の機能的活性を保持するタンパク質である。

【０２７１】

（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、最適な比較の目的のために整列される（例えば、ギャップは、第２のアミノ酸または核酸配列との最適な整列のために、第１のアミノ酸または核酸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、その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）。

【０２７２】

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１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２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％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％または９９％の同一性の程度を示す。

【０２７３】

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「配列同一性の百分率」は、以下により算出される：最適に整列された２つの配列をこの比較領域にわたって比較すること、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て、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、配列同一性の百分率を導くこと。用語「実質的同一性」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。

【０２７４】

（キメラタンパク質および融合タンパク質）

本発明はまた、ＧＰＣＲＸの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、ＧＰＣＲＸ「キメラタンパク質」またはＧＰＣＲＸ「融合タンパク質」は、非ＧＰＣＲＸポリペプチドに作動可能に連結され

た、ＧＰＣＲＸポリペプチドを含む。「ＧＰＣＲＸポリペプチド」は、ＧＰＣＲＸタンパク質（配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１および８３）に対応するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいい、一方、「非ＧＰＣＲＸポリペプチド」は、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸタンパク質とは異なり、かつ同一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。ＧＰＣＲＸ融合タンパク質において、このＧＰＣＲＸポリペプチドは、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ融合タンパク質は、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ融合タンパク質は、ＧＰＣＲＸ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。なお別の実施形態において、ＧＰＣＲＸ融合タンパク質は、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸポリペプチドおよび非ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸポリペプチドは、ＧＰＣＲＸポリペプチドのＮ末端またはＣ末端に融合され得る。

【０２７５】

１つの実施形態においては、この融合タンパク質は、ＧＰＣＲＸ配列がＧＳＴ（グルタチオンＳ－トランスフェラーゼ）配列のＣ末端に融合されている、ＧＳＴ－ＧＰＣＲＸ融合タンパク質である。このような融合タンパク質は、組換えＧＰＣＲＸポリペプチドの精製を容易にし得る。

【０２７６】

別の実施形態において、この融合タンパク質は、Ｎ末端に異種シグナル配列を含むＧＰＣＲＸ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）において、ＧＰＣＲＸの発現および／または分泌は、異種シグナル配列の使用を介して増大し得る。

【０２７７】

なお別の実施形態において、この融合タンパク質は、ＧＰＣＲＸ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ている、ＧＰＣＲＸ－免疫グロブリン融合タンパク質である。本発明のこのＧＰＣＲＸ－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ＧＰＣＲＸリガントとＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ媒介シグナル伝達を抑制し得る。このＧＰＣＲＸ－免疫グロブリン融合タンパク質を用い、ＧＰＣＲＸ同族リガンドの生物学的利用能に影響を与え得る。ＧＰＣＲＸリガンド／ＧＰＣＲＸ相互作用の阻害は、増殖障害および分化障害の両方の処置、ならびに細胞生存を調節（例えば、促進または阻害）することに、治療的に有用であり得る。さらに、本発明のこのＧＰＣＲＸ－免疫グロブリン融合タンパク質は、被験体中で抗ＧＰＣＲＸ抗体を産生するための免疫原として、ＧＰＣＲＸリガンドを精製するために、およびＧＰＣＲＸリガンドとのＧＰＣＲＸ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において用いられ得る。

【０２７８】

本発明のＧＰＣＲＸのキメラタンパク質または融合タンパク質は、標準的な組換えＤＮＡ技術により産生され得る。例えば、異なるポリペプチド配列をコードするＤＮＡフラグメントは、従来の技術に従って、例えば、連結のための平滑末端または粘着（ｓｔａｇｇｅｒ）末端、適切な末端を提供するための制限酵素消化、必要に応じて粘着（ｃｏｈｅｓｉｖｅ）末端のフィルイン、所望しない連結を避けるためのアルカリホスファターゼ処理、および酵素的連結を用いることにより、インフレームで一緒に連結される。別の実施形態では、融合遺伝子は、自動化ＤＮＡ合成機を含む従来技術により合成され得る。あるいは、遺伝子フラグメントのＰＣＲ増幅は、キメラ遺伝子配列を生成するために次いでアニールおよび再増幅され得る、２つの連続遺伝子フラグメント間の相補的突出部を生じるアンカープライマーを用いて実施され得る（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。ＧＰＣＲＸをコードする核酸は、この融合成分がＧＰＣＲＸタンパク質にインフレームで連結されるように、このような発現ベクター中にクローン化され得る。

【０２７９】

（ＧＰＣＲＸのアゴニストおよびアンタゴニスト）

本発明はまた、ＧＰＣＲＸアゴニスト（すなわち、模倣物）またはＧＰＣＲＸアンタゴニストのいずれかとして機能するＧＰＣＲＸタンパク質の改変体に関する。ＧＰＣＲＸタンパク質の改変体は、変異誘発（例えば、ＧＰＣＲＸタンパク質の別々の点変異または短縮化）により生成され得る。ＧＰＣＲＸタンパク質のアゴニストは、天然に存在する形態のＧＰＣＲＸ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。ＧＰＣＲＸタンパク質のアンタゴニストは、天然に存在する形態のＧＰＣＲＸタンパク質の１つ以上の活性を、例えば、ＧＰＣＲＸ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の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的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、被験体において、ＧＰＣＲＸタンパク質の天然に存在する形態を用いた処置と比較して、より少ない副作用を有する。

【０２８０】

ＧＰＣＲＸアゴニスト（すなわち、模倣物）またはＧＰＣＲＸアンタゴニストのいずれかとして機能するＧＰＣＲＸタンパク質の改変体は、ＧＰＣＲＸタンパク質のアゴニスト活性またはアンタゴニスト活性について、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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。ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ配列の縮重セットが、個々のポリペプチドとして、あるいは、その中

にＧＰＣＲＸ配列のセットを含む（例えば、ファージディスプレイのための）より大きな融合タンパク質のセットとして発現可能であるように、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ＧＰＣＲＸ改変体のライブラリーを産生するために用いられ得る種々の方法がある。縮重遺伝子配列の化学的合成は、自動ＤＮＡ合成機中で実施され得、次いでこの合成遺伝子は、適切な発現ベクター中に連結される。遺伝子の縮重セットの使用は、１つの混合物において、潜在的なＧＰＣＲＸ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ための方法は当該分野で周知である。例えば、Ｎａｒａｎｇ，１９８３．Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ　３９：３；Ｉｔａｋｕｒａら，１９８４．Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．５３：３２３；Ｉｔａｋｕｒａら，１９８４．Ｓｃｉｅｎｃｅ　１９８：１０５６；Ｉｋｅら，１９８３．Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．１１：４７７を参照のこと。

【０２８１】

（ポリペプチドライブラリー）

さらに、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸタンパク質の改変体のスクリーニングおよび引き続く選択のためのＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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回のみのニック形成が生じる条件下、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、このＤＮＡを再生させて、異なるニック産物からセンス／アンチセンス対を含み得る二本鎖ＤＮＡを形成すること、S_1ヌクレアーゼを用いた処理により再形成された二重鎖から一本鎖部分を除去すること、および得られるフラグメントライブラリーを発現ベクター中に連結することにより生成され得る。この方法により、ＧＰＣＲＸタンパク質の種々のサイズのＮ末端フラグメント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誘導され得る。

【０２８２】

点変異または短縮化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、および選択された性質を有する遺伝子産物についてｃＤＮＡライブラリーをスクリーニングするための種々の技術が当該分野で公知である。このような技術を、ＧＰＣＲＸタンパク質のコンビナトリアル変異誘発により生成された遺伝子ライブラリーの迅速スクリーニングに適用可能である。大きな遺伝子ライブラリーをスクリーニングするための、高スループット分析に適した最も広く用いられる技術は、代表的には、遺伝子ライブラリーを複製可能な発現ベクター中にクローニングすること、得られるベクターのライブラリーで適切な細胞を形質転換すること、およびこのコンビナトリアル遺伝子を、所望の活性の検出が、その産物が検出された遺伝子をコードするベクターの単離を容易にする条件下で発現することを含む。ライブラリー中の機能的変異体の頻度を増大させる新規技術である反復集団変異誘発（ＲＥＭ）を、スクリーニングアッセイと組み合わせて用いて、ＧＰＣＲＸ改変体を同定し得る。例えば、ＡｒｋｉｎおよびＹｏｕｒｖａｎ，１９９２．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８９：７８１１－７８１５；Ｄｅｌｇｒａｖｅら，１９９３．Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ　６：３２７－３３１を参照のこと。

【０２８３】

（抗ＧＰＣＲＸ抗体）

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

【０２８４】

単離されたＧＰＣＲＸタンパク質、またはその部分もしくはフラグメントは、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体の調製のための標準的な技術を用いて、ＧＰＣＲＸ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用いられ得る。完全長のＧＰＣＲＸタンパク質が用いられ得るが、あるいは、本発明は、免疫原として使用するためのＧＰＣＲＸタンパク質の抗原性ペプチドフラグメントを提供する。ＧＰＣＲＸの抗原性ペプチドは、配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１および８３で示されるアミノ酸配列の少なくと

も４アミノ酸残基を含み、そしてこのペプチドに対して惹起された抗体がＧＰＣＲＸと特異的な免疫複合体を形成するように、ＧＰＣＲＸのエピトープを含む。好ましくは、この抗原性ペプチドは、少なくとも６、８、１０、１５、２０、または３０個のアミノ酸残基を含む。より長い抗原性ペプチドが、用途に依存して、そして当業者に周知の方法に従い、より短い抗原性ペプチドよりもしばしば好適である。

【０２８５】

本発明の特定の実施形態では、抗原性ペプチドに含まれる少なくとも１つのエピトープは、タンパク質の表面上に位置するＧＰＣＲＸの領域（例えば、親水性領域）である。抗体産生を標的にする手段として、親水性および疎水性の領域を示すヒドロパシープロットは、例えば、フーリエ変換を伴うかまたは伴わない、Ｋｙｔｅ　Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅ法またはＨｏｐｐ　Ｗｏｏｄｓ法を含む、当該分野で周知の任意の方法により生成され得る（例えば、それらの全体が本明細書に参考として各々援用される、ＨｏｐｐおよびＷｏｏｄｓ、１９８１、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　７８：３８２４－３８２８；ＫｙｔｅおよびＤｏｏｌｉｔｔｌｅ　１９８２、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５７：１０５－１４２を参照のこと）。この各々が、それらの全体において、本明細書中で参考として援用される。

【０２８６】

本明細書で開示されるように、配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１および８３のＧＰＣＲＸ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成分に免疫特異的に結合する抗体の産生において免疫原として利用され得る。本明細書で用いられる用語「抗体」は、免疫グロブリン分子、および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、すなわち、ＧＰＣＲＸのような抗原に特異的に結合（免疫反応）する抗原結合部位を含む分子をいう。このような抗体としては、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、単鎖抗体、$Ｆ_{ab}$および$Ｆ_{(ab')2}$フラグメント、および$Ｆ_{ab}$発現ライブラリーが挙げられるがこれらに限定され

ない。特定の実施形態では、ヒトＧＰＣＲＸ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、配列番号２、５、７、９、１１、１３、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、３６、３８、４０、４２、８１および８３のＧＰＣＲＸ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に対するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体の産生のために用いられ得る。これらのタンパク質のいくつかを以下で論議する。

【０２８７】

ポリクローナル抗体の産生のために、種々の適切な宿主動物（例えば、ウサギ、ヤギ、マウスまたはその他の哺乳動物）が、ネイティブタンパク質、またはその合成改変体、または前述の誘導体での注射により免疫され得る。適切な免疫原性調製物は、例えば、組換えにより発現されたＧＰＣＲＸタンパク質または化学的に合成されたＧＰＣＲＸポリペプチドを含有し得る。この調製物は、アジュバントをさらに含み得る。免疫学的応答を増大させるために用いられる種々のアジュバントとしては、フロイントのアジュバント（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、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、オイルエマルジョン、ジニトロフェノールなど）、カルメットゲラン桿菌およびＣｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉｕｍ　ｐａｒｖumのようなヒトアジュバント、または類似の免疫刺激剤が挙げられるがこれらに限定されない。所望であれば、ＧＰＣＲＸに対する抗体分子は、哺乳動物（例えば、血液）から単離され、そしてさらに、プロテインＡクロマトグラフィーのような、周知の技術により精製されて、ＩｇＧ画分が入手され得る。

【０２８８】

本明細書で用いられる用語「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」は、ＧＰＣＲＸの特定のエピトープと免疫反応し得る、１種類の抗原結合部位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、免疫反応する特定のＧＰＣＲＸタンパク質に対し、単一の結合親和性を示す。特定のＧＰＣＲＸ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には、継続的な細胞株培養による抗体分子の産生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、ハイブリドーマ技術（例えば、Ｋｏｈｌｅｒ&Ｍｉｌｓｔｅｉｎ、１９７５．Ｎａｔｕｒｅ　２５６：４９５－４９７を参照のこと）；トリオーマ（ｔｒｉｏｍａ）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産生するための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）が挙げられるがこれらに限定されない。ヒトモノクローナル抗体は、本発明の実施において利用され得、そしてヒトハイブリドーマを用いることによるか（例えば、Ｃｏｔｅら、１９８３．Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ　８０：２０２６－２０３０を参照のこと）、またはインビトロでヒトB細胞をエプスタイン－バーウイルスで形質転換することにより（例えば、Ｃｏｌｅら、１９８５．ＭＯＮＯＣＬＯＮＡＬ　ＡＮＴＩＢＯＤＩＥＳ　ＡＮＤ　ＣＡＮＣＥＲ　ＴＨＥＲＡＰＹ、Ａｌａｎ　Ｒ．Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ．７７－９６頁を参照のこと）産生され得る。上記の引用物の各々は、それらの全体が参考として本明細書に援用される。

【０２８９】

本発明によれば、技術は、ＧＰＣＲＸタンパク質に特異的な単鎖抗体の産生のために適合され得る（例えば、米国特許第４，９４６，７７８号を参照のこと）。さらに、方法は、F_{ab}発現ライブラリー（例えば、Ｈｕｓｅら、１９８９．Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４６：１２７５－１２８１を参照のこと）の構築のために適合されて、ＧＰＣＲＸ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所望の特異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有効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。ＧＰＣＲＸ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を、当該分野で公知の技術により産生し得、このフラグメントとして以下が挙げ

られるがこれらに限定されない：（ｉ）抗体分子のペプシン消化により産生されるＦ$_{(ab')_2}$フラグメント；（ｉｉ）Ｆ$_{(ab')_2}$フラグメントのジスルフィド架橋を還元することにより産生されるＦ$_{ab}$フラグメント；（ｉｉｉ）抗体分子のパパインおよび還元剤での処理により産生されるＦ$_{ab}$フラグメント；ならびに（ｉｖ）Ｆ$_{v}$フラグメントが含まれる。

【０２９０】

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ＧＰＣＲＸ抗体（これらは、標準的な組換え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技術により産生され得る。この技術は例えば、以下に記載の方法を用いる：国際出願番号ＰＣＴ／ＵＳ８６／０２２６９；欧州特許出願番号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４，８１６，５６７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）ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　４：２１４；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。上記引用物の各々は、それらの全体が参考として本明細書中に援用される。

【０２９１】

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としては、酵素結合イムノソルベント検定法（ＥＬＩＳＡ）および当該分野内で公知の他の免疫学的に媒介された技術が挙げられるが、これに限定されない。特定の実施形態において、ＧＰＣＲＸ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択は、このようなドメインを保有しているＧＰＣＲＸ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。従って、ＧＰＣＲＸタンパク質、またはそれらの誘導体、フラグメント、アナログもしくはホモログ内の所望のドメインについて特異的である抗体もまた、本明細書において提供される。

【０２９２】

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

【０２９３】

抗ＧＰＣＲＸ抗体（例えば、モノクローナル抗体）は、標準的技術（例えばアフィニティークロマトグラフィまたは免疫沈降）によって、ＧＰＣＲＸポリペプチドを単離するために用いられ得る。抗ＧＰＣＲＸ抗体は、細胞からの天然のＧＰＣＲＸポリペプチドの精製、および宿主細胞において発現される組換え的に産生されたＧＰＣＲＸポリペプチドの精製を容易にし得る。さらに、抗ＧＰＣＲＸ抗体が、（例えば、細胞の溶解産物または細胞上清における）ＧＰＣＲＸタンパク質を検出するために用いられて、ＧＰＣＲＸタンパク質の発現の量およびパターンを評価し得る。抗ＧＰＣＲＸ抗体は、例えば、所定の治療レジメンの効力を決定するために、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

をモニターするために診断的に用いられ得る。検出は、抗体を検出可能物質に結合する（すなわち、物理的に連結する）ことにより容易にされ得る。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；適切な補欠分子族の例としては、ストレプトアビジン／ビオチンおよびアビジン／ビオチンが挙げられる；適切な蛍光物質の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミン（ｄｉｃｈｌｏｒｏｔｒｉａｚｉｎｙｌａｍｉｎｅ）フルオレセイン、ダンシルクロリドまたはフィコエリトリンが挙げられる；発光物質の例としては、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^{3}Ｈが挙げられる。

【０２９４】

（ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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、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、ここでは、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、およびエピソーム性哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム性哺乳動物ベクター）は、宿主細胞への導入の際、宿主細胞のゲノムに組み込まれ、そして、これにより宿主ゲノムとともに複製される。さらに、特定のベクターは、作動可能に連結されている遺伝子の発現を指示し得る。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技術において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。本明細書において、「プラスミド」および「ベクター」は、プラスミドが最も一般的に用いられる形態のベクターであるので、交換可能に使用され得る。しかし、本発明は、等価の機能を果たす、ウイルスベクター（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。

【０２９５】

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、発現に用いられる宿主細胞に基づいて選択された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において、「作動可能に連結する」とは、目的のヌクレオチド配列が、（例えば、インビトロの転写／翻訳系において、またはベクターが宿主細胞に導入される場合は、宿主細胞において）ヌクレオチド配列の発現を可能にする様式で調節配列に連結されることを意味することを意図する。

【０２９６】

用語「調節配列」は、プロモーター、エンハンサーおよび他の発現制御エレメント（例えば、ポリアデニル化シグナル）を含むことを意図する。このような調節配列は、例えば、Ｇｏｅｄｄｅｌ、ＧＥＮＥ　ＥＸＰＲＥＳＳＩＯＮ　ＴＥＣＨＮＯＬＯＧＹ：ＭＥＴＨＯＤＳ　ＩＮ　ＥＮＺＹＭＯＬＯＧＹ　１８５、Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、Ｃａｌｉｆ．（１９９０）に記載されている。調節配列は、多くの型の宿主細胞においてヌクレオチド配列の構成的発現を指示する配列、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示する配列（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は明白である。本発明の発現ベクターは、宿主細胞に導入されて、それにより、本明細書に記載される核酸によってコードされるタンパク質またはペプチド（融合タンパク質またはペプチドを含む）（例えば、ＧＰＣＲＸタンパク質、ＧＰＣＲＸタンパク質の変異形態、融合タン

パク質など）を産生し得る。

【０２９７】

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、ＧＰＣＲＸタンパク質発現のために設計され得る。例えば、ＧＰＣＲＸタンパク質は、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。

【０２９８】

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示する、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において実施される。融合ベクターは、そこにコードされるタンパク質に、通常、組換えタンパク質のアミノ末端に、多数のアミノ酸を付加する。このような融合ベクターは、代表的には、以下の３つの目的のために役立つ：（ｉ）組換えタンパク質の発現を増加させるため；（ｉｉ）組換えタンパク質の溶解性を増加させるため；および（ｉｉｉ）アフィニティー精製においてリガンドとして作用することによって組換えタンパク質の精製の際に補助するため。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、融合部分と組換えタンパク質との結合部に導入されて、融合タンパク質の精製の後に融合部分から組換えタンパク質を分離することを可能とする。このような酵素、およびその同族（ｃｏｇｎａｔｅ）の認識配列は、第Ｘａ因子、トロンビン、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、それぞれ、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を標的の組換えタンパク質に融合する、ｐＧＥＸ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ　Ｂｉｏｔｅ

ｃｈ Ｉｎｃ；SmithおよびＪｏｈｎｓｏｎ（１９８８）Ｇｅｎｅ ６７：３１－４０）、pMAL（New England Biolabs, Beverly, Mass.）およびpＲＩＴ５（Ｐｈａｒｍａｃｉａ, Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ, Ｎ．Ｊ．）が挙げられる。

【０２９９】

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

【０３００】

Ｅ．ｃｏｌｉにおける組換えタンパク質発現を最大化するための１つのストラテジーは、組換えタンパク質をタンパク質分解的に切断する能力を欠損し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、Ｅ．ｃｏｌｉにおいて優先的に利用されるコドンであるように発現ベクター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）Ｎｕｃｌ．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。

【０３０１】

別の実施形態において、ＧＰＣＲＸ発現ベクターは、酵母発現ベクターである。酵母Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｃｅｒｉｖｉｓａｅ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（Ｓｃｈｕ

ｌｔｚ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。

【０３０２】

あるいは、ＧＰＣＲＸは、バキュロウイルス発現ベクターを使用して、昆虫細胞中で発現され得る。培養昆虫細胞（例えば、ＳＦ９細胞）中でのタンパク質の発現のために利用可能なバキュロウイルスベクターには、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。

【０３０３】

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に適切な他の発現系については、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。

【０３０４】

別の実施形態において、組換え哺乳動物発現ベクターは、特定の細胞型中で優先的に核酸の発現を指示し得る（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）。組織特異的調節エレメントは、当該分野で公知である。適切な組織特異的なプロモーターの非限定的な例には、アルブミンプロモーター（肝臓特異的；Ｐｉｎｋｅｒｔら，１９８７．Ｇｅｎｅｓ　Ｄｅｖ．１：２６８－２７７）、リンパ特異的プロモーター（ＣａｌａｍｅおよびＥａｔｏｎ、１９８８．Ａｄｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．４３：２３５－２７５）、特にT細胞レセプターの特定のプロモーター（ＷｉｎｏｔｏおよびＢａｌｔｉｍｏｒｅ、１９８９．ＥＭＢＯ　Ｊ．８：７２９－７３３）および免疫グロブリンの特定のプロモーター（Ｂａｎｅｒｊｉら、１９８３．Ｃｅｌｌ　３３：７２９－７４０；ＱｕｅｅｎおよびＢａｌｔｉｍｏｒｅ、１９８３．Ｃｅｌｌ　３３：７４１－７４８）、ニューロン特異的プロモーター（例えば、神経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）、膵臓特異的プロモーター（Ｅｄｌｕｎｄら、１９８５．Ｓｃｉｅｎｃｅ　２３０：９１２－９１６）、ならびに乳腺特異的プロモーター（例えば、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。発達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ｈｏｘプロモーター（ＫｅｓｓｅｌおよびＧｒｕｓｓ、１９９０．Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４９：３７４－３７９）およびα－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）。

【０３０５】

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、ＧＰＣＲＸ　ｍＲＮＡに対してアンチセンスであるＲＮＡ分子の発現を（ＤＮＡ分子の転写によって）可能にする様式で調節配列に作動可能に連結される。種々の細胞型においてアンチセンスＲＮＡ分子の持続的な発現を指示する、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た調節配列（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、アンチセンスＲＮＡの構成的発現、組織特異的発現、または細胞型特異的発現を指示する調節配列が、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考察については、例えば、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。

【０３０６】

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、特定の被験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もいうことが理解される。変異または環境の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、実際には、親の細胞と同一でないかもしれないが、なおも、本明細書中で使用される場合のこの用語の範囲内に含まれる。

【０３０７】

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、ＧＰＣＲＸタンパク質は、細菌細胞（例えば、Ｅ．ｃｏｌｉ）、昆虫細胞、酵母または哺乳動物細胞（例えば、チャイニーズハムスター卵巣細胞（ＣＨＯ）またはＣＯＳ細胞）において発現され得る。他の適切な宿主細胞は、当業者に公知である。

【０３０８】

ベクターＤＮＡは、従来の形質転換またはトランスフェクション技術を介して原核生物細胞または真核生物細胞に導入され得る。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に当該分野で認識されてい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、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。

【０３０９】

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、ＧＰＣＲＸ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するが、他の細胞は死滅する）。

【０３１０】

本発明の宿主細胞（例えば、培養中の原核生物宿主細胞および真核生物宿主細胞）は、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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、この方法は、ＧＰＣＲＸタンパク質が産生されるような適切な培地中で、本発明の宿主細胞（ここに、ＧＰＣＲＸタンパク質をコードする組換え発現ベクターが導入されている）を培養する工程を包含する。別の実施形態において、この方法はさらに、培地または宿主細胞からＧＰＣＲＸタンパク質を単離する工程を包含する。

【０３１１】

（トランスジェニックＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸタンパク質コード配列が導入された、受精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ＧＰＣＲＸ配列が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ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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、ここでは、その動物の１つ以上の細胞が、導入遺伝子を含む。トランスジェニック動物の他の例としては、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ヤギ、ニワトリ、両生類などが挙げられる。導入遺伝子は、細胞（この細胞からトランスジェニック動物を発生させた）のゲノムに組み込まれかつ成熟動物のゲノムに残存し、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、外因性のＤＮＡである。本明細書中で使用される場合、「相同（ｈｏｍｏｌｏｇｏｕｓ）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、ここでは内因性のＧＰＣＲＸ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。

【０３１２】

本発明のトランスジェニック動物は、ＧＰＣＲＸ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）受精卵母細胞の雄性前核に導入すること、およびその卵母細胞を偽妊娠雌性養育動物（ｆｏｓｔｅｒ　ａｎｉｍａｌ）中で発達させ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１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２のヒトのＧＰＣＲＸ　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ＧＰＣＲＸ遺伝子の非ヒトホモログ（例えば、マウスのＧＰＣＲＸ遺伝子）は、ヒトのＧＰＣＲＸ　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（上記にさらに記載された）、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、ＧＰＣＲＸタンパク質の発現を指示するように、ＧＰＣＲＸ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）を作製するための方法は、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。同様の方法が、他のトランスジェニック動物の作製のために使用される。トランスジェニック創始（ｆｏｕｎｄｅｒ）動物は、そのゲノムにおけるＧＰＣＲＸ導入遺伝子の存在および／またはその動物の組織もしくは細胞中のＧＰＣＲＸ　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創始動物は、導入遺伝子を有するさらなる動物を育種するために使用され得る。さらに、ＧＰＣＲＸ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交雑され得る。

【０３１３】

相同組換え動物を作製するために、ＧＰＣＲＸ遺伝子の少なくとも一部を含むベクターを調製する。ここで、この遺伝子は、欠失、付加、または置換が導入され、それによってそのＧＰＣＲＸ遺伝子が変更されている（例えば、機能的に破壊されている）。ＧＰＣＲＸ遺伝子はヒト遺伝子（例えば、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２のｃＤＮＡ）であり得るが、より好ましくは、ヒトのＧＰＣＲＸ遺伝子の非ヒトホモログである。例

えば、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０および８２のヒトのＧＰＣＲＸ遺伝子のマウスホモログは、マウスゲノムにおける内因性のＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ遺伝子が、機能的に破壊されるように設計される（すなわち、機能的タンパク質をもはやコードしない；「ノックアウト」ベクターともいわれる）。

【０３１４】

あるいは、このベクターは、相同組換えに際して、内因性ＧＰＣＲＸ遺伝子が変異されるか、あるいはさもなければ、変更されるが、なお機能性タンパク質をコードするように、設計され得る（例えば、上流の調節領域が変更され、それによって内因性ＧＰＣＲＸタンパク質の発現を変更し得る）。相同組換えベクターにおいて、ＧＰＣＲＸ遺伝子の変更された部分は、ＧＰＣＲＸ遺伝子のさらなる核酸によって、その５’末端および３’末端で隣接されることにより、相同組換えが、ベクターによって保有される外因性ＧＰＣＲＸ遺伝子と胚幹細胞中の内因性ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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説明について、Ｔｈｏｍａｓら、１９８７．Ｃｅｌｌ　５１：５０３を参照のこと。次いで、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）胚性幹細胞株に導入され、そして導入されたＧＰＣＲＸ遺伝子が内因性ＧＰＣＲＸ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）。

【０３１５】

次いで、選択された細胞が、動物（例えば、マウス）の未分化胚芽細胞へ注入され、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、動物を育種するために使用され得、ここで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って、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。

【０３１６】

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説明については、例えば、Ｌａｋｓｏら、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つ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。

【０３１７】

本明細書中に記載される非ヒトトランスジェニック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）が単離され得、そして増殖サイクル（ｇｒｏｗｔｈ　ｃｙｃｌｅ）から出て、G_0期に入るように誘導され得る。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たのと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産まれた子孫は、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。

【０３１８】

（薬学的組成物）

本発明のＧＰＣＲＸ核酸分子、ＧＰＣＲＸタンパク質、および抗ＧＰＣＲＸ抗体（これはまた、本明細書中で、「活性化合物」とも呼ばれる）、ならびにそれらの誘導体、フラグメント、アナログ、およびホモログが、投与に適した薬学的組成物に組み込まれ得る。このような組成物は、典型的に、核酸分子、タンパク質または抗体、および薬学的に受容可能なキャリアを含む。本明細書中で使用される場合、「薬学的に受容可能なキャリア」は、薬学的な投与に適合可能な、あらゆる溶媒、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　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（当該分野の標準的参考文献であって、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、フィンガー（ｆｉｎｇｅｒ）溶液、デキストロース溶液、および５％ヒト血清アルブミンが挙げられるが、これらに限定されない。リポソームおよび非水性ビヒクル（例えば、不揮発性油）もまた、使用され得る。薬学的に活性な物質に対す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。任意の従来の媒体または薬剤が活性化合物と不適合である場合を除いて、組成物におけるその使用が意図される。補助的な活性化合物もまた、組成物へ組み込まれ得る。

【０３１９】

本発明の薬学的組成物は、その意図される投与経路と適合可能であるように処

方される。投与経路の例には、非経口（例えば、静脈内、皮内、皮下）投与、経口（例えば、吸入）投与、経皮（すなわち、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、張度の調整のための薬剤。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、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨てシリンジ、または多用量のバイアル中に入れられ得る。

【０３２０】

注入用途に適した薬学的組成物は、滅菌水溶液（ここでは、水溶解性）または分散媒（ｄｉｓｐｅｒｓｉｏｎ）、および滅菌注入可能溶液または分散媒の即座の調製のための滅菌粉末を含む。静脈内投与において、適切なキャリアには、生理食塩水、静菌水、Ｃｒｅｍｏｐｈｏｒ　ＥＬ™（ＢＡＳＦ、Ｐａｒｓｉｐｐａｎｙ、Ｎ．Ｊ．）またはリン酸緩衝化生理食塩水（ＰＢＳ）が挙げられる。全ての場合において、組成物は、無菌でなければならず、そして容易な注入性（ｓｙｒｉｎｇｅａｂｉｌｉｔｙ）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なければならない。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、分散媒の場合には、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、チメロサールなど）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（ｍａｎｉｔｏｌ）、ソルビトール）、塩化ナトリウム）を含むことが好ましい。注入可能組成物の吸収期間の延長は、組成物に吸収を遅延させる薬剤（例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチン）を含ませることによってもたらされ得る。

【０３２１】

滅菌注射可能溶液は、必要量のこの活性化合物（例えば、ＧＰＣＲＸタンパク質または抗ＧＰＣＲＸ抗体））を、適切な溶媒中で、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、分散媒は、活性化合物を、基本（ｂａｓｉｃ）の分散媒と上記で列挙される成分から必要とされる他の成分と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粉末の場合において、調製方法は、真空乾燥および凍結乾燥であり、これにより、予め滅菌濾過されたその溶液から活性成分および任意のさらなる所望の成分の粉末を得る。

【０３２２】

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、うがい薬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、そして音を立てられ（ｓｗｉｓｈ）、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物質が、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、プリモゲル（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ステロテス（Ｓｔｅｒｏｔｅｓ））；潤滑剤（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）。

【０３２３】

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

【０３２４】

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

【０３２５】

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基剤と共に）または貯留（ｒｅｎｔｅｎｔｉｏｎ）浣腸の形態で調製され得る。

【０３２６】

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、当業者には明らかである。これらの物質はまた、Ａｌｚａ　ＣｏｒｐｏｒａｔｉｏｎおよびＮｏｖａ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ．から商業的に入手され得る。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。

【０３２７】

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、処置される被験体に対する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、この活性化合物の固有の特徴、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。

【０３２８】

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、例えば静脈内注射、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）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　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るか、または遺伝子送達ビヒクルが組み込まれる除放性マトリックスが挙げられ得る。あるいは、完全な遺伝子送達ベクターが組換え細胞からインタクトで産生され得（例えば、レトロウイルスベクター）、薬学的調製物は、遺伝子送達系を産生する１以上の細胞を含み得る。

【０３２９】

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

【０３３０】

（スクリーニングおよび検出の方法）

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、ＧＰＣＲＸタンパク質（例えば、遺伝子治療適用における宿主細胞中の組換え発現ベクターを介する）を発現するため、ＧＰＣＲＸ　ｍＲＮＡ（例えば、生物学的サンプルにおいて）またはＧＰＣＲＸ遺伝子における遺伝子損傷を検出するため、ならびにＧＰＣＲＸ活性を調節するために使用され得る。さらに、ＧＰＣＲＸタンパク質は、ＧＰＣＲＸタンパク質の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ＧＰＣＲＸタンパク質の不十分もしくは過剰な産生によって、あるいはＧＰＣＲＸ野生型タンパク質と比較して減少した活性もしくは異常な活性を有するＧＰＣＲＸタンパク質形態の産生によって特徴付けられる障害（例えば、糖尿病（インシュリン放出を調節する）、肥満（脂質を結合および輸送する）、肥満に関連する代謝障害、代謝性症候群Ｘ、ならびに食欲不振および慢性疾患に関連する消耗障害および種々の癌、および感染性疾患（抗微生物活性を保有する）および種々の異脂肪血症）を処置するために使用され得る。さらに、本発明の抗ＧＰＣＲＸ抗体が、ＧＰＣＲＸタンパク質を検出および単離するため、ならびにＧＰＣＲＸ活性を調節するために使用され得る。なおさらなる局面において、本発明は、ポジティブおよびネガティブな様式の両方で、食欲、栄養分の吸収、代謝物質の処分に影響するための方法において、使用され得る。

【０３３１】

本発明は、さらに、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新規の薬剤、および上記で本明細書中で記載されるような処置のためのそれらの使用に関する。

【０３３２】

（スクリーニングアッセイ）

本発明は、調節因子、すなわち、ＧＰＣＲＸタンパク質に結合するか、あるいは例えば、ＧＰＣＲＸタンパク質の発現またはＧＰＣＲＸタンパク質の活性に対して刺激効果または阻害効果を有する、候補または試験化合物または薬剤（例えば、ペプチド、ペプチド模倣物、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」とも称される）を提供する。

本発明はまた、本明細書中に記載のスクリーニングアッセイにおいて同定された化合物を含む。

【０３３３】

１実施形態において、本発明は、ＧＰＣＲＸ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、またはその膜結合形態の活性を調節する、候補化合物もしくは試験化合物をスクリーニングするためのアッセイを提供する。本発明の試験化合物は、当該分野において公知のコンビナトリアルライブラリー法における多数のアプローチのいずれかを使用して得られ得、これには、以下が挙げられる：生物学的ライブラリー；空間的に位置付け可能な並行固相もしくは溶液相ライブラリー；逆重畳を要する合成ライブラリー法；「１ビーズ１化合物」ライブラリー法；およびアフィニティークロマトグラフィー選択を使用する合成ライブラリー法。生物学的ライブラリーアプローチはペプチドライブラリーに限定されるが、他の４つのアプローチは、ペプチド、非ペプチドオリゴマーもしくは化合物の低分子ライブラリーに適用可能である（例えば、Ｌａｍ（１９９７）Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ Ｄｒｕｇ Ｄｅｓｉｇｎ １２：１４５を参照のこと）。

【０３３４】

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。

【０３３５】

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．ＵＳＡ ９０：６９０９；Ｅｒｂら（１９９４）Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ Ｕ．Ｓ．Ａ．９１：１１４２２；Ｚｕｃｋｅｒｍａｎｎら（

１９９４）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．３７：２６７８；Ｃｈｏら（１９９３）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２６１：１３０３；Ｃａｒｒｅｌｌら（１９９４）Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．３３：２０５９；Ｃａｒｅｌｌら（１９９４）Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．３３：２０６１；およびＧａｌｌｏｐら（１９９４）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．３７：１２３３。

【０３３６】

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）、胞子（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）またはファージ上（ＳｃｏｔｔおよびＳｍｉｔｈ（１９９０）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９：３８６～３９０；Ｄｅｖｌｉｎ（１９９０）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９：４０４～４０６；Ｃｗｉｒｌａら（１９９０）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８７：６３７８～６３８２；Ｆｅｌｉｃｉ（１９９１）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：３０１～３１０；Ｌａｄｎｅｒ、米国特許第５，２３３，４０９号）において提示され得る。

【０３３７】

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ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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

、^{125}Ｉ、^{35}Ｓ、^{14}Ｃ、または^{3}Ｈで直接的または間接的のいずれかで標識され得、そしてその放射性同位体が、放射線放射の直接の計数により、またはシンチレーション計数により、検出され得る。あるいは、試験化合物は、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、またはルシフェラーゼで酵素的に標識され得、そしてこの酵素的標識が、適切な基質の生成物への転換を決定することにより、検出され得る。１つの実施形態において、このアッセイは、膜結合形態のＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸと結合する既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ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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、既知の化合物と比較して、ＧＰＣＲＸ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。

【０３３８】

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ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸタンパク質が、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸタンパク質が天然に結合または相互作用する分子であり、例えば、ＧＰＣＲＸ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、細胞膜の内面と会合する分子、または細胞質分子である。ＧＰＣＲＸ標的分子は、非ＧＰＣＲＸ分子あるいは本発明のＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ標的分子は、シグナル伝達経路の構成

要素であり、これは、細胞膜を通って細胞内への細胞外シグナル（例えば、化合物が膜結合ＧＰＣＲＸ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伝達分子のＧＰＣＲＸとの会合を容易にするタンパク質であり得る。

【０３３９】

ＧＰＣＲＸタンパク質がＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸタンパク質がＧＰＣＲＸ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、その標的の細胞性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可能に連結されたＧＰＣＲＸ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。

【０３４０】

なお別の実施形態において、本発明のアッセイは、無細胞（ｃｅｌｌ－ｆｒｅｅ）アッセイであり、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸタンパク質またはその生物学的に活性な部分を、ＧＰＣＲＸを結合する既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ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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、既知の化合物と比較して、ＧＰＣＲＸ、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。

【０３４１】

なお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、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸの活性を調節する能力の決定は、例えば、ＧＰＣＲＸタンパク質が、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸタンパク質の活性を調節する能力の決定は、ＧＰＣＲＸタンパク質が、ＧＰＣＲＸ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。

【０３４２】

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

【０３４３】

本発明の無細胞アッセイは、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸタンパク質を含む無細胞アッセイの場合には、ＧＰＣＲＸ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所望され得る。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）ジメチルアンミニオール－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）ジメチルアンミニオール－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。

【０３４４】

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、ＧＰＣＲＸ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合させることが、所望され得る。試験化合物の、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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－ＧＰＣＲＸ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未吸着標的タンパク質またはＧＰＣＲＸ

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、複合体形成を誘導する条件下（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後、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ＧＰＣＲＸ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。

【０３４５】

タンパク質をマトリックスに固定するための他の技術もまた、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、ＧＰＣＲＸ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。ビオチン化ＧＰＣＲＸ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、ビオチン化キット、Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ、Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、Ｉｌｌ．）、そしてストレプトアビジンでコーティングした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、ＧＰＣＲＸタンパク質、または標的分子と反応性であるがＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸタンパク質が、抗体の結合によってウェル内に捕捉され得る。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で述べた方法に加えて、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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。

【０３４６】

別の実施形態において、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ　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ＧＰＣＲＸ　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ＧＰ

ＣＲＸ　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、ＧＰＣＲＸ　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、ＧＰＣＲＸ　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、ＧＰＣＲＸ　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、ＧＰＣＲＸ　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、ＧＰＣＲＸ　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ＧＰＣＲＸ　ｍＲＮＡまたはタンパク質の発現レベルは、ＧＰＣＲＸ　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。

【０３４７】

本発明のなお別の局面において、ＧＰＣＲＸタンパク質は、ツーハイブリッドアッセイまたはスリーハイブリッドアッセイにおいて「餌（ｂａｉｔ）タンパク質」として使用されて（例えば、米国特許第５，２８３，３１７号；Ｚｅｒｖｏｓら（１９９３）Ｃｅｌｌ　７２：２２３－２３２；Ｍａｄｕｒａら、１９９３　Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６８：１２０４６－１２０５４；Ｂａｒｔｅｌら、１９９３　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　１４：９２０－９２４；Ｉｗａｂｕｃｈｉら、１９９３　Ｏｎｃｏｇｅｎｅ　８：１６９３－１６９６；およびＢｒｅｎｔ　ＷＯ９４／１０３００を参照のこと）、ＧＰＣＲＸ（「ＧＰＣＲＸ結合タンパク質」または「ＧＰＣＲＸ－ｂｐ」）に結合するか、またはこれと相互作用し、そしてＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ結合タンパク質はまた、例えば、ＧＰＣＲＸ経路の上流または下流エレメントとしてＧＰＣＲＸタンパク質によるシグナル伝達に関与する可能性がある。

【０３４８】

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的性質に基づく。簡潔には、このアッセイは、２つの異なるＤＮＡ構築物を利用する。一方の構築物においては

、ＧＰＣＲＸをコードする遺伝子が既知の転写因子（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（「餌食（ｐｒｅｙ）」または「サンプル」）をコードするＤＮＡ配列が、既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。「餌」および「餌食」タンパク質がインビボで相互作用して、ＧＰＣＲＸ依存性複合体を形成し得る場合、この転写因子のＤＮＡ結合ドメインおよび活性化ドメインは、非常に近くにある。近位にあることにより、転写因子に応答性の転写調節部位に作動可能に連結されたレポーター遺伝子（例えば、ＬａｃＺ）の転写が可能となる。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が、単離され得、そしてＧＰＣＲＸと相互作用するタンパク質をコードするクローニングされた遺伝子を得るために使用され得る。

【０３４９】

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関する。

【０３５０】

（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、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が、これに限定されない。これらの適用は、以下の節において記載される。

【０３５１】

（染色体マッピング）

一旦遺伝子の配列（または配列の一部分）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、ＧＰＣＲＸ配列の一部またはフラグメント、配列番号１

、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２、またはそのフラグメントもしくは誘導体を用いて、それぞれ、ＧＰＣＲＸ遺伝子の位置を染色体上にマッピングし得る。ＧＰＣＲＸ配列を染色体にマッピングすることは、これらの配列と、疾患と関連する遺伝子とを相関付ける際の重要な第一歩である。

【０３５２】

簡潔には、ＧＰＣＲＸ遺伝子は、ＧＰＣＲＸ配列からＰＣＲプライマー（好ましくは、１５～２５ｂｐの長さ）を調製することにより染色体にマッピングされ得る。ＧＰＣＲＸ配列のコンピューター分析を用いて、ゲノムＤＮＡにおける１つを超えるエキソンにまたがらない（１つを超えるエキソンにまたがる場合、増幅プロセスを複雑にし得る）プライマーを迅速に選択し得る。次いで、これらのプライマーは、個々のヒト染色体を含む体細胞ハイブリッドのＰＣＲスクリーニングのために使用され得る。ＧＰＣＲＸ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。

【０３５３】

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。ヒト細胞およびマウス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。特定の酵素を失うので、マウス細胞は増殖できないが、ヒト細胞は増殖できる培地を使用することにより、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（例えば、Ｄ’Ｅｕｓｔａｃｈｉｏら（１９８３）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２２０：９１９－９２４を参照のこと）。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。

【０３５４】

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。ＧＰＣＲＸ配列を使用して、オリゴヌクレオチドプライマーを設計すると、下位位置決定（ｓｕｂｌｏｃａｌｉｚａｔｉｏｎ）は、特定の染色体由来のフラグメントのパネルを用いて達成され得る。

【０３５５】

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、ギムザで染色され得る。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塩基ほどの短さの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。

【０３５６】

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

【０３５７】

一旦配列が正確な染色体位置にマッピングされると、その配列の染色体上の物理的位置は、遺伝子マップデータと相関し得る。このようなデータは、例えば、ＭｃＫｕｓｉｃｋ, ＭＥＮＤＥＬＩＡＮ　ＩＮＨＥＲＩＴＡＮＣＥ　ＩＮ　ＭＡＮ（Ｊｏｈｎｓ　Ｈｏｐｋｉｎｓ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｗｅｌｃｈ　Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｌｉｂｒａｒｙを通じてオンラインで入手可能）において見いだされる。次いで、同じ染色体領域にマッピングされる遺伝子と疾患との間の関係は、例えば、Ｅｇｅｌａｎｄら（１９８７）Ｎａｔｕｒｅ，３２５：７８３－７８７に記載される連鎖分析（物理的に隣接する遺伝子の同時遺伝）によって同定され得る。

【０３５８】

さらに、ＧＰＣＲＸ遺伝子と関連する疾患に罹患した個体と、この疾患に罹患していない個体との間のＤＮＡ配列における差異が決定され得る。罹患した個体のいくらかまたは全てにおいて変異が認められるが、非罹患個体のいずれにおいても認められない場合、この変異は特定の疾患の候補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あるか、あるいはそのＤＮＡ配列に基づいたＰＣＲを用いて検出可能な欠失または転座）を最初に探すことを包含する。最終的に、いくらかの個体に由来する遺伝子の完全な配列決定を行って、変異の存在を確認し得、そして多型から変異を区別し得る。

【０３５９】

（組織型決定（ｔｉｓｓｕｅ　ｔｙｐｉｎｇ））

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

【０３６０】

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

の塩基ごとの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ＧＰＣＲＸ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、配列決定し得る。

【０３６１】

このように調製された個体由来の対応するＤＮＡ配列のパネルは、各個体が、対立遺伝子差異に起因するこのようなＤＮＡ配列の独特のセットを有するので、唯一の個体識別を提供し得る。本発明の配列は、個体由来および組織のこのような識別配列を得るために使用され得る。本発明のＧＰＣＲＸ配列は、ヒトゲノムの部分を独特に表す。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は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くは、制限フラグメント長多型（ＲＦＬＰ）を含む一塩基多型（ＳＮＰ）に起因する。

【０３６２】

本明細書中で記載の配列の各々は、ある程度、標準物質（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、必要とされる配列はより少ない。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1、3、4、6、8、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２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。

【０３６３】

（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（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、ＧＰＣＲＸタンパク質および／または核酸の発現、ならびにＧＰＣＲＸの活性を、生物学的サンプル（例えば、血液、血清、細胞、組織）の関連で決定するための診断アッセイに関し、これによって、ＧＰＣＲＸの異常な発現または活性に関連して、個体が疾患または障害に罹患するかどうか、あるいは障害を発症するリスクがあるかどうかを決定する。この障害としては、代謝障害、糖尿病、肥満症、感染症、食欲不振、癌関連悪質液、癌、神経変性障害、アルツハイマー病、パーキンソン病、免疫障害、および造血障害、ならびに種々の異常脂肪血症、肥満症に関連する代謝障害、代謝症候群Ｘならびに慢性疾患および種々の癌に関連するるいそう障害が挙げられる。本発明はまた、個体が、ＧＰＣＲＸのタンパク質、核酸の発現または活性と関連した障害を発症するリスクがあるかどうかを決定するための予後的（または予測的）アッセイを提供する。例えば、ＧＰＣＲＸの遺伝子における変異が、生物学的サンプルにおいてアッセイされ得る。このようなアッセイは、予後的または予測的な目的に使用され得、これによってＧＰＣＲＸ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関連した障害の発病の前に個体を予防的に処置する。

【０３６４】

本発明の別の局面は、個体におけるＧＰＣＲＸのタンパク質、核酸の発現あるい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試薬（本明細書において「薬物ゲノム学」とよばれる）を選択する。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。

【０３６５】

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

【０３６６】

これらおよび他の薬剤は、以下の節でさらに詳細に記載される。

【０３６７】

（診断アッセイ）

生物学的サンプルにおけるＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸのタンパク質またはＧＰＣＲＸタンパク質をコードする核酸（例えば、ｍＲＮＡ、ゲノムＤＮＡ）を検出し得る化合物もしくは薬剤と接触させ、その結果、その生物学的サンプル中のＧＰＣＲＸの存在が検出される、工程を包含する。ＧＰＣＲＸのｍＲＮＡもしくはゲノムＤＮＡを検出するための薬剤は、ＧＰＣＲＸ　ｍＲＮＡもしくはゲノムＤＮＡにハイブリダイズし得る、標識された核酸プローブである。この核酸プローブは、例えば、全長のＧＰＣＲＸの核酸（例えば、配列番号１、３、４、６、８、１０、１２、１４、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、２９、３１、３３、３５、３７、３９、４１、８０、および８２の核酸またはそれらの一部）（例えば、少なくとも、１５、３０、５０、１００、２５０もしくは５００ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドであり、ストリンジェントな条件下でＧＰＣＲＸのｍＲＮＡまたはゲノムＤＮＡと特異的にハイブリダイズするに十分である核酸）であり得る。本発明の診断アッセイにおける使用のための他の適切なプローブは本明細書において記載されている。

【０３６８】

ＧＰＣＲＸのタンパク質を検出するための薬剤は、ＧＰＣＲＸのタンパク質に結合し得る抗体であり、好ましくは、検出可能な標識を有する抗体である。抗体は、ポリクローナルであり得るか、またはより好ましくはモノクローナル抗体であり得る。インタクトな抗体またはそのフラグメント（例えば、ＦａｂまたはＦ（ａｂ’）$_2$）が使用され得る。用語「標識（された）」とは、プローブまたは抗体に関して、検出可能な物質をそのプローブもしくは抗体にカップリングさせる（すなわち、物理的に連結する）ことによってそのプローブまたは抗体を直接標識すること、ならびに、直接標識された別の試薬との反応性によってそのプローブもしくは抗体の間接的な標識をすることを包含することが意図される。間接的な標識の例としては、蛍光標識された二次抗体を用いた一次抗体の検出、およ

び蛍光標識されたストレプトアビジンを用いて検出され得るようにＤＮＡプローブのビオチンを用いた末端標識が挙げられる。用語「生物学的サンプル」とは、被験体から単離された、組織、細胞および生物学的流体ならびに被験体に存在する組織、細胞および流体を含むことが意図される。すなわち、本発明の検出方法を用いて、ＧＰＣＲＸのｍＲＮＡ、生物学的サンプル中の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、ＧＰＣＲＸのｍＲＮＡの検出のためのインビトロ技術としては、ノーザンハイブリダイゼーションおよびインサイチュハイブリダイゼーションが挙げられる。ＧＰＣＲＸのタンパク質の検出のためのインビトロ技術としては、酵素連結免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、ウェスタンブロット、免疫沈降および免疫蛍光が挙げられる。ＧＰＣＲＸのゲノムＤＮＡを検出するためのインビトロ技術としては、サザンハイブリダイゼーションが挙げられる。さらに、ＧＰＣＲＸのタンパク質の検出のためのインビボ技術としては、標識された抗ＧＰＣＲＸ抗体を被験体に導入することが挙げられる。例えば、その抗体は、放射性マーカーを用いて標識され得る。被験体における放射性マーカーの存在および位置は、標準的な画像化技術によって検出され得る。

【０３６９】

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

【０３７０】

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、ＧＰＣＲＸのタンパク質、ｍＲＮＡもしくはゲノムＤＮＡを検出し得る化合物もしくは薬剤と接触させ、その結果、その生物学的サンプルにおけるＧＰＣＲＸのタンパク質、ｍＲＮＡもしくはゲノムＤＮＡの存在が検出される、工程、およびそのコントロールサンプルにおけるＧＰＣＲＸのタンパク質、ｍＲＮＡもしくはゲノムＤ

ＮＡの存在と、その試験サンプルにおけるＧＰＣＲＸのタンパク質、ｍＲＮＡもしくはゲノムＤＮＡの存在とを比較する工程を包含する。

【０３７１】

本発明はまた、生物学的サンプルにおけるＧＰＣＲＸの存在を検出するためのキットを包含する。例えば、このキットは、以下を備え得る：生物学的サンプルにおけるＧＰＣＲＸのタンパク質またはｍＲＮＡを検出し得る、標識された化合物もしくは薬剤；そのサンプルにおけるＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸの量を標準と比較するための手段。この化合物または薬剤は、適切な容器内に包装され得る。このキットは、さらに、ＧＰＣＲＸのタンパク質または核酸を検出するためにキットを用いるための指示書を備え得る。

【０３７２】

（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、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸのタンパク質または核酸の存在は、ＧＰＣＲＸ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。

【０３７３】

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ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸのタンパク質または核酸が検出される（例えば、ここで、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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）。

【０３７４】

本発明の方法はまた、ＧＰＣＲＸ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、その被験体由来の細胞のサンプルにおいて、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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）ＧＰＣＲＸ遺伝子からの１つ以上のヌクレオチドの欠失；（ｉｉ）ＧＰＣＲＸ遺伝子への１つ以上のヌクレオチドの付加；（ｉｉｉ）ＧＰＣＲＸ遺伝子の１つ以上のヌクレオチドの置換、（ｉｖ）ＧＰＣＲＸ遺伝子の染色体再配置；（ｖ）ＧＰＣＲＸ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）ＧＰＣＲＸ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）ＧＰＣＲＸ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）ＧＰＣＲＸタンパク質の非野生型レベル、（ｉｘ）ＧＰＣＲＸ遺伝子の対立遺伝子の欠失、

ならびに（ｘ）ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ遺伝子における損傷を検出するために使用され得る、当該分野において公知の多数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。

【０３７５】

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．Ｓｉｃ．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、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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。

【０３７６】

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）、Ｑβ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。

【０３７７】

代替の実施形態において、サンプル細胞からのＧＰＣＲＸ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。

【０３７８】

他の実施形態において、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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。

【０３７９】

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、ＧＰＣＲＸ遺伝子を直接配列決定し得、そしてサンプルＧＰＣＲＸ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．Ｓｉｃ．ＵＳＡ　７４：５６０またはＳａｎｇｅｒ（１９７７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｉｃ．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、Ｎａｅｖｅ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。

【０３８０】

ＧＰＣＲＸ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のヘテロ二重鎖における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ＧＰＣＲＸ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

のコントロール鎖とサンプル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、S_1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。

【０３８１】

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ＧＰＣＲＸ 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、ＧＰＣＲＸ配列（例えば、野生型ＧＰＣＲＸ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。

【０３８２】

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、ＧＰＣＲＸ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、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ＧＰＣＲＸ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。

【０３８３】

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確実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。

【０３８４】

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得る。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。

【０３８５】

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、ディファレンシャルハイブリダイゼーションに依存する；例えば、Ｇｉｂｂｓら，１９８９．Ｎｕｃｌ．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が所望され得る。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。

【０３８６】

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、ＧＰＣＲＸ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。

【０３８７】

さらに、ＧＰＣＲＸが発現される任意の細胞型または組織（好ましくは、末梢血白血球）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。

【０３８８】

（薬理ゲノム学（Ｐｈａｒｍａｃｏｇｅｎｏｍｉｃｓ））

ＧＰＣＲＸ活性（例えば、ＧＰＣＲＸ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、障害（この障害としては、代謝障害、糖尿病、肥満症、感染症、食欲不振、癌関連悪液質、癌、神経変性障害、アルツハイマー病、パーキンソン病、免疫障害、および造血障害、ならびに種々の異常脂肪性浮腫（ｄｙｓｌｉｐｉｄｅｍｉａｓ）、肥満に関連する代謝障害、Ｘ代謝症候群（ｍｅｔａｂｏｌｉｃ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ　Ｘ）、および慢性疾患と関連する消耗障害、および種々の癌が挙げられる）を（予防的または治療的に）処置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、薬理学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、ＧＰＣＲＸタンパク質の活性、ＧＰＣＲＸ核酸の発現、または個体におけるＧＰＣＲ

Ｘ遺伝子の変異含量が決定されて、それによって個体の治療的または予防的処置のために適切な薬剤を選択し得る。

【０３８９】

薬理ゲノム学は、罹患し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、薬物に応答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；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単一の因子として伝達される遺伝的状態（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単一の因子として伝達される遺伝的状態（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摂食後の溶血である。

【０３９０】

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しての説明を提供した。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る場合に、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。

【０３９１】

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

【０３９２】

（臨床試験中の効果のモニタリング）

ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸの遺伝子発現、タンパク質レベルを増加するため、またはＧＰＣＲＸ活性をアップレギュレートする薬剤の効力は、減少したＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸの遺伝子発現、タンパク質レベルを減少、またはＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ

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、ＧＰＣＲＸの発現または活性、および好ましくは、例えば、細胞増殖または免疫障害に関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、特定の細胞の免疫応答性のマーカーとして使用され得る。

【０３９３】

例えば、ＧＰＣＲＸを含む遺伝子（これは、ＧＰＣＲＸ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）が同定され得るが、これらに限定されない。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ＧＰＣＲＸおよびこの障害に関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ＧＰＣＲＸ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。

【０３９４】

１つの実施形態において、本発明は、薬剤（例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、タンパク質、ペプチド、ペプチド模倣物、核酸、低分子、または本明細書中に記載されるスクリーニングアッセイによって同定される他の薬物候補物）を用いる、被験体の処置の効力をモニタリングするための方法を提供し、これは、以下の工程を包含する：（ｉ）薬剤の投与の前に、被験体から投与前サンプルを得る工程；（ｉｉ）この投与前サンプルにおいて、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸの発現または活性を増加すること（すなわち、この薬剤の効力を増加すること）が望ましくあり得る。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ＧＰＣＲＸの発現または活性を減少すること（すなわち、この薬剤の効力を減少すること）が望ましくあり得る。

【０３９５】

（処置方法）

本発明は、異常なＧＰＣＲＸ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。これらの障害としては、心筋症、アテローム性動脈硬化症、高血圧症、先天性心欠損症、大動脈狭窄症、心房中隔欠損症（ＡＳＤ）、房室（Ａ－Ｖ）管欠損症、動脈管、肺動脈弁狭窄症、大動脈弁下部狭窄症、心室中隔欠損症（ＶＳＤ）、弁疾患、結節硬化症、強皮症、肥満症、移植、副腎脳白質ジストロフィー、先天性副腎過形成、前立腺癌、新形成；腺癌、リンパ腫、子宮癌、受胎能、血友病、凝固能亢進、特発性血小板減少性紫斑病、免疫不全症、対宿主性移植片病、ＡＩＤＳ、気管支炎ぜん息、クローン病；多発性硬化症、オールブライト遺伝性骨形成異常症の処置、ならびに他の疾患、障害および状態などが挙げられる。

【０３９６】

これらの処置方法は、以下により十分に考察される。

【０３９７】

（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「ノックアウトする」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））。

【０３９８】

（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ーを増加させるアゴニスト。

【０３９９】

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）。

【０４００】

（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ＧＰＣＲＸの発現または活性と関連する疾患または状態を、ＧＰＣＲＸの発現または少なくとも１つのＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ異常の特徴である症状の発現の前に行い得る。このＧＰＣＲＸ異常の型に依存して、例えば、ＧＰＣＲＸアゴニスト薬剤またはＧＰＣＲＸ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、以下の小節において、さらに議論される。

【０４０１】

（治療方法）

本発明の別の局面は、治療目的のためにＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸタンパク質活性の活性のうちの１つ以上の活性を調節する薬剤と接触させる工程を包含する。ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸタンパク質の天然に存在する同族リガンド、ペプチド、ＧＰＣＲＸ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、１つ以上のＧＰＣＲＸタンパク質活性を刺激する。このような刺激薬剤の例としては、活性なＧＰＣＲＸタンパク質およびその細胞に導入されたＧＰＣＲＸ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、１つ以上のＧＰＣＲＸタンパク質活性を阻害する。このような阻害薬剤の例としては、アンチセンスＧＰＣＲＸ核酸分子、および抗ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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、ＧＰＣＲＸ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。

【０４０２】

ＧＰＣＲＸ活性の刺激は、ＧＰＣＲＸ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ＧＰＣＲＸ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、癌または免疫関連障害）を有する場合である。このような状況の別の例は、被験体が妊娠性疾患（例えば、プレクランプシア（ｐｒｅｃｌａｍｐｓｉａ））を有する場合である。

【０４０３】

（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。

【０４０４】

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関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。

【０４０５】

（本発明の組成物の予防的用途および治療的用途）

本発明のＧＰＣＲＸ核酸およびタンパク質は、以下を含むが、これらに限定されない種々の障害に関連する強力な予防的適用および治療的適用に有用である：代謝障害、糖尿病、肥満症、感染症、食欲不振、癌関連癌、神経変性障害、アルツハイマー病、パーキンソン病、免疫障害、造血障害、および種々の異常脂肪性浮腫、肥満に関連する代謝障害、Ｘ代謝症候群、および慢性疾患と関連する消耗障害、および種々の癌。

【０４０６】

例として、本発明のＧＰＣＲＸタンパク質をコードするｃＤＮＡは、遺伝子治療に有用であり得、そしてこのタンパク質は、遺伝子治療を必要とする被験体に投与される場合、有用であり得る。非制限的例示として、本発明の組成物は、以下に罹患した患者の処置についての効力を有する：代謝障害、糖尿病、肥満症、感染症、食欲不振、癌関連悪液質、癌、神経変性障害、アルツハイマー病、パーキンソン病、免疫障害、造血障害、および種々の異常脂肪性浮腫。

【０４０７】

本発明のＧＰＣＲＸタンパク質をコードする新規の核酸、およびＧＰＣＲＸタンパク質の両方、またはそれらのフラグメントは、診断適用に有用で有り得る。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。さらなる用途は、抗菌分子（すなわち、いくつかのペプチドはまた、抗菌特性を有することが見出

されている）としての用途であり得る。これらの材料は、治療的または診断的な方法における用途に関する本発明の新規の物質に免疫特異的に結合する抗体の生成においてさらに有用である。

【０４０８】

（等価物）

特定の実施形態は、詳細に本明細書中に開示されているが、これは、例証の目的のための例としてのみ開示され、そして前記の添付される特許請求の範囲に関して、制限することを意図しない。特に、種々の置換、変更、および改変が、特許請求の範囲により規定されるような発明の精神および範囲から逸脱することなく、本発明に対してなされ得ることが、本発明者らにより意図される。核酸出発物質、目的のクローン、またはライブラリーの型の選択は、本明細書中に記載される実施形態の知見を用いると当業者に慣用的な内容であると考えられる。他の局面、利点、および改変は、添付の特許請求の範囲の範囲内であると考えられる。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US 01/10241

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12N15/12 C07K14/72 C07K14/705 C07K16/28 G01N33/53
C12Q1/68 A61K38/17

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

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, SEQUENCE SEARCH, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 867 508 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP) 30 September 1998 (1998-09-30) the whole document ---	1-52
X	ROUQUIER S ET AL: "Distribution of olfactory receptor genes in the human genome" NATURE GENETICS, NEW YORK, NY, US, vol. 18, no. 3, March 1998 (1998-03), pages 243-250, XP002111208 ISSN: 1061-4036 the whole document ---	1-52
X	WO 96 30406 A (CAO LIANG ;HUMAN GENOME SCIENCES INC (US); LI YI (US); NI JIAN (US) 3 October 1996 (1996-10-03) the whole document ---	1-49
	-/--	

[X] Further documents are listed in the continuation of box C. [X] 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	Date of mailing of the international search report
28 January 2002	25. 04. 2002

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	CUPIDO, M

2

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

INTI IATIONAL SEARCH REPORT

Internat. al Application No
PCT/US 01/10241

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	WO 01 73029 A (PE CORP NY) 4 October 2001 (2001-10-04) the whole document especially nucleotides 308-1357 in SEQ ID NO:3	1-49
E	WO 01 77320 A (BAYER AG ;XIAO YONGHONG (US)) 18 October 2001 (2001-10-18) the whole document especially nt 459-1508 in SEQ ID NO:1	1-49
E	WO 01 87937 A (INCYTE GENOMICS INC ;KALLICK DEBORAH A (US); PATTERSON CHANDRA (US) 22 November 2001 (2001-11-22) the whole document especially SEQ ID NO:11 nucleotides 38-1083	1-49
E	WO 01 36471 A (ARENA PHARMACEUTICALS INC ;CHEN RUOPING (US); DANG HUONG T (US); L) 25 May 2001 (2001-05-25) the whole document especially SEQ ID NO:23, corresponding to nucleotides 6-1046 in SEQ ID NO:1 of this application	1-49
E	WO 01 36473 A (PARODI LUIS A ;LIND PETER (SE); SEJLITZ TORSTEN (SE); SCHELLIN KAT) 25 May 2001 (2001-05-25) the whole document especially SEQ ID NO:79, also corresponding to nt 6-1046 in SEQ ID NO:1 of this application	1-49

2

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 01/10241

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. [X] Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 26-37, 48 and 49 are directed 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. [X] 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.:

1-50 (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.

International Application No. PCT/US 01/10241

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:2, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

2. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:5, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

3. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:7, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

4. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:9, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

5. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:11, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

6. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:13, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

International Application No. PCT/US 01/10241

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

7. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:16, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

8. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:18, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

9. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:20, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

10. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:22, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

11. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:24, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

12. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:26, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

International Application No. PCT/US 01/10241

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

13. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:28, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

14. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:30, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

15. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:32, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

16. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:34, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

17. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:36, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

18. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:38, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

International Application No. PCT/US 01/10241

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

19. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:40, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

20. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:42, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

21. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:81, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

22. Claims: 1-50 (all partly)

Polypeptides comprising the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:83, pharmaceutical compositions containing these polypeptides, the encoding nucleic acid sequences, specific antibodies to these polypeptides;diagnostic, therapeutic and screening methods involving them.

INTE IATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Internati. . Application No
PCT/US 01/10241

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP 0867508	A	30-09-1998	US	5874243 A	23-02-1999
			EP	0867508 A2	30-09-1998
			JP	11028094 A	02-02-1999
WO 9630406	A	03-10-1996	WO	9630406 A1	03-10-1996
			AU	2236895 A	16-10-1996
			EP	0817800 A1	14-01-1998
			JP	11503012 T	23-03-1999
			US	6090575 A	18-07-2000
			US	5998164 A	07-12-1999
WO 0173029	A	04-10-2001	AU	4776501 A	08-10-2001
			WO	0173029 A2	04-10-2001
WO 0177320	A	18-10-2001	AU	4652601 A	23-10-2001
			WO	0177320 A2	18-10-2001
WO 0187937	A	22-11-2001	AU	6472101 A	26-11-2001
			WO	0187937 A2	22-11-2001
			AU	6181401 A	03-12-2001
			WO	0190359 A2	29-11-2001
WO 0136471	A	25-05-2001	AU	1769601 A	30-05-2001
			WO	0136471 A2	25-05-2001
WO 0136473	A	25-05-2001	AU	1617801 A	30-05-2001
			WO	0136473 A2	25-05-2001

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.[7]	識別記号	FI		テーマコード(参考)
Ａ６１Ｐ	3/10	Ａ６１Ｐ	9/10	４Ｃ０８４
	9/00	Ｃ０７Ｋ	14/705	４Ｃ０８５
	9/10		16/28	４Ｈ０４５
Ｃ０７Ｋ	14/705		16/46	
	16/28	Ｃ１２Ｎ	1/15	
	16/46		1/19	
Ｃ１２Ｎ	1/15		1/21	
	1/19	Ｃ１２Ｑ	1/02	
	1/21	Ｇ０１Ｎ	33/15	Ｚ
	5/10		33/50	Ｚ
Ｃ１２Ｑ	1/02		33/53	Ｄ
Ｇ０１Ｎ	33/15		33/566	
	33/50		33/574	Ｚ
	33/53	Ｃ１２Ｐ	21/08	
	33/566	Ｃ１２Ｎ	15/00	ＺＮＡＡ
	33/574		5/00	Ａ
// Ｃ１２Ｐ	21/08			Ｂ
		Ａ６１Ｋ	37/02	

(31)優先権主張番号　６０／１９５，０６３
(32)優先日　平成12年４月６日(2000．4．6)
(33)優先権主張国　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／１９５，０６６
(32)優先日　平成12年４月６日(2000．4．6)
(33)優先権主張国　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／１９５，０６７
(32)優先日　平成12年４月６日(2000．4．6)
(33)優先権主張国　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／１９５，０６８
(32)優先日　平成12年４月６日(2000．4．6)
(33)優先権主張国　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／１９５，０６９
(32)優先日　平成12年４月６日(2000．4．6)
(33)優先権主張国　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／１９５，０７０
(32)優先日　平成12年４月６日(2000．4．6)
(33)優先権主張国　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／１９５，５１０
(32)優先日　平成12年４月６日(2000．4．6)
(33)優先権主張国　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／２１９，８５５
(32)優先日　平成12年７月21日(2000．7．21)
(33)優先権主張国　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／２２１，２８４
(32)優先日　平成12年７月27日(2000．7．27)
(33)優先権主張国　米国（ＵＳ）

(31)優先権主張番号　６０／２２１，３２５
(32)優先日　　平成12年７月28日(2000．7．28)
(33)優先権主張国　　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／２２４，５８８
(32)優先日　　平成12年８月11日(2000．8．11)
(33)優先権主張国　　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／２３９，６１３
(32)優先日　　平成12年10月11日(2000．10．11)
(33)優先権主張国　　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／２６２，５０８
(32)優先日　　平成13年１月18日(2001．1．18)
(33)優先権主張国　　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／２６３，６０４
(32)優先日　　平成13年１月23日(2001．1．23)
(33)優先権主張国　　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／２６３，４３３
(32)優先日　　平成13年１月23日(2001．1．23)
(33)優先権主張国　　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／２６５，１６１
(32)優先日　　平成13年１月30日(2001．1．30)
(33)優先権主張国　　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　０９／８２３，１７２
(32)優先日　　平成13年３月29日(2001．3．29)
(33)優先権主張国　　米国（ＵＳ）
(81)指定国　　ＥＰ(ＡＴ，ＢＥ，ＣＨ，ＣＹ，ＤＥ，ＤＫ，ＥＳ，ＦＩ，ＦＲ，ＧＢ，ＧＲ，ＩＥ，ＩＴ，ＬＵ，ＭＣ，ＮＬ，ＰＴ，ＳＥ，ＴＲ)，ＯＡ(ＢＦ，ＢＪ，ＣＦ，ＣＧ，ＣＩ，ＣＭ，ＧＡ，ＧＮ，ＧＷ，ＭＬ，ＭＲ，ＮＥ，ＳＮ，ＴＤ，ＴＧ)，ＡＰ(ＧＨ，ＧＭ，ＫＥ，ＬＳ，ＭＷ，ＭＺ，ＳＤ，ＳＬ，ＳＺ，ＴＺ，ＵＧ，ＺＷ)，ＥＡ(ＡＭ，ＡＺ，ＢＹ，ＫＧ，ＫＺ，ＭＤ，ＲＵ，ＴＪ，ＴＭ)，ＡＥ，ＡＧ，ＡＬ，ＡＭ，ＡＴ，ＡＵ，ＡＺ，ＢＡ，ＢＢ，ＢＧ，ＢＲ，ＢＹ，ＢＺ，ＣＡ，ＣＨ，ＣＮ，ＣＯ，ＣＲ，ＣＵ，ＣＺ，ＤＥ，ＤＫ，ＤＭ，ＤＺ，ＥＥ，ＥＳ，ＦＩ，ＧＢ，ＧＤ，ＧＥ，ＧＨ，ＧＭ，ＨＲ，ＨＵ，ＩＤ，ＩＬ，ＩＮ，ＩＳ，ＪＰ，ＫＥ，ＫＧ，ＫＰ，ＫＲ，ＫＺ，ＬＣ，ＬＫ，ＬＲ，ＬＳ，ＬＴ，ＬＵ，ＬＶ，ＭＡ，ＭＤ，ＭＧ，ＭＫ，ＭＮ，ＭＷ，ＭＸ，ＭＺ，ＮＯ，ＮＺ，ＰＬ，ＰＴ，ＲＯ，ＲＵ，ＳＤ，ＳＥ，ＳＧ，ＳＩ，ＳＫ，ＳＬ，ＴＪ，ＴＭ，ＴＲ，ＴＴ，ＴＺ，ＵＡ，ＵＧ，ＵＳ，ＵＺ，ＶＮ，ＹＵ，ＺＡ，ＺＷ
(72)発明者　キャスマン，　ステイシー　ジェイ．
アメリカ合衆国　コネチカット　06492，　ウォーリングフォード，　ノルウッド　ドライブ　155
(72)発明者　ウォレンク，　アダム　アール．
アメリカ合衆国　コネチカット　06512，　イースト　ヘイブン，　メイン　ストリート　500，　アパートメント　206

(72)発明者 スパデルナ, スティーブン ケイ.
アメリカ合衆国 コネチカット 06037, ベルリン, ディアフィールド ドライブ 261
(72)発明者 パディガル, マラリダラ
アメリカ合衆国 ニューヨーク 10561, ブロンクス, ラインランダー アベニュー 1579, アパートメント ６イー
(72)発明者 ミシュヌ, ヴィシュヌ エス.
アメリカ合衆国 コネチカット 06405, ブランフォード, イースト メイン ストリート 309 ナンバー306
(72)発明者 チェルネフ, ヴェリザル テー.
アメリカ合衆国 フロリダ 32601, ゲインズビル, エスダブリュー ２エヌディー アベニュー 1216, アパートメント 156
(72)発明者 スパイテック, キンバリー エイ.
アメリカ合衆国 コネチカット 06511, ニュー ヘイブン, コート ストリート 28 ナンバー１
(72)発明者 リ, リ
アメリカ合衆国 コネチカット 06410, チェシア, オーク ストリート 478
(72)発明者 バウムガートナー, ジェイソン シー.
アメリカ合衆国 コネチカット 06460, ミルフォード, ダーウッド アベニュー 122
(72)発明者 グセフ, ウラジミル ワイ.
アメリカ合衆国 コネチカット 06443, マディソン, ダラム ロード 1209

Ｆターム(参考)　2G045 AA25 AA26 AA29 AA40 BB03
BB20 CB01 CB21 DA12 DA13
DA14 DA36 DA77 DA78 FB02
FB03 FB04 FB07
4B024 AA01 AA11 BA31 BA41 BA63
CA04 CA09 GA11 HA15 HA17
4B063 QA01 QA18 QA19 QQ03 QQ08
QQ13 QQ20 QQ43 QQ53 QR32
QR55 QR62 QR80 QS25 QS34
QS38
4B064 AG27 CA10 CA19 CA20 CC24
DA01 DA13
4B065 AA26X AA80X AA90X AA91X
AB01 AC14 BA02 CA24 CA25
CA44 CA46
4C084 AA02 AA07 AA13 BA01 BA08
BA22 BA23 BA44 CA62 DA01
NA14 ZA362 ZA452 ZC352
4C085 AA13 AA14 BB11 CC32 EE01
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA41
CA40 DA50 DA75 DA76 EA20
EA50 FA72 FA73 FA74

专利名称(译)	G蛋白偶联受体和编码该G蛋白偶联受体的核酸		
公开(公告)号	JP2003534779A	公开(公告)日	2003-11-25
申请号	JP2001572593	申请日	2001-03-30
[标]申请(专利权)人(译)	CURAGEN CORP		
申请(专利权)人(译)	Kyurajen公司		
[标]发明人	マジュムデルクムド ヴェルネコリーヌアーエム キャスマンステイシージェイ ウォレンクアダムアール スパデルナスティーブンケイ パディガルマラリダラ ミシュヌヴィシュヌエス チェルネフヴェリザルテー スパイテックキンバリーエイ リリ バウムガートナージェイソンシー グセフウラジミルワイ		
发明人	マジュムデル, クムド ヴェルネ, コリーヌ アー. エム. キャスマン, ステイシー ジェイ. ウォレンク, アダム アール. スパデルナ, スティーブン ケイ. パディガル, マラリダラ ミシュヌ, ヴィシュヌ エス. チェルネフ, ヴェリザル テー. スパイテック, キンバリー エイ. リ, リ バウムガートナー, ジェイソン シー. グセフ, ウラジミル ワイ.		
IPC分类号	G01N33/50 A61K38/00 A61K39/395 A61K48/00 A61P3/10 A61P9/00 A61P9/10 C07K14/705 C07K16/28 C07K16/46 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/08 C12Q1/02 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566 G01N33/574		
CPC分类号	C07K14/705 A61K38/00		
FI分类号	A61K39/395.D A61K39/395.N A61K48/00 A61P3/10 A61P9/00 A61P9/10 C07K14/705 C07K16/28 C07K16/46 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12Q1/02 G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/566 G01N33/574.Z C12P21/08 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A C12N5/00.B A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA26 2G045/AA29 2G045/AA40 2G045/BB03 2G045/BB20 2G045/CB01 2G045/CB21 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/DA77 2G045/DA78 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB04 2G045/FB07 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA31 4B024/BA41 4B024/BA63 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/GA11 4B024/HA15 4B024/HA17 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ13 4B063/QQ20 4B063/QQ43 4B063/QQ53 4B063/QR32 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR80 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS38 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA26X 4B065/AA80X 4B065/AA90X 4B065/AA91X 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/BA44 4C084/CA62 4C084/DA01 4C084/NA14 4C084/ZA362 4C084		

	/ZA452 4C084/ZC352 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/CC32 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA73 4H045/FA74
优先权	60/193664 2000-03-31 US 60/194614 2000-04-05 US 60/195063 2000-04-06 US 60/195066 2000-04-06 US 60/195067 2000-04-06 US 60/195068 2000-04-06 US 60/195069 2000-04-06 US 60/195070 2000-04-06 US 60/195510 2000-04-06 US 60/219855 2000-07-21 US 60/221284 2000-07-27 US 60/221325 2000-07-28 US 60/224588 2000-08-11 US 60/239613 2000-10-11 US 60/262508 2001-01-18 US 60/263604 2001-01-23 US 60/263433 2001-01-23 US 60/265161 2001-01-30 US 09/823172 2001-03-29 US
外部链接	Espacenet

摘要(译)

本文公开了编码G蛋白偶联的受体相关多肽的核酸序列。 还公开了由这些核酸序列编码的多肽，以及与多肽免疫特异性结合的抗体，以及这些多肽，多核苷酸或抗体的衍生物，变体，变体或片段。 有待完成。 本发明进一步公开了用于诊断，治疗和预防涉及这些新型人核酸和蛋白质中的任何一种的疾病的治疗，诊断和研究方法。

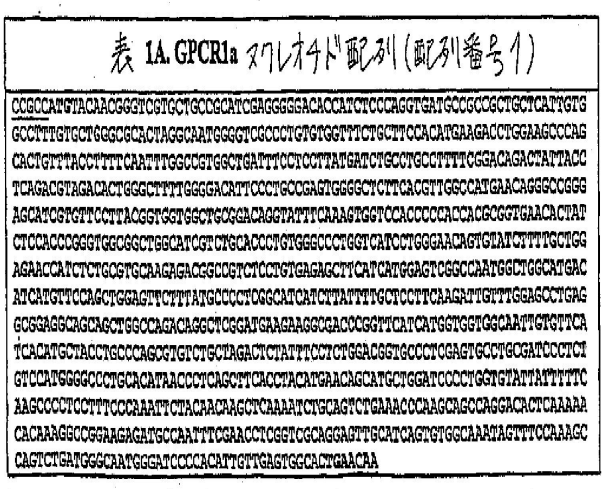


表 1A. GPCR1a ヌクレオチド配列（配列番号1）

CCGCCATGTACAACGGGTCGTGCTGCCGCATCGAGGGGGACACCATCTCCCAGGTGATGCCGCCGCTGCTCATGTG
GCCTTTGTGCTGGGCGCACTAGGCAATGGGGTCGCCCTGTGTGGTTTCTGCTTCCACATGAAGACCTGGAAGCCCAG
CACTGTTTACCTTTTCAATTTGGCCGTGGCTGATTTCCTCCTTATGATCTGCCTGCCTTTTGGGACAGACTATTACC
TCAGACGTAGACACTGGGCTTTTGGGGACATTCCCTGCCGAGTGGGGCTCTTCACGTTGGCCATGAACAGGGCCGGG
AGCATCGTGTTCCTTACGGTGGTGGCTGCGGACAGGTATTTCAAAGTGGTCCACCCCCACCACGCGGTGAACACTAT
CTCCACCCGGGTGGCGGCTGGCATCGTCTGCACCCTGTGGGCCCTGGTCATCCTGGGAACAGTGTATCTTTGCTGG
AGAACCATCTCTGCGTGCAAGAGACGGCGTCTCCTGTGAGAGCTTCATCATGGAGTCGGCCAATGGCTGGCATGAC
ATCATGTTCCAGCTGGAGTTCTTTATGCCCCTCGGCATCATCTTATTTTGCTCCTTCAAGATTGTTTGGAGCCTGAG
GCGGAGGCAGCAGCTGGCCAGACAGGCTCGGATGAAGAAGGCGACCCGGTTCATCATGGTGGTGGCAATTGTGTTCA
TCACATGCTACCTGCCCAGCGTGTCTGCTAGACTCTATTTCCTCTGGACGGTGCCCTCGAGTGCCTGCGATCCCTCT
GTCCATGGGGCCCTGCACATAACCCTCAGCTTCACCTACATGAACAGCATGCTGGATCCCCTGGTGTATTATTTTTC
AAGCCCCTCCTTTCCCAAATTCTACAACAAGCTCAAAATCTGCAGTCTGAAACCCAAGCAGCCAGGACACTCAAAAA
CACAAGGCCGGAAGAGATGCCAATTTCGAACCTCGGTCGCAGGAGTTGCATCAGTGTGGCAAATAGTTTCCAAAGC
CAGTCTGATGGGCAATGGGATCCCCACATTGTTGAGTGGCACTGAACAA