(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2006-501801
(P2006-501801A)
(43)公表日　平成18年1月19日(2006.1.19)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	2G045
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	D	4B024
A61K 48/00	(2006.01)	A61K	39/395	N	4B063
A61P 1/04	(2006.01)	A61K	48/00		4B064
A61P 1/16	(2006.01)	A61P	1/04		4B065

審査請求 未請求　予備審査請求 有　（全 209 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2001-578649 (P2001-578649)
(86)(22)出願日　平成13年4月26日 (2001.4.26)
(85)翻訳文提出日　平成14年10月25日 (2002.10.25)
(86)国際出願番号　PCT/US2001/013578
(87)国際公開番号　WO2001/081578
(87)国際公開日　平成13年11月1日 (2001.11.1)
(31)優先権主張番号　60/200,158
(32)優先日　平成12年4月26日 (2000.4.26)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/200,613
(32)優先日　平成12年4月28日 (2000.4.28)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/200,780
(32)優先日　平成12年4月28日 (2000.4.28)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　301062363
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　０６５１１，　ニューヘブン，　ロング　ワーフ　ドライブ　５５５，　１１ティーエイチ　フロア
(74)代理人　100107489
弁理士　大塩　竹志
(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，　フォクソン　ロード　１７３９，　ボックス　エル

最終頁に続く

(54)【発明の名称】新規タンパク質およびこのタンパク質をコードする核酸

(57)【要約】
新規な分子（ＭＯＬ）ポリペプチドをコードする核酸配列が本明細書中に開示される。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、もしく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つに関連する障害の診断、処置、および予防のための治療方法、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、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０からなる群より選択されるアミノ酸配列の成熟形態；
（ｂ）配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０からなる群より選択されるアミノ酸配列の成熟形態の改変体であって、ここで、該改変体の１以上のアミノ酸残基が該成熟形態のアミノ酸配列とは異なり、ただし、該改変体は、該成熟形態のアミノ酸配列と１５％以下のアミノ残基が異なる、改変体；
（ｃ）配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０からなる群より選択されるアミノ酸配列；ならびに
（ｄ）配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０からなる群より選択されるアミノ酸配列の改変体であって、ここで該改変体の１以上のアミノ酸残基が、該成熟形態のアミノ酸配列とは異なり、ただし、該改変体は、該アミノ酸配列と１５％以下のアミノ酸残基が異なる、改変体、
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。
【請求項２】
請求項１に記載のポリペプチドであって、該ポリペプチドが、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０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、前記対立形質改変体が、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、および２９からなる群より選択される核酸配列と１つのヌクレオチドだけ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】
請求項１に記載のポリペプチドであって、ここで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、ポリペプチド。
【請求項５】
単離された核酸分子であって、該核酸分子が、以下：
（ａ）配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０からなる群より選択されるアミノ酸配列の成熟形態；
（ｂ）配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０からなる群より選択されるアミノ酸配列の成熟形態の改変体であって、ここで、該改変体における１以上のアミノ酸残基が、該成熟形態のアミノ酸配列とは異なり、ただし、該改変体は、該成熟形態のアミノ酸配列とは１５％以下のアミノ残基が異なる、改変体；
（ｃ）配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０からなる群より選択されるアミノ酸配列；
（ｄ）配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０からなる群より選択されるアミノ酸配列の改変体であって、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は異なり、ただし、該改変体は、該アミノ酸配列と１５％以下のアミノ酸残基が異なる、改変体；
（ｅ）配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド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は異なり、ただし、該改変体は、該アミノ酸配列と１５％以下のアミノ酸残基が異なる、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、
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする核酸配列を含む、核酸分子。
【請求項６】
請求項５に記載の核酸分子であって、ここで、該核酸分子が、天然に存在する対立遺伝子核酸改変体のヌクレオチド配列を含む、核酸分子。
【請求項７】
請求項５に記載の核酸分子であって、ここで、該核酸分子が、天然に存在するポリペプチド改変体のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする、核酸分子。
【請求項８】
請求項５に記載の核酸分子であって、該核酸分子が、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、および２９からなる群より選択される核酸配列と１つのヌクレオチドだけ異なる、核酸分子。
【請求項９】
請求項５に記載の核酸分子であって、ここで、該核酸分子が以下：
（ａ）配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、および２９からなる群より選択されるヌクレオチド配列；
（ｂ）ヌクレオチド配列であって、該ヌクレオチド配列が、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、および２９からなる群より選択されるヌクレオチド配列と、１つ以上のヌクレオチドが異なり、ただし、２０％以下のヌクレオチド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、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、および２９からなる群より選択されるヌクレオチド配列、または該ヌクレオチド配列の相補体に、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする、核酸分子。
【請求項１１】
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）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む第１のヌクレオチド配列であって、ただし、該第１のヌクレオチド配列の該コード配列におけるヌクレオチドの２０％以下が、該コード配列とは異なる、第１のヌクレオチド配列；
（ｂ）該第１のポリヌクレオチドに相補的な、単離された第２のポリヌクレオチド；および
（ｃ）（ａ）または（ｂ）の核酸フラグメント；
からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、核酸分子。
【請求項１２】
請求項１１に記載の核酸分子を含む、ベクター。
【請求項１３】
前記核酸分子に作動可能に連結されたプロモーターをさらに含む、請求項１２に記載のベクター。
【請求項１４】
請求項１２に記載のベクターを含む、細胞。
【請求項１５】
請求項１に記載のポリペプチドに免疫特異的に結合する、抗体。
【請求項１６】

前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項１５に記載の抗体。
【請求項１７】
前記抗体がヒト化抗体である、請求項１５に記載の抗体。
【請求項１８】
サンプル中の請求項１に記載のポリペプチドの存在または量を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する抗体の存在または量を決定する工程、
を包含し、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、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）該核酸分子に結合する該プローブの存在または量を決定する工程、
を包含し、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、方法。
【請求項２０】
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、請求項１９に記載の方法。
【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に記載のポリペプチドの発現または活性を調節する因子を同定する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）該細胞を該因子と接触させる工程；および
（ｃ）該因子が該ポリペプチドの発現または活性を調節するか否かを決定する工程、
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該因子を示す、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、該ポリペプチドの活性を調節するために十分な量で、該ポリペプチドに結合する化合物と接触させる工程を包含する、方法。
【請求項２６】
ＭＯＬＸ関連性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ＭＯＬＸ関連性障害を処置または予防するために十分な量で、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性動脈硬化症からなる群より選択される、請求項２

６に記載の方法。
【請求項２８】
前記障害が、細胞のシグナル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】
ＭＯＬＸ関連性疾患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ＭＯＬＸ関連性障害を処置または予防するために十分な量で、請求項５に記載の核酸を投与する工程を包含する、方法。
【請求項３１】
前記障害が、心筋症およびアテローム性動脈硬化症からなる群より選択される、請求項３０に記載の方法。
【請求項３２】
前記障害が、細胞のシグナル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】
ＭＯＬＸ関連性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ＭＯＬＸ関連性障害を処置または予防するために十分な量で、請求項１５に記載の抗体を投与する工程を包含する、方法。
【請求項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、細胞のシグナル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む、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む、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む、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素因を決定するための方法であって、該方法は、以下：
（ａ）該第１の哺乳動物被験体由来のサンプル中の該ポリペプチドの発現レベルを測定する工程；および
（ｂ）工程（ａ）の該サンプル中の該ポリペプチドの量を、該疾患を有さないことが既知であるかまたは該疾患にかかりにくいことが既知の、第２の哺乳動物被験体由来のコントロールサンプル中に存在する該ポリペプチドの量と比較する工程を包含し、

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素因を示す、方法。
【請求項４５】
前記素因が癌に対する素因である、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素因を決定するための方法であって、該方法は、以下：
（ａ）該第１の哺乳動物被験体由来のサンプル中の該核酸の量を測定する工程；および
（ｂ）工程（ａ）の該サンプル中の該核酸の量を、該疾患を有さないことが既知であるかまたは該疾患にかかりにくいことが既知の、第２の哺乳動物被験体由来のコントロールサンプル中に存在する該核酸の量と比較する工程を包含し、
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レベルにおける変化が、該疾患の存在または素因を示す、方法。
【請求項４７】
前記素因が癌に対する素因である、請求項４６に記載の方法。
【請求項４８】
哺乳動物において病的状態を処置する方法であって、該方法は、該病的状態を緩和するために十分な量でポリペプチドを該哺乳動物に投与する工程を包含し、ここで、該ポリペプチドが、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０の少なくとも１つのアミノ酸配列、またはそれらの生物学的に活性なフラグメントを含むポリペプチドに対して、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】
哺乳動物における病的状態を処置する方法であって、該方法は、該病的状態を緩和するために十分な量で請求項１５に記載の抗体を該哺乳動物に投与する工程を包含する、方法。
【請求項５０】
配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０からなる群より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、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０の配列からなる群より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、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０からなる群より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、以下の工程：
ａ）配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０のアミノ酸配列を含むポリペプチドからなる群より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）で調製した該膜抽出物を、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、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０からなる群より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、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０のアミノ酸配列を含むポリペプチドからなる群より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）嗅覚上皮を該アデノウイルスで感染させる工程；
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、一般的に、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、新規分子（ＭＯＬ）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、および組み換え方法に関する。
【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。新規核酸およびポリペプチドは、本明細書中においてＭＯＬＸ、またはＭＯＬ１、ＭＯＬ２、ＭＯＬ３、ＭＯＬ４、ＭＯＬ５、ＭＯＬ６、ＭＯＬ７、ＭＯＬ８、ＭＯＬ９、およびＭＯＬ１０核酸ならびに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、ならびにこれらの誘導体、ホモログ、アナログ、およびフラグメントは、本明細書の以後、総称して「ＭＯＬＸ」核酸またはポリペプチド配列と示される。
【０００３】
１つの局面において、本発明は、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、および２９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、ＭＯＬＸポリペプチドをコードする単離されたＭＯＬＸ核酸分子を提供する。いくつかの実施形態において、ＭＯＬＸ核酸分子は、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸポリペプチド、またはそのフラグメント、ホモログ、アナログもしくは誘導体をコードする単離された核酸を含む。例えば、核酸は、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０のアミノ酸配列を含むポリペプチドに少なくとも８０％同一であるポリペプチドをコードし得る。例えば、核酸は、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、および２９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】
ＭＯＬＸ核酸（例えば、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、および２９）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のようなオリゴヌクレオチドまたはこのオリゴヌクレオチドの相補鎖がまた、本発明に含まれる。
【０００５】
実質的に精製されたＭＯＬＸポリペプチド（配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０）がまた、本発明に含まれる。特定の実施形態において、ＭＯＬＸポリペプチドは、ヒトＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸポリペプチド、またはそのフラグメント、ホモログ、アナログ、もしくは誘導体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、治療有効量または予防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含む。治療剤は、例えば、ＭＯＬＸ核酸、ＭＯＬＸポリペプチド、またはＭＯＬＸ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つ以上の容器中に、治療有効量または予防有効量のこの薬学的組成物を含む。
【０００８】
さらなる局面において、本発明は、ＭＯＬＸ核酸を含む細胞をこのＤＮＡによってコードされるＭＯＬＸ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って、ポリペプチドを産生する方法を含む。所望される場合、次いでＭＯＬＸポリペプチドが、回収され得る。
【０００９】
別の局面において、本発明は、サンプル中のＭＯＬＸポリペプチドの存在を検出する方法を含む。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、ポリペプチドと化合物との間の複合体の形成を可能にする条件下で接触させる。存在する場合、複合体を検出し、これによって、サンプル内のＭＯＬＸポリペプチドを同定する。
【００１０】
本発明はまた、ＭＯＬＸ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含む。
【００１１】
サンプル中のＭＯＬＸ核酸分子の存在を検出する方法がまた、本発明に含まれ、この方法は、このサンプルをＭＯＬＸ核酸プローブまたはプライマーと接触させ、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ＭＯＬＸ核酸分子に結合するか否かを決定することによる。
【００１２】
さらなる局面において、本発明は、ＭＯＬＸポリペプチドを含む細胞サンプルを、ＭＯＬＸポリペプチドに結合する化合物と、この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ことによって、ＭＯＬＸポリペプチドの活性を調節するための方法を提供する。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に、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、炭水化物、脂質または他の有機分子（炭素含有分子）もしくは無機分子）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がまた、本発明の範囲内である：糖尿病、肥満と関連する代謝性障害、代謝性症候群Ｘ、食欲不振、慢性疾患と関連する消耗障害、代謝性障害、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、ＭＯＬＸ核酸、ＭＯＬＸポリペプチド、ＭＯＬＸ特異的抗体、またはこれらの生物学的に活性な誘導体もしくはフラグメントであり得る。
【００１４】
例えば、本発明の組成物は、以下に罹患した患者の処置に関して効力を有する：癌（膵臓癌、腺腫、脳腫瘍、結腸癌、乳癌、前立腺癌、精巣癌を含む）、神経学的障害（年齢関連障害、アルツハイマー病、発作、パーキンソン病、ハンティングトン病、脳性小児麻痺、てんかん、行動性障害、嗜癖、不安、疼痛、ネフロパシー、神経変性障害、動脈瘤、線維筋性形成異常を含む）、代謝性障害（成長障害、栄養性水腫、低蛋白血症、トリプシノーゲン欠乏疾患、慢性および遺伝性膵炎、エンテロキナーゼ欠乏、高コレステロール血症、肥満、糖尿病を含む）、心臓障害（心頻拍、紅皮症、長ＱＴ症候群（ｌｏｎｇ　ＱＴ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心ブロック、毛細血管拡張性運動失調、心筋症、アテローム性動脈硬化症、高血圧、先天性心臓欠損、大動脈狭窄症、心房中隔欠損症（ＡＳＤ）、房室（Ａ－

Ｖ）管欠損、動脈管、肺狭窄症、大動脈弁下部狭窄症、心室中隔欠損症（ＶＳＤ）、弁疾患を含む）、ラーセン症候群、夜盲症、ブルガダ症候群（ｂｒｕｇａｄａ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、フォン・ヒッペルーリンダウ（ＶＨＬ）症候群、結節硬化症、高カルシウム血症（ｈｙｐｅｒｃａｌｃｅｉｍｉａ）、肝硬変、新脈管形成および創傷治癒、血圧調節、外傷、結節硬化症、不妊（ｆｅｒｔｉｌｉｔｙ）、ヒルシュスプルング病、腎動脈狭窄症、間質性腎炎、糸球体腎炎、多発性嚢胞腎疾患、尿細管性アシドーシス、ＩｇＡネフロパシー、免疫障害（細胞媒介免疫障害、白質萎縮症、炎症、甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症、レッシューナイハン症候群、多発性硬化症、移植を含む）、肺疾患（喘息、気腫を含む）、免疫不全（ｉｍｍｕｎｄｅｆｉｃｉｅｎｃｙ）、クローン病、強皮症、虫垂炎、自己免疫疾患、全身性エリテマトーデス、発生障害、神経管欠損、アポトーシスの調製、ウイルス、細菌および寄生虫感染、ならびに／あるいは他の病気および障害など。

【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、ＭＯＬＸをコードするｃＤＮＡは、遺伝子治療に有用であり得、そしてＭＯＬＸは、ＭＯＬＸを必要とする被験体に投与される場合、有用であり得る。非限定的な例として、本発明の組成物は、以下に罹患する患者の処置に対して効力を有する：癌（膵臓癌、腺腫、脳腫瘍、結腸癌、乳癌、前立腺癌、精巣癌を含む）、神経学的障害（年齢関連障害、アルツハイマー病、発作、パーキンソン病、ハンティングトン病、脳性小児麻痺、てんかん、行動性障害、嗜癖、不安、疼痛、ネフロパシー、神経変性障害、動脈瘤、線維筋性形成異常を含む）、代謝性障害（成長障害、栄養性水腫、低蛋白血症、トリプシノーゲン欠乏疾患、慢性および遺伝性膵炎、エンテロキナーゼ欠乏、高コレステロール血症、肥満、糖尿病を含む）、心臓障害（心頻拍、紅皮症、長ＱＴ症候群、心ブロック、毛細血管拡張性運動失調、心筋症、アテローム性動脈硬化症、高血圧、先天性心臓欠損、大動脈狭窄症、心房中隔欠損症（ＡＳＤ）、房室（Ａ－Ｖ）管欠損、動脈管、肺狭窄症、大動脈弁下部狭窄症、心室中隔欠損症（ＶＳＤ）、弁疾患を含む）、ラーセン症候群、夜盲症、ブルガダ症候群、フォン・ヒッペルーリンダウ（ＶＨＬ）症候群、結節硬化症、高カルシウム血症、肝硬変、新脈管形成および創傷治癒、血圧調節、外傷、結節硬化症、不妊、ヒルシュスプルング病、腎動脈狭窄症、間質性腎炎、糸球体腎炎、多発性嚢胞腎疾患、尿細管性アシドーシス、ＩｇＡネフロパシー、免疫障害（細胞媒介免疫障害、白質萎縮症、炎症、甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症、レッシューナイハン症候群、多発性硬化症、移植を含む）、肺疾患（喘息、気腫を含む）、免疫不全、クローン病、強皮症、虫垂炎、自己免疫疾患、全身性エリテマトーデス、発生障害、神経管欠損、アポトーシスの調製、ウイルス、細菌および寄生虫感染、ならびに／あるいは他の病気および障害。

【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をスクリーニングするための方法を含む：癌（膵臓癌、腺腫、脳腫瘍、結腸癌、乳癌、前立腺癌、精巣癌を含む）、神経学的障害（年齢関連障害、アルツハイマー病、発作、パーキンソン病、ハンティングトン病、脳性小児麻痺、てんかん、行動性障害、嗜癖、不安、疼痛、ネフロパシー、神経変性障害、動脈瘤、線維筋性形成異常を含む）、代謝性障害（成長障害、栄養性水腫、低蛋白血症、トリプシノーゲン欠乏疾患、慢性および遺伝性膵炎、エンテロキナーゼ欠乏、高コレステロール血症、肥満、糖尿病を含む）、心臓障害（心頻拍、紅皮症、長ＱＴ症候群、心ブロック、毛細血管拡張性運動失調、心筋症、アテローム性動脈硬化症、高血圧、先天性心臓欠損、大動脈狭窄症、心房中隔欠損症（ＡＳＤ）、房室（Ａ－Ｖ）管欠損、動脈管、肺狭窄症、大動脈弁下部狭窄症、心室中隔欠損症（ＶＳＤ）、弁疾患を含む）、ラーセン症候群、夜盲症、ブルガダ症候群、フォン・ヒッペルーリンダウ（ＶＨＬ）症候群、結節硬化症、高カルシウム血症、肝硬変、新脈管形成および創傷治癒、血圧調節、外傷、結節硬化症、不妊、ヒルシュスプルング病、腎動脈狭窄症、間質性腎炎、糸球体腎炎、多発性嚢胞腎疾患、尿細管性アシドーシス、ＩｇＡネフロパシー、免疫障害（

細胞媒介免疫障害、白質萎縮症、炎症、甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症、レッシュ－ナイハン症候群、多発性硬化症、移植を含む）、肺疾患（喘息、気腫を含む）、免疫不全、クローン病、強皮症、虫垂炎、自己免疫疾患、全身性エリテマトーデス、発生障害、神経管欠損、アポトーシスの調製、ウイルス、細菌および寄生虫感染、あるいは、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ＭＯＬＸポリペプチドと接触させる工程、および試験化合物がこのＭＯＬＸ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。このＭＯＬＸポリペプチドへの試験化合物の結合は、この試験化合物が活性のモジュレーターであるか、または上記の障害もしくは症候群に対する潜伏もしくは素因のモジュレーターであることを示す。

【００１７】

活性のモジュレーター、または例えば以下を含む障害もしくは症候群に対する潜伏もしくは素因のモジュレーターについて、下記の障害または症候群について増加した危険性のある試験動物に試験化合物を投与することによって、スクリーニングするための方法がまた、本発明の範囲内である：癌（膵臓癌、腺腫、脳腫瘍、結腸癌、乳癌、前立腺癌、精巣癌を含む）、神経学的障害（年齢関連障害、アルツハイマー病、発作、パーキンソン病、ハンティングトン病、脳性小児麻痺、てんかん、行動性障害、嗜癖、不安、疼痛、ネフロパシー、神経変性障害、動脈瘤、線維筋性形成異常を含む）、代謝性障害（成長障害、栄養性水腫、低蛋白血症、トリプシノーゲン欠乏疾患、慢性および遺伝性膵炎、エンテロキナーゼ欠乏、高コレステロール血症、肥満、糖尿病を含む）、心臓障害（心頻拍、紅皮症、長ＱＴ症候群、心ブロック、毛細血管拡張性運動失調、心筋症、アテローム性動脈硬化症、高血圧、先天性心臓欠損、大動脈狭窄症、心房中隔欠損症（ＡＳＤ）、房室（Ａ－Ｖ）管欠損、動脈管、肺狭窄症、大動脈弁下部狭窄症、心室中隔欠損症（ＶＳＤ）、弁疾患を含む）、ラーセン症候群、夜盲症、ブルガダ症候群、フォン・ヒッペル－リンダウ（ＶＨＬ）症候群、結節硬化症、高カルシウム血症、肝硬変、新脈管形成および創傷治癒、血圧調節、外傷、結節硬化症、不妊、ヒルシュスプルング病、腎動脈狭窄症、間質性腎炎、糸球体腎炎、多発性嚢胞腎疾患、尿細管性アシドーシス、ＩｇＡネフロパシー、免疫障害（細胞媒介免疫障害、白質萎縮症、炎症、甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症、レッシュ－ナイハン症候群、多発性硬化症、移植を含む）、肺疾患（喘息、気腫を含む）、免疫不全、クローン病、強皮症、虫垂炎、自己免疫疾患、全身性エリテマトーデス、発生障害、神経管欠損、アポトーシスの調製、ウイルス、細菌および寄生虫感染、あるいは、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。試験動物は、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸポリペプチドの発現または活性が、この試験動物中で測定され、同様に、組換え的にＭＯＬＸポリペプチドを発現し、かつ障害または症候群について増加していない危険性のコントロール動物中のタンパク質の発現または活性が測定される。次に、試験動物およびコントロール動物の両方におけるＭＯＬＸポリペプチドの発現が、比較される。コントロール動物に対する試験動物におけるＭＯＬＸポリペプチドの活性における変化が、試験化合物はそ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）中のＭＯＬＸポリペプチド、ＭＯＬＸ核酸、またはこれら両方の変更されたレベルと関連する疾患の存在またはこの疾患に対する素因を決定するための方法を含む。この方法は、被験体由来の試験サンプル中のＭＯＬＸ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ＭＯＬＸポリペプチドの量に対して試験サンプル中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試験サンプル中のＭＯＬＸポリペプチドレベルにおける変更が、この被験体における疾患の存在または疾患の素因を示す。好ましくは、素因としては、例えば、以下が挙げられる：例えば、糖尿病、肥満と関連する代謝性障害、代謝性症候群Ｘ、食欲不振、慢性疾患と関連する消耗障害、代謝性障害、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、本発明の新規ポリペプチドの発現

レベルが、種々の癌についてスクリーニングするための方法ならびに癌の段階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、ＭＯＬＸポリペプチド、ＭＯＬＸ核酸、またはヒト（例えば、ヒト被験体）に対するＭＯＬＸ特異的抗体を、病的状態を緩和または予防するのに十分な量で被験体に投与することによって、哺乳動物における障害と関連する病的状態を処置または予防する方法を含む。好ましい実施形態において、障害としては、以下が挙げられる：例えば、癌（膵臓癌、腺腫、脳腫瘍、結腸癌、乳癌、前立腺癌、精巣癌を含む）、神経学的障害（年齢関連障害、アルツハイマー病、発作、パーキンソン病、ハンティングトン病、脳性小児麻痺、てんかん、行動性障害、嗜癖、不安、疼痛、ネフロパシー、神経変性障害、動脈瘤、線維筋性形成異常を含む）、代謝性障害（成長障害、栄養性水腫、低蛋白血症、トリプシノーゲン欠乏疾患、慢性および遺伝性膵炎、エンテロキナーゼ欠乏、高コレステロール血症、肥満、糖尿病を含む）、心臓障害（心頻拍、紅皮症、長ＱＴ症候群、心ブロック、毛細血管拡張性運動失調、心筋症、アテローム性動脈硬化症、高血圧、先天性心臓欠損、大動脈狭窄症、心房中隔欠損症（ＡＳＤ）、房室（Ａ－Ｖ）管欠損、動脈管、肺狭窄症、大動脈弁下部狭窄症、心室中隔欠損症（ＶＳＤ）、弁疾患を含む）、ラーセン症候群、夜盲症、ブルガダ症候群、フォン・ヒッペルーリンダウ（ＶＨＬ）症候群、結節硬化症、高カルシウム血症、肝硬変、新脈管形成および創傷治癒、血圧調節、外傷、結節硬化症、不妊、ヒルシュスプルング病、腎動脈狭窄症、間質性腎炎、糸球体腎炎、多発性嚢胞腎疾患、尿細管性アシドーシス、ＩｇＡネフロパシー、免疫障害（細胞媒介免疫障害、白質萎縮症、炎症、甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症、レッシューナイハン症候群、多発性硬化症、移植を含む）、肺疾患（喘息、気腫を含む）、免疫不全、クローン病、強皮症、虫垂炎、自己免疫疾患、全身性エリテマトーデス、発生障害、神経管欠損、アポトーシスの調製、ウイルス、細菌および寄生虫感染。

【００２０】

なお別の局面において、本発明は、当該分野で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のエフェクターを同定するための方法に使用され得る。これらとしては、ツーハイブリッドシステム、アフィニティー精製、抗体または他の特異的相互作用分子を用いた同時沈降が挙げられるが、これらに限定されない。

【００２１】

他に規定しない限り、本明細書中に使用される全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する当業者によって通常理解される意味と同じ意味を有する。本明細書中に記載される方法および材料に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使用され得るが、適切な方法および材料は、以下に記載される。本明細書中に言及される全ての刊行物、特許出願、特許および他の参考文献は、その全体が参考として援用される。相反する場合、本明細書（定義を含む）が支配する。さらに、材料、方法、および実施例は、例示のみであり、そして限定す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特許請求の範囲から明白である。

【００２３】

（発明の詳細な説明）

本発明は、新規ポリペプチドをコードする新規核酸配列の発見に一部基づく。新規核酸およびそれらのコードされるポリペプチドは、個々に、ＭＯＬ１、ＭＯＬ２、ＭＯＬ３、ＭＯＬ４、ＭＯＬ５、ＭＯＬ６、ＭＯＬ７、ＭＯＬ８、ＭＯＬ９、およびＭＯＬ１０と呼ばれる。核酸、およびそれらのコードされるポリペプチドは、本明細書中総称して、「ＭＯＬＸ」と示される。

【００２４】

本発明の新規ＭＯＬＸ核酸は、その配列が表１Ａ、２Ａ、３Ａ、４Ａ、５Ａ、６Ａ、６Ｄ

、７Ａ、８Ａ、８Ｄ、９Ａ、９Ｄ、９Ｆ、および１０Ａ（包括的に「表１Ａ～１０Ａ」）に提供される核酸、またはそのフラグメント、誘導体、アナログもしくはホモログを含む。本発明の新規ＭＯＬＸタンパク質は、その配列が表１Ｂ、２Ｂ、３Ｂ、４Ｂ　５Ｂ、６Ｂ、６Ｅ、７Ｂ、８Ｂ、８Ｅ、９Ｂ、９Ｅ、９Ｇおよび１０Ｂ（包括的に「表１Ｂ－１０Ｂ」）に提供されるタンパク質フラグメントを含む。個々のＭＯＬＸ核酸およびタンパク質は、以下に記載される。細胞シグナル伝達または代謝経路調節に関連する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が、本発明の範囲内である。

【００２５】

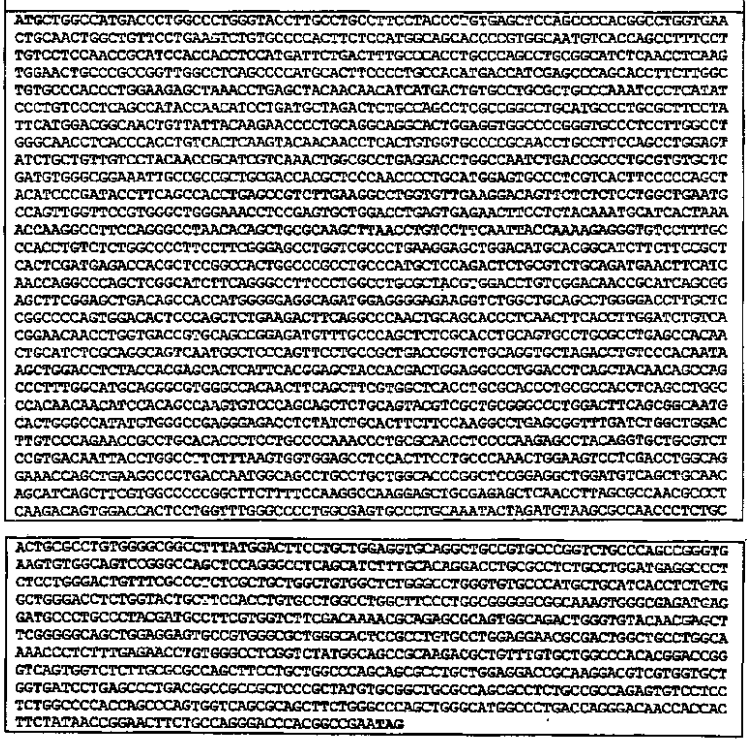
（ＭＯＬ１）

１０５０ヌクレオチドの開示されるインターロイキン－１レセプター／Ｔｏｌｌ様核酸（ＭＯＬ１）が、表１Ａに示される。開示されるＭＯＬ１オープンリーディングフレーム（「ＯＲＦ」）は、ヌクレオチド１～３のＡＴＧ開始コドン（表１Ａにおいて太字で示される）で始まる。コードされるポリペプチドは、代替的に、本明細書中においてＭＯＬ１またはＧＭ＿７９９６０１７８と呼ばれる。開示されるＭＯＬ１　ＯＲＦは、ヌクレオチド３０４３～３０４５のＴＧＡコドンで終わる。表１Ａに示されるように、開始コドンおよび終止コドンは、太字である。

【００２６】

【表１】

表 1A. MOL1ヌクレオチド配列（配列番号１）



開示されるコードされるＭＯＬ１タンパク質は、３４６アミノ酸残基を有し、ＭＯＬ１タンパク質と呼ばれる。ＭＯＬ１タンパク質を、シグナルペプチド推定および細胞局在について分析した。ＳｉｇｎａｌＰ結果は、このＭＯＬ１が配列番号２の４１位と４２位との間で切断されることを推定する。ＰｓｏｒｔおよびＨｙｄｒｏｐａｔｈｙプロフィールがまた、ＭＯＬ１はシグナルペプチドを含み、そしておそらく原形質膜に局在されることを推定する（確実性＝０．４６００）。開示されるＭＯＬ１ポリペプチド配列を、１文字ア

ミノ酸コードを用いて表１Ｂに示す。

【００２７】

【表２】

表1B. コードされるMOL1タンパク質配列(配列番号2)

```
MLAMTLALGTLPAFLPCELQPHGLVNCNWLFLKSVPHFSHAAPRGNVTSLSLSSNRIHHLHDSDFAHLPSLRHLNLK
WNCPPVGLSPMHFPCHMTIEPSTFLAVPTLEELNLSYNNIMTVPALPKSLISLSLSHTNILMLDSASLAGLHALRFL
FMDGNCYYKNPCRQALEVAPGALLGLGNLTHLSLKYNNLTVVPRNLPSSLEYLLLSYNRIVKLAPEDLANLTALRVL
DVGGNCRRCDHAPNPCMECPRHFPQLHPDTFSHLSRLEGLVLKDSSLSWLNASWFRGLGNLRVLDLSENFLYKCITK
TKAFQGLTQLRKLNLSFNYQKRVSFAHLSLAPSFGSLVALKELDMHGIFFRSLDETTLRPLARLPMLQTLRLQMNFI
NQAQLGIFRAFPGLRYVDLSDNRISGASELTATMGEADGGEKVWLQPGDLAPAPVDTPSSEDFRPNCSTLNFTLDLS
RNNLVTVQPEMFAQLSHLQCLRLSHNCISQAVNGSQFLPLTGLQVLDLSHNKLDLYHEHSFTELPRLEALDLSYNSQ
PFGMQGVGHNFSFVAHLRTLRRLSLAHNNIHSQVSQQLCSTSLRALDFSGNALGHMWAEGDLYLHFFQGLSGLIWLD
LSQNRLHTLLPQTLRNLPKSLQVLRLRDNYLAFFKWWSLHFLPKLEVLDLAGNQLKALTNGSLPAGTRLRRLDVSCN
SISFVAPGFFSKAKELRELNLSANALKTVDHSWFGPLASALQILDVSANPLHCACGAAFMDFLLEVQAAVPGLPSRV
KCGSPGQLQGLSIFAQDLRLCLDEALSWDCFALSLLAVALGLGVPMLHHLCGWDLWYCFHLCLAWLPWRGRQSGRDE
DALPYDAFVVFDKTQSAVADWVYNELRGQLEECRGRWALRLCLEERDWLPGKTLFENLWASVYGSRKTLFVLAHTDR
VSGLLRASFLLAQQRLLEDRKDVVVLVILSPDGRRSRYVRLRQRLCRQSVLLWPHQPSGQRSFWAQLGMALTRDNHH
FYNRNFCQGPTAE
```

ＭＯＬ１を、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所有配列ファイル（ｐｒｏｐｒｉｅｔａｒｙ　ｓｅｑｕｅｎｃｅ　ｆｉｌｅ）のＴｂｌａｓｔＮ分析（これは、ＧｅｎＢａｎｋによって利用可能であるＧｅｎｏｍｉｃ　Ｄａｉｌｙ　Ｆｉｌｅに対して実行された）を用いて第３染色体上に最初に同定した。所有ソフトフェアプログラム（ＧｅｎＳｃａｎ^{TM}）を使用して、核酸配列およびエキソンの選択をさらに推定した。生じた配列をさらに、ＢＬＡＳＴ検索を用いる類似性によって改変した。次いで、この配列を、明らかな矛盾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。

【００２８】

ＭＯＬ１核酸配列の領域は、１２０３塩基の内の６９０塩基（５７％）がＨｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ　Ｔｏｌｌレセプター mRNA（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＡＬ１３７４５１）に同一である（５．７×１０$^{-8}$のＥ値）。本明細書中の全てのＢＬＡＳＴアルゴリズムにおいて、「Ｅ値」または「期待」値は、整列された配列が検索されたデータベース内において、ＢＬＡＳＴ問い合わせ配列に対して偶然だけでその類似性が達成され得た可能性の数値指標である。例えば、全く偶然に問い合わせＭＯＬ１配列と一致した、ＭＯＬ１ＢＬＡＳＴ分析から検索される対象（「Ｓｂｊｃｔ」）（例えば、Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ　ＭＯＬ）の可能性は、５．７×１０$^{-8}$である。

【００２９】

ＢＬＡＳＴＸ検索を、公共のタンパク質データベースに対して実行した。本発明のタンパク質の全長アミノ酸配列は、Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ由来の１０４９アミノ酸残基のＴｏｌｌ様レセプター７タンパク質（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：ＡＡＦ６０１８８）と、９００アミノ酸残基のうちの３４２残基（３８％）が同一であり、そして９００残基の内の４９３残基（５４％）が陽性であることが、見出された。

【００３０】

ＭＯＬ１のアミノ酸配列がまた、表１Ｃに示される他のタンパク質と高い相同性を有した。

【００３１】

【表３】

表1C. MOL1についてのBLAST結果

遺伝子インデックス/識別子	タンパク質/生物体	長さ (aa)	同一性 (%)	陽性 (%)	期待値
Patp:AB86365	DNAX toll様レセプター DTLR-10 [Homo sapiens]	336	335/336 (99%)	335/336 (99%)	0.0
gi|8394456|ref|NP_059138.1|	toll様レセプター9 [Homo sapiens]	1032	960/1014 (94%)	960/1014 (94%)	0.0
gi|13648665|ref|XP_003236.2|	toll様レセプター9 [Homo sapiens]	1014	960/1014 (94%)	960/1014 (94%)	0.0
gi|8099654|gb|AAF72190.1|AF259263_1	toll様レセプター9 B形態 [Homo sapiens]	975	921/975 (94%)	921/975 (94%)	0.0
gi|13507173|gb|AAK28488.1|AF314224_1	toll様レセプター9 [Mus musculus]	1032	720/1015 (70%)	799/1015 (77%)	0.0

ＯＲタンパク質配列に関連する本発明の開示されたタンパク質と比較するＣｌｕｓｔａｌ Ｗ解析は、第１行に示されるＭＯＬ１を用いて表１Ｄに提供される。

【００３２】

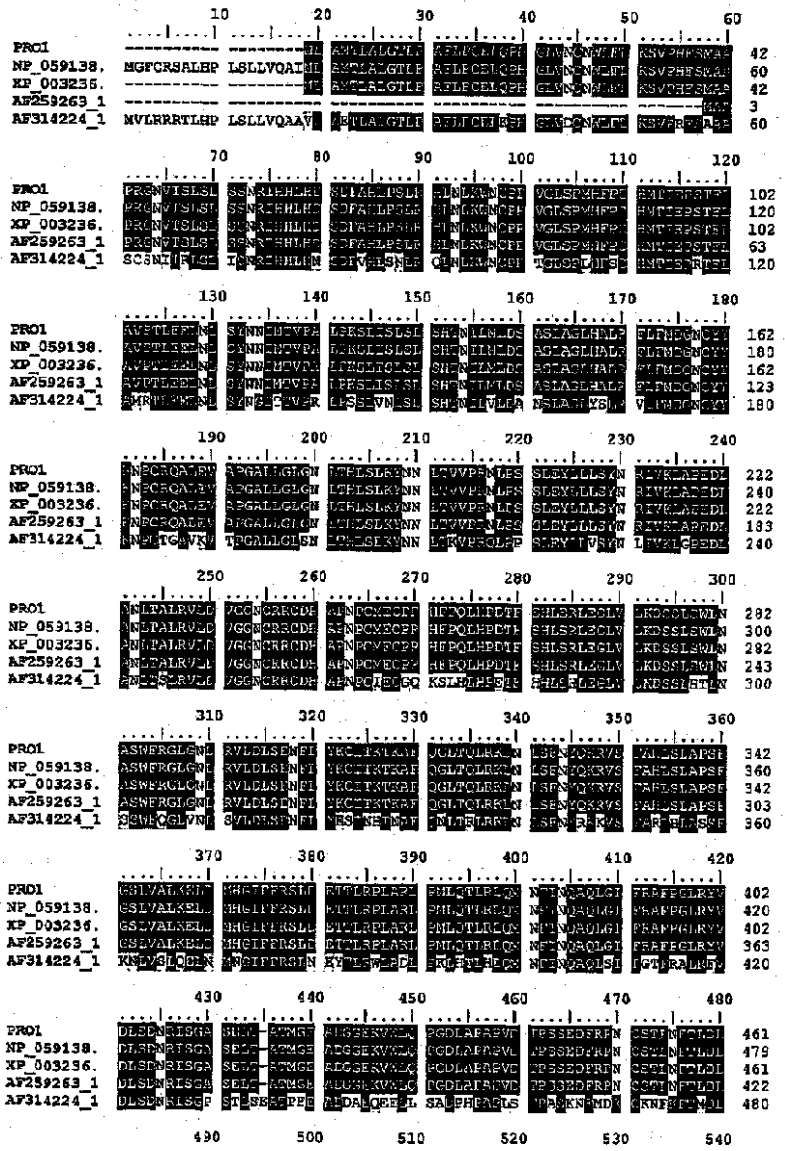
ＭＯＬ１タンパク質のＣｌｕｓｔａｌＷアラインメントならびに本明細書中の全ての他のＣｌｕｓｔａｌＷ解析において、黒色の輪郭のアミノ酸残基は、変換された配列の領域（すなわち、構造的または機能的性質を保存するのに必要とされ得る領域）を示し、一方、強調されていないアミノ酸残基は、ほとんど変換されておらず、かつ、タンパク質構造または機能を変更せずにずっと広い範囲に潜在的に突然変異され得る。本明細書中の任意のＭＯＬＸ改変体配列幹の残基の差異は、「１つの」改変体における残基およびこの「１つの」改変体に関する残基位置を示すように記される。個々のＭＯＬ改変体間で異なる全ての以下の配列アラインメントにおけるＭＯＬ残基は、本明細書中の全てのアラインメントにおいて囲みで強調され、そして改変体残基の上に（ｏ）記号でマークされる。

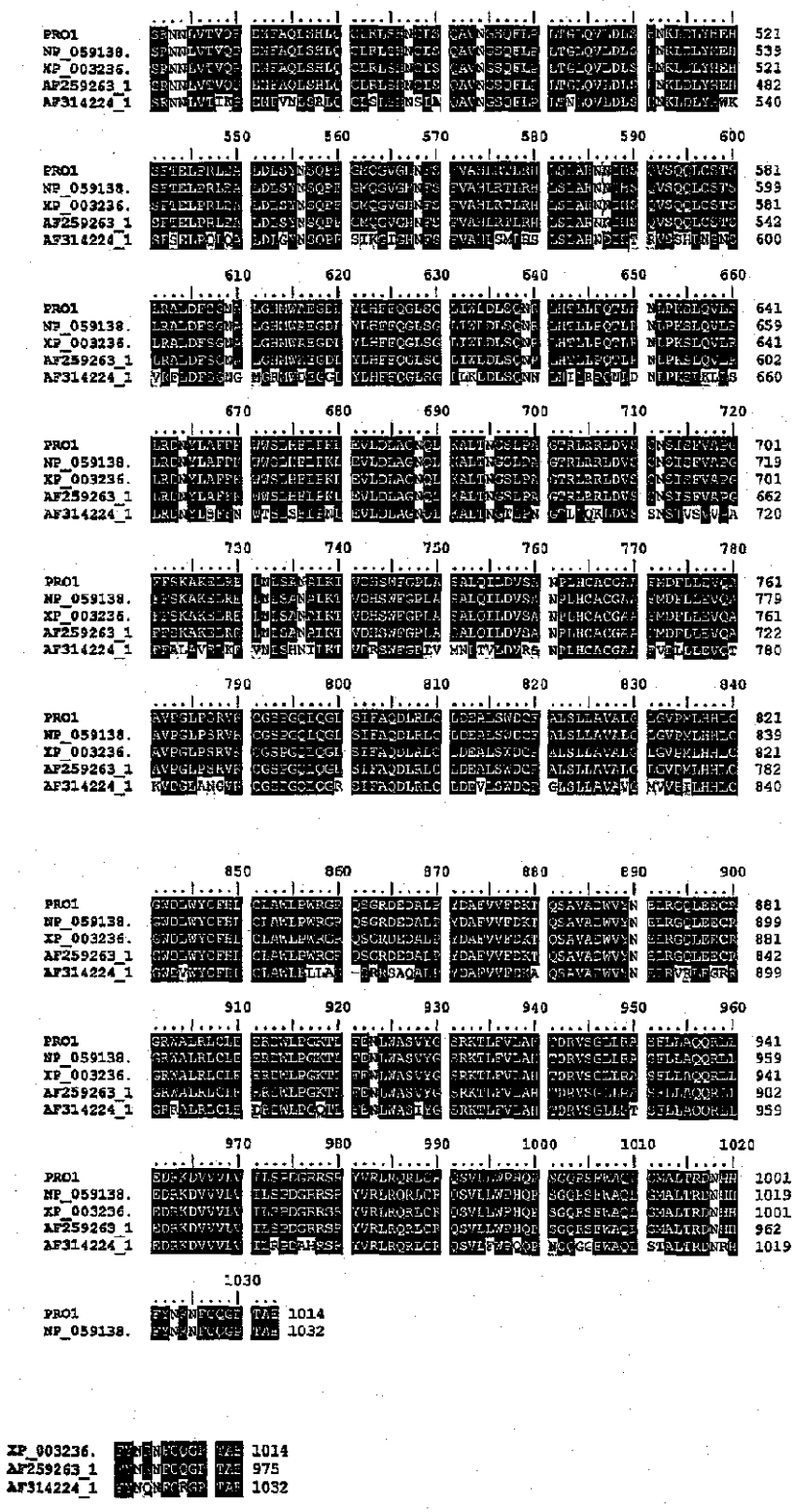
【００３３】

【表４】

表1D. MOL1のClustalW分析

1) Novel MOL1 (SEQ ID NO:2)
2) gi|8394456|ref|NP_059138.1| toll-like receptor 9 [Homo sapiens] (SEQ ID NO:31)
3) gi|13648665|ref|XP_003236.2| toll-like receptor 9 [Homo sapiens] (SEQ ID NO:32)
4) gi|8099654|gb|AAF72190.1|AF259263_1 toll-like receptor 9 form B [Homo sapiens] (SEQ ID NO:33)
5) gi|13507173|gb|AAK28488.1|AF314224_1 toll-like receptor 9 [Mus musculus] (SEQ ID NO:34)





インターロイキン－１（ＩＬ－１）レセプター／Ｔｏｌｌ様レセプター（ＴＬＲ）スーパーファミリーは、細菌規定され、そして宿主において傷害および感染に対する応答に関する拡張レセプター群である。このスーパーファミリーは、Ｔｏｌｌ／ＩＬ－１レセプター（ＴＩＲ）ドメインによって規定される。これは、ファミリーメンバーのサイトゾルの領域を生じ、そしてさらにＩ型ＩＬ－１レセプターまたはＤｒｏｓｏｐｈｉｌａ　Ｔｏｌｌレセプター細胞外ドメインのいずれかへの相同性に基づいて２つの群に細分化される。前者の群は、重要なＴｈ１サイトカインＩＬ－１８およびＴ１／ＳＴ２に対するレセプター（Ｔｈ２細胞機能に役割を有し得る）を含む。後者の群は、６つの哺乳動物ＴＬＲ（ＴＬＲ２およびＴＬＲ４（それぞれグラム陽性細菌およびグラム陰性細菌に対する宿主応答を

大きく媒介する）を含む）を含む。細菌産物がＴＬＲに対する実際のリガンドであるかまたは、それらが未だに未同定のパターン認識レセプターを介してリガンドを生成するか否かは、まだ決定されていない。ＴＩＲドメインを介して活性化されるシグナル伝達経路は、ダウンストリームキナーゼ、および転写因子（例えば、ＮＦ－κＢ）の活性化を誘発し、そしてそれ自体がＴＩＲドメインを含むアダプタータンパク質、ＭｙＤ８８を含む。

【００３４】

環境に対する一次界面として、皮膚は、傷害および病原体による侵入に常に供される。免疫系の進化を駆動する基本的な力は、宿主を圧倒的な感染から保護するために必要とされている。発生中にＴ細胞およびＢ細胞が抗原レセプター遺伝子を組換える能力は、抗原に対してほとんど限定されない特異性を有する有効な、順応性な、かつ強力な免疫系を提供する。環境抗原によって活性化される抗原特異性のリンパ球のサブセットを拡張する能力（記憶応答）は、「獲得された」免疫と呼ばれる。免疫学的記憶（哺乳動物の生物学の基本的な局面であるが）は、生体が１０年間生存することを可能にする相対的に最近の進化学的事象である。「先天性」免疫（生殖系列の配座にとどまり、そして微生物上の保存された構造パターンを認識するタンパク質をコードする遺伝子によって媒介される）は、宿主防御のずっとより古来の系である。ディフェンシンおよび他の抗微生物ペプチド、補体およびオプソニン、および細胞内レセプターは、全て先天性免疫系の構成要素と考えられる。しかし、これらのいずれも、シグナル伝達レセプターではない。もっとも最近では、ＮＦ－κＢ転写因子を介するシグナル伝達を媒介する細胞表面レセプターの巨大なファミリーが、同定されている。タンパク質の個のファミリーは、先天性免疫を媒介する植物およびＤｒｏｓｏｐｈｉｌａ遺伝子との著しい相同性を共有する。哺乳動物において、このファミリーとしては、Ｉ型インターロイキン－１レセプター、インターロイキン－１８レセプター、およびＴｏｌｌ様レセプターの成長ファミリーが挙げられ、これらのうち２つは、細菌エンドトキシンに対するシグナル伝達レセプターとして最近同定された。この点で、本発明者らは、インターロイキン－１が先天性免疫系および後天性免疫系を関連付けて、皮膚における相乗作用の宿主防御活性を提供する方法を議論する。

【００３５】

Ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａにおいて、Ｔｏｌｌタンパク質は、胚における背腹性極性の達成に関連する。さらに、Ｔｏｌｌファミリーのメンバーは、昆虫ならびに哺乳動物において先天性抗細菌免疫および先天性抗真菌免疫に重要な役割を果たす。これらのタンパク質は、インターロイキン－１レセプター（ＩＬ－１Ｒ）、Ｔｏｌｌ／ＩＬ－１Ｒ相同性領域（ＴＩＲ）と細胞内の２００残基ドメインを共有するＩ型膜貫通レセプターである。Ｔｏｌｌ様レセプター（ＬＴＲ）とＩＬ－１Ｒとの間の類似性は、配列相同性とは限らない。これは、これらのタンパク質がまた、類似のシグナル伝達経路を共有するからである。これらは共に、アダプタータンパク質およびプロテインキナーゼを介してＲｅｌ型転写因子の活性化を誘導する。興味深いことに、ＭｙＤ８８（哺乳動物において知見された細胞質のアダプタータンパク質）は、ＤＥＡＴＨドメインに関連するＴＩＲドメインを含む（ＩＰＲ０００４８８を参照のこと）。哺乳動物およびＤｒｏｓｏｐｈｉｌａタンパク質のほかに、ＴＩＲドメインはまた、宿主防御に関係する多数の植物タンパク質において知見される。ＭｙＤ８８として、これらのタンパク質は、細胞質性である。部位指向変異誘発および欠失分析は、ＴＩＲドメインがＴｏｌｌおよびＩＬ－１Ｒ活性について必須であることを示している。配列解析は、このファミリーの異なるメンバー間で３つの高く保存された領域の存在を示している：ボックス１（ＦＤＡＦＩＳＹ）、ボックス２（ＧＹＫＬＣ－ＲＤ－ＰＧ）、およびボックス３（塩基残基によって囲まれた保存されたＷ）。ボックス１および２は、シグナル伝達に関連するタンパク質の結合に関連し、一方、ボックス３は、おそらく細胞骨格エレメントとの相互作用を介してレセプターの局在化を指向することに主に関連することが提案されている。

【００３６】

Ｔｏｌｌは、個体発生および抗微生物耐性に対して必須のＤｒｏｓｏｐｈｉｌａ遺伝子である。Ｔｏｌｌのいくつかのホルトログ（ｈｏｒｔｏｌｏｇｕｅ）は、脊椎動物において

同定され、そしてクローニングされている（すなわちＴｏｌｌ様レセプター（ＴＬＲ））。ヒトＴＬＲは、先天性免疫に関連する分子の成長ファミリーである。ＴＬＲは、細胞質Ｔｏｌｌ／インターロイキン－１Ｒ（ＴＩＲ）ドメインによって、および細胞外ロイシン－リッチ理ピー濾によって構造的に特徴付けられる。これまで特徴付けられたＴＬＲは、いくらかＭｙＤ８８／ＩＲＡＫシグナル伝達カスケードを活性化し、これは、分岐して、ＮＦ－κＢおよびｃ－Ｊｕｎ／ＡＴＦ２／ＴＣＦ活性化を導く。遺伝的アプローチ、遺伝子導入アプローチ、およびドミナントネガティブアプローチは、ＴＬＲファミリーメンバー（ＴＬＲ２およびＴＬＲ４）をリポ多糖類認識およびシグナル伝達に関与させている。蓄積した証拠は、いくつかのＴＬＲ分子がまた、グラム陽性細菌およびマイコバクテリアの成分を認識するシグナル伝達レセプター複合体に関与し得ることを示唆する。しかし、他のＴＬＲの決定的な役割は、まだ欠失している。系統的アプローチは、使用されて、異なるヒト白血球集団が、選択的にかまたは特異的にＴＬＲ　ｍＲＮＡを発現するか否かを決定している。発現パターンに基づいて、ＴＬＲは、遍在的（ＴＬＲ１）、限定的（ＴＬＲ２、ＴＬＲ４、およびＴＬＲ５）ならびに特異的（ＴＬＲ３）として分類され得る。重複するリガンド認識パターンを介する明確な発現および調節は、多数の、一見余分な、ＴＬＲファミリーの存在の根底にあり得る。あるいは、単一の細胞型におけるＴＬＲの発現は、限られた設定においてこの分子の特異的な役割を示し得る。

【００３７】

３つのＭＯＬ１タンパク質間のアミノ酸の差異は、表１Ｈに示される。欠失は、デルタ（Δ）によってマークされる。３つのタンパク質間の差異は、いくつかの明確な領域へ局在化されるように見える。従って、これらのタンパク質は、類似の機能（例えば、嗅覚レセプターまたはケモカインレセプターとして利用される）を有し得る。

【００３８】

（本発明の組成物の使用）

本発明の上で規定された情報は、このＴｏｌｌレセプター様タンパク質が「Ｔｏｌｌレセプターファミリー」のメンバーとして機能し得ることを示唆する。従って、ここで同定された新規な核酸およびタンパク質は、以下に示されるような種々の病理学および障害に影響を与える（しかし、これらに限定されない）潜在的な治療用途において有用であり得る。本発明の潜在的な治療用途としては、タンパク質治療、低分子薬物標的、抗体標的（治療的、診断的、薬物標的／細胞傷害性抗体）、診断的および／または予後マーカー、遺伝子治療（遺伝子送達／遺伝子切断）、探索ツール、ここで規定されるものを含む（が限定されない）全ての組織ならびに細胞型のインビボおよびインビトロでの組織再生が挙げられるが、これらに限定されない。

【００３９】

本発明の核酸およびタンパク質は、膵臓癌、腺腫、および他の癌、ラーセン症候群、頻脈、紅皮症、夜盲症、長期ＱＴ症候群、ブルガダ症候群、心臓ブロック、細胞媒介免疫、ならびに炎症および／または病理学における媒介物質としての用途に影響を与える潜在的な治療用途に有用である。例えば、Ｔｏｌｌレセプター様タンパク質をコードするｃＤＮＡは、遺伝子治療に有用であり得、そしてこのＴｏｌｌレセプター様タンパク質は、そ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。非限定的な例によって、本発明の組成物は、膵臓癌、腺腫、および他の癌、ラーセン症候群、頻脈、紅皮症、夜盲症、長期ＱＴ症候群、ブルガダ症候群、心臓ブロック、細胞媒介免疫に罹患している患者の処置、ならびに炎症における媒介物質としての用途にについて効果を有する。Ｔｏｌｌレセプター様タンパク質をコードする新規な核酸、および本発明のＴｏｌｌレセプター様タンパク質またはそれらのフラグメントは、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。これらの物質は、治療方法または診断方法における使用のため免疫特異的に本発明の新規な基質に結合する抗体の産生においてさらに有用である。

【００４０】

（ＭＯＬ２）

さらなる本発明のマウスＧＮＣ２　ｅＩＦＫ様タンパク質（本明細書中でＭＯＬ２と呼ばれる）は、臭覚レセプター（「ＯＲ」）様タンパク質である。新規なＧＮＣ２　ｅＩＦＫ様タンパク質をコードする４９８９ヌクレオチドの新規な核酸（２０４６６８２８＿ＥＸＴ１、配列番号３）は、表２Ａに示される。

【００４１】

【表５】

表2A. MOL2ヌクレオチド配列（配列番号３）

```
ATGGCTGGGGGCCGTGGGGCCCCCGGGCGCGGCCGGGACGAGCCTCCGGAGAGCTACCGCAACGACAGGACCACGA
GCTACAGGCCCTGGAGGCCATCTACGGCGCGGACTTCCAAGACCTGCGGCCGGACGCTTGCGGACCGGTTAAGGTCA
AAGAGCCCCCTGAAATCAATTTAGTTTTGTACCCTCAAGGCCTAACTGGTGAAGAAGTATATGTAAAAGTGGATTTG
AGGGTTAAATGCCCACCTACCTATCCAGATGTAGTTCCTGAAATAGAGTTAAAAAATGCCAAAGGTCTATCAAATGA
AAGTGTCAATTTGTTAAAATCTCGCCTAGAAGAACTGGCCAAGAAACACTGTGGGGAGGTAGTGATGATCTTTGAAC
TGGCTTACCACGTGCAGTCATTTCTCAGCGAGCATAACAAGCCCCCTCCCAAGTCTTTTCATGAAGAAATGCTGGAA
AGGCGGGCTCAAGAGGAGCAACAGAGGCTGTTGGAGGCCCAAGCGGAAGAAGAGCACAGCAACGTGAAATCCTGCA
TGAGATTCAGAGAAGGAAAGAAGAGATAAAAGAAGAGAAAAAAAGGAAAGAAATGGCTAAGCAGGAACGTTTGGAAA
TTGCTAGTTTGTTCAAACCAAGATCATACCTCTAAGAAGGACCCAGGAGGACACAGAACGGCTGCCATTCTACATGGA
GGCTCTCCTGACTTTGTAGGAAATGGTAAACATCGGGCAAACTCCTCAGGAAGGTCTAGGTTAAGGCGAGAACGTCA
GTATTCTGTATGTAATAGTGAAGATTCTCCTGGCTCTTGTGAAATTCTGTATTTCAATATGGGGAGTCCTGATCAGC
TCATGGTGCACAAAGGGAAATGTATTGGCAGTGATGAACAACTTGGAAAATTAGTCTACAATGCTTTGGAAACAGCC
ACTGGTGGCTTTGTCTTGTTGTATGAGTGGGTCCTTCAGTGGCAGAAAAAAATGGGTCCATTCCTTACCAGTCAAGA
AAAAGAGAAGATTGATAAGTGCAAAAAGCAGATTCAAGGAACAGAAACAGAATTCAACTCACTGGTAAAATTGAGCC
ATCCAAATGTAGTACGCTACCTCGCAATGAATTCAAAGAGCAAGACGACTCCATTCGTGGTGGACATTTTAGTGGAG
CACATTAGTGGGGTCTCTCTTGCTGCACACCTGAGCCACTCAGGCCCCATCCCTGTGCATCAGCTTCGCAGGTACAC
AGCTCAGCTCCTGTCAGGCCTTGATTATCTGCACAGCAATTCTGTGGTGCATAAGGTCCTGAGTGCATCTAATGTCT
TGGTGGATGCAGAAGGCACCGTCAAGATTACGGACTATAGCATTTCTAAGCGCCTCGCAGACATTTGCAAGGAGGAT
GTGTTTGAGCAAACCCGAGTTCGCTTTAGTGACAATGCTCTGCCTTATAAAACGGGGAAGAAAGGAGATGTTTGGCG
TCTTGGCCTTCTGCTGCTGTCCCCAGCCAAGGACAGGAATGTGGAGAGTACCCTGTGACCATCCCTAGTGACTTAC
CAGCTGACTTTCAAGATTTTCTAAAGAAGAGATGTGTGTGCTTGGATGACAAGGAAAGATGGAGTCCCCAGCAGTTG
TTGAAACACAGCTTTATAAATCCCCAGCCAAAAATGCCTCTAGTGGAACAAAGTCCTGAATCTGAAGGACAAGATTA
TGTTGAGACTGTTATTCCTAGCAACCGGCTACCCAGTGCTGCCTTCTTTAGTGAGACACAGAGACAGTTTTCCCGAT
ACTTCATTGAGTTTGAAGAATTACAACTTCTTGGTAAAGGAGCTTTTGGAGCTGTCATCAAGGTGCAGAACAAGTTG
GACGGCTGCTGCTACGCAGTGAAGCGCATCCCCATCAACCCGGCCAGCCGGCAGTTCCGCAGGATCAAGGGCGAAGT
GACACTGCTGTCACGGCTGCACCATGAGAACATTGTGCGCTACTACAACGCCTGGATCGAGCGGCACGAGCGGCCGG
CGGGACCGGGGACGCCGCCCCCGGACTCCGGGCCCCTGGCCAAGGATGACCGAGCTGCACGCGGGCAGCCGGCGAGC
GACACAGACGGCCTGGACAGCGTAGAGGCCGCCGCCGCCGCCACCCATCCTCAGCAGCTCGGTGGAGTGGAGCACTTC
GGGCGAGCGCTCGGCCAGTGCCCGTTTCCCCGCCACCGGCCCGGGCTCCAGCGATGACGAGGACGCACGACGAGGACG
AGCACGGTGGCGTCTTCTCCCAGTCCTTCCTGCCTGCTTCAGATTCTGAAAGTGATATTATCTTTGACAATGAAGAT
GAGAACAGTAAAAGTCAGAATCAGGATGAAGATTGCAATGAAAAGAATGGCTGCCATGAAAGTGAGCCATCAGTGAC
GACTGAGGCTGTGCACTACCTATACATCCAGATGGAGTACTGTGAGAAGAGCACTTTACGAGACACCATTGACCAGG
GACTGTATCGAGACACCGTCAGACTCTGGAGGCTTTTTCGAGAGATTCTGGATGGATTAGCTTATATCCATGAGAAA
GGAATGATTCACCGGGATTTGAAGCCTGTCAACATTTTTTTGGATTCTGATCATGTGAAAATAGGTGATTTTGG
TTTGGCGACAGACCATCTAGCCTTTTCTGCTGACAGCAAACAAGACGATCAGACAGGAGACTTGATTAAGTCAGACC
CTTCAGGTCACTTAACTGGGATGGTTGGCACTGCTCTCTATGTAAGCCCAGAGGTCCAAGGAAGCACCAAATCTGCA
TACAACCAGAAAGTGGATCTCTTCAGCCTGGGAATTATCTTCTTTGAGATGTCCTATCACCCCATGGTCACGGCTTC
AGAAAGGATCTTTGTTCTCAACCAACTCAGAGATCCCACTTCGCCTAAGTTTCCAGAAGACTTTGACGATGGAGAGC
ATGCAAAGCAGAAATCAGTCATCTCCTGGCTGTTGAACCACGATCCAGCAAAACGGCCCACAGCCACAGAACTGCTC
AAGAGTGAGCTGCTGCCCCCACCCCAGATGGAGGAGTCAGAGCTGCATGAAGTGCTGCACCACACGCTGACCAACGT
GGATGGGAAGGCCTACCGCACCATGATGGCCCAGATCTTCTCGCAGCGCATCTCCCCTGCCATCGATTACACCTATG
ACAGCGACATACTGAAGGGCAACTTCTCAATCCGTACAGCCAAGATGCAGCAGCATGTGTGTGAAACCATCATCCGC
ATCTTTAAAAGACATGGTGCTGTTCAGTTGTGTACTCCACTACTGCTTCCCCGAAACAGACAAATATATGAGCACAA
CGAAGCTGCCCTATTCATGGACCACAGCGGGATGCTGGTGATGCTTCCTTTTGACCTGCGGGTGCCTTTTGCAAGAT
ATGTGGCAAGAAATAATATATTGAATTTAAAACGGTACTGCATAGAACGTGTGTTCACGCCGCGGCAAGTTAGATCGA
TTTCATCCCAAAGAACTTCTGGAGTGTGCCTTTGATATTGTCACTTCTACCACCAACAGCTTTCTGCCCACTGCTGA
AATTATCTACACTATCTATGAAATCATCCAAGAGTTTCCAGCACTTCAAGAAAGAAATTACAGTATTTATTTGAACC
ATACCATGTTATTGAAAGCAATACTGTTACACTGTGGGATCCCAGAAGATAAACTCAGTCAAGTCTACATTATTCTG
TATGATGCTGTGACAGAGAAGCTGACGAGGAGAGAAGTGGAAGCTAAATTTTGTAATCTGTCTTTGTCTTCTAATAG
TCTGTGTCGACTCTACAAGTTTATTGAACAGAAGGGAGATTTGCAAGATCTTATGCCAACAATAAATTCATTAATAG
AACAGAAAACAGGTATTGCACAGTTGGTGAAGTATGGCTTAAAAGACCTAGAGGAGGTTGTTGGACTGTTGAAGAAA
CTCGGCATCAAGTTACAGGTTTGGGTCTTGATCAATTTGGGCTTGGTTTACAAGGTGCAGCAGCACAATGGAATCAT
CTTCCAGTTTGTGGCTATCATCAAACGAAGGCAAAGGGCTGTACCTGAAATCCTCGCAGCTGGAGGCAGATATGACC
TGCTGATTCCCCAGTTTAGAGGGCCACAAGCTCTGGGGCCAGTTCCCACTGCCATTGGGGTCAGCATAGCTATAGAC
```

```
AAGATATCTGCTGCTGTCCTCAACATGGAGGAATCTGTAAGTTCTGTTACAATAGGCTCTGGGGACCTCCTGGTTGT
AAGTGTGGGCCAGATGTCTATGTCCAGCGCCATAAACCTAACCCAGAAACTCTGGACAGCAGGCATCACAGCAGAAA
TCATGTACGACTGGTCACAGTTTCAGTCCCAAGAGGAATTACAAGAGTACTGCAGACATCATGAAATCACCTATGTG
GCCCTTGTCTCGGATAAAGAAGGAAGCCATGTCAAGGTTAAGTCTTTCGAGAAGGAAAGGCAGACAGAGAAGCGTGT
GCTGGAGACTGAACTTGTGGACCATGTACTGCAGAAACTGAGGACTAAAGTCACTGATGAAAGGAATTTAGAGAAG
CTTCCGATAATCTTGCAGTGCAAAATCTGAAGGGGTCATTTTCTAATGCTTCAGGTTTGTTTGAAATCCATGGACCA
ACAGTGGTTCCCATTGTGAGTGTGCTAGCCCCGGAGAAGCTGTCAGCCAGCACTAGGAGGCGCTATGAAACTCAGGT
ACAAACTCGACTTCAGACCTCCCTTGCCAACTTACATCAGAAAAGCAGTGAAATTGAAATTCTGGCTGTAGTGGATC
TACCCAAAGAAACAATATTACAGTTTTTATCATTAGAGTGGGATGCTGATGAACAGGCATTTAACACAACTGTGAAG
CAGCTGCTGTCACGCCTGCCAAAGCAAAGATACCTCAAATTAGTCTGTGATGAAATTTATAACATCAAAGTAGAAAA
AAAGGTGTCTGTGCTATTTCTGTACAGCTATAGAGATGACTACTACAGAATCTTATTTTAA
```

ＭＯＬ２に対するオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）は、ヌクレオチドの１位～４９８６位に同定された。配列番号３によってコードされる開示されたＭＯＬ２ポリペプチド（配列番号４）は、１６６２アミノ酸残基であり、１８８２５０．１の分子量を有し、そして表２Ｂに１文字コードを使用して示される。ＭＯＬ２のＳｉｇｎａｌＰ、Ｐｓｏｒｔおよび、またはＨｙｄｒｏｐａｔｈｙプロフィールは、この配列がシグナルペプチドを

有さず、そして核に局在化されるようであることを示す。従って、ＭＯＬ２は、適切な細胞内局在化で利用可能であり、従って本願に記載される治療用途に利用しやすい。

【００４２】

【表６】

表2B.コードされるMOL2タンパク質配列（配列番号４）

MAGGRGAPGRGRDEPPESYPQRQDHELQALEAIYGADFQDLRPDACGPVKVKEPPEINLVLYPQGLTGEEVYVKVDL
RVKCPPTYPDVVPEIELKNAKGLSNESVNLLKSRLEELAKKHCGEVVMIFELAYHVQSFLSEHNKPPFKSFHEEMLE
RRAQEEQQRLLEAQAERRAQQREILHEIQRRKEEIKEEKKRKEMAKQERLEIASLSNQDHTSKKDPGGHRTAAILHG
GSPDFVGNGKHRANSSGRSRLRRERQYSVCNSEDSPGSCEILYFNNGSPDQLMVHKGKCIGSDEQLGKLVYNALETA
TGGFVLLYEWVLQWQKKMGPELTSQEKSKIDKCKKQIQGTETEFNSLVKLSHPNVVRYLAMNSKSKTTPFVVDILVE
HISGVSLAAHLSHSGPIPVHQLARYTAQLLSGLDYLHSNSVVHKVLSASNVLVDAEGTVKITDYSISKRLADICKED
VFEQTRVRFSDNALPYKTGKKGDVWRLGLLLLSLSQGQECGEYPVTIPSDLPADFQDFLKKRCVCLDDKERWSPQQL
LKHSFINPQPKMPLVEQSPESEGQDYVETVIPSNRLPSAAFFSETQRQFSRYFIEFEELQLLGKGAFGAVIKVQNKL
DGCCYAVKRIPINPASRQFRRIKGEVTLLSRLHHENIVRYYNAWIERHERPAGPGTPPPDSGPLAKDDRAARGQPAS
DTDGLDSVEAAAPPPILSSSVEWSTSGERSASARFPATGPGSSDDEDDDEDEHGGVFSQSFLPASDSESDIIFDNED
ENSKSQNQDEDCNEKNGCHESEPSVTTEAVHYLYIQMEYCEKSTLRDTIDQGLYRDTVRLWRLFREILDGLAYIHEK
GMIHRDLKPVNIFLDSDDHVKIGDFGLATDHLAFSADSKQDDQTGDLIKSDPSGHLTGMVGTALYVSPEVQGSTKSA
YNQKVDLFSLGIIFFEMSYHPMVTASERIFVLNQLRDPTSPKFPEDFDDGEHAKQKSVISWLLNHDPAKRPTATELL
KSELLPPPQMEESELHEVLHHTLTNVDGKAYRTMMAQIFSQRISPAIDYTYDSDILKGNFSIRTAKMQQHVCETIIR
IFKRHGAVQLCTPLLLPRNRQIYEHNRAALFMDHSGMLVMLPFDLRVPFARYVARNNILNLKRYCIERVFTPRKLDR
FHPKELLECAFDIVTSTTNSFLPTAEIIYTIYEIIQEFPALQEHNYSIYLNHTMLLKAILLHCGIPEDKLSQVYIIL
YDAVTEKLTRREVEAKFCNLSLSSNSLCRLYKFIEQKGDLQDLMPTINSLIEQRTGIAQLVKYGLKDLEEVVGLLKK
LGIKLQVWVLINLGLVYKVQQHNGIIFQFVAIIKRRQRAVPEILAAGGRYDLLIPQFRGPQALGPVPTAIGVSIAID
KISAAVLNMEESVSSVTIGSGDLLVVSVGQMSMSRAINLTQKLWIAGITAEIMYDWSQFQSQEELQEYCRHHEITYV
ALVSDKEGSHVKVKSFEKERQTEKRVLETELVDHVLQKLRTKVTDERNFREASDNLAVQNLKGSFSNASGLFEIHGA
TVVPIVSVLAPKKLSASTRRKYETQVQTRLQTSLANLHQKSSEIKILAVVDLPKETILQFLSLEWDADEQAFNTTVK
QLLSRLPKQRYLKLVCDEIYNIKVEKKVSVDLFLYSYRDDYYRILF

ＭＯＬ２核酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ　ＧＣＮ２　ＥＩＦ２αキナーゼｍＲＮＡ（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＭＭＵ２４３５３３｜ａｃｃ：ＡＪ２４３５３３）に３７２３個の塩基のうちの３１１９（８３％）個の同一性を有する。

【００４３】

本発明のタンパク質の全アミノ酸配列は、Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ（ｐｔｎｒ：ＴＲＥＭＢＬＮＥＷ－ＡＣＣ：ＣＡＢ５８３６３）由来の１６４８アミノ酸残基のＣＡＢ５８３６３　ＧＣＮ２　ＥＩＦ２αキナーゼタンパク質に対して、１６６２個の塩基のうち同一である４７９個（８８％）アミノ酸残基（８８％）、そして１６６２残基のうち類似である１５５４（９３％）残基を有することがわかった。

【００４４】

ＣｌｕｓｔａｌＷ解析に使用される配列を含む他のＢＬＡＳＴ結果は、表２Ｃに示される。

【００４５】

【表７】

表2D. MOL2に対するBLAST結果

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(%)	期待値
PatP:B65663	プロテインキナーゼ[Homo sapiens]	1649	1626/1662(97%)	1632/1662(98%)	0.0
PatP:B43581	癌関連タンパク質[Homo sapiens]	604	592/609(97%)	594/609(97%)	6.5e-306
PatP:B42761	ORF2525ポリペプチド	619	585/624(93%)	596/624(95%)	1.3e-300
gi|10764165|gb|AAG22591.1| (AF193344)	GCN2γ[Mus musculus]	1570	1313/1577(83%)	1375/1577(86%)	0.0
gi|11360320|pir||T46924	推定翻訳開始因子eIF-2αキナーゼ(EC 2.7.1.-)[同一性]-ヒト(フラグメント)	938	887/946(93%)	889/946(93%)	0.0
gi|7305017|ref|NP_038747.1|	GCN2 eIF2αキナーゼ[Mus musculus]	1648	1374/1647(83%)	1442/1647(87%)	0.0
gi|10764161|gb|AAG22589.1|	GCN2α[Mus musculus]	1370	1189/1381(86%)	1241/1381(89%)	0.0
gi|7243057|dbj|BAA92576.1| (AB037759)	KIAA1338タンパク質[Homo sapiens]	1495	1377/1460(94%)	1380/1460(94%)	0.0
gi|10764163|gb|AAG22590.1| (AF193343)	GCN2β[Mus musculus]	1648	1373/1647(83%)	1440/1647(87%)	0.0
gi|6065914|emb|CAB58360.1| (AJ243428)	推定eIF2αキナーゼ[Homo sapiens]	548	505/556(90%)	507/556(90%)	0.0

この情報は、表２Ｄに提供されるマルチプル配列アラインメント（ＭＯＬ２を用いて第１行に示される）において関連タンパク質配列とＭＯＬ２を比較するＣｌｕｓｔａｌＷ解析として図表で示される。

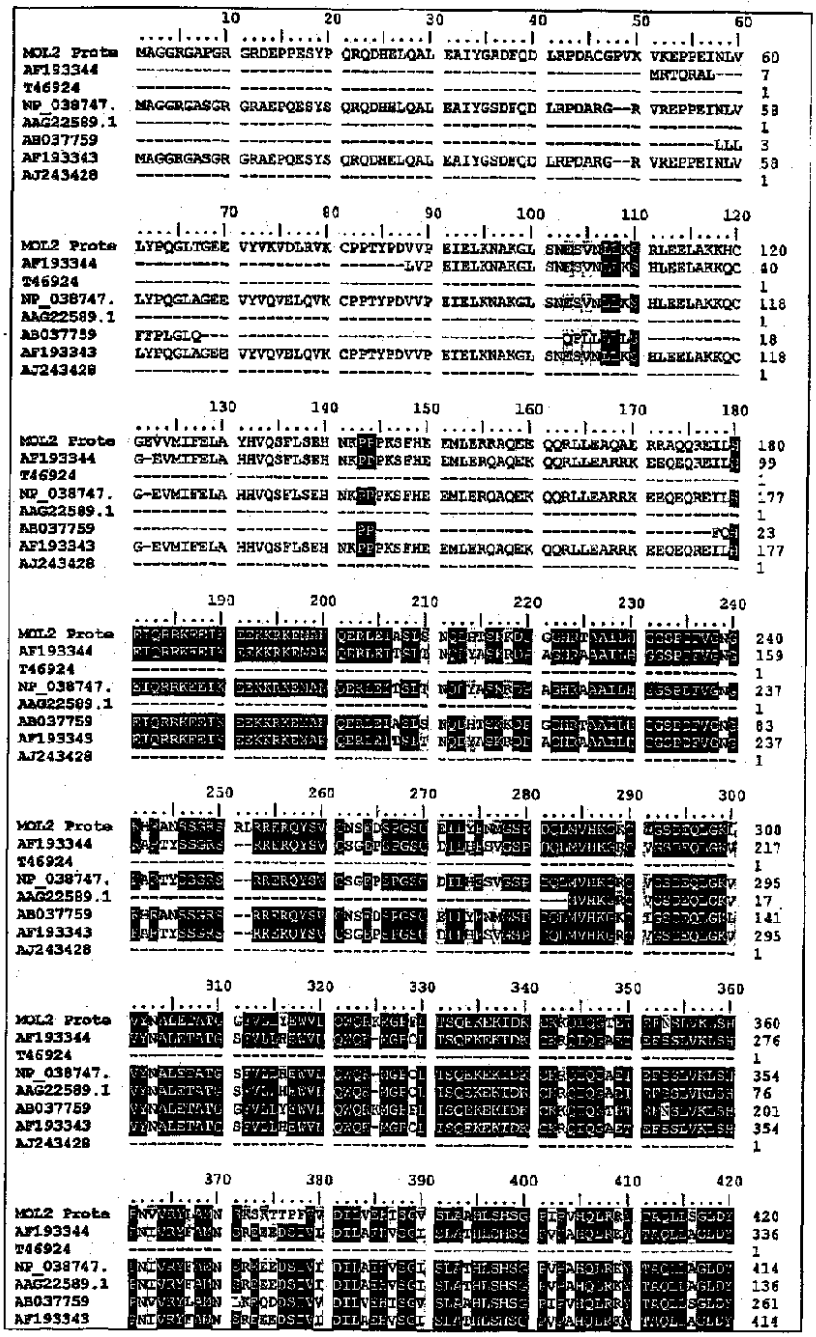
【００４６】

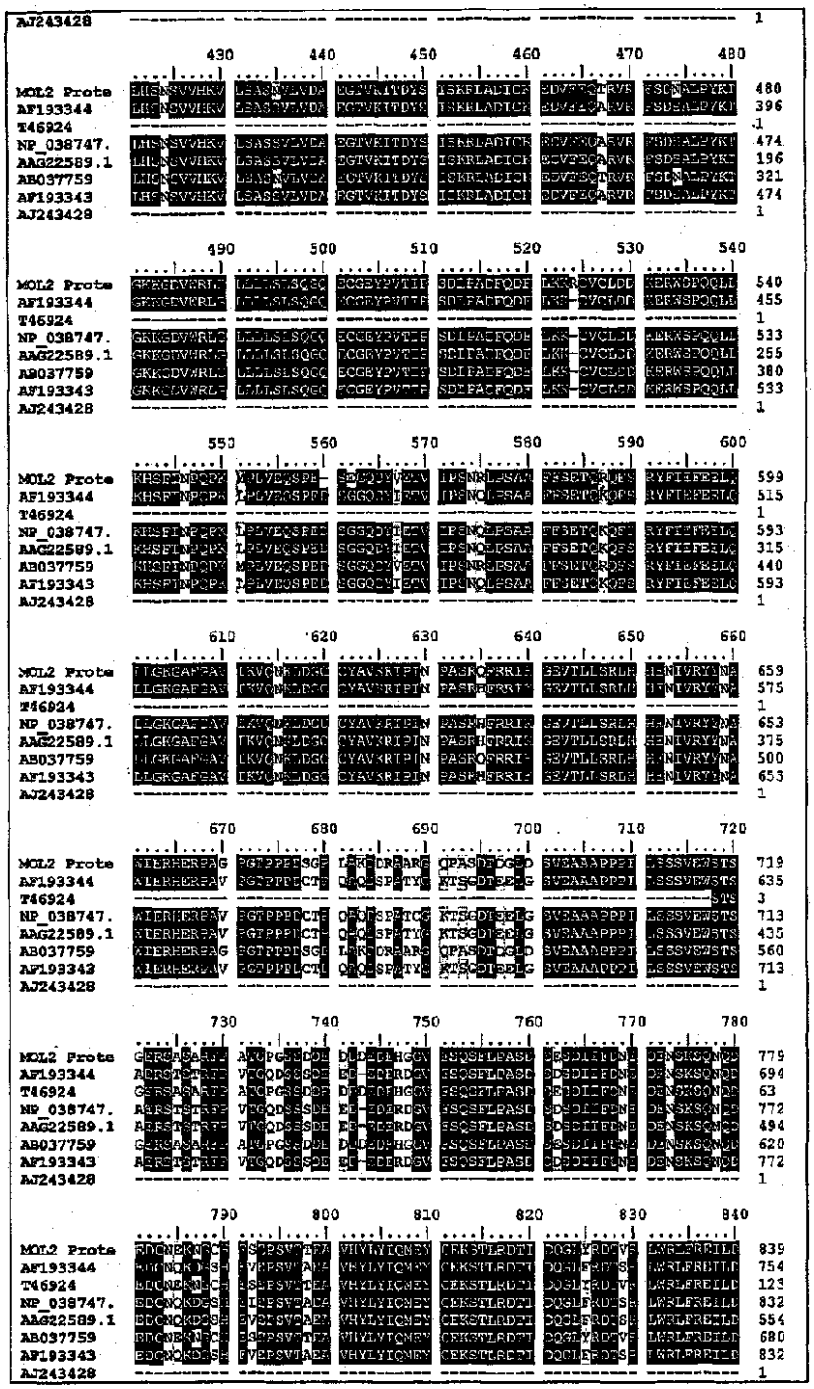
【表８】

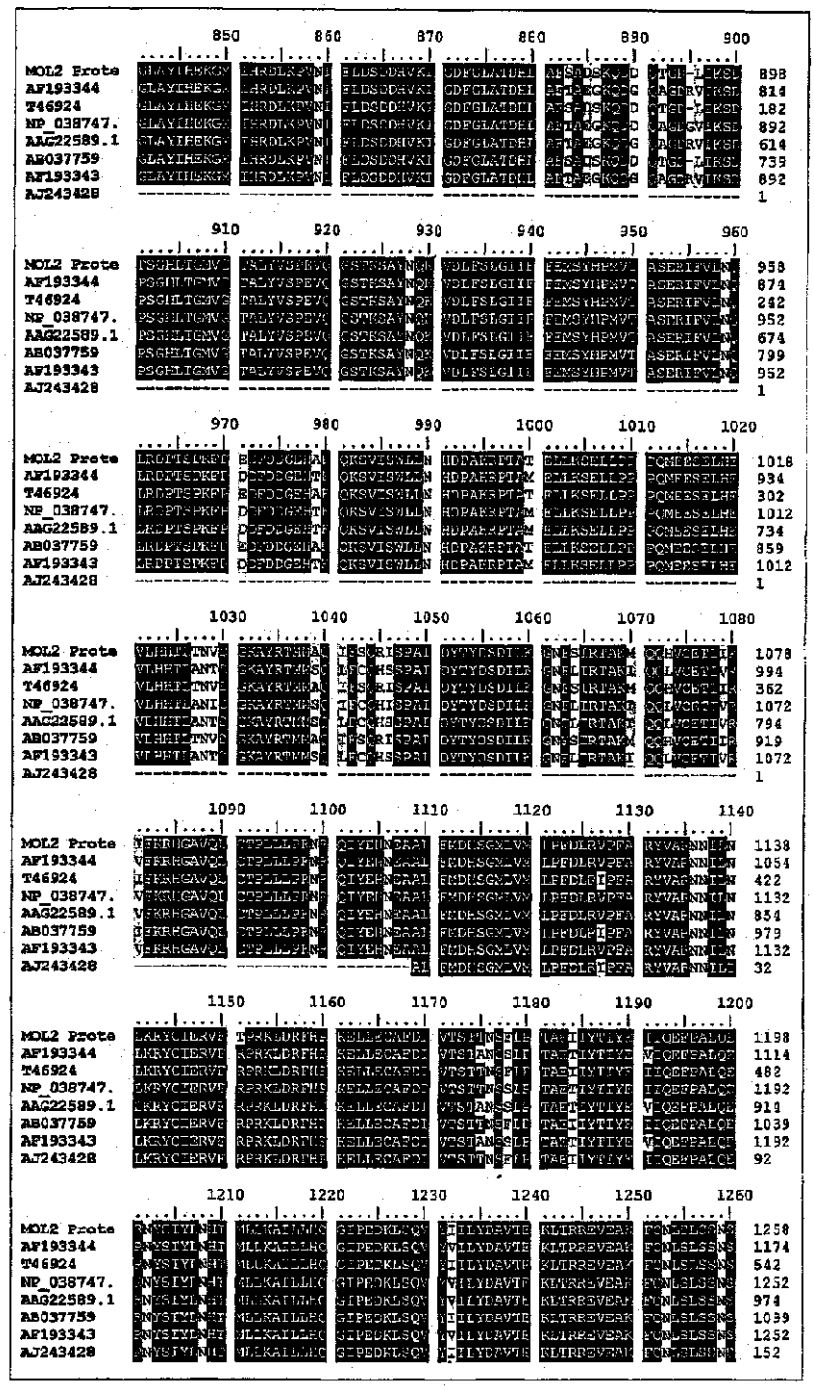
表2D. ClustalWについての情報

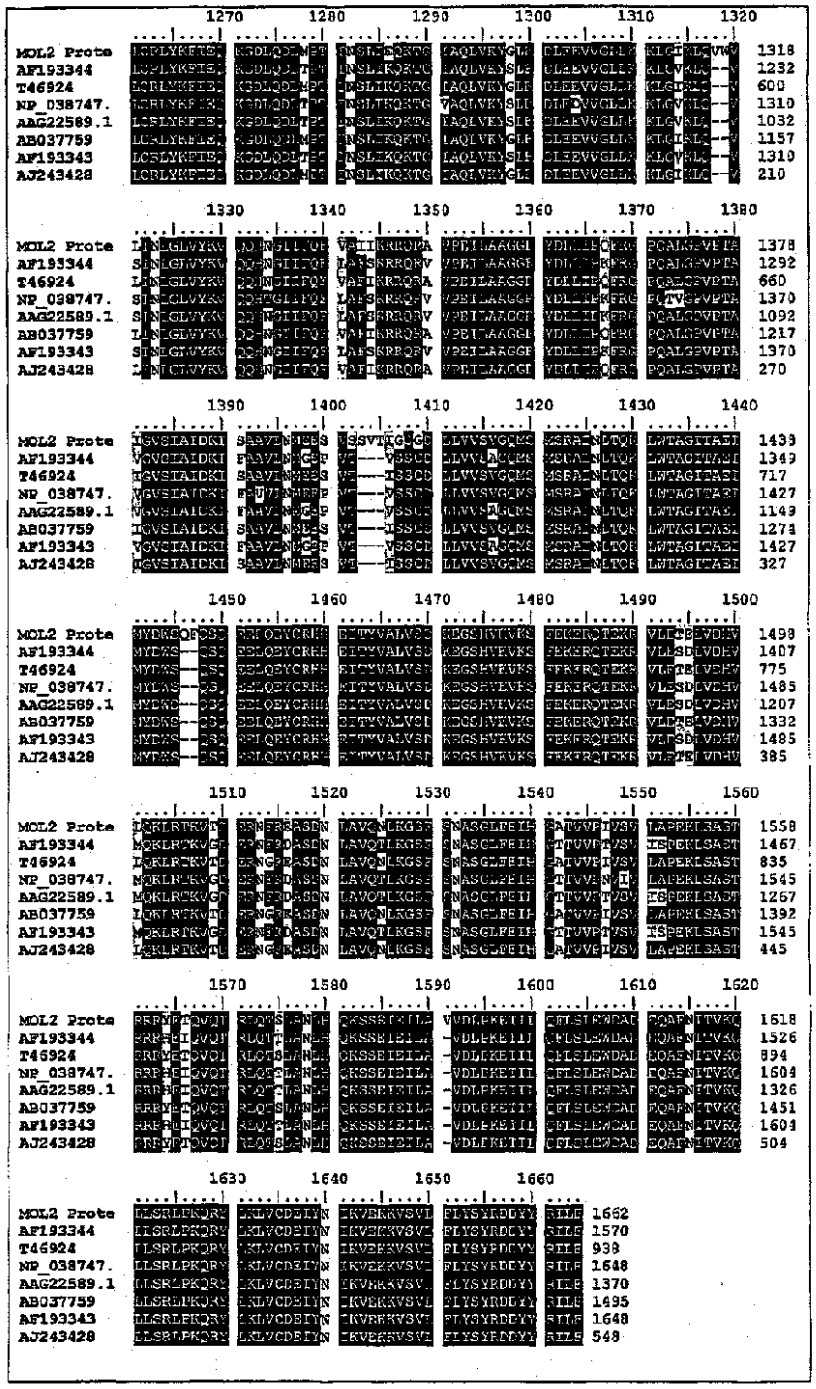
1) Novel MOL2 (SEQ ID NO:4)
2) gi|10764165|gb|AAG22591.1| (AF193344) GCN2gamma [Mus musculus] (SEQ ID NO:35)
3) gi|11360320|pir||T46924 probable translation initiation factor eIF-2alpha kinase (EC 2.7.1.-) [similarity] - human (fragment) (SEQ ID NO:36)
4) gi|7305017|ref|NP_038747.1| GCN2 eIF2alpha kinase [Mus musculus] (SEQ ID NO:37)
5) gi|7243057|dbj|BAA92576.1| (AB037759) KIAA1338 protein [Homo sapiens] (SEQ ID NO:38)
6) gi|10764163|gb|AAG22590.1| (AF193343) GCN2beta [Mus musculus] (SEQ ID NO:39)

7) gi|6065914|emb|CAB58360.1| (AJ243428) putative eIF2 alpha kinase [Homo sapiens] (SEQ ID NO:40)




AJ243428
MOL2 Prote
AF193344
T46924
NP_038747.
AAG22589.1
AB037759
AF193343
AJ243428


MOL2 Prote
AF193344
T46924
NP_038747.
AAG22589.1
AB037759
AF193343
AJ243428



（染色体情報）

ＭＯＬ２は、ゲノムＤＮＡに属する（ＧｅｎｂａｎｋＮＥＷ由来のＡｃｃＮＯ．：ＡＣ０２５１６８）。このＧｅｎｂａｎｋＮＥＷ内のエントリーの中に、この配列が染色第１５ｑ１４由来である示す注釈があった。従って、本発明者らは、本発明の染色体上の座を染色体１５ｑ１４として割り当てた。

【００４７】

（組織発現）

ＭＯＬ２は、少なくとも以下の組織に発現される：脳および肝臓（論文による出典）および甲状（２０４６６８２８＿ＥＸＩＴ由来）。

【００４８】

ＳＷＩＳＳＰＲＯＴ－ＡＣＣ：Ｐ２９０８９　ＴＹＰＥ－１Ｂ　ＡＮＧＩＯＴＥＮＳＩＮ　ＩＩ　ＲＥＣＥＰＴＯＲ（ＡＴ１Ｂ）（ＡＴ３）－Ｒａｔｔｕｓ　ｎｏｒｖｅｇｉｃｕ

ｓ（ラット）（最も近いＧタンパク質結合レセプターファミリーメンバー）の発現について利用可能な情報に基づいて、ＭＯＬ２は、アンギオテンシンが、心臓組織、腎臓組織、および血管組織で発現するように、心臓組織、腎臓組織、および血管組織において発現されるようである。ＭＯＬ２は、マウスＧＮＣ２　ｅＩＦＫタンパク質、可能性のあるＧＮＣ２　ｅＩＦＫタンパク質および他のＧＮＣ２　ｅＩＦＫへの類似性を有し、そしてその機能は以下の参考文献に記載されるが、限定されない：真核生物細胞において、タンパク質合成は、真核生物の開始因子２のαサブユニットをリン酸化することによって、種々の環境ストレスに応じて調節される（ｅＩＦ２α）（Ｂｅｒｌａｎｇａら、Ｅｕｒ　Ｊ　Ｂｉｏｃｈｅｍ；２６５（２）：７５４－６２；Ｏｃｔ，１９９９）。３つの異なるｅＩＦ２α　キナーゼは、哺乳動物細胞において同定されている（ヘム調節インヒビター（ＨＲＩ）、インターフェロン誘導ＲＮＡ依存性キナーゼ（ＰＫＲ）および小胞体キナーゼ（ＰＥＲＫ）。第４のｅＩＦ２α　キナーゼ（ＧＣＮ２と呼ばれる）は、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ、Ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａ　ｍｅｌａｎｏｇａｓｔｅｒおよびＮｅｕｒｏｓｐｏｒａ　ｃｒａｓｓａから以前に特徴付けられた。Ｂｅｒｌａｎｇａら、１９９９は、マウスＧＣＮ２　ｃＤＮＡ　（ＭＧＣＮ２）　のクローニングを記載する。これは、第１の哺乳動物ＧＣＮ２ホモログを現す。ＭＧＣＮ２は、保存モチーフ、キナーゼサブドメインＶのＮ末端、および（公知のｅＩＦ２αキナーゼの特徴を有する）サブドメインＩＶとＶとの間に位置する１３９アミノ酸の大きな挿入物を有する。さらに、ＭＧＣＮ２は、クラスＩＩアミノアシルｔＲＮＡシンテターゼドメインおよび変性キナーゼセグメントを含み、そしてｅＩＦ２αキナーゼドメインの下流および上流の、それぞれ、および両方は、ＧＣＮ２プロテインキナーゼの単一の特性である。ＭＧＣＮ２　ｍＲＮＡは、異なる組織の広い範囲で約５．５ｋｂの単一のメッセージとして、肝臓および脳において最も高いレベルで発現される。特異的ポリクローナル抗（ＭＧＣＮ２）は、ｅＩＦ２αキナーゼ活性を免疫沈降し、そしてマウス肝臓またはＭＧＣＮ２トランスフェクト２９３細胞抽出物のいずれかに由来する１９０ｋＤａリン酸タンパク質をウェスタンブロットにおいて認識した。興味深いことに、血清枯渇は、ＭＧＣＮ２トランスフェクトヒト２９３Ｔ細胞においてｅＩＦ２αリン酸化を増加した。この知見は、ＧＣＮ２が酵母から哺乳動物までの全ての真核生物において独特のｅＩＦ２αキナーゼ提示であり、そして翻訳制御およびその潜在的生理的な意義においてＭＧＣＮ２キナーゼの役割を強調する証拠を提供する。

【００４９】

プロテインキナーゼのファミリーは、真核生物開始因子２（ｅＩＦ２αキナーゼ）のαサブユニットのリン酸化による異なる細胞性ストレスに応じて翻訳を調節する。酵母において、ｅＩＦ２αキナーゼ（ＧＣＮ２）は、アミノ酸枯渇に応じる翻訳制御において機能する。アミノ酸限定の間に蓄積する未結合のｔＲＮＡは、ヒスチジルｔＲＮＡシンテターゼ（ＨｉｓＲＳ）酵素に相同性であるＧＣＮ２の配列に結合し、増強されたキナーゼ触媒活性を導くと考えられる。アミノ酸に対する枯渇がまた、哺乳動物細胞においてｅＩＦ２αのリン酸化を刺激する場合、本発明者らは、マウスにおけるＧＣＮ２ホモログを探索し、そして同定した。Ｓｏｏｄら（２０００）は、単一遺伝子由来のマウスＧＣＮ２アイソフォームをコードする３つの異なるｃＤＮＡをクローニングした。このｃＤＮＡは、そのアミノ末端配列において異なる。酵母の対応物のように、マウスＧＣＮ２アイソフォームは、キナーゼ触媒ドメインに並置されるＨｉｓＲＳ関連配列を含む。ＧＣＮ２　ｍＲＮＡは試験された全てのマウス組織において見出されるが、アイソフォームは、示差的に発現されるようである。酵母において発現されるマウスＧＣＮ２は、ｅＩＦ２αの過剰リン酸化（キナーゼ触媒ドメインおよびＨｉｓ関連配列を共に必要とする）によって成長を阻害することがわかった。さらに、ｍＧＣＮ２を発現する酵母から調製された溶解物は、組換えｅＩＦ２α基質をリン酸化することがわかった。インビボアッセイおよびインビトロアッセイの両者におけるマウスＧＣＮ２活性は、セリン－５１（ｅＩＦ２αにおける公知な調節リン酸化部位）の存在を必要とした。同時に、これらの研究は、翻訳制御を媒介し得る新しい哺乳動物のｅＩＦ２αキナーゼ（ＧＣＮ２）を同定する。真核生物開始因子２（ｅ

ＩＦ２α）のαサブユニットのリン酸化は、環境ストレスに応じてタンパク質合成を調節する十分に特徴付けられた機構である（Ｙａｎｇら、Ｍｏｌ　Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ；２０（８）：２７０６－１７；Ａｐｒ，２０００）。酵母Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅにおいて、アミノ酸の枯渇は、Ｇｃｎ２プロテインキナーゼによるｅＩＦ２αのリン酸化を誘導し、ＧＣＮ４（５０遺伝子より多い転写アクチベーター）の上昇した翻訳を導く。アミノ酸限定の間に蓄積する未結合のｔＲＮＡは、ヒスチジルｔＲＮＡシンテターゼ（ＨｉｓＲＳ）酵素に配列相同であるＧｃｎ２ｐに結合してＧｃｎ２ｐを活性化すると提案されている。哺乳動物におけるｅＩＦ２αリン酸化が、炭水化物およびアミノ酸制限の両方に応じて誘導される場合、本発明者らは、酵母におけるＧｃｎ２ｐの活性化がまた、異なる栄養奪取によって制御されるか否かに注意を向けた。グルコースの枯渇は、ｅＩＦ２αのＧｃｎ２ｐリン酸化を誘導し、そしてＧＣＮ４翻訳を刺激することがわかった。グルコース制限の間のＧｃｎ２ｐによるｅＩＦ２αリン酸化の誘導は、ＨｉｓＲＳ関連ドメインの機能を必要とするが、Ｇｃｎ２ｐのリボソーム結合配列からおおむね独立する。さらに、Ｇｃｎ２０ｐ（アミノ酸枯渇に応じてＧＣＮ４発現のＧｃｎ２プロテインキナーゼ刺激を必要とする因子）は、炭水化物の制限に応じるＧＣＮ４翻訳制御に必須ではない。これらの結果は、アミノ酸欠乏および炭水化物欠乏に応じてＧｃｎ２ｐ活性を調節する機構間に違いが存在することを示す。炭水化物限定の間のＧＣＮ４翻訳のＧｃｎ２ｐ誘導は、小胞におけるアミノ酸の貯蔵を高め、そして低グルコース培地から高グルコース培地へのシフトの間に指数増殖への導入を容易にする。Ｇｃｎ２ｐ機能はまた、アミノ酸制御およびグリコーゲン代謝間のつながりを示唆する延長されたグルコース枯渇の間のグリコーゲンレベルの維持の一因となる。

【００５０】

（本発明の組成物の使用）

ＭＯＬ２についての発現パターン、マップ位置およびタンパク質類似性情報は、ＭＯＬ２がＧＣＮ２　ｅＩＦαＫファミリーのメンバーのように機能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、例えば、以下に記載されるような種々の病理学／障害に影響を及ぼすが、それらに限定されない、潜在的な治療用途において有用である。

・甲状腺機能亢進症
・甲状腺機能低下症
・フォン　ヒッペル－リンダウ（ＶＨＬ）症候群
・アルツハイマー病
・発作
・結節硬化症
・高カルシウム血症
・パーキンソン病
・ハンティングトン病
・脳性小児麻痺
・てんかん
・レッシュ－ナイハン症候群
・多発性硬化症
・毛細血管拡張性運動失調
・白質萎縮症
・行動傷害
・嗜癖
・不安
・疼痛
・肝硬変症
・移植
・および／または他の病理学／障害。

【００５１】

本発明に対する潜在的な治療用途は、例えば、以下であるが、それらに限定されない：（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／細胞傷害性抗体）、（ｉｖ）診断的および／または予後マーカー、（ｖ）遺伝子治療（遺伝子送達／遺伝子切断）、（ｖｉ）探索ツール、および（ｖｉｉ）インビボおよびインビトロでの組織再生（これらの組織由来の組織および細胞型を含むこれら全ての組織および細胞型についての再生）。

【００５２】

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／または他の病理学および障害に影響を及ぼす潜在的な治療用途に有用である。例えば、しかし、限定されない、ＧＣＮ２　ｅＩＦαＫ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ＧＣＮ２　ｅＩＦαＫ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。非限定的な例によって、本発明の組成物は、甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症、フォン　ヒッペルーリンダウ（ＶＨＬ）症候群、アルツハイマー病、発作、結節硬化症、高カルシウム血症、パーキンソン病、ハンティングトン病、脳性小児麻痺、てんかん、レッシューナイハン症候群、多発性硬化症、毛細血管拡張性運動失調、白質萎縮症、行動傷害、嗜癖、不安、疼痛、肝硬変症、移植、および／または他の病理学／障害に罹患している患者の治療に対して効力を有する。本発明のＧＣＮ２　ｅＬＦαＫ様タンパク質をコードする新規な核酸、およびＧＣＮ２　ｅＬＦαＫ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、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。これらの物質は、さらに、治療法または診断法に使用するための、免疫特異的に本発明の新規な基質に結合する抗体の産生に有用である。

【００５３】

（ＭＯＬ３）

本発明のさらなるタンパク質（本明細書中でＭＯＬ３と呼ばれる）は、ヒト補体Ｃ３様タンパク質である。新規な核酸は、ＭＯＬプローブまたはホモログに対してＣｕｒａＧｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎの配列ファイルを使用するＴｂｌａｓｔＮ（ＧｅｎＢａｎｋによって利用可能であるＧｅｎｏｍｉｃ　Ｄａｉｌｙ　Ｆｉｌｅｓに対して実行される）によって同定された。この核酸は、プログラムＧｅｎＳｃａｎ™（エキソンの選択を含む）によってさらに予測される。これらは、ＢＬＡＳＴ探索を使用する類似の方法によってさらに改変された。次いで、この配列は、明らかな矛盾に対して手動で補正され、それにより、全長タンパク質をコードする配列を得る。新規な嗅覚レセプター様タンパク質をコードする４８９４ヌクレオチドの新規な核酸（８２２５＋９．０４０７７．０．１、配列番号５）は、表３Ａに示される。オープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）は、ヌクレオチド１～３のＡＴＧ開始コドンで始め、そしてヌクレオチド４８３７～４８３９のＴＧＡコドンで終えることで同定された。推定の未翻訳領域（終止コドンから下流）は、表３Ａにおいて下線を引いてあり、そして開始コドンおよび終止コドンは、太字である。

【００５４】

【表９】

表 3A. MOL3ヌクレオチド配列 (配列番号 5)

ATGTCCCCGTCTCTCCCTTTCTCTGCCATCTCCCTATGTCTCTCCCATCTCCCTATGCCTCTCCCATCTCCAAGG
TACATCCTGGTGACCCCCCGAGTTCTGAGGGTTGGCAGTCCGGAGAGCATTCACATTCAGGCCCACTCAGACTCC
AGACAGCCCCTCACAAGGACCCTCAAGGTGAACCTCACAGTGTGGGACTTCCCCATGAGGAAGACAGTGTTGGCA
AGGAGCCAGCTCATTCTCTCACCAGGAAACAACTTTATGGACCAGGCACCTGTGACGGTTCCCGAGAGCCTGATG
TACCTCCCAAAACCAGGGCAGCAATATGTCATCATCCGGGCAACTTGGGCACCCACCTCGGGCTCCTCATTCATG
GAGAAGATGGTGCTGGTGGCTCTTCATGCTGGCTACATCTTTATCCAGACGGAGAAGACCATCTACACCCCTTCT
CCCCTAGTTCACTACCGGGTGTTCACTGTGAACCACAAGATGGACCCTGTGACCAGGACATTCACTCTGGACATC
AAGAATCCTGATGGGTCCCCAGCTTCCAGAGTCCTTGTCCACTCCCAAGACCAACCTGGGGTGCTTGCACTGTCT
TGGGGCCCTGAAAAGTCCCTGTGCCTCAGTTTGGGGACCTGGACCATCGAAGCCAGCTACCAAAGTACACCCAAG
CAGAAGTTCGAGGCTGCCTTTGATGTGAAGGAATATGTCCTCCCATCTTTTGAGGTCCAGCTGGTCCCAAATAAG
ACTTTCTTTTACCTCAAGGATGAGGCTCTGGGCGTTGACATCCAGGCTCGGTATATATTTAACAAGCCAGTGGAC
GGACATGCTTTGGTCATCTTTGGGGTGAAATTGGACTCCTGCCGGATCCCTATCCAAAGCTCCCTGCAGAGGGTG
GAGGTGACTGAAACAGGGGGTGAGATGGTGCAAGCTGAGACCTCAGGGGTGAAGATCATCCAGAGCCCATACAAC
ATCAAGTTCACCAGGACACCCCAGTATTTCAAGCCAGGAATGCCCTTCCACTTTCGGGTCAGAGTCGTACAAAGC
AGTCCTATTCAGATCATATTCCAGTCTCACCTCTCACACCAGGCCACTGCAGGCTTTTCCTTCACCTTACCCCAG
ATTCCACCTCAGGTCTTCATCTCAAATCCTGATGGGTCCCCAGCTTCCAGAGTCCTTGTCCACTCCCAAGACCAA
AAAGTGTACACCTCAGCTGAGGGGTTGGCCACTCTGACCATCAACACAGATGCAAATCTGGACAAGCTCCCCATC
GAGGTGAAAACTGAGGAATCTCTTCAGCCAGAGGAGCAGGCTTCAGCCAAGATGACAGCTTGGCCTTACTTGACT
CAGGATGGGTCAGGAAACTTCCTACACATCGAAGTAAAGACATTGGGCACAGAGGTTGGCAGCAGCATCCAGCTG
AGCCTCAACACAAGGCATCAGGACCCTAAAACCAAGGACAAGATTACTCACTTCACCATCCTGGTGGTCAGGGAG
GGTAAGGCCCGGCAGCTTGGGAGGCAGGTGGCGCAGGTGGGGGTACCCTCCTTCCGCATTCTGGCCTTTTATTTA
CTTCCCAGAGGAGCAAGCCAAGACCCTGAGTTGGTGGCTGATTCCATATGGATTGATGTGAATGACAGATGCATA
GGGCTGAAAGTTGGCTTGAAGAATGATAGATTCTTCCAGTCTTTGGAGCCCAACAGCCAAGTCGAACTGAAGGTG
ACAGGTGATGCAGAAGCCACAGTGGGGCTGGTGGCTGTGGACAAGGCTGTCTATGTCTTGAACAGCAAACACAAG
CTCACTCAGAAGAAGGTATGGAATGTGGTGGAGGAACATGACATTGGCTGCACAGGAGGAAGTGGGAAAGACAGA
TTTGCTGTGTTCAAGGATGCTGGATTGGACCTGAAAATCAGCACAGGAATGGATAGCGGCCACCAGCAAAGTCAC
AGCTGCCAGGAGGCTGAGGTGGGAGAATCACTTGAACCCGGGAGGCAGAGGTTGCGGTCAGCCGAGATTGCGCCA
CTGCACTCCAGCGTGAACAAGTTTAAGACAGAGCTGGAGCAAAAGTGCTGTGAGGCTGGGCTCCGGGAGAGCCCA
GTGGGGCTGTCTTGTGAGGAGAGGACCTGGCATGTCCGCCATGGTCCAGCCTGTGTGGCTGCTTTCCTGGACTGC
TGCTCACACCTGCTCCCTCCAGCGGATGAAGAAGAGGACTTCGATGACCTCTTCTTGGATGACATGCCTGTGCGG
ACCTTGTTCCCCGAGAGTTGGCTCTGGAACAGCATCTCCCATTACCCCATCTCTGTGAAGGTGCCAGATTCCATC
ACCACGTGGCAGTTTGTGGTGGTCAGCCTCAAGGCTGGACAAGGTGGTCTCTGTGTCTCGGACCCCTTTGAGCTG
ACAGTTATGAAATCGTTCTTTGTGGACCTTAAGTTGCCCTCCTCCGTGATCAGGAATGAGCAGGTCCAGATCCAA
GCCATGTTGTACAATTTCAGGGATCGCCAGGCCAAGGTCCGAGTGGAGTTCCCCCACAAGGAGACACTGTGCAGT
GCGTCAAAGCCAGGAGCACCATCCCACCAGGTAGTGGTCGTGCCCCCCACCTCCTCCAAGATAGTACACTTTGTG
CTTCTCCCTCTGGAGACAGGCAAAGTGGACGTGGAGGTCAAGGCTGTGGGCTACGGGGTCCAGGACCATGTGAAG
AAGACACTCTTGGTCGAAGGTTGTGGTTATTCAGGTCAGACCCAGACAAAACTGGTGCCAAGACAGGAGTTCTTG
AACATGGTACCCGACACGGAGGCGGAAGTGTTTATCAGTGTTCAAGGTGACATCCTTGGTGAGACAATTGTGGGC
AGCCTGACACCCAGTGAGATTCAGCAGCTGCTGCGGGTCCCCACGGGCTGCCCTGAGCAGACGCTGAGCTCCCTG
ACGCCCGTCATCATCCTGTCCCGCTATTTGGATACCACCGGCCAGTGGGGCAAGGTCGGGGTGGAGCACAGGGAC
CAGGTGATGAAGAATATTGGCTACACTCAGATGCTGACCCACCGGAGTTCAGACGGCACCTACCACACCTCCAAG
GGGAACCCAGGAAGCACTTGGCTCACAAGCTATGTGTTCCGCGTCTTTGCCCTGGCCTACTCTATGATGACGACC
CAAGTGCTTAGCCTGTCCTCTCTCTGTGACATGGCCAACTGGATCATCATCGACAGGCAGGCAGAGGATGGGCAC
TTCCTGGAGAAGGGCCCTGTGGTCATGACATCCATGTCCGAGGAGGATGTATCCCTCACAGCTCTTGTCCTAATA
GCCCTGAATGAGGGAAAGGAGTTGTGCAGACAGAAGGTAGGACCCAATTTGATGGCCAGCATCCAGAAGGCCGGA
GGATTGCTTGAGCTCAGGAGGTTGAGGCTGCAGCGGAGCTATGCCGTAGCCATAGCCTCCTATGCACTGGCCGAC
AAAACCCACTGGCCAGTGGATGAGCAGAATCTGGGCTCCCTGTACACCATTGAGGCCACAGCCTATGGGCTCATG
CAGAAGCTGGAGCTGGGCCGGTACAATGAGACACACGCCATAGCCAAGTGGCTACTAGAGAAGCAGGAGCTGGGA
GGAGGCTTCAGGTCCACCCAGCCAGGCAGGAGCAGTCGCCTTTCCCACCCACAGCGCTGGCCACAGGGCTCCCTG
NTGGCCCTTGAAGCTCTGACCCGCTTCCGCGAAGCTGTCCCCTTCAAGGGCATCCAGGATCTCCACGTCCAGATC
AGAGCCCCCAAGACAGCCCTGAATGTGAATTGGTACATTGATCACAGCAATGCCTACCAACAGCGGTCAGCAAAG
TTCCTTGCCCAGGACGACCTAGAGATCAAAGCCAGTGGCAACGGGAGAGGCACCATCTCGATCCTGACAATGTAT
CACAAGTCCCCAGAGTCCCGGGAGGACAACTGCAACCTGTACCACCTGAATGCGACTCTCCACAGTGCCCTAGAA
GAAAATAAAAAGGGAGGTGAGACTTTTCGGCTCCGGATGGAAACAAGGTTCCAGAACAATGGAGAGGCCACAATG
ACTATCATGGAGGTCTCCCTGCTCACGGGCTTCTACCCCAACCAGGATGACCTCAAACAGCTCACGAGTGATGTG
GAGAGGTACGCCTTTCAGTACAAAACCAAGACAAGTACCAGCGACAGCACTGTTGTCCTCTACCTGGAAAAGCTC
TCCCATGAGAAGAACACGGTGCTGGGCTTTCGGGTTCACAGGATGCTGCAGGCGGAGTTCCTGCAGGCCGCCCTG
GTCACCATCTACGACTACTACGAGCCTTCCCGGAGGTGCAGCACTTTCTACAACCTGCCCACAGAGCAATCTTCC
CTGAGAAAGATCTGCCACAAAGACATCTGCAGATGTGCAGAGGGACAGTGCCCATCCCTGCAGAAGCCCAGTGGC
CAATTGAGGCAGGAGGAGCTCCAGACAACAGCATGTGAGGCAGGCGTGGATTTTGTGTACAAGACAAAGCTGGAA
TCTGTGGAGGTCTCTGCCTCCAACCCTTACGTCTATTACAACACGCAGCTCGAAGACATCATTAAGAGTGGTACG
GACCCTGCCAAACCCCTGGCCATGAAGAAATTCGTCTCCCATGCCACTTGCCATGACTCCCTGGGGTTGCAAGAA
CAGGAATCGTACCTCATCATGGGCCAGACGTCAGACCTGTGGAGAATCAAATCTGATTACAGCTATGTTCTGGGC
AAGGAGACGTTCCTCATCCTTTGGCCAGCAGATGGAGATGCCAGCAAGAAAGAATTGCGGGACCAACTGGAGGAA
TTTTTGGAATATATGCGCACCCACGGCTGCCAGTCCTGAGCCTCTTCTGCTTTCAGGAGGTGTCATCAGGGCAG
CTCTGGGCCACGTGGGTTT

配列番号５によってコードされる、開示されるＭＯＬ３ポリペプチド（配列番号６）は１６１２アミノ酸残基であり、そして表３Ｂにおいて一文字コードを用いて表される。ＭＯＬ３タンパク質を、シグナルペプチド予測および細胞局在について分析した。ＳｉｇｎａｌＰの結果は、ＭＯＬ３が配列番号６の２０位と２１位との間で切断されることを予測する。Ｐｓｏｒｔプロフィールおよびヒドロパシープロフィールもまた、ＭＯＬ３がシグナルペプチドを含み、そして小胞体に局在する（０．５５００の確実度）ようであることを予測する。

【００５５】

【表１０】

表3B. コードされるMOL3タンパク質配列 (配列番号 6).

MSPSLPFSAISLCLSHLPMPLPSPRYILVTPRVLRVGSPESIHIQAHSDSRQPLTRTLKVNLTVWDFPMRKTVL
ARSQLILSPGNNFMDQAPVTVPESLMYLPKPGQQYVIIRATWAPTSGSSFMEKMVLVALHAGYIFIQTEKTIYT
PSPLVHYRVFTVNHKMDPVTRTFTLDIKNPDGSPASRVLVHSQDQPGVLALSWGPEKSLCLSLGTWTIEASYQS
TPKQKFEAAFDVKEYVLPSFEVQLVPNKTFFYLKDEALGVDIQARYIFNKPVDGHALVIFGVKLDSCRIPIQSS
LQRVEVTETGGEMVQAETSGVKIIQSPYNIKFTRTPQYFKPGMPFHFRVRVVQSSPIQIIFQSHLSHQATAGFS
FTLPQIPPQVFISNPDGSPASRVLVHSQDQKVYTSAEGLATLTINTDANLDKLPIEVKTEESLQPEEQASAKMT
AWPYLTQDGSGNFLHIEVKTLGTEVGSSIQLSLNTRHQDPKTKDKITHFTILVVREGKARQLGRQVAQVGVPSF
RILAFYLLPRGASQDPELVADSIWIDVNDRCIGLKVGLKNDRFFQSLEPNSQVELKVTGDAEATVGLVAVDKAV
YVLNSKHKLTQKKVWNVVEEHDIGCTGGSGKDRFAVFKDAGLDLKISTGMDSGHQQSHSCQEAEVGESLEPGRQ
RLRSAEIAPLHSSVNKFKTELEQKCCEAGLRESPVGLSCEERTWHVRHGPACVAAFLDCCSHLLPPADEEEDFD
DLFLDDMPVRTLFPESWLWNSISHYPISVKVPDSITTWQFVVVSLKAGQGGLCVSDPFELTVMKSFFVDLKLPS
SVIRNEQVQIQAMLYNFRDRQAKVRVEFPHKETLCSASKPGAPSHQVVVVPPTSSKIVHFVLLPLETGKVDVEV
KAVGYGVQDHVKKTLLVEGCGYSGQTQTKLVPRQEFLNMVPDTEAEVFISVQGDILGETIVGSLTPSEIQQLLR
VPTGCPEQTLSSLTPVIILSRYLDTTGQWGKVGVEHRDQVMKNIGYTQMLTHRSSDGTYHTSKGNPGSTWLTSY
VFRVFALAYSMMTTQVLSLSSLCDMANWIIIDRQAEDGHFLEKGPVVMTSMSEEDVSLTALVLIALNEGKELCR
QKVGPNLMASIEKAGGLLELRRLRLQRSYAVAIASYALADKTHWPVDEQNLGSLYTIEATAYGLMQKLELGRYN
ETHAIAKWLLEKQELGGGFRSTQPGRSSRLSHPQRWPQGSLXALEALTRFREAVPFKGIQDLHVQIRAPKTALN
VNWYIDHSNAYQQRSAKFLAQDDLEIKASGNGRGTISILTMYHKSPESREDNCNLYHLNATLHSALEENKKGGE
TFRLRMETRPQNNGEATMTIMEVSLLTGFYPNQDDLKQLTSDVERYAFQYKTKTSTSDSTVVLYLEKLSHEKNT
VLGFRVHRMLQAEFLQAALVTIYDYYEPSRRCSTFYNLPTEQSSLRKICHKDICRCAEGQCPSLQKPSGQLRQE
ELQTTACEAGVDFVYKTKLESVEVSASNPYVYYNTQLEDIIKSGTDPAKPLAMKKFVSHATCHDSLGLQEQESY
LIMGQTSDLWRIKSDYSYVLGKETFLILWPADGDASKKELRDQLEEFLEYMRTHGCQS

本発明のタンパク質の全長アミノ酸配列は、７３４アミノ酸のうちの２５７アミノ酸（３５％）がＣａｖｉａ ｐｏｒｃｅｌｌｕｓ（モルモット）補体Ｃ３前駆体（Ｃ３Ａアナフィラトキシンを含む）（ＡＣＣ：Ｐ１２３８７；１６６ａａ）に対して同一であり、そして７３４のうちの４０３（５４％）がこれに対して相同であり、そして７１７アミノ酸残基のうちの２５５アミノ酸残基（３５％）がＨｏｍｏ ｓａｐｉｅｎｓ（ヒト）（ＡＣＣ：Ｐ０１０２４）由来の１６６３アミノ酸残基の補体Ｃ３前駆体（Ｃ３Ａアナフィラトキシンを含む）に対して同一であり、そして７１７残基のうちの４０１残基（５５％）がこれに対して類似であることが見出された。

【００５６】

開示されるＭＯＬ３タンパク質（配列番号６）はまた、表３Ｃに示すように、多数の補体成分タンパク質と良好な同一性を有する。

【００５７】

【表１１】

表3C. MOL3についてのBLAST結果

遺伝子インデックス/識別子	タンパク質/生物体	長さ (aa)	同一性 (%)	陽性 (%)	期待値
gi|4557385|ref|NP_000055.1|	補体成分３前駆体 [Homo sapiens]	1663	633/1750 (36%)	938/1750 (53%)	0.0
gi|11869931|gb|AAG40565.1|AF154933_1 (AF154933)	補体成分C3 [Sus scrofa]	1661	617/1733 (35%)	935/1733 (53%)	0.0
gi|309122|gb|AAC42013.1| (K02782)	プレプロ補体成分C3 [Mus musculus]	1663	606/1734 (34%)	915/1734 (51%)	0.0

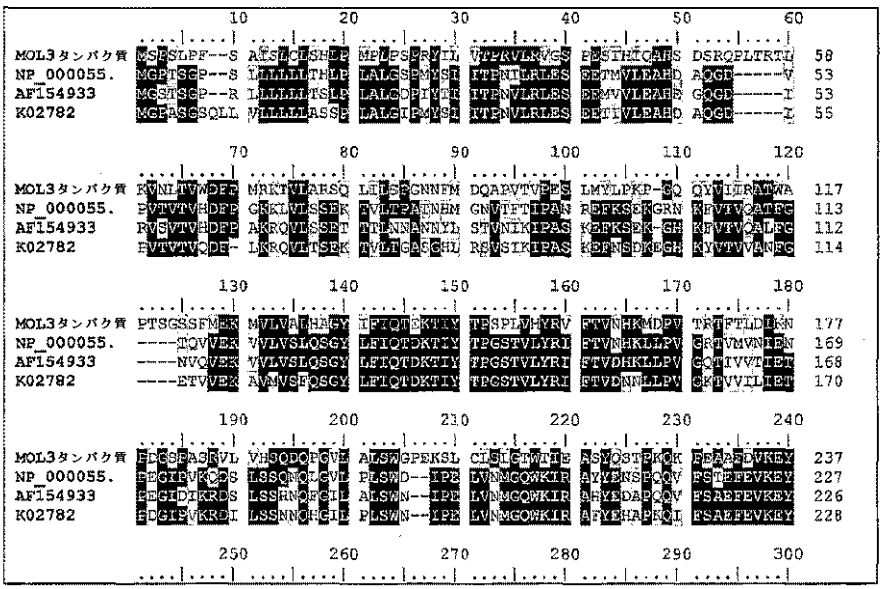
この情報を、ＭＯＬ３と関連のタンパク質配列とを比較するＣｌｕｓｔａｌ Ｗ分析として表３Ｄ（ＭＯＬ３を１行目に示す）に与えた複数配列整列において図表を用いて提示する。

【００５８】

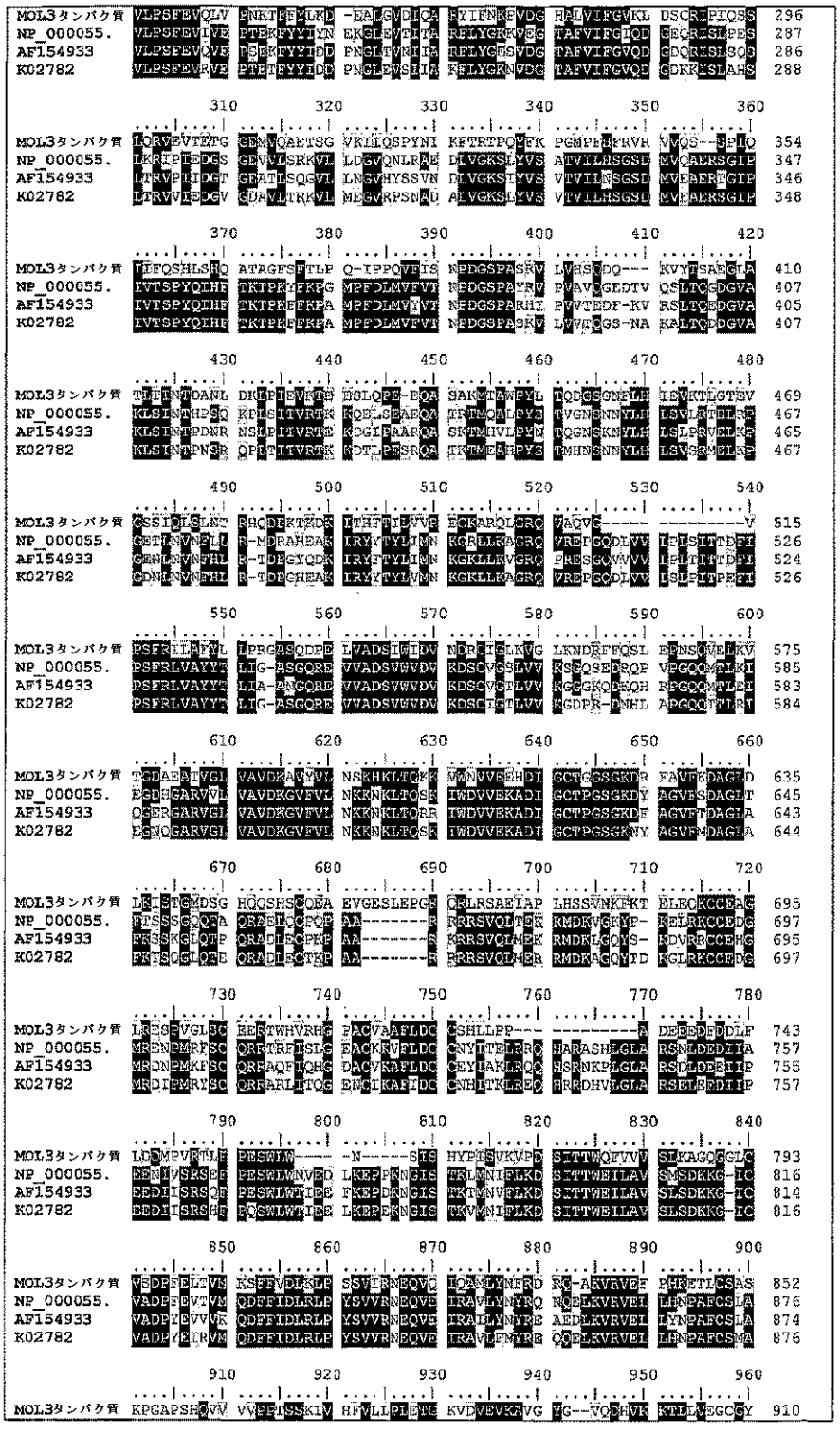
【表１２】

表 3D. ClustalW タンパク質についての情報：

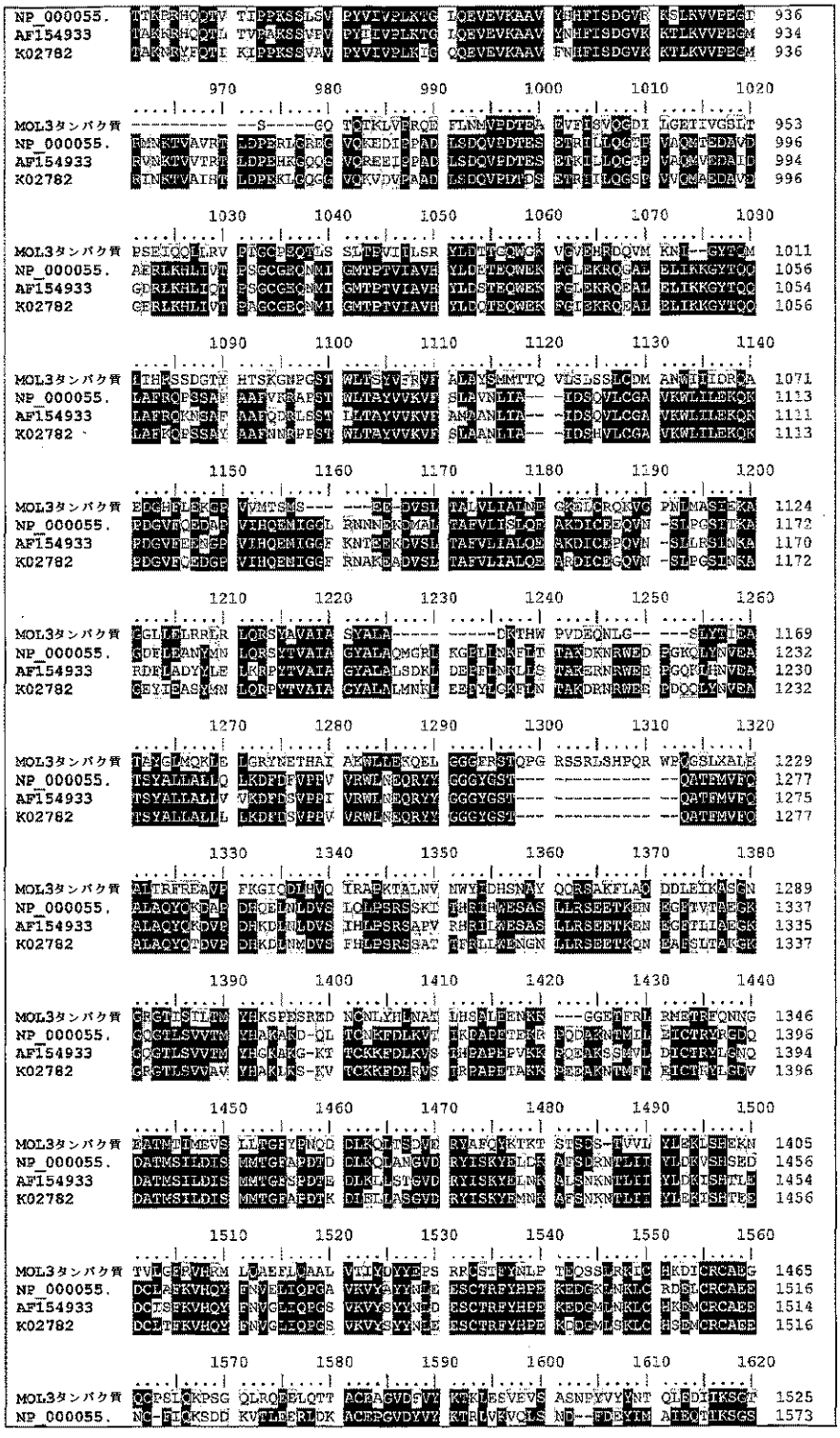
1) 新規 MOL3 (配列番号 6)
2) gi|4557385|ref|NP_000055.1| 補体成分 3 前駆体 [Homo sapiens] (配列番号 41)
3) gi|11869931|gb|AAG40565.1|AF154933_1 (AF154933) 補体成分 C3 [Sus scrofa] (配列番号 42)
4) gi|309122|gb|AAC42013.1| (K02782) プレプロ補体成分 C3 [Mus musculus] (配列番号 43)



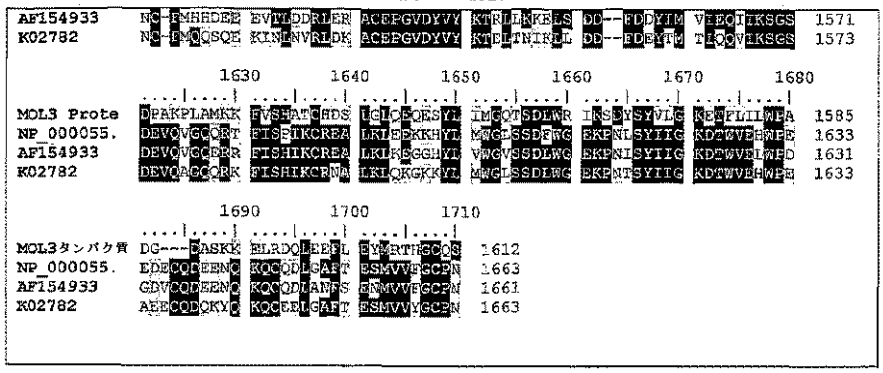
(表３Ｄの続き)



(表３Ｄの続き)


NP_000055.
AF154933
K02782
MOL3タンパク質
970 980 990 1000 1010 1020
1030 1040 1050 1060 1070 1080
1090 1100 1110 1120 1130 1140
1150 1160 1170 1180 1190 1200
1210 1220 1230 1240 1250 1260
1270 1280 1290 1300 1310 1320
1330 1340 1350 1360 1370 1380
1390 1400 1410 1420 1430 1440
1450 1460 1470 1480 1490 1500
1510 1520 1530 1540 1550 1560
1570 1580 1590 1600 1610 1620

(表３Ｄの続き)



ＭＯＬ３は、以下の参考文献に記載される（がこれに限定されない）ように、有意な相同性をヒト補体Ｃ３タンパク質に対して示す。

【００５９】

トランスフォーミング増殖因子－β１が、ヒト膵臓癌細胞株における補体Ｃ３生合成の強力なインヒビターとして作用することが見出された。Ａｎｄｏｈらは、どのようにしてトランスフォーミング増殖因子（ＴＧＦ）－β１が膵臓癌細胞株ＰＡＮＣ－１およびＢｘＰＣ－３における補体Ｃ３分泌に影響を与えるかを決定した。ＴＧＦ－β１が炎症状態下の膵臓癌細胞株におけるＣ３分泌の強力なインヒビターとして作用し得ることが示唆される。ＴＧＦ－β１のこの作用は、ＮＦ－κＢ活性化と相関しなかったが、Ｆｏｓタンパク質の核へのトランスロケーションとは相関した。

【００６０】

補体Ｃ３およびＣ４の転写産物の細胞局在を、クローン病を有する患者由来の腸標本中で分析した。クローン病を有する患者の空腸灌流液中のＣ３およびＣ４のレベルの上昇が、補体の局所腸合成によってもたらされることが示唆された。Ｌａｕｆｅｒらは、ＣＤを有する患者の腸において補体の局所調節産生が存在し、そしてその後の補体活性化が、炎症プロセスに寄与し得ることを示唆する。

【００６１】

ヒト気管支上皮細胞株による、補体Ｃ３の生成および細胞膜補体阻害タンパク質の発現。彼らは、ヒト気道上皮と補体タンパク質との間の相互関係が、気道防御、気道機能および気道上皮の完全性に影響を与え得ることを見出した。ヒト気管支上皮による補体Ｃ３の局所生成および細胞膜ＣＩＰの発現、ならびに炎症誘発性（ｐｒｏｉｎｆｌａｍｍａｔｏｒｙ）サイトカインによるその調節は、局所気道防御のさらなる調節機構であり得、そして健康および疾患における気道機能および上皮の完全性に影響を与え得る。

【００６２】

Ｊａｎｓｓｅｎら，Ａｍ Ｊ Ｋｉｄｎｅｙ Ｄｉｓ ２０００年１月；３５（１）：２１－８は、ＩｇＡ腎症を有する患者における急性期応答および補体Ｃ３の活性化を示唆した。この著者らは、免疫グロブリンＡ（ＩｇＡ）腎症を有する患者における全身的（ｙｓｔｅｍｉｃ）補体活性化を示し、そしてａｃｔＣ３の血漿レベルが疾患活性および腎臓の結果を示し得ることを報告した。

【００６３】

（治療適用）

ＭＯＬ３についての発現パターンおよびタンパク質類似性情報は、ヒト補体Ｃ３様タンパク質として機能し得る。それゆえ、本発明の核酸およびタンパク質は、例えば、癌、肺疾患（喘息を含む）、免疫不全、炎症、クローン病、神経学的障害、腎症、ならびに他の疾患および障害（しかしこれらに限定されない）に関与する潜在的な治療適用において有用である。抗原性分泌タンパク質および抗原性膜タンパク質に対する相同性は、新規遺伝子に対する抗体が、癌、肺疾患（喘息を含む）、免疫不全、炎症、クローン病、神経学的障害、腎症、ならびに他の疾患および障害の処置および予防において有用であり得ることを示唆する。

【００６４】
本発明のための潜在的治療的用途は、例えば以下であるがこれらに限定されない：（ｉ）タンパク質治療剤、（ｉｉ）低分子薬物標的、（ｉｉｉ）抗体標的（治療的な、診断的な、薬物標的化／細胞傷害性の抗体）、（ｉｖ）診断的なおよび／または予防的なマーカー、（ｖ）遺伝子治療（遺伝子送達／遺伝子切除）、（ｖｉ）研究ツール、ならびに（ｖｉｉ）インビトロおよびインビボでの組織再生（これらの組織から誘導された組織および細胞型を含めて、これらの全ての組織および細胞型についての再生）。
【００６５】
本発明の核酸およびタンパク質は、癌、肺疾患（喘息を含む）、免疫不全、炎症、クローン病、神経学的障害、腎症、ならびに他の疾患および障害に関与する潜在的治療適用において有用である。例えば、ヒト補体Ｃ３様タンパク質をコードするｃＤＮＡ（しかし、これに限定されない）は、遺伝子治療において有用であり得、そしてヒト補体Ｃ３様タンパク質は、その必要がある被験体に投与された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、例えば、癌、肺疾患（喘息を含む）、免疫不全、炎症、クローン病、神経学的障害、腎症、ならびに他の疾患および障害（しかし、これらに限定されない）を罹患する患者の処置に効力を有する。本発明のヒト補体Ｃ３様タンパク質をコードする新規核酸およびヒト補体Ｃ３様タンパク質またはそれらのフラグメントは、この核酸またはこのタンパク質の存在または量が評価される診断適用においてさらに有用であり得る。これらの物質は、治療的または診断的な方法において使用するための、本発明の新規物質に免疫特異的に結合する抗体の生成においてさらに有用である。
【００６６】
（ＭＯＬ４）
開示されるＷｎｔ　８様タンパク質ＭＯＬ４（本明細書中ではＡＣ００４８２６ともいわれる）は、１０６４ヌクレオチド長（配列番号７）の核酸によってコードされる。ヌクレオチド４～６のＡＴＧ開始コドンで始まり、そしてヌクレオチド１０５７～１０５９のＴＧＡコドンで終わるオープンリーディングフレームが同定された。開始コドンの上流の推定の非翻訳領域および終結コドンの下流の非翻訳領域は、表４Ａ中で下線が付されており、そして開始コドンおよび停止コドンは太字である。３５１アミノ酸残基を有するコードされるタンパク質を、表４Ｂ（配列番号８）において一文字コードを用いて示す。
【００６７】
【表１３】

表4A. MOL4ヌクレオチド配列　（　配列番号 7).

GCGATGGGGAACCTGTTTATGCTCTGGGCAGCTCTGGGCATATGCTGTGCTGCATTCAGTGCCTCTGCCTGGTCA
GTGAACAATTTCCTGATAACAGGTCCCAAGGCCTATCTGACCTACACGACTAGTGTGGCCTTGGGTGCCCAGAGT
GGCATCGAGGAGTGCAAGTTCCAGTTTGCTTGGGAACGCTGGAACTGCCCTGAAAATGCTCTTCAGCTCTCCACC
CACAACAGGCTGAGAAGTGCTACCAGAGAGACTTCCTTCATACATGCTATCAGCTCTGCTGGAGTCATGTACATC
ATCACCAAGAACTGTAGCATGGGTGACTTCGAAAACTGTGGCTGTGATGGGTCAAACAATGGAAAAATAGGAGGC
CATGGCTGGATCTGGGGAGGCTGCAGCGACAATGTGGAATTTGGGGAAAGGATCTCCAAACTCTTTGTGGACAGT
TTGGAGAAGGGGAAGGATGCCAGAGCCCTGATGAATCTTCACAACAACAGGGCCGGCAGACTGGCAGTGAGAGCC
ACCATGAAAAGGACATGCAAATGTCATGGCATCTCTGGGAGCTGCAGCATACAGACATGCTGGCTGCAGCTGGCT
GAATTCCGGGAGATGGGAGACTACCTAAAGGCCAAGTATGACCAGGCGCTGAAAATTGAAATGGATAAGCGGCAG
CTGAGAGCTGGGAACAGCGCCGAGGGCCACTGGGTGCCCGCTGAGGCCTTCCTTCCTAGCGCAGAGGCGGAACTG
ATCTTTTTAGAGGAATCACCAGATTACTGTACCTGCAATTCCAGCCTGGGCATCTATGGCACAGAGGGTCGTGAG
TGCCTACAGAACAGCCACAACACATCCAGGTGGGAGCGACGTAGCTGTGGGCGCCTGTGCACTGAGTGTGGGCTG
CAGGTGGAAGAGAGGAAAACTGAGGTCATAAGCAGCTGTAACTGCAAATTCCAGTGGTGCTGTACGGTCAAGTGT
GACCAGTGTAGGCATGTCGTGAGCAAGTATTACTGCGCACGCTCCCCAGGCAGTGCCCAGTCCCTGGGTAAGGGC
AGTGCCTGATAATA

開示される核酸ＭＯＬ４配列は、１０５０塩基のうちの８８１塩基（８３％）がＭｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ　Ｗｎｔ　８　ｍＲＮＡ（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＭＭＷＮＴ８ＤＰＴ｜ａｃｃ：Ｚ６８８８９）に対して同一であり、そして９５５塩基のうちの６３７塩基（６６％）がＨｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ　Ｗｎｔ　８　ｍＲＮＡ（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＨＳＷＮＴ８｜ａｃｃ：Ｙ１１０９４）に対して同一である。
【００６８】
配列番号７によってコードされるＭＯＬ４ポリペプチド（配列番号８）を、表４Ｂにおいて一文字アミノ酸コードを用いて示す。ＭＯＬ４についてのＰｓｏｒｔプロフィールは、

この配列がシグナルペプチドを有し、そして細胞の外側に０．７７００の確実度で局在するようであることを予測する。ＭＯＬ４ペプチドについての最も可能性の高い切断部位は、ＳｉｇｎａｌＰの結果に基づくと、アミノ酸２４とアミノ酸２５との間である。

【００６９】

【表１４】

表4B. MOL4タンパク質配列 (配列番号 8)

```
MGNLFMLWAALGICCAAFSASAWSVNNFLITGPKAYLTYTTSVALGAQSGIEECKFQFAWERWNCPENALQLSTHN
RLRSATRETSFIHAISSAGVMYIITKNCSMGDFENCGCDGSNNGKIGGHGWIWGGCSDNVEFGERISKLFVDSLEK
GKDARALMNLHNNRAGRLAVRATMKRTCKCHGISGSCSIQTCWLQLAEFREMGDYLKAKYDQALKIEMDKRQLRAG
NSAEGHWVPAEAFLPSAEAELIFLEESPDYCTCNSSLGIYGTEGRECLQNSHNTSRWERRSCGRLCTECGLQVEER
KTEVISSCNCKFQWCCTVKCDQCRHVVSKYYCARSPGSAQSLGKGSA
```

開示されるＭＯＬ４ポリペプチドの全長アミノ酸配列は、３４９アミノ酸残基のうちの２８２アミノ酸残基（８０％）がＭｕｓ ｍｕｓｃｕｌｕｓ（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｑ６４５２７）、（Ｅ＝１．５×１０$^{-16}$）由来の３５４アミノ酸残基のＷＮＴ－８Ｄタンパク質と同一であり、そして３４９のうちの３０６残基（８７％）がこのタンパク質と陽性である。

【００７０】

ＭＯＬ４との整列についての最良ヒット（ｂｅｓｔ ｈｉｔ）のＢＬＡＳＴＰ（非冗長組成データベース）分析を表４Ｃに列挙する。

【００７１】

【表１５】

表4C. MOL4 についてのBLAST結果

遺伝子インデックス/識別子	タンパク質/生物体	長さ (aa)	同一性 (%)	陽性 (%)	期待値
gi|11693046|gb|AAG38662.1|(AY009402)	WNT8d 前駆体[Homo sapiens]	355	335/348 (96%)	336/348 (96%)	0.0
gi|6678169|ref|NP_033316.1|	レチノイン酸遺伝子１１によって刺激される [Mus musculus]	354	271/349 (77%)	295/349 (83%)	1.0e-148
gi|104264|pir||S18771	発生レギュレーター Xwnt-8 - アフリカツメガエル	387	246/335 (73%)	285/335 (84%)	1.0e-136
gi|1722844|sp|P51030|WN8C_CHICK	WNT-8C タンパク質 前駆体(CWNT-8)	357	242/337 (71%)	283/337 (83%)	1.0e-134

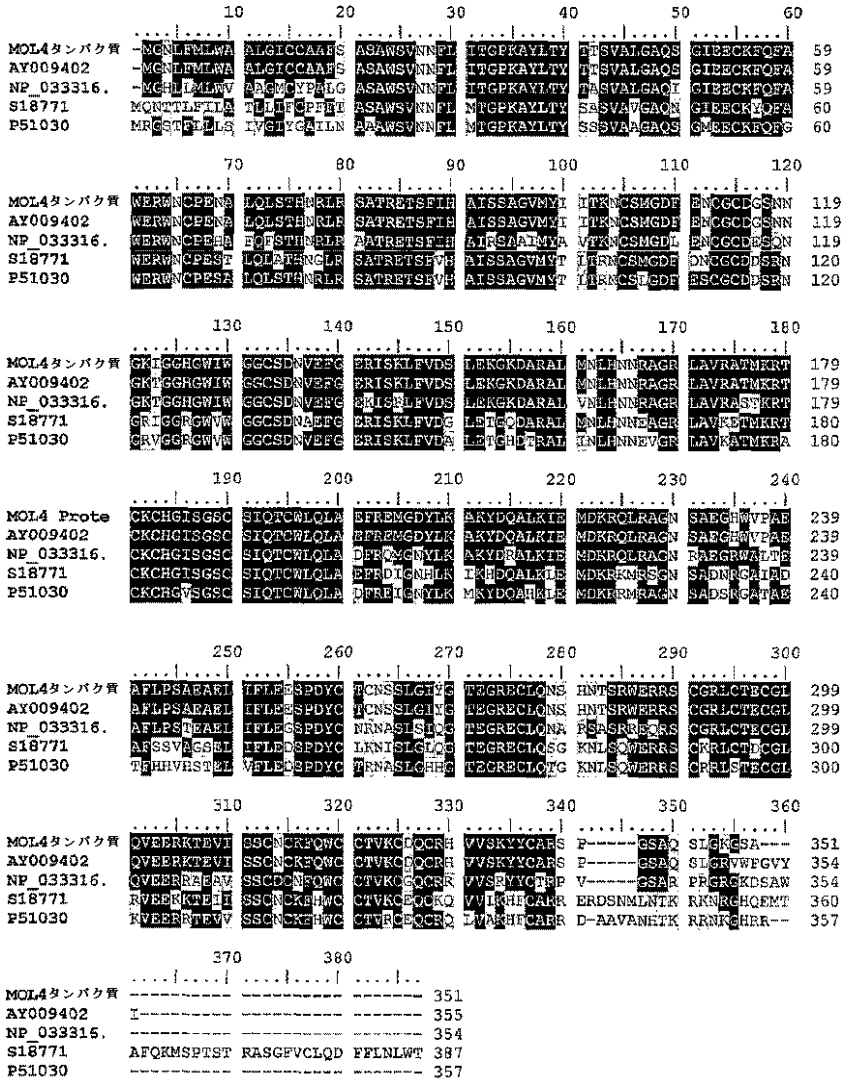
この情報を、ＭＯＬ４と関連のタンパク質配列とを比較するＣｌｕｓｔａｌＷ分析として表４Ｄ（ＭＯＬ４を１行目に示す）に与えた複数配列整列において図表を用いて提示する。

【００７２】

【表１６】

表 **4D ClustalW** タンパク質についての情報：

1) MOL4 (配列番号 8)
2) gi|11693046|gb|AAG38662.1| (AY009402) WNT8d 前駆体 [Homo sapiens] (配列番号 44)
3) gi|6678169|ref|NP_033316.1| レチノイン酸遺伝子１１によって刺激される [Mus musculus] (配列番号 45)
4) gi|104264|pir||S18771 発生レギュレーター Xwnt-8 - アフリカツメガエル (配列番号 46)
5) gi|1722844|sp|P51030|WN8C_CHICK WNT-8C タンパク質 前駆体 (CWNT-8) (配列番号 47)



ＷＮＴ遺伝子は、胚発生において重要なプロセス（例えば、中胚葉誘導、胚子軸の明確化、ならびに中枢神経系、脊髄および四肢のパターン形成）において重要な役割を果たす細胞間シグナル伝達糖タンパク質をコードする。名称ＷＮＴは、Ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａ分節極性遺伝子「ｗｉｎｇｌｅｓｓ」およびその脊椎動物オルソログＩｎｔｌ（マウス癌原遺伝子）に対するこのファミリーの関係を示す；ＷＮＴ１を参照のこと。複数のＷＮＴ遺伝子が、Ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａからヒトまでの範囲の、調査されたいくつかの種に存在することが公知であることが注目された。これらは、高い配列相同性および共通の発現パターンに基づいて、種々の群および亜群に分類されている。脊椎動物ＷＮＴ８サブファミリーは、Ｘｅｎｏｐｕｓ、ゼブラフィッシュおよびニワトリ由来の遺伝子を含む；最初の哺乳動物ＷＮＴ８ホモログである、ＷＮＴ８Ｂと名付けられたＷｎｔ８ファミリーのヒトメンバーが、ＸｅｎｏｐｕｓおよびゼブラフィッシュのＷｎｔ８ｂ遺伝子によってコードされるタンパク質に対する、推定タンパク質の非常に高い配列類似性（９０％～９１％の同一性）に基づいて特徴付けられた。ヒトｃＤＮＡは、Ｃ２Ｈ２ジンクフィンガー様モチーフ

を含む２９５アミノ酸ポリペプチドをコードする。優勢な１．９ｋｂのｍＲＮＡが、種々の成体組織および胎児組織において検出された。彼らは、ヒト単一染色体ハイブリッド細胞パネルのＰＣＲタイピングを用いて、この遺伝子を第１０染色体にマッピングし、そして局在化のための蛍光インサイチュハイブリダイゼーションで１０ｑ２４にマッピングした。

【００７３】

ヒトＷＮＴ８Ｂ遺伝子の全長ｃＤＮＡ配列およびゲノム組織化が示され、そしてヒトおよびマウスの胚におけるこの遺伝子の発現の研究が報告された。ＷＮＴ８Ｂ遺伝子は、イントロン１以外は小さなイントロンによって隔てられた、６個のエキソンを含む。この推定タンパク質は３５１アミノ酸を有する。この遺伝子は、約２．１ｋｂの転写産物として優勢に発現される。ヒトおよびマウスの発現パターンは、同一であるようであり、そして発生中の脳に制限されており、発現のかなり大部分は発生中の前脳において見出された。後者の場合、発現は、以下の３つの鋭く区切られた領域の胚芽神経上皮に制限された：終脳脳室（これは、発生中の海馬を含む）の背内側壁、視床背側核の孤立領域、ならびに後視床下部の乳頭（ｍａｍｍｉｌｌａｒｙ）および後乳頭（ｒｅｔｒｏｍａｍｍｉｌｌａｒｙ）領域。発生中の海馬における発現は、この領域のパターン形成におけるＷＮＴ８Ｂについての役割を示唆し得、そして１０ｑ２４に対するこのヒト遺伝子の染色体内（ｓｕｂｃｈｒｏｍｏｓｏｍａｌ）局在は、部分癲癇（ＥＰＴ；ＯＭＩＭ－６００５１２）がこの領域におけるマーカーに連鎖している家族におけるこの疾患についての候補遺伝子としてこの遺伝子を示唆し得る。

【００７４】

ＷＮＴ１は、多様な発生プロセス（例えば、細胞増殖、接着、細胞の極性、および細胞運命の確立の制御）を媒介する、システインリッチな、グリコシル化シグナル伝達タンパク質のファミリーのメンバーである。Ｗｎｔ１は、ウイルス誘導性乳腺癌においてマウス乳腺癌ウイルスの挿入によって活性化される癌遺伝子として同定された。Ｗｎｔ１は正常な乳腺では発現されないが、トランスジェニックマウスにおけるＷｎｔ１の発現は、乳房腫瘍を引き起こす。トランスフォームされた細胞表現型に関連するＷＮＴシグナル伝達経路における下流の遺伝子を同定するために、ＰＣＲベースのｃＤＮＡ差引きストラテジー（抑制差引きハイブリダイゼーション）を用いた。Ｗｎｔ１によって形質転換されたマウス乳房上皮細胞株中でアップレギュレートされるが、Ｗｎｔ４によって形質転換されたマウス乳房上皮細胞株中ではそうではない、２つの遺伝子ＷＩＳＰ１およびＷＩＳＰ２の同定が報告された。第三の関連遺伝子ＷＩＳＰ３と合わせて、これらのタンパク質は、結合組織増殖因子ファミリーのサブファミリーを規定する。２つの別個の系は、ＷＩＳＰ誘導がＷＮＴ１の発現と関連付けられることを実証した。ＷＩＳＰ１ゲノムＤＮＡは、結腸癌細胞株およびヒト結腸腫瘍中で増幅され、そしてそのＲＮＡは、患者が一致した正常粘膜と比較して、調べた腫瘍の８４％において過剰発現された。ＷＩＳＰ３はまた、分析した結腸腫瘍の６３％において過剰発現された。対照的に、ＷＩＳＰ２は、減少したＲＮＡ発現をこの腫瘍の７９％において示した。これらの結果は、ＷＩＳＰ遺伝子がＷＮＴ１シグナル伝達の下流にあり得ること、および結腸癌におけるＷＩＳＰ発現の異常なレベルが結腸腫瘍形成において役割を果たし得ることを示唆した。

【００７５】

ＷＩＳＰ１のｃＤＮＡが３６７アミノ酸タンパク質をコードすることが見出された。マウスのＷＩＳＰ１タンパク質とヒトのＷＩＳＰ１タンパク質とは、８４％同一である；両方とも、疎水性Ｎ末端シグナル配列、３８個の保存されたシステイン残基、および４個の潜在的Ｎ結合型グリコシル化部位を有する。３個のヒトＷＩＳＰタンパク質の整列は、ＷＩＳＰ１とＷＩＳＰ３とが最も類似しており（４２％）、一方、ＷＩＳＰ２はＷＩＳＰ１と３７％の同一性を、そしてＷＩＳＰ３と３２％の同一性を有することを示した。

【００７６】

（本発明の組成物の使用）

本発明に関する上記で規定の情報は、ＭＯＬ４が「Ｗｎｔ　８ファミリー」のメンバーと

して機能し得ることを示唆する。それゆえ、本明細書で同定された新規核酸およびタンパク質は、以下に示されるような種々の病状および障害（しかしこれらに限定されない）に関与する潜在的治療適用において有用であり得る。本発明の潜在的治療適用としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：タンパク質治療剤、低分子薬物標的、抗体標的（治療的な、診断的な、薬物標的化／細胞傷害性の抗体）、診断的なおよび／または予防的なマーカー、遺伝子治療（遺伝子送達／遺伝子切除）、研究ツール、本明細書で規定された組織および細胞型を含む（がこれらに限定されない）全ての組織および細胞型のインビボおよびインビトロでの組織再生。

【００７７】

本発明の核酸およびタンパク質は、神経変性障害、癲癇、癌（脳腫瘍、結腸癌および乳癌を含むがこれらに限定されない）、発生障害、神経管欠損、ならびに／または他の病状および障害に関与する潜在的治療適用において有用である。例えば、Ｗｎｔ　８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Ｗｎｔ　８様タンパク質は、その必要がある被験体に投与された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、神経変性障害、癲癇、癌（脳腫瘍、結腸癌および乳癌を含むがこれらに限定されない）、発生障害および神経管欠損に罹患した患者の処置に効力を有する。本発明のＷｎｔ　８様タンパク質をコードする新規核酸およびＷｎｔ　８様タンパク質またはそれらのフラグメントは、この核酸またはこのタンパク質の存在または量が評価される診断適用においてさらに有用であり得る。これらの物質は、治療的または診断的な方法において使用するための、本発明の新規物質に免疫特異的に結合する抗体の生成においてさらに有用である。

【００７８】

（ＭＯＬ５）

２１５ヌクレオチドの開示される新規βチモシン様ＭＯＬ５核酸（ＡＣ０２５５３５ともいう）を表５Ａに示す。ＯＲＦは、ヌクレオチド４～７のＡＴＧ開始コドンで始まり、そしてヌクレオチド２１１～２１３のＴＧＡコドンで終わる。開始コドンの上流の推定の非翻訳領域および終結コドンの下流の非翻訳領域に、表５Ａ中で下線が付されており、そして開始コドンおよび停止コドンは太字である。

【００７９】

【表１７】

表5A. MOL5 ヌクレオチド配列　(配列番号 9)

AGTATGGTCTCAGCCCAGCGTTTCACGAGTCTTCAAGCCTTCAGGCTTTCTTTAATCAAGATGAGTGATAACCC
AAACTTGTCAGAAGTGAAGTTTGACAGGTCAAAATTGAAGAAAACTAACACTGGAGAAAAAAATAGGCTTTCTT
CCAAGGAAACTATCCAGCAGGAGAAATACGGTGTTCAAACATCATATAATGGGGGCTGGGCATGATG

配列番号９によってコードされるＭＯＬタンパク質は、６９アミノ酸残基を有し、そして表５Ｂ中で一文字コードを用いて表される。ＭＯＬ５についてのＰｓｏｒｔプロフィールは、この配列がシグナルペプチドを有し、そしてミトコンドリア膜間腔に０．８８００の確実度で局在するようであることを予測する。ＳＩＧＮＡＬＰ分析を用いると、本発明のタンパク質は、予測可能なシグナルペプチドを含まないようである。

【００８０】

【表１８】

表5B. コードされるMOL5タンパク質配列(配列番号 10)

MVSAQRFTSLQAFRLSLIKMSDNPNLSEVKFDRSKLKKTNTGEKNRLSSKETIQQEKYGVQTSYNGGWA

ＭＯＬ５についての開示される核酸配列は、Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ　βチモシンｍＲＮＡ（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：Ｄ８２３４５｜ａｃｃ：Ｄ８２３４５）（Ｅ＝５．１ｅ$^{-26}$）に対して同一な、１９１のうちのｌ６７塩基（８７％）を有する。

【００８１】

全長ＭＯＬ５アミノ酸配列は、４５アミノ酸残基のうちの３７アミノ酸残基（８２％）がＨｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ由来の４５アミノ酸残基チモシンβタンパク質（ｐｔｎｒ：Ｐ

ＩＲ－ＩＤ：ＪＣ５２７４）（Ｅ＝１．２ｅ$^{-11}$）と同一であり、そして４５残基のうちの３８残基（８４％）がこのタンパク質と陽性である。

【００８２】

ＭＯＬ５はまた、表５Ｃ中のＢＬＡＳＴ整列の結果において示したように、他のタンパク質に対する相同性を有する。

【００８３】

【表１９】

表 5C. MOL5 についての BLAST 結果

遺伝子インデックス/識別子	タンパク質/生物体	長さ (aa)	同一性 (%)	陽性 (%)	期待値
ref|NP_068832.1|	神経芽細胞種細胞において同定されたチモシンβ [Homo sapiens]	45	37/45 (82%)	38/45 (84%)	5e-06
pir||I52084	チモシンβ-4 前駆体 - ラット (フラグメント)	56	27/39 (69%)	33/39 (84%)	2e-04
sp|P20065|TYB4_MOUSE	チモシンβ-4	50	27/39 (69%)	33/39 (84%)	3e-04
gb|AAA36746.1| (M92383)	チモシンβ-10 [Homo sapiens]	49	24/40 (60%)	32/40 (80%)	0.002
gb|AAB37101.1| (U25684)	チモシンβ様タンパク質 [Rattus norvegicus]	45	31/39 (79%)	34/39 (86%)	0.002

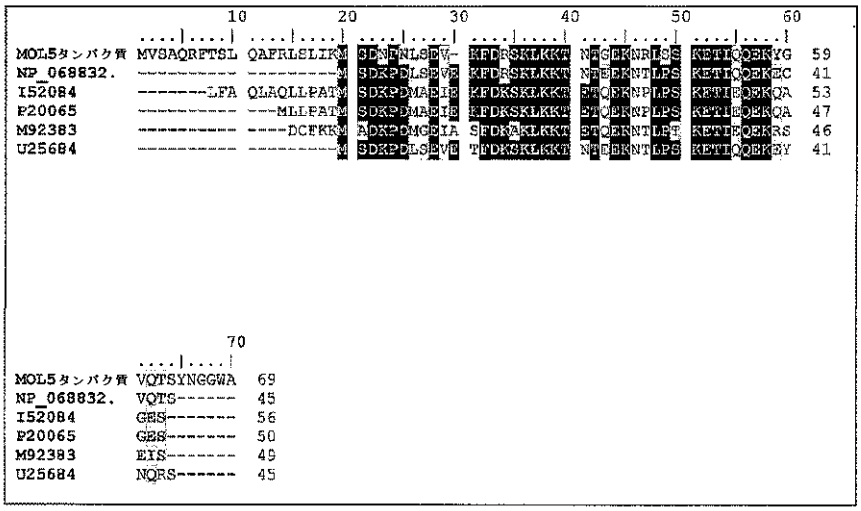
この情報を、ＭＯＬ５と関連のタンパク質配列とを比較するＣｌｕｓｔａｌ Ｗ分析として表５Ｄ（ＭＯＬ５を１行目に示す）に与えた複数配列整列において図表を用いて提示する。

【００８４】

【表２０】

表 5D ClustalW タンパク質についての情報:

```
1)  MOL5 (  配列番号  10)
2)  ref|NP_068832.1| 神経芽細胞種細胞において同定されたチモシンβ [Homo
sapiens] (  配列番号  48)
3)  pir||I52084 チモシンβ 前駆体 - ラット (フラグメント) (  配列番号  49)
4)  sp|P20065|TYB4_MOUSE チモシンβ-4 (  配列番号  50)
5)  gb|AAA36746.1| (M92383) チモシンβ-10 [Homo sapiens] (  配列番号  51)
6)  gb|AAB37101.1| (U25684) チモシンβ様タンパク質 [Rattus norvegicus] (
配列番号52)
```



チモシン－β－４は、末端デオキシヌクレオチジルトランスフェラーゼ活性の発現をインビボおよびインビトロで誘導し、マクロファージの移動を阻害し、そして視床下部黄体形成ホルモン放出ホルモンの分泌を刺激する。このタンパク質はもともと、仔ウシ胸腺の部分精製抽出物であるチモシン画分５から単離され、この画分５は、Ｔ細胞の分化を誘導し

、そしていくつかの免疫無防備な動物において部分的に有効であることに注目した。さらなる研究は、この分子が遍在することを実証した；これは、分析した全ての組織および細胞株に見出されている。これは、脾臓、胸腺、肺および腹膜マクロファージにおいて最大濃度で見出される。チモシン－β－４が、非筋肉細胞におけるアクチン重合および脱重合の力学の調節において重要な役割を有し得る、アクチンモノマー隔離（ｓｅｑｕｅｓｔｅｒｉｎｇ）タンパク質であることが示された。その調節の役割は、Ｔ－β－４の転写調節および組織特異的発現の多くの例と一致する。リンパ球は、他の多くの組織および細胞において見出される偏在性転写産物と比較して、独特のＴ－β－４転写産物を有する。ラットチモシン－β－４は、４４アミノ酸プロペプチドとして合成され、これは、第一のメチオニル残基の除去によって４３アミノ酸ペプチドへとプロセシングされることが示された。この分子は、シグナルペプチドを有さない。ヒトチモシン－β－４は、ラットチモシン－β－４に対して高い程度の相同性を有する；このコード領域は、９ヌクレオチドのみが異なり、そしてこれらは全てサイレントな塩基変化である。

【００８５】

急性リンパ性白血病患者の白血球から調製されたｃＤＮＡライブラリーのディファレンシャルスクリーニングによって、チモシン－β－４をコードするｃＤＮＡを単離した。ノーザンブロット分析を用いて、種々の原発性骨髄様およびリンパ様の悪性細胞株、ならびに造血細胞株における８３０ヌクレオチドのチモシン－β－４　ｍＲＮＡの発現を研究した。チモシン－β－４遺伝子発現のパターンは、これが宿主防御機構の初期段階に関与し得ることを示唆することが示された。

【００８６】

ヒトインターフェロン誘導性遺伝子６－２６についてのｃＤＮＡクローンを単離し、そしてその配列がヒトチモシン－β－４遺伝子についての配列と同一であることが示された。ヒトげっ歯動物体細胞ハイブリッドのパネルの使用によって、６－２６　ｃＤＮＡが、第１染色体、第２染色体、第４染色体、第９染色体、第１１染色体、第２０染色体およびＸ染色体に存在する、多重遺伝子ファミリーのメンバーである７個の遺伝子を認識することが示された。これらの遺伝子はそれぞれ、ＴＭＳＬ１、ＴＭＳＬ２などとして符号で表される。Ｌｉら（１９９６）は、マウスにおいては、単一のＴｍｓｂ４遺伝子が存在すること、およびリンパ系特異的転写産物が、遍在するエキソン１を下流の選択的スプライス部位で延長することによって生成されることを確立した。種間戻し交配マッピングによって、彼らは、彼らがＰｔｍｂ４と符合で表したマウス遺伝子を、ＢｔｋおよびＧｊａ６に連鎖した、マウスのＸ染色体の遠位領域に位置決定した。従って、このヒト遺伝子は、Ｘ染色体中の、ＢＴＫが局在するＸｑ２１．３－ｑ２２という一般的領域に存在すると予測され得る。体細胞ハイブリッドの分析によって、チモシン－β－４（すなわち、ＴＢ４Ｘ）遺伝子は、Ｘ染色体にマッピングされた。彼らは、相同遺伝子ＴＢ４ＹがＹ染色体に存在することに注目した。

【００８７】

前立腺癌が男性における最も一般的な形態の癌であり、年配の男性の間での癌による死亡の２番目に主な原因であることが示された。血清前立腺特異的抗原試験の使用は、ヒト前立腺癌の初期検出を可能にする；しかし、初期検出は、どの腫瘍が転移段階へと進行し得るかを決定することにおける改善を伴っていない。腫瘍転移のプロセスは、細胞外マトリックスの局所的な浸潤および破壊；血管、リンパチャネルまたは他の輸送チャネル内への血管内異物侵入；循環中での生存；第二の部位への血管外の血管外遊出；ならびに新たな位置での増殖を含む、多段階事象である。転移プロセスの多くの成分に共通であるのは、腫瘍細胞運動性の必要条件である。種々の転移可能性を示した、充分に特徴付けられた一連の細胞株は、Ｄｕｎｎｉｎｇラット前立腺癌から開発された。Ｄｕｎｎｉｎｇ細胞株において、細胞の運動性と転移可能性との間の直接的な相関が示された。ディファレンシャルｍＲＮＡディスプレイを用いた、Ｄｕｎｎｉｎｇラット前立腺癌から誘導された運動性の乏しい転移細胞株の遺伝子発現と、Ｄｕｎｎｉｎｇラット前立腺癌から誘導された運動性の高い転移細胞株における遺伝子発現とを比較する研究では、Ｂａｏら（１９９６）は

、アクチン結合分子のチモシンーβファミリーの新規メンバーを見出した。彼らによってチモシンーβー１５と命名された分子は、前立腺細胞における運動性を直接調節解除（ｄｅｒｅｇｕｌａｔｅ）することが見出された。さらに、これは、進行したヒト前立腺癌標本において発現されたが、正常なヒト前立腺および良好な前立腺肥大においては発現されず、このことは、前立腺癌の進行についての新たなマーカーとしてのその潜在的用途を示唆した。Ｂａｏら（１９９６）は、チモシンーβー１５レベルがＧｌｅａｓｏｎ腫瘍悪性度分類と正に相関することを見出した。Ｃｏｆｆｅｙ（１９９６）は、正の移動度因子としてのチモシンーβー１５のアップレギュレーションおよび移動度サプレッサーＫＡＩ１（ＯＭＩＭー６００６２３）のダウンレギュレーションが、転移についての「陰陽」を提供することを指摘した；彼は、これらの経路が新たな治療標的を提供し得ると推測した。

【００８８】

血管新生は、損傷後に起こる修復プロセスにおける必須段階である。研究では、血管新生胸腺ペプチドチモシンβ４（Ｔβ４）がラット全層創傷モデルにおいて創傷治癒を増強することを調べた。局所的または腹腔内でのＴβ４の添加は、再上皮形成（ｒｅｅｐｉｔｈｅｌｉａｌｉｚａｔｉｏｎ）を、生理食塩水コントロールに対して、創傷後４日目に４２％、そして創傷後７日目に６１％も増大させた。処置した創傷はまた、７日目までにコントロールよりも少なくとも１１％多く収縮した。増大したコラーゲン沈着および血管新生が、処置された創傷において観察された。本発明者らはまた、Ｔβ４が、Ｂｏｙｄｅｎチャンバアッセイにおいてケラチノサイトの移動を刺激することを見出した。４時間～５時間後、１０ｐｇ程度の少ないＴβ４をアッセイに添加した場合、移動は、培地単独を用いた移動に対して２～３倍刺激された。これらの結果は、Ｔβ４が、臨床において有用であり得る複数の活性を有する強力な創傷治癒因子であることを示唆する。

【００８９】

（本発明の組成物の使用）

本発明に関する上記で規定した情報は、ＭＯＬ５が「βチモシンファミリー」のメンバーとして機能し得ることを示唆する。それゆえ、本明細書で同定された新規の核酸およびタンパク質は、以下に示すような種々の病状および障害（しかし、これらに限定されない）に関与する潜在的治療適用において有用であり得る。本発明に関する潜在的治療適用としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：タンパク質治療剤、低分子薬物標的、抗体標的（治療的な、診断的な、薬物標的化／細胞傷害性の抗体）、診断的なおよび／または予防的なマーカー、遺伝子治療（遺伝子送達／遺伝子切除）、研究ツール、本明細書で規定された組織および細胞型を含む（がこれらに限定されない）全ての組織および細胞型のインビボおよびインビトロでの組織再生。

【００９０】

本発明の核酸およびタンパク質は、癌（前立腺癌を含むがこれに限定されない）、免疫学的障害および自己免疫障害（すなわち、甲状腺機能亢進）、血管新生および創傷治癒、アポトーシスの調節、神経変性障害および神経精神医学的障害、加齢性障害、ならびに他の病理的障害（脾臓、胸腺、肺および腹膜のマクロファージならびに／または他の病状および障害を含む）に関与する潜在的治療適用において有用である。例えば、βチモシン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βチモシン様タンパク質は、その必要がある被験体に投与された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、癌（前立腺癌を含むがこれに限定されない）、免疫学的障害および自己免疫障害（すなわち、甲状腺機能亢進）、血管新生および創傷治癒、アポトーシスの調節、神経変性障害および神経精神医学的障害、加齢性障害、ならびに他の病理的障害（脾臓、胸腺、肺および腹膜のマクロファージならびに／または他の他の病状および障害を含む）に罹患した患者の処置に効力を有する。本発明のβチモシン様タンパク質をコードする新規核酸およびβチモシン様タンパク質またはそれらのフラグメントは、この核酸またはこのタンパク質の存在または量が評価される診断適用においてさらに有用であり得る。これらの物質は、治療的または診断的な方法において使用するための、本発明の新規物質に免疫特異的に結合する抗体の生成においてさらに有用である。

【００９１】
（ＭＯＬ６）
（ＭＯＬ６ａ）
開示された７３０ヌクレオチドの新規なトリプシン様ＭＯＬ６ａ核酸（また、ＧＭ＿８７７６０７５８＿Ａとも呼ばれる）を、表６Ａに示す。オープンリーディングは、ヌクレオチド８～１０のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド７１３～７１５のＴＧＡコドンで終わる。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は、表６Ａにおいて下線を付しており、そして開始コドンおよび終止コドンは太文字である。
【００９２】
【表２１】

表 6A. MOL6a のヌクレオチド配列 (SEQ ID NO:11)

GATCACCATGAAATATGTCTTCTATTTGGGTGTCCTCGCTGGGACATTTTTCTTTGCTGACTCATCTGTTCAGAA
AGAAGACCCTGCTCCCTATTTGGTGTACCTCAAGTCTCACTTCAACCCCTGTGTGGGCGTCCTCATCAAACCCAG
CTGGGTGCTGGCCCCAGCTCACTGCTATTTACCAAATCTGAAAGTGATGCTGGGAAATTTCAAGAGCAGAGTCAG
AGACGGTACTGAACAGACAATTAACCCCATTCAGATCGTCCGCTACTGGAACTACAGTCATAGCGCCCCACAGGA
TGACCTCATGCTCATCAAGCTGGCTAAGCCTGCCATGCTCAATCCCAAAGTCCAGCCCCTTCCCCTCGCCACCAC
CAATGTCAGGCCAGGCACTGTCTGTCTACTCTCAGGTTTGGACTGGAGCCAAGAAAACAGTGGCCGACACCCTGA
CTTGCGGCAGAACCTGGAGGCCCCCGTGATGTCTGATCGAGAATGCCAAAAAACAGAACAAGGAAAAAGCCACAG
GAATTCCTTATGTGTGAAATTTGTGAAAGTATTCAGCCGAATTTTTGGGGAGGTGGCCGTTGCTACTGTCATCTG
CAAAGACAAGCTCCAGGGAATCGAGGTGGGGCACTTCATGGGAGGGGACGTCGGCATCTACACCAATGTTTACAA
ATATGTATCCTGGATTGAGAACACTGCTAAGGACAAGTGAGACCCTACTTCTCCC

。
【００９３】
開示された核酸配列は、Ｍｕｓ ｍｕｓｃｕｌｕｓ プレプロートリプシノーゲン ｍＲＮＡ（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＭＭＴＲＹＡＲ｜ａｃｃ：Ｘ０４５７４）に対して、５８１塩基のうち３５４塩基（６０％）同一である（Ｅ値＝９．９ｅ－^{24}）。
【００９４】
配列番号１１によってコードされたＭＯＬ６ａタンパク質は、２３５アミノ酸残基を有し、そして表６Ｂ（配列番号１２）において１文字コードを用いて示される。ＭＯＬ６ａ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し、０．３７００の確実性で外側に局在化されるらしいことが予想される。ペプチドについて最もありそうな切断部位は、ＳｉｇｎａｌＰ結果に基づくＡＤＳ－ＳＶである、アミノ酸１９と２０との間である。
【００９５】
【表２２】

表 6B. コードされたMOL6a タンパク質の配列 (SEQ ID NO:12).

MKYVFYLGVLAGTFFFADSSVQKEDPAPYLVYLKSHFNPCVGVLIKPSWVLAPAHCYLPNLKVMLGNFKSRVRDGT
EQTINPIQIVRYWNYSHSAPQDDLMLIKLAKPAMLNPKVQPLPLATTNVRPGTVCLLSGLDWSQENSGRHPDLRQN
LEAPVMSDRECQKTEQGKSHRNSLCVKFVKVFSRIFGEVAVATVICKDKLQGIEVGHFMGGDVGIYTNVYKYVSWI
ENTAKDK

。
【００９６】
ＭｏＬ６ａの全アミノ酸配列は、Ｇａｌｌｕｓ ｇａｌｌｕｓ由来の、２４８アミノ酸残基ＴＲＹＰＳＩＮＯＧＥＮ Ｉ－Ｐ１ ＰＲＥＣＵＲＳＯＲ（ＥＣ３．４．２１．４）タンパク質に対して、２０８アミノ酸残基のうち７９残基（３７％）同一であり、そして２０８残基のうち１１８残基（５６％）陽性であるアミノ酸残基を有することが見出された（ｐｔｎｒ：ＳＷＩＳＳＮＥＷ－ＡＣＣ：Ｑ９０６２７）（Ｅ値＝１．１ｅ－^{33}）。
【００９７】
ＭＯＬ６はまた、表６ＣのＢＬＡＳＴデータに見られるタンパク質に対して高い相同性を

有する。

【００９８】

ＭＯＬ６ａのＳＮＰ分析を、実施例２に記載している。

【００９９】

【表２３】

表 6C. MOL6aのBLASTの結果

遺伝子インデックス/識別子	タンパク質/生物体	長さ(aa)	同一性(%)	陽性(%)	期待値
gi|2499862|sp|Q90627|TRY1_CHICK	トリプシン I-P1 前駆体	248	79/208 (37%)	118/208 (55%)	2e-31
gi|2118087|pir||S55067	トリプシン (EC 3.4.21.4) I 前駆体 膵臓-ニワトリ	248	78/208 (37%)	117/208 (55%)	5e-31
gi|6678439|ref|NP_033456.1|	トリプシン2 [Mus musculus]	246	77/215 (35%)	115/215 (52%)	8e-29
gi|1633123|pdb|1SLW|B	B鎖, ラット膵イオン性 N143h, E151h トリプシン (A86h Ecotin に複合体化)	223	74/212 (34%)	116/212 (53%)	1e-28

。

【０１００】

（ＭＯＬ６ｂ）

本発明において、以前に同定した標的配列、ＭＯＬ６ａ、登録番号ＧＭ＿８７７６０７５８＿Ａを、エキソン連結プロセスに供して、配列を確認した。フォワードプライマーについては、利用可能な最も上流の配列で、そしてリバースプライマーについては利用可能な最も下流の配列で、開始することによってＰＣＲプライマーを設計した。それぞれの場合、特有であるか非常に選択性であるかのいずれか適切な配列に遭遇するまで、または、リバースプライマーの場合は、終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内向きにウォーキングして、配列を試験した。次いで、広範なｃＤＮＡ種を含むライブラリーに基づくＰＣＲ増幅において、フォワードプライマーおよびリバースプライマーとして、このような適切な配列を使用した。得られたアンプリコンをゲル精製し、クローニングして、高い冗長性に対して配列決定して、以下に報告する配列（登録番号ＧＭ＿８７７６０７５８＿Ａ＿ｄａであり、ＭＯＬ６ｂと呼ばれる）を提供した。

【０１０１】

開示された、７３０ヌクレオチドの新規なトリプシン様ＭＯＬ６ｂ核酸（また、ＧＭ＿８７７６０７５８＿Ａ＿ｄａとも呼ばれる）を、表６Ｄに示す。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド８～１０のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド７１３～７１５のＴＧＡコドンで終わる。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は、表６Ａにおいて下線を付しており、そして開始コドンおよび終止コドンは太文字である。

【０１０２】

【表２４】

表 6D. MOL6b のヌクレオチド配列 (SEQ ID NO:13)

GATCACCATGAAATATGTCTTCTATTTGGGTGTCCTCGCTGGGACATTTTTCTTTGCTGACTCATCTGTCCAGA
AAGAAGACCCTGCTCCCTATTTGGTGTACCTCAAGTCTCACTTCAACCCCTGTGTGGGCGTCCTCATCAAACCC
AGCTGGGTGCTGGCCCCAGCTCACTGCTATTTACCAAATCTGAAAGTGATGCTGGGAAATTTCAAGAGCAGAGT
CAGAGACGGTACTGAACAGACAATTAACCCCATTCAGATCGTCCGCTACTGGAACTACAGTCATAGCGCCCCAC
ACGATGACCTCATGCTCATCAAGCTGGCTAAGCCTGCCATGCTCAATCCCAAAGTCCAGCCCCTTCCCCTCGCC
ACCACCAATGTCAGGCCAGGCACTGTCTGTCTACTCTCAGGTTTGGACTGGAGCCAAGAAAACAGTGGCCGACA
CCCTGACTTGCGGCAGAACCTGGAGGCCCCCGTGATGTCTGATCGAGAATGCCAAAAAACAGAACAAGGAAAAA
GCCACAGGAATTCCTTATGTGTGAAATTTGTGAAAGTATTCAGCCGAATTTTTGGGGAGGTGGCCGTTGCTACT
GTCATCTGCAAAGACAAGCTCCAGGGAATCGAGGTCGGGCACTTCATGGGAGGGGACGTCGGCATCTACACCAA
TGTTTACAAATATGTATCCTGGATTGAGAACACTGCTAAGGACAAGTGAGACCCTACTTCTCCC

。

【０１０３】

配列番号１３によってコードされたＭＯＬ６ｂタンパク質は、２３５アミノ酸残基を有し、そして表６Ｅ（配列番号１４）において１文字コードを用いて示される。ＭＯＬ６ａ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し、０．３７００以上の確実性で外側に局在化されるらしいことが予想される。ペプチドについて最もありそうな切断部位は、ＳｉｇｎａｌＰ結果に基づき、アミノ酸１９と２０との間である。

【０１０４】

【表２５】

表 6E.コードされたMOL6bタンパク質の配列：(SEQ ID NO:14).

MKYVFYLGVLAGTFFFADSSVQKEDPAPYLVYLKSHFNPCVGVLIKPSWVLAPAHCYLPNLKVMLGNFKSRVRDGT EQTINPIQIVRYWNYSHSAPQDDLMLIKLAKPAMLNPKVQPLPLATTNVRPGTVCLLSGLDWSQENSGRHPDLRQN LEAPVMSDRECQKTEQGKSHRNSLCVKFVKVFSRIFGEVAVATVICKDKLQGIEVGHFMGGDVGIYTNVYKYVSWI ENTAKDK

。

【０１０５】

ＭｏＬ６ｂの全アミノ酸配列は、表６ＦのＢＬＡＳＴＰデータに開示されたタンパク質を含むいくつかのタンパク質と相同性を有することが見出されている。

【０１０６】

【表２６】

表 6F. MOL6bのBLAST結果

遺伝子インデックス/識別子	タンパク質/生物体	長さ(aa)	同一性(%)	陽性(%)	期待値
ACC:Q90627	トリプシン I-P1 前駆体(EC 3.4.21.4)- Gallus gallus(ニワトリ) (Chicken)	248	79/208 (37%)	118/208 (56%)	3.8e-34
PIR-ID:S55067	トリプシン (EC 3.4.21.4)I 前駆体, 膵臓－ニワトリ	248	78/208 (37%)	117/208 (55%)	7.9e-34
ACC:Q90628	トリプシン I-P38 前駆体(EC 3.4.21.4)- Gallus gallus(ニワトリ)	248	78/208 (37%)	117/208 (56%)	1.0e-33
ACC:P07477	トリプシン I-P1 前駆体(EC 3.4.21.4) (陽イオン性トリプシノーゲン)－ Homo sapiens (ヒト)	247	76/212 (35%)	112/212 (52%)	1.3e-31

。

【０１０７】

ＭｏＬ６ｂはまた、表６ＧのＢＬＡＳＴＸアラインメントデータに示されたタンパク質に対して高い相同性を有する。

【０１０８】

【表２７】

表 6G. MOL6bのBLASTX結果

高スコアリング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	最小合計確率 P(N)	N
ptnr:SWISSPROT-ACC:Q90627 TRYPSIN I-P1 PRECURSOR (EC 3.+2		372	2.3e-33	1
ptnr:PIR-ID:S55067 trypsin (EC 3.4.21.4) I precursor, .+2		369	4.7e-33	1
ptnr:SWISSPROT-ACC:Q90628 TRYPSIN I-P38 PRECURSOR (EC .+2		368	6.0e-33	1
ptnr:SWISSPROT-ACC:P07146 TRYPSIN II, ANIONIC PRECURSO.+2		350	4.9e-31	1
ptnr:SWISSPROT-ACC:P07477 TRYPSIN I PRECURSOR (EC 3.4..+2		348	7.9e-31	1
ptnr:SPTREMBL-ACC:Q9R0T7 PANCREATIC TRYPSIN - Mus musc.+2		347	7.9e-31	1
ptnr:SWISSPROT-ACC:P15951 TRYPSIN III PRECURSOR (EC 3..+2		347	1.0e-30	1

。

【０１０９】

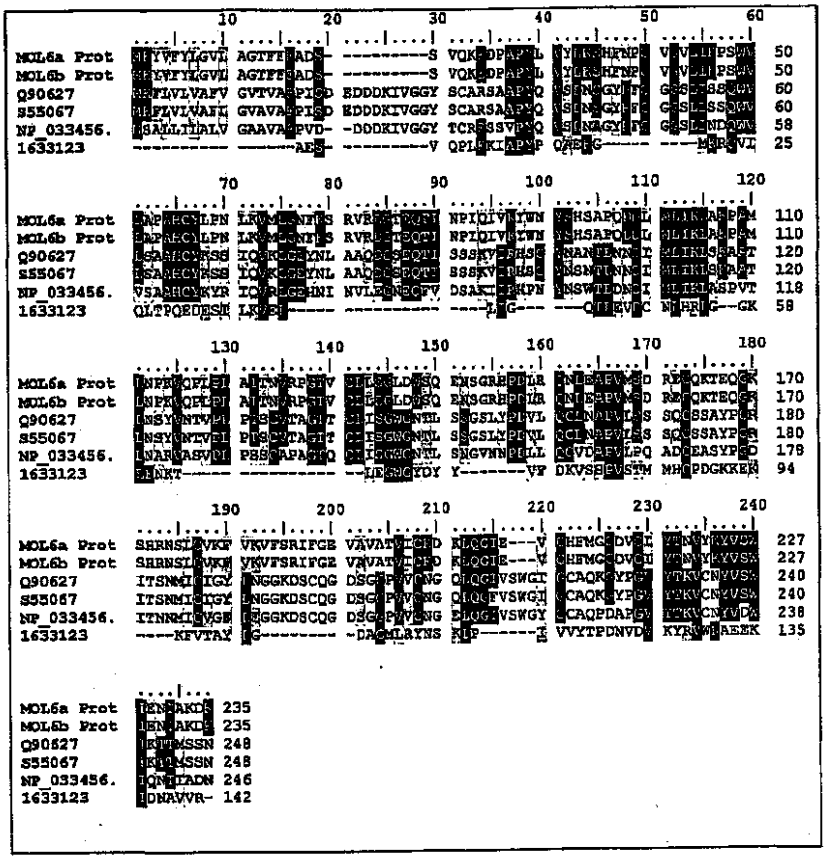
この情報は、ＭＯＬ６を関連のタンパク質配列と比較するＣｌｕｓｔａｌＷ分析として、表６Ｈ（ライン１上に示されたＭｏＬ６ａおよびライン２上に示されたＭＯＬ６ｂを含む）に与えられた複数の配列アラインメントに図示されている。

【０１１０】

【表２８】

表6H. クラスターW(clustal W)タンパク質の情報

1) MOL6a (SEQ ID NO:12)
2) MOL6b (SEQ ID NO:14)
3) gi|2499862|sp|Q90627|TRY1_CHICK TRYPSIN I-P1 PRECURSOR (SEQ ID NO:53)
4) gi|2118087|pir||S55067 trypsin (EC 3.4.21.4) I precursor, pancreatic - chicken (SEQ ID NO:54)
5) gi|6678439|ref|NP_033456.1| trypsin 2 [Mus musculus] (SEQ ID NO:55)
6) gi|1633123|pdb|1S1W|B Chain B, Rat Anionic N143h, E151h Trypsin Complexed To A86h Ecotin (SEQ ID NO:56)



。

【０１１１】

ＭＯＬ６ｂはまた、表６Ｉに記載されるいくつかの単一ポリヌクレオチド多型（１塩基変異多型）を含んだ。

【０１１２】

【表２９】

表 6I. MOL6bについてのSNP

位置	ヌクレオチドの変化	出現数
70	C>A	2
70	C>G	6
261	T>C	2
406	A>C	2
573	G>T	2
585	C>T	2
737	A>G	4

。

【０１１３】

トリプシン（ＥＣ３．４．２１．４）は、エラスターゼと同様、セリンプロテアーゼの膵臓性ファミリーのメンバーである。トリプシン－１（ＴＲＹ１）をコードする遺伝子はまた、セリンプロテアーゼ－１（ＰＲＳＳ１）とも呼ばれる。ＭａｃＤｏｎａｌｄら（１９８２）は、２つの膵臓のラットトリプシノゲンを示すｃＤＮＡのヌクレオチド配列を報告した。ラットｃＤＮＡプローブを用いて、Ｈｏｎｅｙら（１９８４）は、ヒトトリプシン－１遺伝子配列を含む３．８ｋｂのＤＮＡフラグメントが、第７染色体を同時分離し、そしてこのセグメントの欠失を有するハイブリッドの研究によって、この遺伝子をさらに７ｑ２２－７ｑｔｅｒに割り当てたことを見出した。このトリプシン遺伝子はマウス第６染色体上である（Ｈｏｎｅｙら、１９８４）。カルボキシペプチダーゼＡおよびトリプシンは、マウスおよびヒトにおいて保存されたシンテニックな対である。Ｅｍｉら（１９８６）は、膵臓ｃＤＮＡライブラリーから２つの主要なヒトトリプシノーゲンアイソザイムのｃＤＮＡクローンを単離した。推定アミノ酸配列は、８９％の相同性および同じ数のアミノ酸（２４７）を有し、これは１５アミノ酸のシグナルペプチドおよび８アミノ酸の活性化ペプチドを含んだ。プローブとしてクローニングされたｃＤＮＡを用いたヒトゲノムＤＮＡのサザンブロット分析によって、ヒトトリプシノーゲン遺伝子が１０より多いファミリーを構成することが示された。このファミリーのいくつかは偽遺伝子であっても、または発生の他の段階で発現されてもよい。

【０１１４】

Ｒｏｗｅｎら（１９９６）は、８つのトリプシノーゲン遺伝子が、７ｑ３５にマッピングする、βＴ細胞レセプター遺伝子座または遺伝子のクラスター（ＴＣＲＢ；ＯＭＩＭ－１８６９３０）中に埋め込まれて存在することを見出した。Ｒｏｗｅｎらが配列決定した６８５ｋｂのＤＮＡにおいて、Ｒｏｗｅｎらは、この遺伝子座の３－プライム末端に５つの直列に整列された１０ｋｂの遺伝子座特異的な反復（リピート）（相同性単位）を見出した。これらの反復（リピート）は、９０～９１％の全体的なヌクレオチド類似性を示し、そして各々の中にトリプシノーゲン遺伝子を含んでいる。生殖細胞系列の配列と膵臓のトリプシノーゲンｃＤＮＡの整列によって、これらのトリプシノーゲン遺伝子は、約３．６ｋｂにまたがる５つのエキソンを含むことが示された。さらなる分析によって、この配列の５－プライム末端に２つのトリプシノーゲン偽遺伝子および１つの残存トリプシノーゲン遺伝子（全て転写方向と逆）が明らかにされた。Ｒｏｗｅｎらは、５－プライム～３－プライムへむけて、Ｔ１～Ｔ８の８つのトリプシノーゲン遺伝子を示した。Ｒｏｗｅｎら（１９９６）は、３つの膵臓で発現されたトリプシノーゲンｃＤＮＡのうち２つだけが、

ＴＣＲＢ遺伝子座におけるトリプシノーゲン遺伝子に対応することを見出した；Ｔ４は、トリプシノーゲン１を示し、そしてＴ８は、トリプシノーゲン２を示した（ＯＭＩＭ－６０１５６４）。トリプシノーゲン３（Ｔａｎｉら、１９９０）およびトリプシノーゲン４（Ｗｉｅｇａｎｄら、１９９３）として独立して同定された、第三の膵臓ｃＤＮＡは、ＴＣＲＢ遺伝子座における第三の明白に機能的なトリプシノーゲン遺伝子（Ｔ６）とは異なるが、他の膵臓トリプシノーゲンに関連している。Ｒｏｗｅｎら（１９９６）は、Ｔ６遺伝子は、共通の挿入－欠失多型（もしそれが機能的であれば、その機能は、明確に必須でない）を欠失していると述べている。トリプシノーゲン遺伝子のいくつかは、その機能が未知である非膵臓組織において発現される。Ｒｏｗｅｎら（１９９６）は、ＴＣＲＢ遺伝子座におけるトリプシノーゲン遺伝子の挿入が、マウスおよびニワトリにおいて保存されていることを注記したが、このことは、類似の長期組織的関係を共有する主要組織適合性遺伝子複合体（例えば、クラスＩ、ＩＩおよびＩＩＩ遺伝子）における遺伝子について仮定されたように、共有された機能的または調節的制限を共有したことを示唆する。

【０１１５】

Ｒｏｗｅｎら（１９９６）は、蛍光インサイチュハイブリダイゼーションによって第三の膵臓トリプシノーゲンｃＤＮＡに対応する遺伝子をマッピングした。Ｒｏｗｅｎらは、３つのトリプシノーゲン遺伝子を含有するコスミドクローンを用いた。第７染色体に対する強力なハイブリダイゼーションおよび第９染色体に対するそれより弱いハイブリダイゼーションが観察された。Ｒｏｗｅｎは、第９染色体領域から４つのコスミドクローンを単離して部分的に配列決定した。Ｒｏｗｅｎらは、この領域がＴＣＲＢ遺伝子座（少なくとも７つのＶ（β）エレメントおよびＴ９と示される機能的トリプシノーゲン遺伝子を含む）の３－プライム末端由来のＤＮＡセグメントの複製および転座を示すことを見出した。７ｑ３５に対するＰＲＳＳ１遺伝子の割り当ては、Ｔ細胞レセプターβ鎖の「遺伝子座」（ＯＭＩＭ－１８６９３０）の配列内の配列の証明によって確立されている（Ｒｏｗｅｎら、１９９６）。これは、７ｑ３５領域のマイクロサテライトマーカーと、遺伝性膵炎（ＯＭＩＭ－１６７８００）との間の関連、および遺伝性膵炎におけるＰＲＳＳ１遺伝子の変異の証明によってさらに支持される。

【０１１６】

Ｗｈｉｔｃｏｍｂら（１９９６）は、Ｒｏｗｅｎら（１９９６）によって同定された５つのトリプシノーゲン遺伝子のこのクラスターの間に、高い程度のＤＮＡ配列相同性（９１％より大きい）が存在すると述べ、遺伝性膵炎の家族における変異スクリーニングのためには、非常に特異的な配列分析ストラテジーが開発される必要があるとしている。これは、各配列決定の試行が、複数の関連するトリプシノーゲン様遺伝子由来の１ダース以上の対立遺伝子の改変体（ヘテロ接合体の検出をほぼ不可能にする）ではなく、単一遺伝子に対応する２つの対立遺伝子しか含んでいない（それによりこの常染色体優性障害におけるヘテロ接合体の検出が可能になる）ことを保証することが必要であった。遺伝性膵炎の家族において、Ｗｈｉｔｃｏｍｂら（１９９６）は、罹患した個体が陽イオン性トリプシノーゲンの第三エキソン（２７６０００．０００１）において単一のＧからＡの遷移変異を有したことを見出した。この変異は、トリプシン遺伝子においてａｒｇ１０５からｈｉｓの置換（より通常のキモトリプシンナンバーシステムにおいて残基数１１７）を生じると予測された。引き続いて、全部で５つの異なる遺伝性膵炎家系（米国から４例、イタリアから１例）（全部で２０例の罹患個体および６例の真正（オブリゲイト）キャリアを含む）において同じ変異を見出した。この変異は、真正の非罹患メンバー（この家族と結婚した個体）においては見出されなかった。引き続くハプロタイプ分析によって、４つのアメリカの家族の全てが、７つのＳＴＲマーカーを包含する４－ｃＭ領域にわたって同じ高いリスクのハプロタイプを示した（このことは、これらの家系が共通の先祖を共有した確率を確認する）が、８代にわたって関連性は見出され得なかったことが示された。イタリアからの第５の家族は、同じ変異が少なくとも２つの機会に生じたことを示す、特有のハプロタイプを示した。コドン１１７におけるＧからＡの変異は、ＡｆｌＩＩＩについて新規な酵素認識部位を作成し、変異のスクリーニングをするための簡易な手段を提供した。膵

炎家系の真正の非罹患メンバーと同様に、１４０例のコントロールは、増幅したエキソンＤＮＡのＡｆｌＩＩＩ消化の欠失によってアッセイされるようなＧからＡへの変異を誰も有さなかった。

【０１１７】

成長の不全、栄養性水腫、および低タンパク血症（ただし汗の電解質は正常）が、Ｔｏｗｎｅｓ（１９６５）およびＴｏｗｎｅｓら（１９６７）によって報告された２例の罹患した男の乳児の特徴であった。タンパク質加水分解物食餌が有益であった。Ｔｏｗｎｅｓ（１９６５）によって報告された最初の患者の男の兄弟は、明らかに同じ状態で死んだ。ＭｏｒｒｉｓおよびＦｉｓｈｅｒ（１９６７）は、罹患した女性（鎖肛も有した）を報告した。エンテロキナーゼ欠乏症（ＯＭＩＭ－２２６２００）の臨床像は、かなり類似しているが；しかしこの欠陥は、トリプシノーゲンの合成においてではなく、膵臓によって生成されるタンパク質分解性酵素を活性化するエンテロキナーゼの合成においてである。経口パンクレアチンが、酵素置換の治療上首尾よい形態を示す（Ｔｏｗｎｅｓ，１９７２）。遺伝性膵炎は、７ｑ３５にかなり正確にマッピングされており、そしてトリプシノーゲン遺伝子における欠損は、遺伝性膵炎において同定されているので、トリプシノーゲン遺伝子の割り当ては、７ｑ３２－ｑｔｅｒから７ｑ３５に精緻化され得る。

【０１１８】

Ｆｅｒｅｃら（１９９９）は、遺伝性膵炎を有する１４例の家族を研究し、そして８つの家族においてＰＲＳＳ１遺伝子の変異を見出した。これらの家族の４つにおいて、変異（Ｒ１１７Ｈ：２７６０００．０００１）がＷｈｉｔｃｏｍｂら（１９９６）によって記載されている。３つの新規の変異が４つの他の家族において記載された。

【０１１９】

Ｓａｈｉｎ－Ｔｏｔｈら（１９９９）は、遺伝性膵炎におけるＲ１１７Ｈ変異およびＮ２１Ｉ（２７６０００．０００２）変異体にの役割を研究した。彼らは、Ｒ１１７Ｈ変異は、トリプシンにおける必須の自己分解性切断部位置を排除し、これにより、プロテアーゼを自己分解を通じた不活性化に対して耐性にすることによって膵炎を生じると考えられると述べている。Ｓａｈｉｎ－Ｔｏｔｈら（１９９９）は、Ｒ１１７Ｈ変異がまた、Ｃａ（２＋）のない条件下で、自己分解性トリプシノーゲン破壊を有意に阻害し、そしてラットトリプシンのチモーゲン形態を安定化したことを実証した。Ｎ２１Ｉ変異が自己活性化およびその結果の自己触媒性分解に対してラットトリプシノーゲンを安定化したことを実証する知見とともに考えれば、この観察によって、チモーゲン安定化が中心的役割を果たす遺伝性膵炎の分子病理学的機序の統一が示唆された。

【０１２０】

（本発明の組成物の用途）

本発明について上記で規定した情報は、このトリプシン様タンパク質が「トリプシンファミリー」のメンバーとして機能し得ることを示唆する。従って、本明細書に同定された新規な核酸およびタンパク質は、以下に示す種々の病状および障害に関係している（ただしそれらに限定はされない）潜在的な治療適用において有用であり得る。本発明に関する潜在的な治療適用としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：タンパク質治療剤、低分子薬物標的、抗体標的（治療抗体、診断抗体、薬物標的化抗体／細胞傷害性抗体）、診断マーカーおよび／または予後マーカー、遺伝子治療（遺伝子送達／遺伝子アブレーション）、研究ツール、本明細書に規定される組織および細胞型を構成する（がこれに限定されない）全ての組織および細胞型のインビボおよびインビトロにおける組織再生。

【０１２１】

本発明の核酸およびタンパク質は、成長の不全、栄養性水腫、および低タンパク質血症、トリプシノーゲン欠損疾患、慢性および遺伝性の膵炎、エンテロキナーゼ欠損、癌および／または関連の病状および障害、ならびに／あるいは他の病状および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、トリプシン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、そしてトリプシン様タンパク質は、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。非限定的な例として、本発明の組成物

は、成長の不全、栄養性水腫、および低タンパク質血症、トリプシノーゲン欠損疾患、慢性および遺伝性の膵炎、エンテロキナーゼ欠損、癌に罹患する患者の処置に有効性を有する。トリプシン様タンパク質をコードする新規な核酸、および本発明のトリプシン様タンパク質、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る。診断適用において、この核酸またはタンパク質の存在または量を評価する。これらの材料はさらに、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生成において有用である。

【０１２２】

（ＭＯＬ７）

カリクレイン様タンパク質（Ｋａｌｌｉｋｒｅｉｎ－ｌｉｋｅ－ｐｒｏｔｅｉｎ）ＭＯＬ７をコードする新規な核酸を、ＭＯＬ７プローブまたはホモログ（相同体）についてＣｕｒａＧｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎの配列ファイルを用いてＴｂｌａｓｔＮによって、およびＧｅｎＢａｎｋによって利用可能にされたＧｅｎｏｍｉｃ　Ｄａｉｌｙ　Ｆｉｌｅｓに対する試行によって同定した。この核酸を、エキソンの選択を含め、プログラムＧｅｎＳｃａｎ^{TM}によってさらに予想した。ＢＬＡＳＴ検索を用いた類似性によってこれらをさらに改変した。次いで、この配列を明白な不一致について手動で補正し、これによって全長タンパク質をコードする配列を得た。開示された、１８１１ヌクレオチドの新規なＭＯＬ７核酸（また、３０６７５７４５．０．４９９とも呼ばれる）を、表７Ａに示す。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド３６８～３７０のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド１５５３～１５５５のＴＡＧコドンで終わる。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は、表７Ａにおいて下線を付しており、そして開始コドンおよび終止コドンは太文字である。

【０１２３】

【表３０】

表 7A. MOL7 のヌクレオチド配列 (SEQ ID NO:15)

ACAAATCCTTCTGTTGAACTCTACTGTGTCAGGCCAGCCTGAGTTCATTTCTCCTTGAGCAGGAACAGTT
CATGGACGAACTCTGAGGACCATTCTGAGGACAAGAGGCATCCAGTGTCATGAGTGGAACATGCAGCATT
TTATGGCTACAGAGTTAAGGCAAGGGTTGAATTCCACGAGTCAAAAAGCAGCCCTTTTCAGAGACCCAAC
TCTCTGGGGTGCTCAGGGGCTTGGGCTGGATTGAGAAGAAAACTGACAAGAGTAAGCTGCCCTCTCTTCT
CTGGCCATCTCACAAACCACAGTGCGGGCCAACTGGTCCTGCCTCTTTACCACACAGAACCAAGCACTAG
GGATAAGACAGCTGCCCATGGTGTCCGCGGCGGGTCTCTCTGGGGATGGCAAGATGCGAGGGGTGCTCCT
GGTGCTGCTCGGCCTTCTCTATTCTTCCACCAGTTGTGGCGTCCAGAAAGCTTCCGTTTTCTACGGTCCT
GACCCCAAGGAGGGCTTGGTCAGCAGCATGGAGTTCCCGTGGGTGGTGTCGCTGCAGGACTCCCAGTACA
CACACCTGGCTTTCGGCTGCATCCTGAGCGAGTTCTGGGTCCTCAGCATCGCATCCGCCATTCAGAACAG
GAAGGACATTGTCGTTATAGTGGGTATAAGTAACATGGATCCTAGCAAGATTGCTCACACAGAGTATCCA
GTCAATACCATCATCATCCATGAGGACTTTGATAACAACTCCATGAGCAACAACATAGCCCTCCTGAAGA
CAGACACAGCGATGCATTTTGGCAACCTGGTCCAGTCCATCTGCTTCCTCGGCAGAATGCTGCATACACC
ACCAGTCTTGCAGAACTGCTGGGTGTCAGGATGGAATCCCACATCTGCAACAGGAAATCACATGACGATG
AGTGTCCTGAGGAAAATCTTCGTGAAAGATCTTGACATGTGTCCCCTATACAAACTCCAGAAGACAGAAT
GCGGCAGCCACACGAAAGAGGAAACCAAGACTGCCTGCTTGGGGGACCCAGGAAGCCCAATGATGTGCCA
GCTACAGCAGTTCGATCTGTGGGTTCTGAGAGGAATCCTGAACTTCGGTGGTGAGACGTGCCCTGGCCTG
TTTCTGTACACCAAGGTGGAAGACTACAGCAAATGGATCACATCCAAGGCTGAGAGGGCCGGCCCTCCCC
TGTCCTCACTCCACCACTGGGAAAAGTTGATTTCTTTCTCCCACCATGGACCAAATGCCGCCATGACACA
GAAGACATATTCTGATTCTGAACTGGGCCATGTTGGATCATACTTGCAGGGACAAAGAAGGACCATCACG
CATTCACGACTAGGAAACAGCTCTAGAGATAGTCTAGATGTTAGGGAGAAGGATGTAAAGGAATCAGGCA
GGTCTCCTGAGGCGTCTGTACAACCCTTATACTATGACTATTACGGTGGGGAGGTGGGGGAAGGTAGGAT
TTTTGCAGGTCAGAACAGGTTGTATCAGCCCGAAGAAATCATCTTGGTTTCCTTCGTGCTTGTTTTCTTT
TGCAGCAGTATCTAGTCCAGGAGCTACCCCACCAAACTGAAGAGTAAACTGAGAATGCTGAGTGCCAGGC
ATTCACCATGCTGTTTTGATGTCTGTTTTTGATAGTTGCACACTGGGGCTGCCACGGATAAGCCCATGGC
ATACACTGGGCTGGCTCTCCCTCCTCTATCCCTCTCCCAGGTGTGGGAAGGTCACTTTCACTATGCTTGT
GAACTAAATGCTGGCTAACAAGTGTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

。

【０１２４】

配列番号１５によってコードされたＭＯＬ７タンパク質は、３９５アミノ酸残基を有し、そして表７Ｂ（配列番号１６）において１文字コードを用いて示される。ＭＯＬ７についてのＳｉｇｎａｌＰ、Ｐｓｏｒｔおよび／または疎水性親水性プロフィールによって、ＭＯＬ７がシグナルペプチドを有し、そして０．９１９０の確実性で細胞膜に局在化される

らしいことが予想される。ＳｉｇｎａｌＰは、シグナル配列がアミノ酸３０とアミノ酸３１との間に存在する最も可能性の高い切断部位を有する最初の４４アミノ酸中で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に典形的である。ＭＯＬ７の分子量は、４３８１５．７ダルトンである。

【０１２５】

【表３１】

表 7B. コードされたMOL7のタンパク質配列：(SEQ ID NO:16).

```
MVSAAGLSGDGKMRGVLLVLLGLLYSSTSCGVQKASVFYGPDPKEGLVSSNEFPWVVSLQDSQYTHLAFGCILS
EPWVLSIASAIQNRKDIVVIVGISNMDPSKIAHTEYPVNTIIIHEDFDNNSMSNNIALLKTDTAMHFGNLVQSI
CFLGRMLHTPPVLQNCWVSGWNPTSATGNHMTMSVLRKIFVKDLDMCPLYKLQKTECGSHTKEETKTACLGDPG
SPMMCQLQQFDLWVLRGILNFGGETCPGLFLYTKVEDYSKWITSKAERAGPPLSSLHHWEKLISPSHEGPNAAM
TQKTYSDSELGHVGSYLQGQRRTITHSRLGNSSRDSLDVREKDVKESGRSPEASVQPLYYDYVGGEVGEGRIFA
GQNRLVQPEEIILVSFVLVFFCSSI
```

。

【０１２６】

ＭＯＬ７は、Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ（ヒト）由来の、２９０アミノ酸残基（推定３２．６ｋＤのタンパク質）（ＡＣＣ：ＣＡＢ７０７６５）に対して、２９０アミノ酸残基のうち２９０残基（１００％）同一であることが見出された。このタンパク質はカリクレインに対して類似性を有する。

【０１２７】

ＭＯＬ７は、以下の参考文献（ただし、それらに限定されない）に記載されるようなヒトの仮定の３２．６ｋＤタンパク質（カリクレインに対して類似性を有するタンパク質）にたいして有意な相同性を示す。

【０１２８】

カリクレインは、セリンプロテアーゼのサブグループであり、そしてこれらのタンパク質分解性酵素は、多くの組織において多様な生理学的機能を有する。多くのカリクレインが、発ガンに関与することを示唆する証拠が増加している。ヒトカリクレイン遺伝子ファミリーは、染色体１９ｑ１３．３～ｑ１３．４上に局在し、そして現在、以下の３つのメンバーを含む：ＫＬＫ１すなわち膵臓／腎臓カリクレイン、ＫＬＫ２すなわちヒト腺性カリクレイン、およびＫＬＫ３すなわち前立腺特異的抗原（ＰＳＡ）。後者の２つの遺伝子は、ほとんど前立腺特異的であり、そしてそれらは、前立腺癌およびさらに最近では、乳癌適用の診断およびモニタリングのために用いられる（Ｙｏｕｓｅｆら、Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　１９９９　Ｊｕｌ－Ａｕｇ；１９（４Ｂ）：２８４３～５２）。これらの新しい遺伝子は、既に公知のカリクレインと同様に、種々の癌（乳房の癌、前立腺癌および精巣の癌を含む）の診断、モニタリングおよび治療に有用性を有し得る。

【０１２９】

Ｍｏｎｓｅｅｓら、Ｉｍｍｕｎｏｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ　１９９９　Ｄｅｃ；４５（１～３）：１０７～１４は、カリクレイン－キニン系の要素が、ラットの精上皮に存在することを見出した。ペプチドホルモンは、いくつかの生理学的プロセスのパラクリン調節に関与する。このパラクリンペプチド系は、セルトリ細胞機能の調節またはセルトリ細胞－生殖細胞のクロストークにおいて役割を果たし得、従って哺乳動物の生殖、特に精子形成に関与する。

【０１３０】

Ｃｈｅｎら、Ｊ　Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍ　１９９６　Ｎｏｖ　１；２７１（４４）：２７５９０～４は、カリクレイン－キニン系が血圧調節に関与することを見出した。カリクレイン－キニン系の成分の１つであるカリクレイン結合タンパク質は、組織カリクレインに結合して、そしてインビトロにおいてその活性を阻害する。

【０１３１】

腺カリクレインは、分子量２５，０００～４０，０００を有し、そしてインビトロにおいてキニノーゲン由来の血管作用性ペプチドを放出する能力を有する、セリンプロテアーゼの異なる群であるが、異なるカリクレインのキニノゲナーゼ活性は非常に可変性である。特定のカリクレインの真の生理学的役割は、しばしば、キニノゲナーゼ活性には関連しない。マウスにおいて、カリクレイン合成の主要な部位は、雄性の顎下腺である。腺カリクレインはまた、膵臓および腎臓において合成される。この組織で見出されたいくつかのカリクレインは、それぞれがＥＧＦ（１３１５３０）およびＮＧＦ（１６２０３０）のプロセシングを担う、上皮増殖因子結合タンパク質（ＥＧＦ－ＢＰ）および神経成長因子のγサブユニット（ＮＧＦＧ；１６２０４０）を含む。ＥＧＦ－ＢＰおよびＮＧＦＧは、厳密な基質特異性を示すが、それらは、広範なアミノ酸配列相同性および免疫学的交差活性を共有する。Ｍａｓｏｎら（１９８３）は、腺カリクレイン遺伝子ファミリーが、生物学的に活性なペプチドのプロセシングに関与する特定のプロテアーゼをコードする、２５～３０の非常に相同な遺伝子を含むと結論した。全てがマウス第７染色体（チャイニーズハムスター－マウスのハイブリッド細胞研究によって割り当て）上に密接に結合されている。いくつかのヒトカリクレイン遺伝子が単離されている。

【０１３２】

Ｓｃｈｅｄｌｉｃｈら（１９８７）は、ヒトゲノムライブラリーから単離された、ヒト腺プレプロカリクレイン遺伝子、ｈＧＫ－１を記載した。５．２ｋｂの遺伝子が、２６１アミノ酸のプレプロペプチドをコードする。成熟タンパク質は、２３７アミノ酸長であり、そして膵臓、腎臓、および唾液腺において合成されたヒトカリクレイン（ＫＬＫ１；１４７９１０）について予測された配列と６６％の相同性を有する。ヒト前立腺特異的抗原（ＡＰＳ；１７６８２０）との７３％の相同性が観察された。腺カリクレイン遺伝子の発現は、ＡＰＳ遺伝子の発現と同様、前立腺に限定されるようである。Ｒｉｅｇｍａｎら（１９８９）は、腺カリクレイン遺伝子および前立腺特異的抗原の遺伝子が、ヘッドからテイル（ｈｅａｄ－ｔｏ－ｔａｉｌ）の方向に整列され、そして約１２ｋｂに分離されていることを見出した。ヒト－ハムスターハイブリッド細胞のパネル由来のＤＮＡのサザンブロット分析によって、この遺伝子が第１９染色体に配置されることが示された。ＫＬＫ１遺伝子はまた、第１９染色体上であるので、これらの３つの遺伝子は、おそらくクラスターを示す。インサイチュハイブリダイゼーション研究から、Ｑｉｎら（１９９１）は、腺カリクレイン遺伝子およびおそらくは他のカリクレイン遺伝子が、第１９染色体のｑ１３．３バンドおよびｑ１３．４バンドに配置され、そしておそらくこれらの２つのバンドの境界付近であると結論した。

【０１３３】

（治療適用）

ＭＯＬ７の発現パターンおよびタンパク質類似性情報により、ＭＯＬ７がヒトカリクレイン様タンパク質として機能し得ることが示唆される。従って、本発明の核酸およびタンパク質は、意図される潜在的な治療適用（例えば、精巣、前立腺、および乳房の癌を含む種々の癌；哺乳動物の生殖、特に精子形成；血圧調節；ならびに他の疾患および障害が挙げられるがこれらに限定されない）において有用である。抗原性の分泌タンパク質および膜タンパク質に対する相同性によって、新規な遺伝子に対する抗体が種々の癌（精巣、前立腺および乳房の癌を含む）；哺乳動物の生殖、特に精子形成；血圧調節；および他の疾患および障害の処置および予防に有用であり得ること示唆される。

【０１３４】

本発明の潜在的治療用途としては、例えば、以下が挙げられるがこれらに限定されない：（ｉ）タンパク質治療剤、（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）診断マーカーおよび／または予後マーカー、（ｖ）遺伝子治療（遺伝子送達／遺伝子アブレーション）、（ｖｉ）研究ツール、および（ｖｉｉ）インビトロおよびインビボにおける組織再生（これらの組織およびこれらの組織に由来する細胞型からなる組織および細胞型の全てについての再生）。

【０１３５】

本発明の核酸およびタンパク質は、種々の癌（精巣、前立腺、および乳房の癌を含む）；哺乳動物の生殖、特に精子形成；血圧調節；ならびに他の疾患および障害に関与する潜在的な治療適用において有用である。例えば、限定はしないが、新規なヒト細胞膜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、そしてこの新規なヒト細胞膜タンパク質は、それを必要とする被験体に投与された場合に、有用であり得る。非限定的な例として、本発明の組成物は、例えば、種々の癌（精巣、前立腺、および乳房の癌を含む）；哺乳動物の生殖、特に精子形成；血圧調節；ならびに他の疾患および障害を含むがこれらに限定されない障害に罹患した患者の処置のために有効性を有する。新規なヒト細胞膜タンパク質をコードする新規な核酸、および本発明の新規なヒト細胞膜タンパク質、またはそのフラグメントが、診断適用（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）においてさらに有用であり得る。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使用のための、本発明の新規な物質に免疫特異的に結合する抗体の生成において有用である。

【０１３６】

（ＭＯＬ８）

（ＭＯＬ８ａ）

ＭＯＬプローブまたはホモログ（相同体）についてのＣｕｒａＧｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎの配列ファイルを用いたＴｂｌａｓｔＮによって、そしてＧｅｎＢａｎｋによって利用可能になったＧｅｎｏｍｉｃ　Ｄａｉｌｙ　Ｆｉｌｅｓに対する試行によって、新規なヒトアセチルＬＤＬレセプター様核酸を同定した。エキソンの選択を含め、プログラムＧｅｎＳｃａｎ™によって、この核酸をさらに予想した。ＢＬＡＳＴ検索を用いた類似性によってこれらをさらに改変した。次いで、この配列を明白な不一致について手動で補正し、これにより全長タンパク質をコードする配列を得た。開示された９８０ヌクレオチドの新規なＭＯＬ８ａ核酸（また、１１８００６９９－０－１６とも呼ばれる）を、表８Ｂに示す。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド１～３のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド２８０３～２８０５のＴＧＡコドンで終わる。終止コドンの下流の推定非翻訳領域は、表８Ａにおいて下線を付しており、そして開始コドンおよび終止コドンは太文字である。

【０１３７】

【表３２】

表 8A. MOL8a のヌクレオチド配列 (SEQ ID NO:17)

```
ATGGAGGGCGCAGGGCCCCGCGGGGCCGGGCCGGCGCGGCGCCGGGGAGCCGGGGGGCCGCCGTCACCGCTGCTGC
CGTCGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTCTGGATGCTGCCGGACACCGTGGCGCCTCAGGAACTGAACCCTCGCGGCCG
CAACGTGTGCCGTGCTCCCGCCTCCCAGGTGCCCACGTGCTGCGCTGGCTGGAGGCAGCAAGGGGACGAGTGTGGG
ATTGCGGTGTGCGAAGGCAACTCCACGTGCTCAGAGAACGAGGTGTGCGTGAGGCCTGGCGAGTGCCGCTGCCGCC
ACGGCTACTTCGGTGCCAACTGCGACACCAGTGAGCGTGGGGTCGGGCCGGTATTGGTCGGTGGGGCGGAATCCTG
GAGAGATGGGGCGGGGTCCAAGGTGGGGCGGGGTCGGATCCGCCTTCGGGGCGGGTCCCCAGAGGTGGCGGCTGGA
GTGCGGGACGCGGGCAGGTTCCGGCTGGCTGGGGGCACCTACTCAAGCACCGGGGCCTTCCACCCCCTCCGCTCCT
CCCCTGCAGAGTGCCCGCGCCCAGTTCTGGGGCCCCGACTGCAAGGAGCTGTGTAGCTGCCACCCACACGGGCAGTG
CGAGGACGTGACAGGCCAGTGTACTTGTCACGCGCGGCGCTGGGGCGCGCGCTGCGAGCATGCGTGCCAGTGCCAG
CACGGCACGTGCCACCCCCGGAGCGGCGCGTGCCGCTGTGAGTCCGGCTGGTGGGGCGCGCAGTGCGCCAGCGCGT
GCTACTGCAGCGCCACGTCGCGCTGCGACCCACAGACCGGCGCCTGCCTGTGCCACGCAGGCTGGTGGGGCCGCAG
CTGCAACAACCAGTGCGCCTGCAACTCGTCTCCCTGCGAGCAGCAGAGCGGCCGCTGTCAGTGCCGCGAGCGTACG
TTCGGCGCGCGCTGCGATCGCTACTGCCAGTGCTTCCGCGGCCGCTGCCACCCTGTGGACGGCACGTGTGCCTGCG
AGCCGGGCTACCGCGGCAAGTACTGTCGCGAGCCGTGCCCCGCCGGCTTCTACGGCTTGGGCTGTCGCCGCCGGTG
TGGCCAGTGCAAGGGCCAGCAGCCGTGCACGGTGGCCGAGGGCCGCTGCTTGACGTGCGAGCCCGGCTGGAACGGA
ACCAAGTGCGACCAGCCTTGCGCCACCGTTTCTATGGCGAGGGCTGCAGCCACCGCTGTCCGCCATGCCGCGACG
GGCATGCCTGTAACCATGTCACCGGCAAGTGTACGCGCTGCAACGCGGGCTGGATCGGCGACCGGTGCGAGACCAA
GTGTAGCAATGGCACTTACGGCGAGGACTGCGCCTTCGTGTGCGCCGACTGCGGCAGCGGACACTGCGACTTCCAG
TCGGGGCGCTGCCTGTGCAGCCCTGGCGTCCACGGGCCCCACTGTAACGTGACGTGCCCGCCCGGACTCCACGGCG
CGGACTGTGCTCAGGCCTGCAGCTGCCACGAGGACACGTGCGACCCGGTCACTGGTGCCTGCCACCTAGAAACCAA
CCAGCGCAAGGGCGTGATGGGCGCGGGCGCGCTGCTCGTCCTGCTCGTCTGCCTGCTGCTCTCGCTGCTCGGCTGC
TGCTGCGCTTGCCGCGGCAAGGACCCTACGCGCCGGGAGCTTTCGCTTGGGAGGAAGAAGGCGCCGCACCGACTAT
GCGGGCGCTTCAGTCGCATCAGCATGAAGCTGCCCCGGATCCCGCTCCGGAGGCAGAAACTACCCAAAGTCGTAGT
GGCCCACCACGACCTGGATAACACACTCAACTGCAGCTTCCTGGAGCCACCCTCAGGGCTGGAGCAGCCCTCACCA
TCCTGGTCCTCTCGGGCCTCCTTCTCCTCGTTTGACACCACTGATGAAGGCCCTGTGTACTGTGTACCCCATGAGG
AGGCACCAGCGGAGAGCCGGGACCCCGAAGTCCCCACTGTCCCTGCCGAGGCGCCGGCGCCGTCCCCTGTGCCCTT
GACCACGCCAGCCTCCGCCGAGGAGGCGATACCCCTCCCCGCGTCCTCCGACAGCGAGCGGTCGGCGTCCAGCGTG
GAGGGGCCCGGAGGGGCTCTGTACGCGCGCGTGGCCCGACGCGAGGCCCGGCCGGCCCGGGCCCGGGGCGAGATTG
GGGGCCTGTCGCTGTCGCCATCGCCCGAGCGCAGGAAACCGCCGCCACCTGACCCCGCCACCAAGCCTAAGGTGTC
CTGGATCCACGGCAAGCACAGCGCCGCTGCAGCTGGCCGTGCGCCCTCACCACCGCCGCCAGGCTCCGAGGCCGCG
CCCAGCCCCAGCAAGAGGAAACGGACGCCCAGCGACAAATCGGCGCATACGGTCGAACACGGCAGCCCCCGGACCC
GCGACCCAACGCCGCGCCCCCCGGGGCTGCCCGAGGAGGCGACAGCCCTCGCTGCGCCCTCGCCGCCCAGGGCCCG
AGCGCGCGCCGCGCCCCGGCCTCTTGGAGCCCACGGACGCCGGCGGTCCCCCGCGAAGCGCGCCGAGGCTGCCTCC
ATGTTGGCCGCTGACGTGCGCGGCAAGACTCGCAGCCTGGGCCGCGCCGAGGTGGCCCTGGGCGCGCAGGGCCCCA
GGGAAAAGCCGGCGCCCCCACAGAAAGCCAAGCGCTCCGTGCCGCCAGCCTCGCCCGCCCGCGCGCCCCCAGCGAC
CGAAACCCCGGGGCCTGAGAAGGCGGCGACCGACTTGCCCGCGCCTGAGACCCCCCGGAAGAAGACCCCCATCCAG
AAGCCGCCGCGCAAGAAGAGCCGGAGGCGGCGGGCGAGCTGGGCAGGGCGGGCGCACCCACCCTGTAG
```

。

【０１３８】

配列番号１６にコードされているＭＯＬ８ａタンパク質は、３２４アミノ酸残基を有しており、そして表８Ｂ（配列番号１８）中に１文字コードを用いて示されている。ＭＯＬ８ａについてのＳｉｇｎａｌＰ、Ｐｓｏｒｔおよび／または疎水性プロファイルは、ＭＯＬ８ａがシグナルペプチドを有しており、原形質膜に局在する傾向（０．６０００の確実性を有する）があることを予測している。ＳｉｇｎａｌＰは、アミノ酸４３とアミノ酸４４の間に切断部位を有するシグナル配列を示す。これは、この型の膜タンパク質に代表的である。従って、この新規なヒト原形質膜タンパク質は、適切な亜細胞局在において入手可能であり、従って本願において記載される治療用途に利用可能であるようである。

【０１３９】

【表３３】

表８Ｂ．コードされたＭＯＬ８ａタンパク質配列（配列番号１８）

```
MEGAGPRGAGPARRRGAGGPPSPLLPSLLLLLLLWMLPDTVAPQELNPRGRNVCRAPGSQVPTCCAGWRQQGDECG
IAVCEGNSTCSENEVCVRPGECRCRHGYFGANCDTSERGVGPVLVGGAESWRDGAGSKVGRGRIRLRGGSPEVAAG
VRDAGRFRLAGGTYSSTGAFHPLRSSPAECPRQFWGPDCKELCSCHPHGQCEDVTGQCTCHARRWGARCEHACQCQ
HGTCHPRSGACRCESGWWGAQCASACYCSATSRCDPQTGACLCHAGWWGRSCNNQCACNSSPCEQQSGRCQCRERT
FGARCDRYCQCFRGRCHFVDGTCAGEPGYRGKYCREPCPAGFYGLGCRRRCGQCKGQQPCTVAEGRCLTCEPGWNG
TKCDQPCATGFYGEGCSHRCPPCRDGHACNHVTGKCTRCNAGWIGDRCETKCSNGTYGEDCAFVCADCGSGHCDFQ
SGRCLCSPGVHGPHCNVTCPPGLHGADCAQACSCHEDTCDPVTGACHLETNQRKGVMGAGALLVLLVCLLLSLLGC
CCACRGKDPTRRELSLGRKKAPHRLCGRFSRISMKLPRIPLRRQKLPKVVVAHHDLDNTLNCSFLEPPSGLEQPSP
SWSSRASFSSFDTTDEGFVYCVPHEEAPAESRDPEVPTVPAEAPAPSPVPLTTPASAEEAIPLPASSDSERSASSV
EGPGGALYARVARREARPARARGEIGGLSLSPSPERRKPPPPDPATKPKVSWIHGKHSAAAAGRAPSPPPPGSEAA
PSPSKRKRTPSDKSAHTVEHGSPRTRDPTPRPPGLPEEATALAAPSPPRARARAAPRPLGAHGRRRSPAKRAEAAS
MLAADVRGKTRSLGRAEVALGAQGPREKPAPPQKAKRSVPPASPARAPPATETPGPEKAATDLPAPETPRKKTPIQ
KPPRKKSREAAGELGRAGAPTL
```

本発明のタンパク質の全アミノ酸配列は、マウスナース細胞レセプターアミノ酸配列（ＰａｔＰ登録番号Ｙ８５６１６）に対して７２９アミノ酸残基のうち５７６の同一性（７９

％）、そして７２９残基のうち５９６の類似性（８１％）を有することを見出した。本発明のタンパク質の全アミノ酸配列は、Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ（ヒト）（ＡＣＣ：Ｏ４３７０１）由来の８３０アミノ酸残基アセチルＬＤＬレセプター前駆体に対して７４１アミノ酸残基のうち２９６の同一性（３９％）、そして７４１残基のうち３８３の相同性（５１％）を有することを見出した。

【０１４０】

ＭＯＬ８ａは、以下の組織において発現される：胎児胸腺、乳腺、胎児胸腺、１０組織のプール（副腎、乳房、前立腺、精巣、子宮、骨髄＊、黒色腫＊、下垂体＊、甲状腺＊、脾臓）（＊は、総ＲＮＡではなくｍＲＮＡに由来する）。

【０１４１】

（ＭＯＬ８ｂ）

新規の核酸を、配列のインシリコ（ｉｎ　ｓｉｌｉｃｏ）推定によって、ｃＤＮＡフラグメントの実験室クローニングによって同定した。ＤＮＡ配列の全長、もしくは配列の一部、または両方のいずれかをカバーするｃＤＮＡフラグメントを、クローニングした。インシリコ推定は、Ｃｕｒａｇｅｎ独自配列データベースまたは公共のヒト配列データベースにおいて利用可能な配列に基づき、全長ＤＮＡ配列、またはそのいくつかの部分のいずれかが提供された。これらは、さらに、ＢＬＡＳＴ検索を使用する類似性の手段によってさらに改変された。次いで、配列を、明らかな不一致について手動で補正し、それにより、全長タンパク質をコードする配列を得た。開示された新規の２５９８ヌクレオチドのＭＯＬ８ｂ核酸（ＣＧ５０８８９－０２としてもまた称される）は、表８Ｃ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１～３のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド２５９６～２５９８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非翻訳領域は、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。

【０１４２】

【表３４】

表8D. MOL8b ヌクレオチド配列（配列番号19）

ATGGAGGGCGCAGGGCCCCGGGGGGCCGGGCCGGCGCGGCGCCGGGGAGCCGGGGGGCCGCCGTCACCGCTGCTGC
CGTCGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTCTGGATGCTGCCGGACACCGTGGCGCCTCAGGAACTGAACCCTCGCGGCCG
CAACGTGTGCCGTGCTCCCGGCTCCCAGGTGCCCACGTGCTGCGCTGGCTGGAGGCAGCAAGGGGACGAGTGTGGG
ATTGCGGTGTGCGAAGGCAACTCCACGTGCTCAGAGAACGAGGTGTGCGTGAGGCCTGGCGAGTGCCGCTGCCGCC
ACGGCTACTTCGGTGCCAACTGCGACACCAAGTGCCCGCGCCAGTTCTGGGGCCCCGACTGCAAGGAGCTGTGTAG
CTGCCACCCACACGGGCAGTGCGAGGACGTGACAGGCCAGTGTACTTGTCACGCGCGGCGCTGGGGCGCGCGCTGC
GAGCATGCGTGCCAGTGCCAGCACGGCACGTGCCACCCGCGGAGCGGCGCGTGCCGCTGTGAGCCCGGCTGGTGGG
GCGCGCAGTGCGCCAGCGCGTGCTACTGCAGCGCCACGTCGCGCTGCGACCCACAGACCGGCGCCTGCCTGTGCCA
CGCAGGCTGGTGGGGCCGCAGCTGCAACAACCAGTGCGCCTGCAACTCGTCTCCCTGCGAGCAGCAGAGCGGCCGC
TGTCAGTGCCGCGAGCGTACGTTCGGCGCGCGCTGCGATCGCTACTGCCAGTGCTTCCGCGGCCGCTGCCACCCTG
TGGACGGCACGTGTGCCTGCGAGCCGGGCTACCGCGGCAAGTACTGTCGCGAGCCGTGCCCCGCCGGCTTCTACGG
CTTGGGCTGTCGCCGCCGGTGTGGCCAGTGCAAGGGCCAGCAGCCGTGCACGGTGGCCGAGGGCCGCTGCTTGACG
TGCGAGCCCGGCTGGAACGGAACCAAGTGCGACCAGCCTTGCGCCACCGGTTTCTATGGCGAGGGCTGCAGCCACC
GCTGTCCGCCATGCCGCGACGGGCATGCCTGTAACCATGTCACCGGCAAGTGTACGCGCTGCAACGCGGGCTGGAT
CGGCGACCGGTGCGAGACCAAGTGTAGCAATGGCACTTACGGCGAGGACTGCGCCTTCGTGTGCGCCGACTGCGGC
AGCGGACACTGCGACTTCCAGTCGGGGCGCTGCCTGTGCAGCCCTGGCGTCCACGGGCCCCACTGTAACGTGACGT
GCCCGCCCGGACTCCACGGCGCGGACTGTGCTCAGGCCTGCAGCTGCCACGAGGACACGTGCGACCCGGTCACTGG
TGCCTGCCACCTAGAAACCAACCAGCGCAAGGGCGTGATGGGCGCGGGCGCGCTGCTCGTCCTGCTCGTCTGCCTG
CTGCTCTCGCTGCTCGGCTGCTGCTGCGCTTGCCGCGGCAAGGACCCTACGCGCCGGGAGCTTTCGCTTGGGAGGA
AGAAGGCGCCGCACCGACTATGCGGGCGCTTCAGTCGCATCAGCATGAAGCTGCCCCGGATCCCGCTCCGGAGGCA
GAAACTACCCAAAGTCGTAGTGGCCCACCACGACCTGGATAACACACTCAACTGCAGCTTCCTGGAGCCACCCTCA
GGGCTGGAGCAGCCCTCACCATCCTGGTCCTCTCGGGCCTCCTTCTCCTCGTTTGACACCACTGATGAAGGCCCTG
TGTACTGTGTACCCCATGAGGAGGCACCAGCGGAGAGCCGGGACCCCGAAGTCCCCACTGTCCCTGCCGAGGCGCC
GGCGCCGTCCCCTGTGCCCTTGACCACGCCAGCCTCCGCCGAGGAGGCGATACCCCTCCCCCGCGTCCTCCGACAGC
GAGCGGTCGGCGTCCAGCGTGGAGGGCCCGCAGGGGCTCTGTACGCGCGCGTGGCCCGACGCGAGGCCCGGCCGG
CCCGGGCCCGGGGCGAGATTGGGGGCCTGTCGCTGTCGCCATCGCCCGAGCGCAGGAAACCGCCGCCACCTGACCC
CGCCACCAAGCCTAAGGTGTCCTGGATCCACGGCAAGCACAGCGCCGCTGCAGCTGGCCGTGCGCCCTCACCACCG
CCGCCAGGCTCCGAGGCCGCGCCCAGCCCCAGCAAGAGGAAACGGACGCCCAGCGACAAATCGGCGCATACGGTCG
AACACGGCAGCCCCCGGACCCGCGACCCAACGCCGCGCCCCCCGGGGCTGCCCGAGGAGGCGACAGCCCTCGCTGC
GCCCTCGCCGCCCAGGGCCCGAGCGCGCGCCGCGCCCCGGCCTCTTGGAGCCCACGGACGCCGGCGGTCCCCCGCG
AAGCGCGCCGAGGCTGCCTCCATGTTGGCCGCTGACGTGCGCGGCAAGACTCGCAGCCTGGGCCGCGCCGAGGTGG
CCCTGGGCGCGCAGGGCCCCAGGGAAAAGCCGGCGCCCCCACAGAAAGCCAAGCGCTCCGTGCCGCCAGCCTCGCC
CGCCCGCGCGCCCCCAGCGACCGAAACCCCGGGGCCTGAGAAGGCGGCGACCGACTTGCCCGCGCCTGAGACCCCC
CGGAAGAAGACCCCCATCCAGAAGCCGCCGCGCAAGAAGAGCCGGGAGGCGGCGGGCGAGCTGGGCAGGGCGGGCG
CACCCACCCTGTAG

開示された核酸配列は、Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ由来のｇｂ：ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：Ｄ８６８６４｜ａｃｃ：Ｄ８６８６４．１　ｍＲＮＡ（アセチルＩＤＬレセプターについ

てのＨｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ　ｍＲＮＡ、完全ｃｄｓ）と２０４１塩基のうち１３１１塩基（６４％）同一である（期待値＝３．２ｅ－９８）。

【０１４３】

配列番号１７にコードされるＭＯＬ８ｂタンパク質は、８６５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２０）。ＭＯＬ８ａ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、ＭＯＬ８ａがシグナルペプチドを有すること、そして０．６０００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、アミノ酸４３と４４との間に、切断部位を有することを示す。これは、この型の膜タンパク質に代表的である。従って、この新規なヒト原形質膜タンパク質は、適切な亜細胞局在において入手可能であり、従って本願において記載される治療用途に利用可能であるようである。

【０１４４】

【表３５】

表８Ｅ、コードされたＭＯＬ８ｂタンパク質配列（配列番号２０）

```
MEGAGPRGAGPARRRGAGGPPSPLLPSLLLLLLLWMLPDTVAPQELNPRGRNVCRAPGSQVPTCCAGWRQQGDECG
IAVCEGNSTCSENEVCVRPGECRCRHGYFGANCDTKCPRQFWGPDCKELCSCHPHGQCEDVTGQCTCHARRWGARC
EHACQCQHGTCHPRSGACRCEPGWWGAQCASACYCSATSRCDPQTGACLCHAGWWGRSCNNQCACNSSPCEQQSGR
CQCRERTFGARCDRYCQCFRGRCHPVDGTCACEPGYRGKYCREPCPAGFYGLGCRRRCGQCKGQQPCTVAEGRCLT
CEPGWNGTKCDQPCATGFYGEGCSHRCPPCRDGHACNHVTGKCTRCNAGWIGDRCETKCSNGTYGEDCAFVCADCG
SGHCDFQSGRCLCSPGVHGPHCNVTCPPGLKGADCAQACSCHEDTCDPVTGACHLETNQRKGVMGAGALLVLLVCL
LLSLLGCCCACRGKDPTRRELSLGRKKAPHRLCGRFSRISMKLPRIPLRRQKLPKVVVAHHDLDNTLNCSFLEPPS
GLEQPSPSWSSRASFSSFDTTDEGFVYCVPNEEAPAESRDPEVPTVPAEAPAPSPVPLTTPASAEEAIPLPASSDS
ERSASSVEGPGGALYARVARREARPARARGEIGGLSLSPSPERRKPPPPD2PATKPKVSWIHGKHSAAAAGRAPSPP
PPGSEAAPSPSKRKRTPSDKSAHTVSKGSPRTRDPTPRPPGLPEEATALAAPSPPRARARAAPRPLGAHGRRRSPA
KRAEAASMLAADVRGKTRSLGRAEVALGAQGPREKPAPPQKAKRSVPPASPARAPPATETPGPEKAATDLPAPETP
RKKTPIQKPPRKKSREAAGELGRAGAPTL
```

本発明のタンパク質の全長アミノ酸配列は、Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ（ヒト）（アセチルＩＤＬレセプター前駆体）由来の８３０アミノ酸残基ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｏ４３７０１タンパク質に対して、８２３アミノ酸残基のうち３４０（４１％）同一であり、そして８２３アミノ酸残基のうち４４３残基（５３％）類似であることが見出された（期待値＝９．０ｅ－１６４）。

【０１４５】

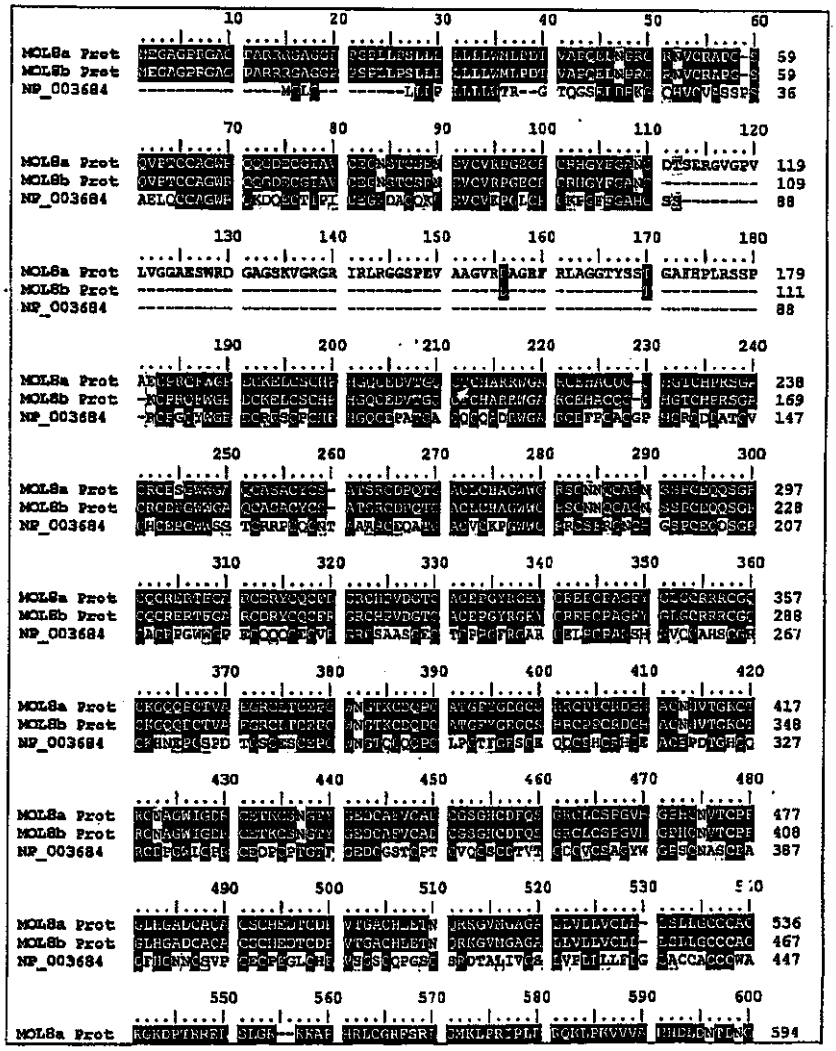
ＭＯＬ８ａ、８ｂとヒトアセチルＬＤＬレセプターの間の相同性は、ＭＯＬ８を、関連するタンパク質配列と比較するＣｌｕｓｔａｌＷ解析として表８Ｆ（第１行目にＭＯＬ８ａが示され、第２行目にＭＯＬ８ｂが示されている）で与えられたマルチプル配列アライメントで図式的に表現される。

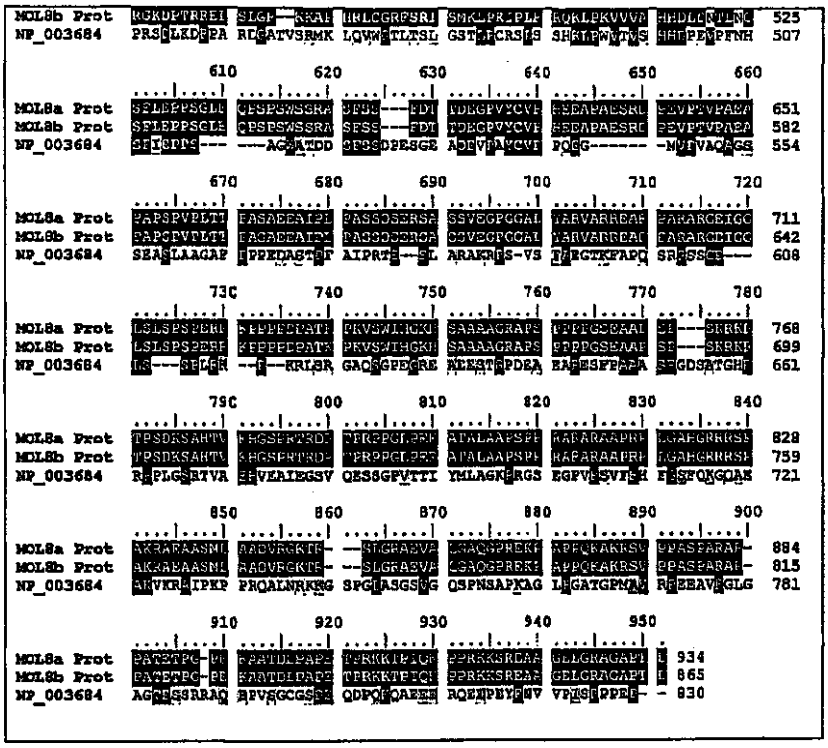
【０１４６】

【表３６】

表8 F. ClustalW タンパク質についての情報

1) MOL8a (配列番号18)
2) MOL8b (配列番号20)
3) gi|4507203|ref|NP_003684.1| acetyl LDL receptor; SREC=scavenger receptor expressed by endothelial cells [Homo sapiens] (配列番号57)





（染色体情報）
ＭＯＬ８は、染色体２２ｑ１１にマッピングされる。この割り当てを、ゲノムクローンに関連したマッピング情報、開示された配列と配列同一性を共有する公共の遺伝子およびＥＳＴ、ならびにＣｕｒａＧｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ電気的ノーザン生命情報科学ツールを使用して行なった。

【０１４７】

（組織発現）
ＭＯＬ８は、少なくとも以下の組織において発現される：腎臓、老化線維芽細胞、リンパ球、Ｂ細胞、および生殖系列細胞腫瘍。発現情報は、ＣｕｒａＧｅｎ登録番号ＣＧ５０８８９－０２の配列の誘導において含まれる配列の組織供給源から得た。

【０１４８】

ＭＯＬ８は、以下の参考文献（これに限定されない）に記載されるように、ヒトＬＤＬレセプター様タンパク質に対して有意な相同性を示す。高コレステロール血症は、低密度のリポタンパク質（ＬＤＬ）に結合される血清コレステロールの上昇に特徴付けられる常染色体優性の障害である。第１９染色体上のＬＤＬレセプター（ＬＤＬＲ）遺伝子における変異は、この障害を引き起こす。家族性高コレステロール血症は、低密度リポタンパク質（ＬＤＬ）に結合された血清コレステロールの上昇によって特徴付けられ、従って、高コレステロール血症ＩＩ表現型を生成する状態の１つである（ＯＭＩＭ１４４４００を参照のこと）。ヘテロ接合体は、腱黄色性、角膜環（ｃｏｒｎｅａｌ　ａｒｃｕｓ）、および冠動脈疾患を発症する；最後は、通常、４０年または５０年後に明らかとなる。ホモ接合体は、平面黄色腫（これは、最初の２本の指の間の水かきにおいて誕生時に明らかであり得る）に加えて、加速した速度で、これらの特徴を発症する。

【０１４９】

Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）（慢性肝炎の主なウイルス原因である）は、細胞培養系において容易に複製されず、このことによりウイルスの細胞レセプターに関する情報を確かめるのを困難である。しかし、混合クリオグロビン血症におけるＨＣＶの役割に関する研究由来のいくつかの観察は、ＨＣＶの細胞への侵入のいくつかの洞察を提供する。証拠は、ＨＣＶおよび他のウイルスのエンドサイトーシスがＬＤＬレセプターの活性と相関することを示すことによって、抗ＬＤＬレセプター抗体による検出可能なエンドサイトーシスの

完全な阻害によって、抗アポリポタンパク質Ｅおよび抗アポリポタンパク質Ｂ抗体を用いて阻害することによって、リポタンパク質／ＬＤＬレセプター相互作用を妨げる化学的方法によって、およびエンドサイトーシスインヒビターフェニルアラシン酸化物での阻害によって、これらのウイルスが、ＬＤＬレセプターの媒介を介して細胞に侵入することを示した。Ａｇｎｅｌｌｏら（１９９９）は、これらのウイルスの１つ（ウシウイルス性下痢症ウイルス（ＢＶＤＶ））の感染に耐性であることが公知の細胞に関する検出可能なＬＤＬレセプターが欠如していることによる確証的な証拠を提供した。ＬＤＬレセプターを介するエンドサイトーシスは、ウイルスを、高密度のリポタンパク質（ＨＤＬ）ではなく、非常に低密度のリポタンパク質（ＶＬＤＬ）またはＬＤＬに複合体化することによって媒介されることが示された。ＬＤＬレセプター欠損細胞または細胞溶解性ＢＶＤＶ系を使用する研究は、ＬＤＬレセプターが、これらのウイルスの細胞侵入の主要であるが排他的でない方法であり得ることを示した。

【０１５０】

（組成物の治療用途）

ヒトＬＤＬレセプター様タンパク質として機能し得るＭＯＬ８についての発現パターン、およびタンパク質類似性情報。従って、本発明の核酸およびタンパク質は、代謝障害（例えば、高コレステロール血症、ウイルス性疾患、および他の疾患および障害）に関係するがこれらに限定されない、潜在的な診断用途において有用である。抗原性分泌タンパク質および抗原性膜タンパク質に対する相同性は、新規の遺伝子に対する抗体が、代謝障害（例えば、高コレステロール血症、ウイルス性疾患、および他の疾患および障害）の処置および予防において有用であり得ることを示唆する。

【０１５１】

本発明のための潜在的治療用途は、以下であるがこれらに限定されない：（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）診断および／または予後マーカー、（ｖ）遺伝子治療（遺伝子送達／遺伝子切除）、（ｖｉ）研究ツール、および（ｖｉｉ）インビトロおよびインビボでの組織再生（これらの組織に由来する組織および細胞型を構成する全てのこれらの組織および細胞型の再生）。

【０１５２】

本発明の核酸およびタンパク質は、これらの代謝障害（例えば、高コレステロール血症、ウイルス性疾患、および他の疾患および障害）を含む種々の癌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、これに限定されないが、新規なヒト原形質膜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、そしてこの新規のヒト原形質膜タンパク質は、それを必要な被験体に投与される場合に有用でありえる。非制限的な例として、本発明の組成物は、例えば、代謝障害（例えば、高コレステロール血症、ウイルス性疾患、および他の疾患および障害）の障害を含む種々の癌（これらに限定されない）に罹患する患者の処置のために効力を有する。本発明の新規のヒト原形質膜タンパク質をコードする新規の核酸、および新規のヒト原形質膜タンパク質またはそれらのフラグメントはさらに、診断適用において有用であり得、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。これらの物質はさらに、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産生において有用である。

【０１５３】

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新規なＭＯＬ８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。これらの抗体は、以下の「抗ＭＯＬＸ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し得る。例えば、開示されるＭＯＬ８タンパク質は、複数の親水性領域を有し、これらの領域の各々は、免疫原として用いられる。１つの実施形態において、意図されるＭＯＬ８エピトープは、約１～１０アミノ酸である。別の実施形態において、ＭＯＬ８エピトープは、約５０～２００アミノ酸である。さらなる実施形態において、ＭＯＬ８エピトープは、２１０～４００、４７５～６００、また

は６２５～８５０アミノ酸を含む。これらの新規のタンパク質はまた、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。

【０１５４】

（ＭＯＬ９）

（ＭＯＬ９ａ）

神経溶解素様タンパク質をコードする新規な核酸が、ＴｂｌａｓｔＮによって、ＭＯＬ９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２３５５ヌクレオチドの新規ＭＯＬ９ａ核酸（１９５０６７１９＿Ｂ＿ＥＸＹともまた称される）を、表９Ａに示す。オープンリーディングフレームは、ヌクレオチド１～３のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド１９１５～１９１７のＴＧＡ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非翻訳領域は、表９Ａ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。

【０１５５】

この核酸配列は、ブタ神経溶解素様ｍＲＮＡ（ＧＥＮＥＢＡＮＫ－ＩＤ：ＡＢ０００１７０）と１４２８塩基のうち１３０７（９１％）同一である（期待値＝０．０）。

【０１５６】

【表３７】

表９Ａ．ＭＯＬ９ａ　ヌクレオチド配列（配列番号２１）

```
ATGTTGACTTTGGACCAACAGAAATCCCTAATTCTTATTCTTTTTCTGATTCTTTTTAGAGTTGGTGGTTC
CAGGATTTTACTCAGAATGACGTTAGGAAGAGAAGTGATGTCTCCTCTTCAGGCAATGTCTTCCTATACTG
TGGCTGGCAGAAATGTTTTAAGATGGGATCTTTCACCAGAGCAAATTAAAACAAGAACTGAGGAGCTCATT
GTGCAGACCAAACAGGTGTACGATGCTGTTGGAATGCTCGGTATTGAGGAAGTAACTTACGAGAACTGTCT
GCAGGCACTGGCAGTGGAAAGGACCATGCTAGACTTTCCCCAGCATGTATCCTCTGACAAAGAAGTACGAG
CAGCAAGTACAGAAGCAGACAAAAGACTTTCTCGTTTTGATATTGAGATGAGCATGAGAGGAGATATATTT
GAGAGAATTGTTCATTTACAGCAGGAAACCTGTGATCTGGGGAAGACAAAACCTGAGGCCAGACGATACTT
GGAAAAGTCAATTAAAATGGGGAAAAGAAATGGGCTCCATCTTCCTGAACAAGTACAGAATGAAATCAAAT
CAATGAAGAAAAGAATGAGTGAGCTATGTATTGATTTTAACAAAAACCTCAATGAGGATGATACCTTCCTT
GTATTTTCCAAGGCTGAACTTGGTGCTCTTCCTGATGATTTCATTGACAGTTTAGAAAAGACAGATGATGA
CAAGTATAAAATTACCTTAAAATATCCACACTATTTCCCTGTCATGAAGAAATGTTGTATCCCTGAAACCA
GAAGAAGGATGGAAATGGCTTTTAATACAAGGTGCAAAGAGGAAAACACCATAATTTTGCAGCAGCTACTC
CCACTGCGAACCAAGGTGGCCAAACTACTCGGTTATAGCACACATGCTGACTTCGTCCTTGAAATGAACAC
TGCAAAGAGCACAAGCCGCGTAACAGCCTTTCTAGATGATTTAAGCCAGAAGTTAAAACCCTTGGGTGAAG
CAGAACGAGAGTTTATTTTGAATTTGAAGAAAAAGGAATGCAAAGACAGGGGTTTTGAATATGATGGGAAA
ATCAATGCCTGGGATCTATATTACTACATGACTCAGACAGAGGAACTCAAGTATTCCATAGACCAAGAGTT
CCTCAAGGAATACTTCCCAATTGAGGTGGTCACTGAAGGCTTGCTGAACACCTACCAGGAGTTGTTGGGAC
TTTCATTTGAACAAATGACAGATGCTCATGTTTGGAACAAGAGTGTCACACTTTATACTGTGAAGGATAAA
GCTACAGGAGAAGTATTGGGACAGTTCTATTTGGACCTCTATCCAAGGCCTAGGGAAGGAAAATACAATCA
TGCGGCCTGCTTCGGTCTCCAGCCTGGCTGCCTTCTGCCTGATGGAAGCCGGATGATGGCAGTGGCTGCCC
TCGTGGTGAACTTCTCACAGCCAGTGGCAGGTCGTCCCTCTCTCCTGAGACACGACGAGGTGAGGACTTAC
TTTCATGAGTTTGGTCACGTGATGCATCAGATTTGTGCACAGACTGATTTTGCACGATTTAGCGGAACAAA
TGTGGAAACTGACTTTGTAGAGGTGCCATCGCAAATGCTTGAAAATTGGGTGTGGGACGTCGATTCCCTCC
GAAGATTGTCAAAACATTATAAGATGGAAGCCCTATTGCAGACGACCTGCTTGAAAAACTTGTTGCTTCT
AGGCTGGTCAACACAGGTATGGGTTATGTTATTAGTAATATATATTCTCTAGATATGTTTTCATTTCAGTG
CATCCAAGTTGGAATGAAATACAGAAACCTAATCCTGAAACCTGGGGGATCTCTGGACGGCATGGACATGC
TCCACAATTTCTTGAAACGTGAGCCAAACCAAAAAGCGTTCCTAATGAGTAGAGGCCTGCATGCTCCGTGA
ACTGGGGATCTTTGGTAGCCGTCCATGTCTGGAGGACAAGTCGACATCACCATGTGTTACTGGCCTGGAAA
CTGAAGGGAGTTTTGCAAGTGAAAATTTAGATTTCTATTGACATCCTTTTGTTTTCTAATTTTAAAAATTA
TAAAGATGTAAATGGAATTATAAATACTGTGACCTAAGAAAAGACCCACTAGAAAGTAATTGTACTATAAA
ATTTCATAAAACTGGATTTGATTTCTTTTTATGAAAGTTTCATATGAATGTAACTTGATTTTTTACTATTA
TAATCTAGATAATATGATATAAGAGGGCTAAGAATTTTTAAATTGAATCATATATATGATATAATTTGATC
CTTCTTGTATCTTGAAGTTTTGTACTTGGGATTTCTGGACTGATAAATGAATCATCACATTCTTCTGGTAA
ATATTTTCTTGG
```

配列番号２１にコードされるＭＯＬ９ａタンパク質は、６３８アミノ酸残基を有し、そして表９Ｂにおいて１文字コードを用いて示される（配列番号２２）。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、この配列が２３位と２４位との間に切断部位を有するシグナルペプチドを有すること、そして小胞体および原形質膜に局在するらしいことが示される（確実性＝０．８２００）。

【０１５７】

【表３８】

表９Ｂ．コードされたＭＯＬ９ａタンパク質配列（配列番号２２）

```
MLTLDQQKSLILILFLILFRVGGSRILLRMTLGREVMSPLQAMSSYTVAGRNVLRWDLSPEQIKTRTEELI
VQTKQVYDAVGMLGIEEVTYENCLQALAVERTMLDFPQHVSSDKSVRAASTEADKRLSRFDIEMSMRGDIF
ERIVHLQQETCDLGKIKPEARRYLEKSIKMGKRNGLHLPEQVQNEIKSMKKRMSELCIDFNKNLNEDDTFL
VFSKAELGALPDDFIDSLEKTDDDKYKITLKYPHYFPVMKKCCIPETRRRMEMAFNTRCKEENTIILQQLL
PLRTKVAKLLGYSTHADFVLEMNTAKSTSRVTAFLDDLSQKLKPLGEAEREFILNLKKKECKDRGFEYDGK
INAWDLYYYMTQTEELKYSIDQEFLKEYFPIEVVTEGLLNTYQELLGLSFEQMTDAHVWNKSVTLYTVKDK
ATGEVLGQFYLDLYPRPREGKYNHAACFGLQPGCLLPDGSRMMAVAALVVNFSQPVAGRPSLLRHDEVRTY
FHEFGHVMHQICAQTDFARFSGTNVETDFVEVPSQMLENWVWDVDSLRRLSKHYKDGSPIADDLLEKLVAS
RLVNTGMGYVISNIYFLDMFSFQCIQVGMKYRNLILKPGGSLDGMDMLHNFLKREPNQKAFLMSRGLHAP
```

本発明のタンパク質の全長アミノ酸配列は、ウサギエンドペプチダーゼ（ＰａｔＰ登録番号Ｒ２６１１４）に対して、５６４アミノ酸残基のうち４８３（８５％）同一であり、そして５６４残基のうち５０８残基（９０％）類似であり、そしてブタ（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｑ０２０３８）由来の７０４アミノ酸残基の神経溶解素タンパク質に対して、６３２アミノ酸残基のうち５７１（９０％）同一であり、そして６３２残基のうち５９２残基（９３．６％）類似であることが見出された（期待値＝１．１ｅ－^{302}）。

【０１５８】

ＭＯＬ９ａはまた、表９ＣのＢＬＡＳＴ整列において示されるタンパク質に対して相同性を有する。

【０１５９】

【表３９】

表９Ｃ．ＭＯＬ９ａについてのＢＬＡＳＴＸ結果

Sequences producing High-scoring Segment Pairs:	High Score	Smallest Sum Prob P(N)	N
ptnr:SWISSNEW-ACC:Q02038 NEUROLYSIN PRECURSOR (EC 3.4.24....	2685	1.1e-302	2
ptnr:SWISSPROT-ACC:P42675 NEUROLYSIN PRECURSOR (EC 3.4.24...	2697	2.2e-302	2
ptnr:SPTREMBL-ACC:P79433 ENDOPEPTIDASE 24.16 (EC 3.4.-.-)...	2677	7.6e-302	2
ptnr:SWISSPROT-ACC:P42676 NEUROLYSIN PRECURSOR (EC 3.4.24...	2601	4.7e-291	2
ptnr:SWISSPROT-ACC:P47788 THIMET OLIGOPEPTIDASE (EC 3.4.2...	1792	8.4e-197	2

（染色体情報）

ＭＯＬ９ａは、マーカーＤ５Ｓ４２７～Ｄ５Ｓ６４７（６９．６～７４．７ｃＭ）の間の第５染色体にマッピングされるＵｎｉｇｅｎｅ　ｅｎｔｒｙ　ＨＳ．２２１５１にマッピングされる。

【０１６０】

（組織発現）

ＭＯＬ９ａは、少なくとも以下の組織において発現される：胎児肺、精巣、Ｂ細胞、大動脈、脳、結腸、包皮、生殖系列細胞、心臓、腎臓、膵臓、胃、子宮、胚全体ならびに癌細胞株ＭＤＡ－ＭＢ－２３１およびＭＣＦ－７。

【０１６１】

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新規なＭＯＬ９ａ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。これらの抗体は、以下の「抗ＭＯＬＸ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ＭＯＬ９ａタンパク質は、複数の親水性領域を有し、これらの領域の各々は、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ＭＯＬ９ａエピトープは、約５０～７５アミノ酸である。別の実施形態において、ＭＯＬ９ａエピトープは、約１００～１５０アミノ酸で見出される。さらなる実施形態において、ＭＯＬ９ａエピトープは、１７５～２００、２２５～３００、３２５～３７５、４２５～４５０、５００～５５０、および６００～６２５アミノ酸である。これらの新規のタンパク質はまた、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。

【０１６２】
（ＭＯＬ９ｂ）
クローニングされたオープンリーディングフレームは、ブタ神経溶解素前駆体（ＳＷＩＳＳＰＲＯＴ－ＡＣＣ：Ｑ０２０３８）の成熟形態に対して、全体で９５％のアミノ酸同一性を有する６８７アミノ酸長タンパク質をコードする。オリゴヌクレオチドプライマーを、１９５０６７１９＿Ｂ＿ＥＸＴの成熟形態をコードするＤＮＡセグメント（ＯＲＦを示す）をＰＣＲ増幅するために設計した。正方向プライマーは、インフレームで、ＢａｍＨＩ制限部位を含む。逆方向プライマーは、インフレームで、ＸｈｏＩ制限部位を含む。ＰＣＲプライマーの配列は、以下のようである：
１９５０６７１９＿Ｂ－ＥＸＴ　Ｍａｔ－Ｆｏｒｗ：
ＧＧＡＴＣＣＴＣＣＡＧＧＡＴＴＴＡＣＴＣＡＧＡＡＴＧＡＣＧＴＴＡＧＧ（配列番号５８）
１９５０６７１９　Ｂ－ＥＸＴ　ＦＬ－Ｒｅｖ：
ＣＴＣＧＡＧＣＧＧＡＧＣＡＴＧＣＡＧＧＣＣＴＣＴＡＣＴＣＡＴＴＡＧＧＡＡＣＧ（配列番号５９）
ＰＣＲ反応を、５０マイクロリットル溶量中に、ヒト胎児脳、精巣、骨格筋および乳房に由来する当量のｃＤＮＡからなる総量５ｎｇのｃＤＮＡ、テンプレート、１μＭの１９５０６７１９＿Ｂ－ＥＸＴ　Ｍａｔ－Ｆｏｒｗプライマーおよび１９５０６７１９＿Ｂ－ＥＸＴ　ＦＬ－Ｒｅｖプライマー、５マイクロモルのｄＮＴＰ（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｐａｌｏ　Ａｌｔｏ　ＣＡ）および１マイクロリットルの５０×Ａｄｖａｎｔａｇｅ－ＨＦ　２ポリメラーゼ（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｐａｌｏ　Ａｌｔｏ　ＣＡ）を使用して設定した。以下の反応を使用した：
（ａ）　９６℃　３分間
（ｂ）　９６℃　３０秒間、変性
（ｃ）　６０℃　３０秒間、アニーリング
（ｄ）　７２℃　３分間、伸長
工程（ｂ）～（ｄ）を全３５回繰り返す
（ｅ）　７２℃　１０分間、最終伸長。
【０１６３】
単一の２．１ｋｂ大きなＰＣＲ産物を、アガロースゲルから単離し、そしてｐＣＲ２．１クローニングベクター（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ　ＣＡ）に連結した。クローニングした挿入物のＤＮＡ配列を、ベクター特異的Ｍ１３正方向（－４０）およびＭ１３逆方向プライマーならびに以下の遺伝子特異的プライマーを使用して決定した：
ＧＧＡＣＣＡＴＧＣＴＡＧＡＣＴＴＴＣＣ，１９５０６７１９＿Ｂ－ＥＸＴ　Ｓ１；（配列番号６０）
ＧＧＡＡＡＧＴＣＴＡＧＣＡＴＧＧＴＣＣ，１９５０６７１９＿Ｂ－ＥＸＴ　Ｓ２；（配列番号６１）
ＧＧＣＴＧＡＡＣＴＴＧＧＴＧＣＴＣＴＴＣＣ，１９５０６７１９＿Ｂ－ＥＸＴ　Ｓ３；（配列番号６２）
ＧＧＡＡＧＡＧＣＡＣＣＡＡＧＴＴＣＡＧＣＣ，１９５０６７１９＿Ｂ－ＥＸＴ　Ｓ４；（配列番号６３）
ＧＧＣＴＴＧＣＴＧＡＡＣＡＣＣＴＡＣＣ，１９５０６７１９　Ｂ－ＥＸＴ　Ｓ７；（配列番号６４）
ＧＧＴＡＧＧＴＧＴＴＣＡＧＣＡＡＧＣＣ，１９５０６７１９　Ｂ－ＥＸＴ　Ｓ８；（配列番号６５）
ＧＣＡＣＡＧＡＣＴＧＡＴＴＴＴＧＣＡＣＧ，１９５０６７１９　Ｂ－ＥＸＴ　Ｓ９；（配列番号６６）および
ＣＧＴＧＣＡＡＡＡＴＣＡＧＴＣＴＧＴＧＣ，１９５０６７１９　Ｂ－ＥＸＴ　Ｓ１０；（配列番号６７）。
【０１６４】

２０６１ヌクレオチドの開示される新規のＭＯＬ９ｂ核酸（ＭＯＬ９ｂとしてもまた称される）は、表９Ｄに示される。ＭＯＬ９ｂは、オープンリーディングフレームの内部フラグメントであると考えられている。従って、５’および３’末端は拡大し得る。

【０１６５】

【表４０】

表９Ｄ．ＭＯＬ９ｂヌクレオチド配列（配列番号２３）

```
TCCAGGATTTTACTCAGAATGACGTTAGGAAGAGAAGTGATGTCTCCTCTTCAGGCAATGTCTTCCTATAC
TGTGGCTGGCAGAAATGTTTTAAGATGGGATCTTTCACCAGAGCAAATTAAAACAAGAACTGAGGAGCTCA
TTGTGCAGACCAAACAGGTGTACGATGCTGTTGGAATGCTCGGTATTGAGGAAGTAACTTACGAGAACTGT
CTGCAGGCACTGGCAGATGTAGAAGTAAAGTATATAGTGGAAAGGACCATGCTAGACTTTCCCCAGCATGT
ATCCTCTGACAAAGAAGTACGAGCAGCAAGTACAGAAGCAGACAAAAGACTTTCTCGTTTTGATATTGAGA
TGAGCATGAGAGGAGATATATTTGAGAGAATTGTTCATTTACAGGAAACCTGTGATCTGGGGAAGATAAAA
CCTGAGGCCAGACGATACTTGGAAAAGTCAATTAAAATGGGGAAAAGAAATGGGCTCCATCTTCCTGAACA
AGTACAGAATGAAATCAAATCAATGAAGAAAAGAATGAGTGAGCTATGTATTGATTTTAACAAAAACCTCA
ATGAGGATGATACCTTCCTTGTATTTTCCAAGGCTGAACTTGGTGCTCTTCCTGATGATTTCATTGACAGT
TTAGAAAAGACAGATGATGACAAGTATAAAATTACCTTAAAATATCCACACTATTTCCCTGTCATGAAGAA
ATGTTGTATCCCTGAAACCAGAAGAAGGATGGAAATGGCTTTTAATACAAGGTGCAAAGAGGAAAACACCA
TAATTTTGCAGCAGCTACTCCCACTGCGAACCAAGGTGGCCAAACTACTCGGTTATAGCACACATGCTGAC
TTCGTCCTTGAAATGAACACTGCAAAGAGCACAAGCCGCGTAACAGCCTTTCTAGATGATTTAAGCCAGAA
GTTAAAACCCTTGGGTGAAGCAGAACGAGAGTTTATTTTGAATTTGAAGAAAAAGGAATGCAAAGACAGGG
GTTTTGAATATGATGGGAAAATCAATGCCTGGGATCTATATTACTACATGACTCAGACAGAGGAACTCAAG
TATTCCATAGACCAAGAGTTCCTCAAGGAATACTTCCCAATTGAGGTGGTCACTGAAGGCTTGCTGAACAC
CTACCAGGAGTTGTTGGGACTTTCATTTGAACAAATGACAGATGCTCATGTTTGGAACAAGAGTGTTACAC
TTTATACTGTGAAGGATAAAGCTACAGGAGAAGTATTGGGACAGTTCTATTTGGACCTCTATCCAAGGGAA
GGAAAATACAATCATGCGGCCTGCTTCGGTCTCCAGCCTGGCTGCCTTCTGCCTGATGGAAGCCGGATGAT
GGCAGTGGCTGCCCTCGTGGTGAACTTCTCACAGCCAGTGGCAGGTCGTCCCTCTCTCCTGAGACACGACG
AGGTGAGGACTTACTTTCATGAGTTTGGTCACGTGATGCATCAGATTTGTGCACAGACTGATTTTGCACGA
TTTAGCGGAACAAATGTGGAAACTGACTTTGTAGAGGTGCCATCGCAAATGCTTGAAAATTGGGTGTGGGA
CGTCGATTCCCTCCGAAGATTGTCAAAACATTATAAAGATGGAAGCCCTATTGCAGACGATCTGCTTGAAA
AACTTGTTGCTTCTAGGCTGGTCAACACAGGTCTTCTGACCCTGCGCCAGATTGTTTTGAGCAAAGTTGAT
CAGTCTCTTCATACCAACACATCGCTGGATGCTGCAAGTGAATATGCCAAATACTGCTCAGAAATATTAGG
AGTTGCAGCTACTCCAGGCACAAATATGCCAGCTACCTTTGGACATTTGGCAGGGGGATACGATGGCCAAT
ATTATGGATATCTTTGGAGTGAAGTATTTTCCATGGATATGTTTTACAGCTGTTTTAAAAAAGAAGGGATA
ATGAATCCGGAGGTTGGAATGAAATACAGAAACCTAATCCTGAAACCTGGGGGATCTCTGGACGGCATGGA
CATGCTCCACAATTTCTTGAAACGTGAGCCAAACCAAAAAGCGTTCCTAATGAGTAGAGGCCTGCATGCTC
CG
```

配列番号２１によってコードされるＭＯＬ９ｂタンパク質は、６８７アミノ酸残基を有し、そして表９Ｅにおいて１文字コードを使用して表される（配列番号２４）。

【０１６６】

【表４１】

表９Ｅ．コードされたＭＯＬ９ｂタンパク質配列（配列番号２４）

```
SRILLRMTLGREVMSPLQAMSSYTVAGRNVLRWDLSPEQIKTRTEELIVQTKQVYDAVGMLGIEEVTYENC
LQALADVEVKYIVERTMLDFPQHVSSDKEVRAASTEADKRLSRFDIEMSMRGDIFERIVHLQETCDLGKIK
PEARRYLEKSIKMGKRNGLHLPEQVQNEIKSMKKRMSELCIDFNKNLNEDDTFLVFSKAELGALPDDFIDS
LEKTDDDKYKITLKYPHYFPVMKKCCIPETRRRMEMAFNTRCKEENTIILQQLLPLRTKVAKLLGYSTHAD
FVLEMNTAKSTSRVTAFLDDLSQKLKPLGEAEREFILNLKKKECKDRGFEYDGKINAWDLYYYMTQTEELK
YSIDQEFLKEYFPIEVVTEGLLNTYQELLGLSFEQMTDAHVWNKSVTLYTVKDKATGEVLGQFYLDLYPRE
GKYNHAACFGLQPGCLLPDGSRMMAVAALVVNFSQPVAGRPSLLRHDEVRTYFHEFGHVMHQICAQTDFAR
FSGTNVETDFVEVPSQMLENWVWDVDSLRRLSKHYKDGSPIADDLLEKLVASRLVNTGLLTLRQIVLSKVD
QSLHTNTSKDAASEYAKYCSEILGVAATPGTNMPATFGHLAGGYDGQYYGYLWSEVFSMDMFYSCFKKEGI
MNPEVGMKYRNLILKPGGSLDGMDMLHNFLKREPNQKAFLMSRGLHAP
```

（ＭＯＬ９ｃ）

本発明において、以前に同定された標的配列（登録番号１９５０６７１９　Ｂ　ＥＸＴ）を、配列を確認するためにエクソン連結プロセスに供した。ＰＣＲプライマーを、正方向プライマーについて利用可能な最も上流の配列において開始し、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において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。このようなプライマーを、全長ｃＤＮＡ、ＤＮＡの部分（１つ以上のエキソン）もしくは標的配列のタンパク質配列のインシリコ推定に基づいてか、または他の種由来の密接に関連したヒト配

列に対する推定エキソンの翻訳された相同性によって、設計された。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－全体、胎児脳、胎児腎臓、胎児肝臓、胎児肺、心臓、腎臓、リンパ腫－Ｒａｊｉ、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。得られたアンプリコンは通常、ゲル精製し、クローニングし、そして高い重複性に対して配列決定する。全てのクローン由来の得られた配列を、それら自身、ＣｕｒａＧｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎのデータベース中の他のフラグメント、および公共のＥＳＴとアセンブルした。フラグメントおよびＥＳＴを、アセンブリの別の成分とのそれらの同一性の程度が５０ｂｐに対して少なくとも９５％以上である場合には、アセンブリについて成分として含んだ。さらに、配列トレースを、適切な場合、手動で評価しそして補正を編集した。これらの手順は、以下に報告された配列を提供し、これは、登録番号ＣＧ５６２２２－０１として命名される。

【０１６７】

開示された新規の２１６７ヌクレオチドのＭＯＬ９ｃ核酸（ＣＧ５６２２２－０１としてもまた称される）は、表９Ｆ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１６～１８のＡＴＧ開始コドンで開始し、そしてヌクレオチド２１２８～２１３０のＴＧＡ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非翻訳領域は、表９Ｆ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。

【０１６８】

配列データベースの検索において、例えば、この核酸配列は、Ｓｕｓ　ｓｃｒｏｆａ由来のｇｂ：ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＡＢ０００１７０｜ａｃｃ：ＡＢ０００１７０．１　ｍＲＮＡ（エンドペプチダーゼ２４．１６についてのブタｍＲＮＡ、完全ｃｄｓ）と２１６７塩基のうち２０００塩基（９２％）同一である（期待値＝０．０）。

【０１６９】

【表４２】

表９Ｆ、ＭＯＬ９ｃヌクレオチド配列（配列番号25）

```
CCTCTCAGCGCTCCCATGATCGCCCGGTGCCTTTTGGCTGTGCGAAGCCTCCGCAGAGTTGGTGGTTCCAG
GATTTTACTCAGAATGACGTTAGGAAGAGAAGTGATGTCTCCTCTTCAGGCAATGTCTTCCTATACTGTGG
CTGGCAGAAATGTTTTAAGATGGGATCTTTCACCAGAGCAAATTAAAACAAGAACTGAGGAGCTCATTGTG
CAGACCAAACAGGTGTACGATGCTGTTGGAATGCTCGGTATTGAGGAAGTAACTTACGAGAACTGTCTGCA
GGCACTGGCAGATGTAGAAGTAAAGTATATAGTGGAAAGGACCATGCTAGACTTTCCCCAGCATGTATCCT
CTGACAAAGAAGTACGAGCAGCAAGTACAGAAGCAGACAAAAGACTTTCTCGTTTTGATATTGAGATGAGC
ATGAGAGGAGATATATTTGAGAGAATTGTTCATTTACAGGAAACCTGTGATCTGGGGAAGATAAAACCTGA
GGCCAGACGATACTTGGAAAAGTCAATTAAAATGGGGAAAAGAAATGGGCTCCATCTTCCTGAACAAGTAC
AGAATGAAATCAAATCAATGAAGAAAAGAATGAGTGAGCTATGTATTGATTTTAACAAAAACCTCAATGAG
GATGATACCTTCCTTGTATTTTCCAAGGCTGAACTTGGTGCTCTTCCTGATGATTTCATTGACAGTTTAGA
AAAGACAGATGATGACAAGTATAAAATTACCTTAAAATATCCACACTATTTCCCTGTCATGAAGAAATGTT
GTATCCCTGAAACCAGAAGAAGGATGGAAATGGCTTTTAATACAAGGTGCAAAGAGGAAAACACCATAATT
TTGCAGCAGCTACTCCCACTGCGAACCAAGGTGGCCAAACTACTCGGTTATAGCACACATGCTGACTTCGT
CCTTGAAATGAACACTGCAAAGAGCACAAGCCGCGTAACAGCCTTTCTAGATGATTTAAGCCAGAAGTTAA
AACCCTTGGGTGAAGCAGAACGAGAGTTTATTTTGAATTTGAAGAAAAAGGAATGCAAAGACAGGGGTTTT
GAATATGATGGGAAAATCAATGCCTGGGATCTATATTACTACATGACTCAGACAGAGGAACTCAAGTATTC
CATAGACCAAGAGTTCCTCAAGGAATACTTCCCAATTGAGGTGGTCACTGAAGGCTTGCTGAACACCTACC
AGGAGTTGTTGGGACTTTCATTTGAACAAATGACAGATGCTCATGTTTGGAACAAGAGTGTTACACTTTAT
ACTGTGAAGGATAAAGCTACAGGAGAAGTATTGGGACAGTTCTATTTGGACCTCTATCCAAGGGAAGGAAA
ATACAATCATGCGGCCTGCTTCGGTCTCCAGCCTGGCTGCCTTCTGCCTGATGGAAGCCGGATGATGGCAG
TGGCTGCCCTCGTGGTGAACTTCTCACAGCCAGTGGCAGGTCGTCCCTCTCTCCTGAGACACGACGAGGTG
AGGACTTACTTTCATGAGTTTCGTCACGTGATGCATCAGATTTGTGCACAGACTGATTTTGCACGATTTAG
CGGAACAAATGTGGAAACTGACTTTGTAGAGGTGCCATCGCAAATGCTTGAAAATTGGGTGTGGGACGTCG
ATTCCCTCCGAAGATTGTCAAAACATTATAAAGATGGAAGCCCTATTGCAGACGATCTGCTTGAAAAACTT
GTTGCTTCTAGGCTGGTCAACACAGGTCTTCTGACCCTGCGCCAGATTGTTTTGAGCAAAGTTGATCAGTC
TCTTCATACCAACACATCGCTGGATGCTGCAAGTGAATATGCCAAATACTGCTCAGAAATATTAGGAGTTG
CAGCTACTCCAGGCACAAATATGCCAGCTACCTTTGGACATTTGGCAGGGGGATACGATGGCCAATATTAT
GGATATCTTTGGAGTGAAGTATTTTCCATGGATATGTTTTACAGCTGTTTTAAAAAAGAAGGGATAATGAA
TCCGGAGGTTGGAATGAAATACAGAAACCTAATCCTGAAACCTGGGGGATCTCTGGACGGCATGGACATGC
TCCACAATTTCTTGAAACGTGAGCCAAACCAAAAAGCGTTCCTAATGAGTAGAGGCCTGCATGCTCCGTGA
ACTGGGGATCTTTGGTAGCCGTCCATGTCTGGAGGAC
```

配列番号２５にコードされるＭＯＬ９ｃタンパク質は、７０３アミノ酸残基を有し、そして表９Ｇにおいて１文字コードを用いて示される（配列番号２６）。ＭＯＬ９ｃについての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、ＭＯＬ９ｃがシグナルペプチドを有すること、そして０．９２００の確実性を有して、原形質膜に局在するらしいことが予測される。ＳｉｇｎａｌＰは、アミノ酸１７とアミノ酸１８との間の配列における切断を推定する。

【０１７０】

【表４３】

表９Ｇ．コードされたＭＯＬ９ｃタンパク質配列（配列番号２６）

```
MIARCLLAVRSLRRVGGSRILLRMTLGREVMSPLQAMSSYTVAGRNVLRWDLSPEQIKTRTEELIVQTKQV
YDAVGMLGIEEVTYENCLQALADVEVKYIVERTMLDFPQHVSSDKEVRAASTEADKRLSRFDIEMSMRGDI
FERIVHLQETCDLGKIKPEARRYLEKSIKMGKRNGLHLPEQVQNEIKSMKKRMSELCIDFNKNLNEDDTFL
VFSKAELGALPDDFIDSLEKTDDDKYKITLKYPHYFPVMKKCCIPETRRRMEMAFNTRCKEENTIILQQLL
PLRTKVAKLLGYSTHADFVLEMNTAKSTSRVTAFLDDLSQKLKPLGEAEREFILNLKKKECKDRGFEYDGK
INAWDLYYYMTQTEELKYSIDQEFLKEYFPIEVVTEGLLNTYQELLGLSFEQMTDAHVWNKSVTLYTVKDK
ATGEVLGQFYLDLYPREGKYNHAACFGLQPGCLLPDGSRMMAVAALVVNFSQPVAGRPSLLRHDEVRTYFH
EFGHVMHQICAQTDFARFSGTNVETDFVEVPSQMLENWVWDVDSLRRLSKHYKDGSPIADDLLEKLVASRL
VNTGLLTLRQIVLSKVDQSLHTNTSLDAASEYAKYCSEILGVAATPGTNMPATFGHLAGGYDGQYYGYLWS
EVFSMDMFYSCFKKEGIMNPEVGMKYRNLILKPGGSLDGMDMLHNFLKREPNQKAFLMSRGLHAP
```

ＭＯＬ９ｃの全長アミノ酸配列は、Ｏｒｙｃｔｏｌａｇｕｓ　ｃｕｎｉｃｕｌｕｓ（ウサギ）由来の７０４アミノ酸残基ｐｔｎｒ：ＳＷＩＳＳＰＲＯＴ－ＡＣＣ：Ｐ４２６７５タンパク質（神経溶解素前駆体（ＥＣ３．４．２４．１６）（ニューロテンシンエンドペプチダーゼ）（ミトコンドリアオリゴペプチダーゼＭ）（ミトコンドリアエンドペプチダーゼ）（ＭＥＰ））に対して、７０４アミノ酸残基のうち６５７（９３％）同一であり、そして７０４アミノ酸残基のうち６８７残基（９７％）類似であることが見出された（期待値＝０．０）。

【０１７１】

ＭＯＬ９ｃは、少なくとも以下の組織において発現される：動脈、脳、気管支、軟骨、頚部、結腸、冠状動脈、真皮、表皮、包皮、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、膵臓、下垂体、胎盤、前立腺、唾液腺、滑膜（Ｓｙｎｏｖｉｕｍ　ｍｅｍｂｒａｎｅ）／滑膜（Ｓｙｎｏｖｉａｌ　ｍｅｍｂｒａｎｅ）、視床、臍静脈、子宮。この情報は、ＳｅｑＣａｌｌｉｎｇ供給源、公共の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り得られる。

【０１７２】

ＭＯＬ９ｃについて見出されたあり得るＳＮＰを、表９Ｈに列挙する。

【０１７３】

【表４４】

表９Ｈ：SNPs

コンセンサス位置	深さ	塩基変化
399	99	A > G
858	51	C > A
863	50	T > A
1242	48	T > C
1810	141	G > A
1824	143	T > C
1892	144	T > C

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新規なＭＯＬ９ｃ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。これらの抗体は、以下の「抗ＭＯＬＸ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ＭＯＬ９ｃタンパク質は、複数の親水性領域を有し、これらの領域の各々は、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ＭＯＬ９ｃエピトープは、約２５～７５アミノ酸である。別の実施形態において、ＭＯＬ９ｃエピトープは、約１００～２００アミノ酸である。さらなる実施形態において、ＭＯＬ９ｃエピトープは、２５０～４００、４５０～５５０、および６５０～７００アミノ酸で見出される。これらの新規のタンパク質はまた、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。

【０１７４】

ＭＯＬ９とアイソフォームと他の相同なタンパク質との間の相同性は、ＭＯＬ９を、関連するタンパク質配列と比較するＣｌｕｓｔａｌＷ解析として表９Ｉ（第１行目にＭＯＬ９ａが示され、第２行目にＭＯＬ９ｂが示され、そして第３行目にＭＯＬ９ｃが示されている）で与えられたマルチプル配列アライメントで図式的に示される。

【０１７５】

（表９Ｉ．ＣｌｕｓｔａｌＷタンパク質に関する情報）

１）ＭＯＬ９ａ（配列番号２２）

２）ＭＯＬ９ｂ（配列番号２４）

３）ＭＯＬ９ｃ（配列番号２６）

４）ＳＷＩＳＳＮＥＷ－ＡＣＣ：Ｑ０２０３８　ＮＥＵＲＯＬＹＳＩＮ　ＰＲＥＣＵＲＳＯＲ（配列番号６８）

３）ＳＷＩＳＳＰＲＯＴ－ＡＣＣ：Ｐ４２６７５　ＮＥＵＲＯＬＹＳＩＮ　ＰＲＥＣＵＲＳＯＲ（配列番号６９）

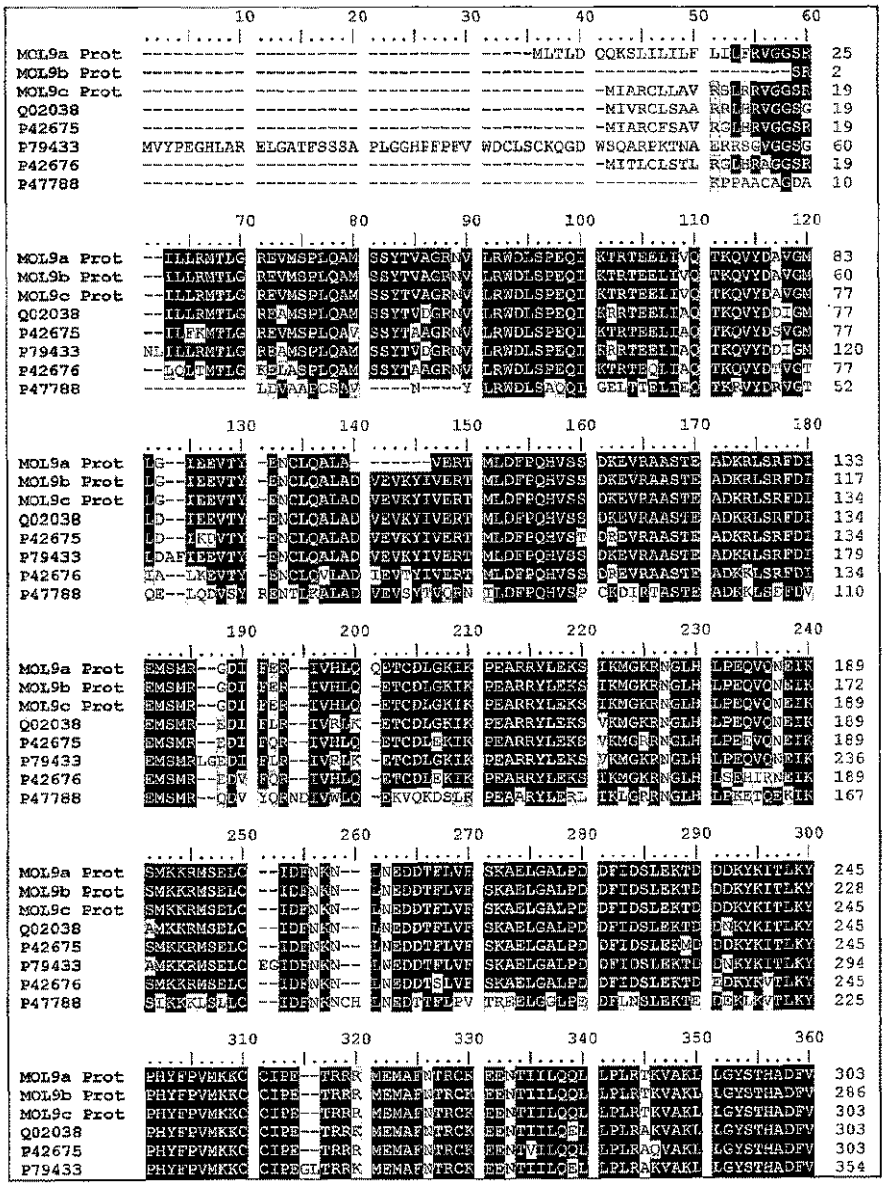
５）ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｐ７９４３３　ＥＮＤＯＰＥＰＴＩＤＡＳＥ　２４．１６（配列番号７０）

６）ＳＷＩＳＳＰＯＲＴ－ＡＣＣ：Ｐ４２６７６　ＮＥＵＲＯＬＹＳＩＮ　ＰＲＥＣＵＲＳＯＲ（配列番号７１）

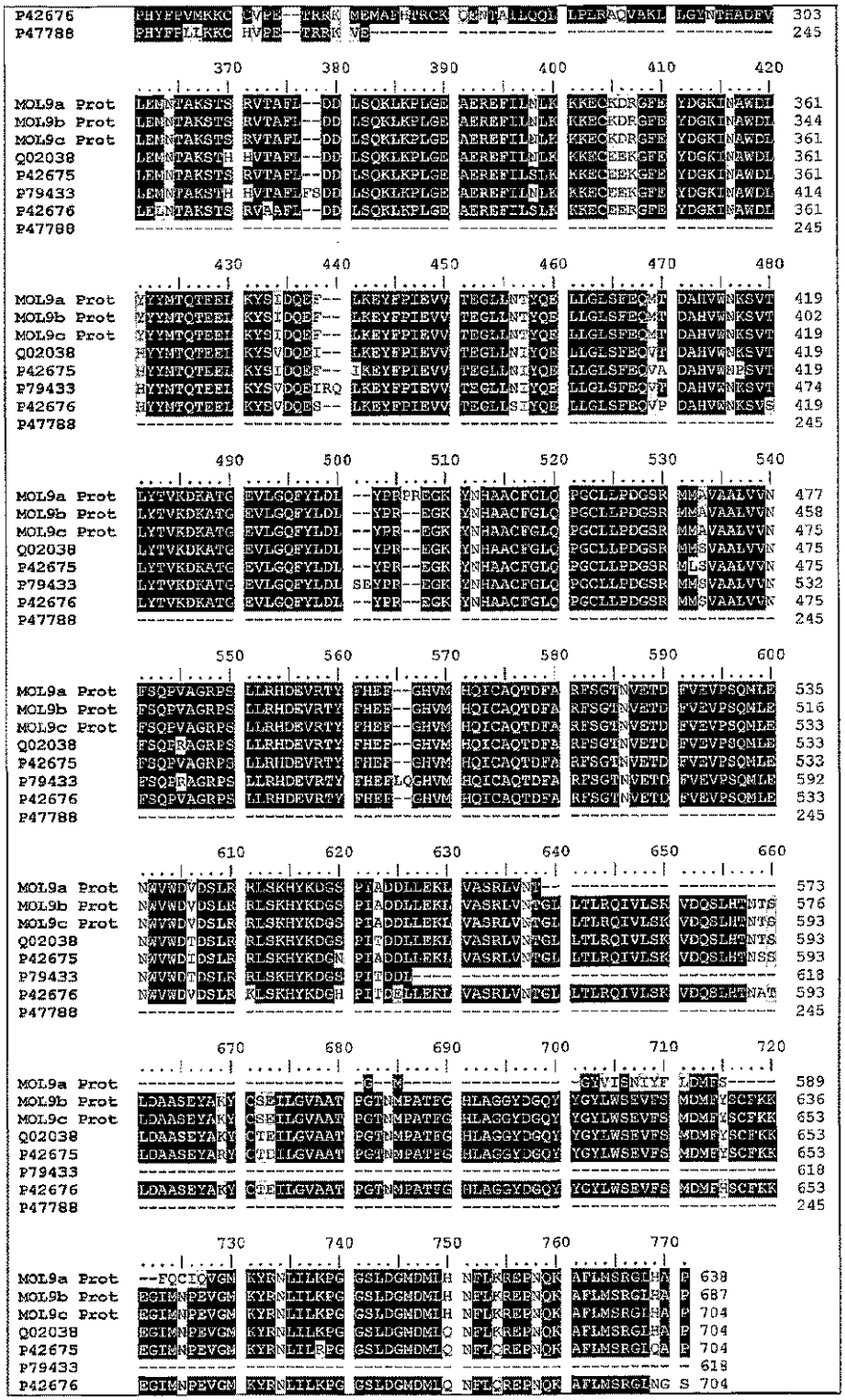
７）ＡＣＣ：Ｐ４７７８８　ＴＨＩＭＥＴ　ＯＬＩＧＯＰＥＰＴＩＤＡＳＥ（配列番号７２）

【０１７６】

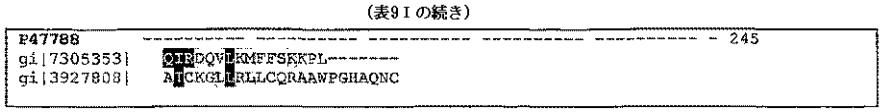
【表４５】


MOL9a Prot
MOL9b Prot
MOL9c Prot
Q02038
P42675
P79433
P42676
P47788

(表９Ｉの続き)



(表９Ｉの続き)



エンドペプチダーゼ２４．１６またはミトコンドリアオリゴペプチダーゼ（本明細書中ではＥＰ２４．１６（ＭＯＰ）と省略される）は、哺乳動物細胞における複数の細胞内区画において見出されるチオールおよび金属依存性のオリゴペプチダーゼである。対応する遺伝子の分析から、本発明者らは、適切な細胞下の位置へのこの酵素の分布が転写の開始のための代替部位の使用により達成されることを見出した。ブタＥＰ２４．１６（ＭＯＰ）遺伝子は、１００キロベースにわたって広がっており、そして１６のエキソンに組織化されている。コアタンパク質配列は、エンドペプチダーゼ２４．１５（チメット（ｔｈｉｍ

ｅｔ）オリゴペプチダーゼファミリーの別のメンバー）の遺伝子のエキソン２～１３に完全に一致するエキソン５～１６によりコードされる。これらの２つのセットの１１のエキソンは、同じスプライス部位を共有し、このことは、共通の祖先を示唆する。複数の種のＥＰ２４．１６（ＭＯＰ）のｍＲＮＡを、ｃＤＮＡ末端の５’高速増幅により検出し、そしてそれらが、転写およびスプライシングの開始のための部位の代替の選択により、単一の遺伝子から生成することを示した。遠位および近位部位由来の転写物に対応する２つの型の転写物を調製した。インビトロでのＣＯＳ－１細胞におけるそれらの発現は、これらが、アミノ酸末端のみが異なる２つのアイソフォーム（長い形態と短い形態）をコードすることを示し：長い形態は、切断可能なミトコンドリア標的配列を含み、そしてミトコンドリアに指向し；このようなシグナル配列を欠く短い形態は、サイトゾル中に残存した。従って、ＥＰ２４．１６（ＭＯＰ）遺伝子の複合体構造は、代替のプロモーターの使用により、異なる細胞下の区画における、単一の遺伝子ＰＭＩＤ：９１８２５５９、ＵＩ：９７３２６１０８から生じる２つのアイソフォームの協調的発現の細密な転写調節を可能にする。本発明者らは、ラット肝臓からメタロペプチダーゼを単離した。このペプチダーゼは、主に、ミトコンドリア膜間空間に位置し、内膜と非共有的に相互作用する。この酵素は、オリゴペプチドを加水分解し、見出された最も大きな基質分子はディノルフィンＡ１－１７であり；それはタンパク質に対する作用を有さず、そしてα２マクログロブリンと相互作用せず、それ故オリゴペプチダーゼとして分類され得る。本発明者らは、この酵素をオリゴペプチダーゼＭと呼ぶ。オリゴペプチダーゼＭは、ブラジキニン（ｂｒａｄｙｋｉｎｉｎ）に対するチメットオリゴペプチダーゼ（ＥＣ３．４．２４．１５）およびいくつかの他のペプチドと類似の作用を示すが、－Ａｒｇ＋Ａｒｇ－結合（記号＋は切れやすいペプチド結合を示すために用いられる）よりも－Ｐｒｏ＋Ｔｙｒ－結合でニューロテンシンを排他的に加水分解する。この酵素は、キレート剤およびいくつかのチオールブロッキング化合物により阻害されるが、チオール化合物により活性化されない点でチメットオリゴペプチダーゼと異なる。このペプチダーゼは、チメットオリゴペプチダーゼと異なりＰｒｏ－Ｉｌｅにより阻害され、そして２つの酵素は、ヒドロキシアパタイトでのクロマトグラフィーにより分離可能である。ラットミトコンドリアオリゴペプチダーゼＭのＮ末端アミノ酸配列は、ウサギミクロソームエンドペプチダーゼのセグメントと同一の２０残基の中の１９残基、およびブタ可溶性アンギオテンシンＩＩ結合タンパク質の対応するセグメントに一致する１７残基を含む。さらに、ラットタンパク質は、ウサギ可溶性アンジオテンシンＩＩ結合タンパク質に対するモノクローナル抗体により認識され、これらの全ては、チメットオリゴペプチダーゼのホモログである単一のタンパク質の種改変体であるこれらのタンパク質と一致する。ミトコンドリアオリゴペプチダーゼの生化学的特性は、それが、ニューロリジン（ＥＣ　３．４．２４．１６）（以前に配列が報告されておらず、ミトコンドリアＰＭＩＤ：７８３６４３７、ＵＩ：９５１３８１７１であると考えられていた）であるという疑問を本発明者らに残さない。本発明者らは、ラット脳ｍＲＮＡから構築されたλＺＡＰＩＩ　ｃＤＮＡライブラリーの免疫学的スクリーニングによりエンドペプチダーゼ３．４．２４．１６をコードするｃＤＮＡクローンを単離した。最も長いオープンリーディングフレームは、理論的な分子量８０，２０２ダルトンを有する７０４アミノ酸タンパク質をコードし、亜鉛メタロペプチダーゼファミリーのコンセンサス配列を有する。この配列は、別の亜鉛メタロペプチダーゼ（エンドペプチダーゼ３．４．２４．１５）の配列と６０．２％の相同性を示す。ノザンブロット分析は、ラット脳、回腸、腎臓、および精巣における約３キロベースおよび約５キロベースの２つのｍＲＮＡ種を明らかにする。本発明者らは、クローン化されたｃＤＮＡを含むｐｃＤＮＡ３でＣＯＳ－７細胞を一時的にトランスフェクトし、そして７０～７５ｋＤａの免疫反応性タンパク質の過剰発現を構築した。このタンパク質は、ＱＦＳ（エンドペプチダーゼ３．４．２４．１６のクエンチした蛍光定量基質）を加水分解し、そして単一のペプチド結合でニューロテンシンを切断し、ニューロテンシン（１－１０）およびニューロテンシン（１１－１３）の形成を導く。ＱＦＳおよびニューロテンシンの加水分解は、選択的エンドペプチダーゼ３．４．２４．１６ジペプチドブロッカーＰｒｏ－Ｉｌｅおよびジチオトレイトールによ

り強力に阻害されるが、酵素活性は、ホスホラミドンおよびカプトプリル（それぞれ、エンドペプチダーゼ３．４．２４．１６の特異的インヒビターおよびアンジオテンシン変換酵素）により影響を受けずに残る。要するに、これらの物理化学的、生化学的、および免疫学的な特性は、エンドペプチダーゼ３．４．２４．１６を、単離されたｃＤＮＡクローンＰＭＩＤ：７５９２９８６、ＵＩ：９６０７０８３６によりコードされるタンパク質として明白に同定する。ニューロテンシン／ニューロメジンＮ遺伝子のエキソン１～３を含むヒトゲノムクローンを、イヌニューロテンシン相補的ＤＡＮプローブを用いて同定した。配列比較は、エキソン１～３によりコードされる前駆配列の１２０アミノ酸部分が、以前に決定されたウシおよびイヌ配列と８９％同一であり、そして５’隣接配列の近位の２５０ｂｐがラットとヒトとの間で厳密に保存されていることを明らかにした。５’隣接配列は、ＰＣ１２細胞におけるニューロテンシン／ニューロメジンＮ遺伝子発現の誘導のために必要とされるシス調節部位（ＡＰ１部位および２つの環状アデノシン－５’－一リン酸応答エレメントを含む）を含む。ヒト配列に基づくオリゴヌクレオチドプローブを用いて、分裂病ならびに年齢および性別適合制御（ａｇｅ－ ａｎｄ ｓｅｘ－ｍａｔｃｈｅｄ ｃｏｎｔｒｏｌｓ）の腹側中脳におけるニューロテンシン／ニューロメジンＮメッセンジャーＲＮＡの分布を試験した。ニューロテンシン／ニューロメジンＮメッセンジャーＲＮＡを腹側中脳細胞において観察し、その中のいくつかは、メラニン色素またはチロシンヒドロキシラーゼメッセンジャーＲＮＡもまた含んだ。ニューロテンシン／ニューロメジンＮメッセンジャーＲＮＡを発現するニューロンを分裂病および非分裂病ヒトＰＭＩＤ：１４３６４９２、ＵＩ：９３０６３８５８の腹側中脳の両方において観察した。ニューロテンシンは、中枢神経系において神経伝達物質または神経モジュレーターとして機能し得る１３アミノ酸の小さな神経ペプチドである。ＣＮＳにおいて、ニューロテンシンは、カテコールアミン含有ニューロンに局在化する。カテコールアミン産生細胞株はまた、ＮＴリチウム塩を産生し得し、これは、躁鬱病患者の処置において広く使用され、この細胞株におけるＮＴ遺伝子発現を劇的に増強する。Ｇｅｒｈａｒｄら（１９８９）は、体細胞ハイブリッドパネルに対してイヌｃＤＮＡをプローブとして用い、ヒト遺伝子が第１２染色体に局在化することを決定した。トリデカペプチドニューロテンシン（１６２６５０）は、脳の種々の領域および末梢組織において広く分布している。脳において、ニューロテンシンは、特に黒質線状体および中脳皮質系におけるドーパミン伝達において、神経モジュレーターとして作用し、ドーパミン関連の行動性神経変性および神経精神病学的障害における可能性のある関与を示唆する。その種々の効果は、特異的な膜レセプターにより媒介される。Ｖｉｔａら（１９９３）は、ヒトニューロテンシンレセプターをコードするｃＤＮＡを単離し、ラットタンパク質と８４％の相同性を共有する４１８アミノ酸タンパク質と予想されることを示した。Ｌｅら（１９９７）はまた、ヒトニューロテンシンレセプター（ＮＴＲ）ｃＤＮＡおよびそのゲノムＤＮＡをクローニングした。この遺伝子は、１０ｋｂより多くの広がる４つのエキソンによりコードされる。著者らは、この遺伝子からおよそ３ｋｂの高度に多形性のテトラヌクレオチド反復を同定した。サザンブロット分析は、ＮＴＲ遺伝子が、ヒトゲノムにおいて単一コピーの遺伝子として存在することを明らかにした。Ｌｅら（１９９７）は、ニューロテンシンレセプターが、７つの膜貫通領域（ｔｒａｎｓｍｅｍｂｒａｎｅ ｓｐａｎｎｉｎｇ ｒｅｇｉｏｎ）およびＧタンパク質とカップリングする他のレセプターに対する高い相同性を有することを示した。

【０１７７】

ニューロリジンは、ラット脳に遍在して発現される（Ｍａｓｓａｒｅｌｌｉら、Ｂｒａｉｎ Ｒｅｓ １９９９ Ｄｅｃ １８；８５１（１－２）：２６１－５；Ｄａｕｃｈら、Ｊ Ｎｅｕｒｏｃｈｅｍ １９９２ Ｎｏｖ；５９（５）：１８６２－７）。この酵素は、神経学的に活性なペプチドの調節において役割を果たすことが示唆され（Ｖｉｎｃｅｎｔら：Ｂｒ Ｊ Ｐｈａｒｍａｃｏｌ １９９７ Ｊｕｎ；１２１（４）：７０５－１０）、そして活性はこの酵素の細胞供給源に依存して（この酵素が初代培養神経細胞および星状細胞において発現されるか否かに依存して）異なる（Ｖｉｎｃｅｎｔら、Ｊ Ｎｅｕｒｏｓｃｉ １９９６ Ａｕｇ １５；１６（１６）：５０４９－５９）。これは、痛覚

および脳におけるシグナル伝達ならびに中枢神経系において役割を果たし得る。関連のエンドペプチダーゼは、アンジオテンシンのプロセシングにおいて役割を果たし、そして重要な血圧のレギュレーターであることが示されている。

【０１７８】

（本発明の組成物の使用）

ＭＯＬ９についての発現パターン、地図の配置、およびタンパク質の相同性の情報は、それがニューロリジンファミリーとして機能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、関係する潜在的な治療用途において、例えば、以下に記載されるような種々の病理／障害ならびに／または他の病理／障害において（しかし、これらに限定されない）有用である。本発明の潜在的な治療用途は、例えば、以下のようなものであるが、これらに限定されない：（ｉ）タンパク質治療剤、（ｉｉ）低分子薬物標的、（ｉｉｉ）抗体標的（治療用抗体、診断用抗体、薬物標的／細胞障害性抗体）、（ｉｖ）診断マーカーおよび／または予後マーカー、（ｖ）遺伝子治療（遺伝子送達／遺伝子切除）（ｖｉ）研究ツール、および（ｖｉｉ）インビトロおよびインビボでの組織再生（これらの組織およびこれらの組織を構成する細胞型およびこれらの組織に由来する細胞型の全てについての再生）。これらはまた、上記の組織における細胞外マトリクスのリモデリングにおいて機能し得る。

【０１７９】

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／もしくは他の病理および障害において関係する潜在的な治療用途において有用である。例えば（しかしこれらに限定されない）、ニューロリジン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、そしてニューロリジン様タンパク質は、それを必要とする被験体に投与される場合、有用であり得る。非限定的な例おいて、本発明の組成物は、以下の疾患に罹患した患者の処置についての有効性を有する：癌、外傷、ウイルス／細菌／寄生虫感染、心筋症、間接硬化、高血圧、先天性心臓欠陥、大動脈狭窄、心房中隔欠損（ＡＳＤ）、房室（Ａ－Ｖ）管欠陥、動脈管、肺動脈弁狭窄、大動脈弁下部狭窄、心室中隔欠損（ＶＳＤ）、弁疾患、結節硬化、強皮症、肥満、移植、アテローム硬化、動脈瘤、高血圧、線維筋性形成異常、発作、強皮症、受胎能、糖尿病、フォン・ヒッペル‐リンダウ（ＶＨＬ）症候群、膵炎、ヒルシュスプルング病、クローン病、虫垂炎、アルツハイマー病、発作、高カルシウム血、パーキンソン病、ハンティングトン病、脳性小児麻痺、てんかん、レッシュ‐ナイハン症候群、多発性硬化症、毛細管拡張性運動失調、白質萎縮、行動障害、嗜癖、不安、痛み、全身性エリテマトーデス、自己免疫疾患、喘息、気腫、強皮症、自己免疫疾患、腎動脈狭窄、間質性腎炎、糸球体腎炎、多発性嚢胞腎病、尿細管性アシドーシス、ＩｇＡネプロパシー、高カルシウム血、レッシュ‐ナイハン症候群。ニューロリジン様タンパク質をコードする新規の核酸、本発明のニューロリジン様タンパク質、またはそのフラグメントはさらに、核酸またはタンパク質の存在または量が評価されるような診断用途において有用であり得る。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作製する際に有用であり得る。

【０１８０】

（ＭＯＬ１０）

（ＭＯＬ１０ａ）

環状ヌクレオチド門嗅覚チャネル（Ｃｙｃｌｉｃ－Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ－Ｇａｔｅｄ Ｏｌｆａｃｔｏｒｙ Ｃｈａｎｎｅｌ）様タンパク質に類似の配列を有するタンパク質をコードする新規の核酸を、ＣｕｒａＧｅｎ ＣｏｒｐｏｒａｔｉｏｎのＭＯＬ１０プローブまたはホモログについての配列ファイルを用いてＴｂｌａｓｔＮにより、またはＧｅｎＢａｎｋにより作製され入手可能なＧｅｎｏｍｉｃ Ｄａｉｌｙ Ｆｉｌｅに対する実行により同定した。さらに、この核酸を、プログラムＧｅｎＳｃａｎ™を用いて推測した（エキソンの選択を含む）。さらに、これらをＢＬＡＳＴ検索を用いた類似の手段により改変した。次いで、この配列を、適切な不一致について手動で訂正に、それによって、全

長タンパク質をコードする配列を獲得した。開示される１８３５ヌクレオチドの新規のＭＯＬ１０ａ核酸（ＧＭ９８９６０６４７＿Ａとも呼ばれる）を表１０Ａに示す。オープンリーディングフレームはヌクレオチド５４～５６のＡＴＧ開始コドンで始まり、そしてヌクレオチド１７８８～１７９０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の推定される非翻訳領域を表１０Ａに下線で示し、開始コドンおよび終止コドンを太字で示す。

【０１８１】

この核酸配列は、Ｒａｔｔｕｓ　ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ環状ヌクレオチド門嗅覚チャネルｏｃｎｃ２　ｍＲＮＡ（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：Ｕ１２６２３）に対して１７３３塩基中１５３６塩基の同一性（８８％）を有する（期待＝５．２ｅ$^{-108}$）。

【０１８２】

【表４６】

表 10A. MOL10a ヌクレオチド配列（配列番号27）

TACAGGCAGAGAGGGTGTGGACATCTCACACCCCAGCACCAGACCACAGAACCATGAGCCAGGACACCAAA
GTGAAGACAACAGAGTCCAGTCCCCCAGCCCCATCCAAGGCCAGGAGGAAGTTGCTGCCTGTCCTGGACCC
ATCTGGGGATTACTACTACTGGTGGCTGAACACAATGGTCTTCCCAGTCATGTATAACCTCATCATCCTCG
TGTGCAGGGCCTGCTTCCCCGACTTGCAGCACGGTTATCTGGTGGCCTGGTTGGTGCTGGACTACACGAGT
GACCTGCTATACCTACTAGACATGGTGGTGCGCTTCCACACAGGTGGATTCTTGGAACAGGGCATCCTGGT
GGTGGACAAGGGTAGGATCTCGAGTCGCTACGTTCGCACCTGGAGTTTCTTCTTGGACCTGGCTTCCCTGA
TGCCCACAGATGTGGTCTACGTGCGGCTGGGCCCGCACACACCCACCCTGAGGCTGAACCGCTTTCTCCGC
GCGCCCCGCCTCTTCGAGGCCTTCGACCGCACAGAGACCCGCACAGCTTACCCAAATGCCTTTCGCATTGC
CAAGCTGATGCTTTACATTTTTGTCGTCATCCATTGGAACAGCTGCCTATACTTTGCCCTATCCCGGTACC
TGGGCTTCGGGCGTGACGCATGGGTGTACCCGGACCCCGCCGCAGCCTGGCTTTGAGCGCCTGCGGCGCCAG
TACCTCTATAGCTTTTACTTCTCCACGCTGATACTGACTACAGTGGGCGATACACCGCCGCCAGCCAGGGA
AGAAGAGTACCTCTTCATGGTGGGCGACTTCCTGCTGGCCGTCATGGGTTTCGCCACCATCATGGGTAGCA
TGAGCTCTGTCATCTACAACATGAACACTGCAGATGCGGCTTTCTACCCAGATCATGCACTGGTGAAGAAG
TACATGAAGCTGCAGCACGTCAACCGCAAGCTGGAGCGGCGAGTTATTGACTGGTATCAGCACCTGCAGAT
CAACAAGAAGATGACCAACGAGGTAGCCATCTTACAGCACTTGCCTGAGCGGCTGCGGGCAGAAGTGGCTG
TGTCTGTGCACCTGTCCACCCTGAGCCGGGTGCAGATCTTTCAGAACTGTGAGGCCAGCCTGCTGGAGGAG
CTGGTGCTGAAGCTGCAGCCCCAGACCTACTCACCAGGTGAATATGTATGCCGCAAAGGAGACATTGGCCA
AGAGATGTACATCATCCGAGAGGGTCAACTGGCCGTGGTGGCAGATGATGGTATCACACAGTATGCTGTGC
TCGGTGCAGGGCTCTACTTCGGGGAGATCAGCATCATCAACATCAAAGGTGGGAACATGTCTGGGAACCGC
CGCACAGCCAACATCAAGAGCCTAGGTTATTCAGACCTATTCTGCCTGAGCAAGGAGGACCTGCGGGAGGT
GCTGAGCGAGTATCCACAAGCACAGACCATCATGGAGGAGAAAGGACGTGAGATCCTGCTGAAAATGAACA
AGTTGGACGTGAATGCTGAGGCAGCTGAGATCGCCCTGCAGGAGGCCACAGAGTCCCGGCTACGAGGCCTA
GACCAGCAGCTGGATGATCTACAGACCAAGTTTGCTCGCCTCCTGGCTGAGCTGGAGTCCAGCGCACTTAA
GATTGCTTACCGCATTGAACGGCTGGAGTGGCAGACTCGAGAGTGGCCAATGCCCGAGGACCTGGCTGAGG
CTGATGACGAGGGTGAGCCTGAGGAGGGAACTTCCAAAGATGAAGAGGGCAGGGCCAGCCAGGAGGGACCC
CCAGGTCCAGAGTGACCCCATCCCCATCCCCAGGATTCCCACCTCCTAGTGAATCCAGAG

配列番号２７によりコードされるＭＯＬ１０ａタンパク質は６３８アミノ酸残基を有し、そして表１０Ｂにおいて一文字表記を用いて表わす（配列番号２８）。ＰＳＯＲＴ分析は、本発明のタンパク質が細胞膜に局在化することを予測する（０．６０００の確実性）。ＳＩＧＮＡＬＰ分析を用いて、本発明のタンパク質が、５７位と５８位との間に最も可能性のある切断部位を有するシグナルペプチドを有することが予測される。

【０１８３】

【表４７】

表 10B. コードされる MOL10a タンパク質配列（配列番号28）

MSQDTKVKTTESSPPAPSKARRKLLPVLDPSGDYYYWWLNTMVFPVMYNLIILVCRACFPDLQHGYLVAWL
VLDYTSDLLYLLDMVVRFHTGGFLEQGILVVDKGRISSRYVRTWSFFLDLASLMPTDVVYVRLGPHTPTLR
LNRFLRAPRLFEAFDRTETRTAYPNAFRIAKLMLYIFVVIHWNSCLYFALSRYLGFGRDAWVYPDPAQPGF
ERLRRQYLYSFYFSTLILTTVGDTPPPAREEEYLFMVGDFLLAVMGFATIMGSMSSVIYNMNTADAAFYPD
HALVKKYMKLQHVNRKLERRVIDWYQHLQINKKMTNEVAILQHLPERLRAEVAVSVHLSTLSRVQIFQNCE
ASLLEELVLKLQPQTYSPGEYVCRKGDIGQEMYIIREGQLAVVADDGITQYAVLGAGLYFGEISIINIKGG
NMSGNRRTANIKSLGYSDLFCLSKEDLREVLSEYPQAQTIMEEKGREILLKMNKLDVNAEAAEIALQEATE
SRLRGLDQQLDDLQTKFARLLAELESSALKIAYRIERLEWQTREWPMPEDLAEADDEGEPEEGTSKDEEGR
ASQEGPPGPE

本発明のタンパク質の全長アミノ酸配列は、Ｒａｔｔｕｓ　ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ由来の５７５アミノ酸残基の環状ヌクレオチド門嗅覚チャネルｏｃｎｃ２サブユニットタンパク

質（ｐｔｎｒ：ＳＰＴＲＥＭＢＬ－ＡＣＣ：Ｑ６４３５９）と１６４９アミノ酸残基中１０６８アミノ酸残基が同一（６４％）であり、１６４９残基中１０６８残基がポジティブ（６４％）であり（期待値＝５．５ｅ$^{-54}$）、そして６９４アミノ酸残基のＣｏｎｅ Ｐｈｏｔｏｒｅｃｅｐｔｏｒ ｃＧＭＰ－Ｇａｔｅｄ Ｃｈａｎｎｅｌ Ａｌｐｈａ Ｓｕｂｕｎｉｔ Ｈｏｍｏ ｓａｐｉｅｎｓ（ヒト）（ｐｔｎｒ：ＴＲＥＭＢＬＮＥＷ－ＡＣＣ：ＡＡＣ１７４４０）と５５６アミノ酸残基中２９２アミノ酸残基が同一（５２％）であり、５５６残基中４０４残基がポジティブ（７２％）である（期待値＝５．８ｅ$^{-157}$）ことが見出された。

【０１８４】

（ＭＯＬ１０ｂ）

本発明において、以前に同定された標的配列（ＭＯＬ１０ａ、登録番号ＧＭ９８９６０６４７＿Ａ（ＣＧ５４５５７－０１としても公知である））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、正方向プライマーについて利用可能な最も上流の配列で開始するように設計し、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ように設計した。各々の場合、固有であるか、高度に選択的であるかのいずれかである適切な配列と出会うまでか、または逆方向プライマーの場合、終止コドンに達するまで、それぞれの末端からコード配列へとウォーキングさせ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の一部分（１つ以上のエキソン）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での予測に基づいてか、または他の種由来の緊密に関連するヒト配列に対する予測されるエキソンの翻訳された相同性により設計した。次いで、これらのプライマーを以下のヒトｃＤＮＡのプールに基づきＰＣＲ増幅において用いた：副腎、骨髄、脳－扁桃、脳－小脳、脳－海馬、脳－黒質、脳－視床、脳－全体、胎児脳、胎児腎臓、胎児肝臓、胎児肺、心臓、腎臓、リンパ系－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、得られるアンプリコンをゲル精製し、クローニングし、そして高度な重複性に対して配列決定した。全てのクローン由来のこの得られる配列を、それら、ＣｕｒａＧｅｎ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎのデータベースにおける他のフラグメント、および公開されているＥＳＴを用いて構築した。フラグメントおよびＥＳＴを、このアッセンブリの別の要素との同一性の程度が少なくとも５０ｂｐにわたって９５％である場合、アッセンブリについての要素として含めた。さらに、配列追跡を手動で評価し、そして適切な場合、修正の編集を行った。これらの手順は、以下に報告する配列を提供し、この配列をＭＯＬ１０ｂ（登録番号ＣＧ５４５５７－０２）と命名する。これは、以前に同定された配列[ＧＭ９８９６０６４７＿Ａ（ＣＧ５４５５７－０１としても公知である）]とアミノ酸１５９位（Ｔ→Ａ）において異なり、そして２２Ｒ位、９３Ｇ位および４２６Ｇ位において欠失を有する。

【０１８５】

開示される２５５１ヌクレオチドの新規のＭＯＬ１０ｂ核酸（ＣＧ５４５５７－０２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７７９～７８１のＡＴＧ開始コドンで始まり、そしてヌクレオチド２５０４～２５０６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の推定される非翻訳領域を表１０Ａに下線で示し、開始コドンおよび終止コドンを太字で示す。

【０１８６】

この核酸配列は、Ｒａｔｔｕｓ ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ由来のｇｂ：ＧＥＮＢＡＮＫ ＩＤ：ＲＮＵ１２４２５｜ａｃｃ：ＵＩ１２４２５．１ｍＲＮＡ（Ｒａｔｔｕｓ ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ嗅覚環状ヌクレオチド門チャネルｍＲＮＡ、完全ｃｄｓ）に対して１８５７塩基中１１６２５塩基の同一性（８７％）を有する（期待＝４．０ｅ$^{-316}$）。

【０１８７】

【表４８】

表 10D. MOL10b ヌクレオチド配列（配列番号29）

GTTTTTGTTGTTTTGATATAGGAGATATTGAAGCAGGTTCACAAAAAGAGAAAAGTTGAAAGATTGGGGAC
CATAAAACACATGGAATGGTTGGTAGGATCAGGCACTAGAAGTCACAAGAAGGATATGAGGACAAAAGCAC
CATAGGATGGCCCCTATCACACTACCTATGAGAATGGTGTGATGGGGGAAGGCGTATGTGGAGGTAGATAA
GGGTAGGAAGTAGGTTACAAAAATAGAGCTCACTTCTCATGTGAGAGGCATCTCTTTGTCCCTGGAGAATA
GTTTAGCACCTGACATAGATAAGCCATTCAGTAATAGTTGTTAAATAAATAAATAGTGAGGCCCAAATAGA
ATTTGCAAAGATAAAACAGAGTGTTTGATCCTACACTAAAACTGAGGTCTTCTGACCCAGAGGACACCTAT
GTAGCTCAGTTGCTGTGGAAAGAGGGGAGGAGGAAAACAGAGACAAGACTCAGGCTTCCCTCTGAGGCATG
CACCCCCACCTTCTCCAGGGATCTCATTAGAGGTGTTTAGCTGGGCAGGTGTAAGCCCAGGCCCTGGGAGA
CAGGGCAGAGTGCTAGAGCTAGACTGTCTCCACCCCTTCAGTAGCGCTAGCTCTGGTTGTGTTGCTAAGAG
CCCCAAAGACAAAGAAGTCACAGCAGAAGCCCAACAGCAGCCTCCTTCAGGCAGTCAGGCACTAGTGCCCA
ACTCCAGAAGTCCCCTACAGGCAGAGAGGGTGTGGACATCTCACACCCCAGCACCAGACCACAGAACCATG
AGCCAGGACACCAAAGTGAAGACAACAGAGTCCAGTCCCCCAGCCCCATCCAAGGCCAGGAAGTTGCTGCC
TGTCCTGGACCCATCTGGGGATTACTACTACTGGTGGCTGAACACAATGGTCTTCCCAGTCATGTATAACC
TCATCATCCTCGTGTGCAGAGCCTGCTTCCCCGACTTGCAGCACGGTTATCTGGTGGCCTGGTTGGTGCTG
GACTACACGAGTGACCTGCTATACCTACTAGACATGGTGGTGCGCTTCCACACAGGATTCTTGGAACAGGG
CATCCTGGTGGTGGACAAGGGTAGGATCTCGAGTCGCTACGTTCGCACCTGGAGTTTCTTCTTGGACCTGG
CTTCCCTGATGCCCACAGATGTGGTCTACGTGCGGCTGGGCCCGCACACACCCACCCTGAGGCTGAACCGC
TTTCTCCGCGCGCCCCGCCTCTTCGAGGCCTTCGACCGCGCAGAGACCCGCACAGCTTACCCAAATGCCTT
TCGCATTGCCAAGCTGATGCTTTACATTTTTGTCGTCATCCATTGGAACAGCTGCCTATACTTTGCCCTAT
CCCGGTACCTGGGCTTCGGGCGTGACGCATGGGTGTACCCGGACCCCGCGCAGCCTGGCTTTGAGCGCCTG
CGGCGCCAGTACCTCTATAGCTTTTACTTCTCCACGCTGATACTGACTACAGTGGGCGATACACCGCCGCC
AGCCAGGGAAGAAGAGTACCTCTTCATGGTGGGCGACTTCCTGCTGGCCGTCATGGGTTTCGCCACCATCA
TGGGTAGCATGAGCTCTGTCATCTACAACATGAACACTGCAGATGCGGCTTTCTACCCAGATCATGCACTG
GTGAAGAAGTACATGAAGCTGCAGCACGTCAACCGCAAGCTGGAGCGGCGAGTTATTGACTGGTATCAGCA
CCTGCAGATCAACAAGAAGATGACCAACGAGGTAGCCATCTTACAGCACTTGCCTGAGCGGCTGCGGGCAG
AAGTGGCTGTGTCTGTGCACCTGTCCACTCTGAGCCGGGTGCAGATCTTTCAGAACTGTGAGGCCAGCCTG
CTGGAGGAGCTGGTGCTGAAGCTGCAGCCCCAGACCTACTCACCAGGTGAATATGTATGCCGCAAAGGAGA
CATTGGCCAAGAGATGTACATCATCCGAGAGGGTCAACTGGCCGTGGTGGCAGATGATGGTATCACACAGT
ATGCTGTGCTCGGTGCAGGGCTCTACTTTGGGGAGATCAGCATCATCAACATCAAAGGGAACATGTCTGGG
AACCGCCGCACAGCCAACATCAAGAGCCTAGGTTATTCAGACCTATTCTGCCTGAGCAAGGAGGACCTGCG
GGAGGTGCTGAGCGAGTATCCACAAGCACAGACCATCATGGAGGAGAAAGGACGTGAGATCCTGCTGAAAA
TGAACAAGTTGGACGTGAATGCTGAGGCAGCTGAGATCGCCCTGCAGGAGGCCACAGAGTCCCGGCTACGA
GGCCTAGACCAGCAGCTGGATGATCTACAGACCAAGTTTGCTCGCCTCCTGGCTGAGCTGGAGTCCAGCGC
ACTTAAGATTGCTTACCGCATTGAACGGCTGGAGTGGCAGACTCGAGAGTGGCCAATGCCCGAGGACCTGG
CTGAGGCTGATGACGAGGGTGAGCCTGAGGAGGGAACTTCCAAAGATGAAGAGGGCAGGGCCAGCCAGGAG
GGACCCCCAGGTCCAGAGTGACCCCATCCCCATCCCCAGGATTCCCACCTCCTAGTGAATCCAGAG

配列番号２９によりコードされるＭＯＬ９ａタンパク質は５７５アミノ酸残基を有し、そして表１０Ｂにおいて一文字表記を用いて表わす（配列番号３０）。ＰＳＯＲＴ分析は、本発明のタンパク質が細胞膜に局在化することを予測する（０．６０００の確実性）。ＳＩＧＮＡＬＰ分析を用いて、本発明のタンパク質が、５６位と５７位との間に最も可能性のある切断部位を有するシグナルペプチドを有することが予測される（ＣＲＡ－ＣＦ）。

【０１８８】

【表４９】

表 10E. コードされるMOL10b タンパク質配列（配列番号30）

MSQDTKVKTTESSPPAPSKARKLLPVLDPSGDYYYWWLNTMVFPVMYNLIILVCRACFPDLQHGYLVAWLV
LDYTSDLLYLLDMVVRFHTGFLEQGILVVDKGRISSRYVRTWSFFLDLASLMPTDVVYVRLGPHTPTLRLN
RFLRAPRLFEAFDRAETRTAYPNAFRIAKLMLYIFVVIHWNSCLYFALSRYLGFGRDAWVYPDPAQPGFER
LRRQYLYSFYFSTLILTTVGDTPPPARFEEEYLFMVGDFLLAVMGFATIMGSMSSVIYNMNTADAAFYPDHA
LVKKYMKLQHVNRKLERRVIDWYQHLQINKMMTNEVAILQHLPERLRAEVAVSVHLSTLSRVQIFQNCEAS
LLEELVLKLQPQTYSPGEYVCRKGDIGQEMYIIREGQLAVVADDGITQYAVLGAGLYFGEISIIINIKGNMS
GNRRTANIKSLGYSDLFCLSKEDLREVLSEYPQAQTIMEEKGREILLKMNKLDVNAEAAEIALQEATESRL
RGLDQQLDDLQTKFARLLAELESSALKIAYRIERLEWQTREWEMPEDLAEADDEGEPEEGTSKDEEGRASQ
EGPPGPE

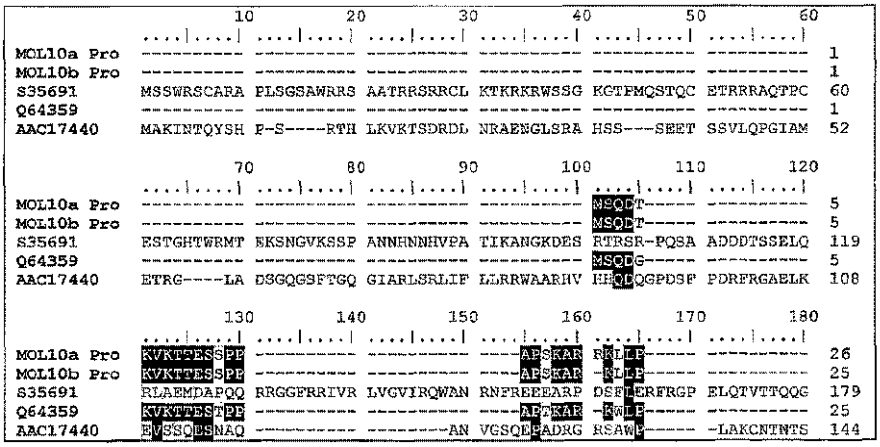
本発明のタンパク質の全長アミノ酸配列は、Ｒａｔｔｕｓ　ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ（ラット）（ＣＹＣＬＩＣ－ＮＵＣＬＥＯＴＩＤＥ－ＧＡＴＥＤ　ＯＬＦＡＣＴＯＲＹ　ＣＨＡＮＮＥＬ　ＯＣＮＣ２　ＳＵＢＵＮＩＴ）由来の５７５アミノ酸残基（ｐｔｎｒ：ＳＷＩＳＳＰＲＯＴ－ＡＣＣ：Ｑ６４３５９タンパク質）と５７５アミノ酸残基中５３６アミノ酸残基が同一（９３％）であり、５７５アミノ酸残基中５２２アミノ酸残基が類似（９６

％）である（Ｅ値＝４．２ｅ$^{-287}$）。
【０１８９】
（染色体情報）
本発明において開示される環状ヌクレオチド門嗅覚チャネルｏｃｎｃ２（Ｃｙｃｌｉｃ－ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ ｇａｔｅｄ ｏｌｆａｃｔｏｒｙ ｃｈａｎｎｅｌ ｏｃｎｃ２）は、第１１染色体にマッピングされる。この情報は、ＯＭＩＭ、ＣｕｒａＧｅｎ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎにより実施されるエレクトリックノーザンバイオインフォマティックツール、公開ＥＳＴ、公開参考文献、および／またはゲノムのクローン相同性を用いて割り当てられた。これは、ＳｅｑＣａｌｌｉｎｇアッセンブリ、ゲノムクローン、参考文献、および／または本発明に含まれるＥＳＴ配列の染色体マッピングを駆動するために作成された。
【０１９０】
（組織発現）
本発明において開示される環状ヌクレオチド門嗅覚チャネルｏｃｎｃ２は、少なくとも以下の組織において発現される：副腎、骨髄、脳－扁桃、脳－小脳、脳－海馬、脳－黒質、脳－視床、脳－全体、胎児脳、胎児腎臓、胎児肝臓、胎児肺、心臓、腎臓、リンパ系－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。この情報を、本発明に含まれる配列の組織供給源（ＳｅｑＣａｌｌｉｎｇ供給源、公開ＥＳＴ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）を決定することにより獲得した。
【０１９１】
さらに、この配列は、（ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ｇｂ：ＧＥＮＢＡＮＫ－ＩＤ：ＲＮＵ１２４２５｜ａｃｃ：Ｕ１２４２５．１）、緊密に関連するＲａｔｔｕｓ ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ嗅覚環状ヌクレオチド門チャネルｍＲＮＡ、Ｒａｔｔｕｓ ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ種における完全ｃｄｓホモログ：嗅覚神経上皮の発現パターンから以下の組織において発現されることが推測される。
【０１９２】
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使用のために新規ＭＯＬ１０ｂ物質に免疫特異的に結合する抗体を作製する際に有用である。これらの抗体は、当該分野で公知の方法に従い、以下の節の「抗ＭＯＬＸ抗体」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ＭＯＬ１０ｂタンパク質は、複数の疎水性領域を有し、この領域の各々は、免疫原として用いられ得る。１つの実施形態において、完全ＭＯＬ１０ｂエピトープは、約アミノ酸２５～７５に由来する。別の実施形態において、ＭＯＬ１０ｂエピトープは、約アミノ酸１～３０に由来する。さらなる実施形態において、ＭＯＬ１０ｂエピトープは、アミノ酸１５０～２５０、２７５～３５０、３７５～４００、および４２５～５６０において見出される。これらの新規のタンパク質はまた、機能分析のためのアッセイ系を開発するために用いられ得る。
【０１９３】
ＭＯＬ１０アイソフォームと他の相同なタンパク質との間の相同性は、表９Ｉに与えられる複数の配列アラインメントにおいて、ＭＯＬ１０と関連するタンパク質配列とのＣｌｕｓｔａｌＷ分析比較として図解により表わされる（ＭＯＬ１０ａを第１列に示し、ＭＯＬ１０ｂを第２列に示す）。
【０１９４】
（表１０Ｃ：ＣｌｕｓｔａｌＷタンパク質についての情報）
１）ＭＯＬ１０ａ（配列番号２８）
２）ＭＯＬ１０ｂ（配列番号３０）
３）Ｓ３５６９１　環状ヌクレオチド門チャネルタンパク質－ウサギ（配列番号７３）
４）Ｑ６４３５９　Ｒａｔｔｕｓ ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ由来の環状ヌクレオチド門嗅覚チャネルｏｃｎｃ２サブユニットタンパク質（配列番号７４）
５）ＡＡＣ１７４４０　コーンフォトレセプターｃＧＭＰ門チャネルαサブユニットホモ

サピエンス（配列番号７５）

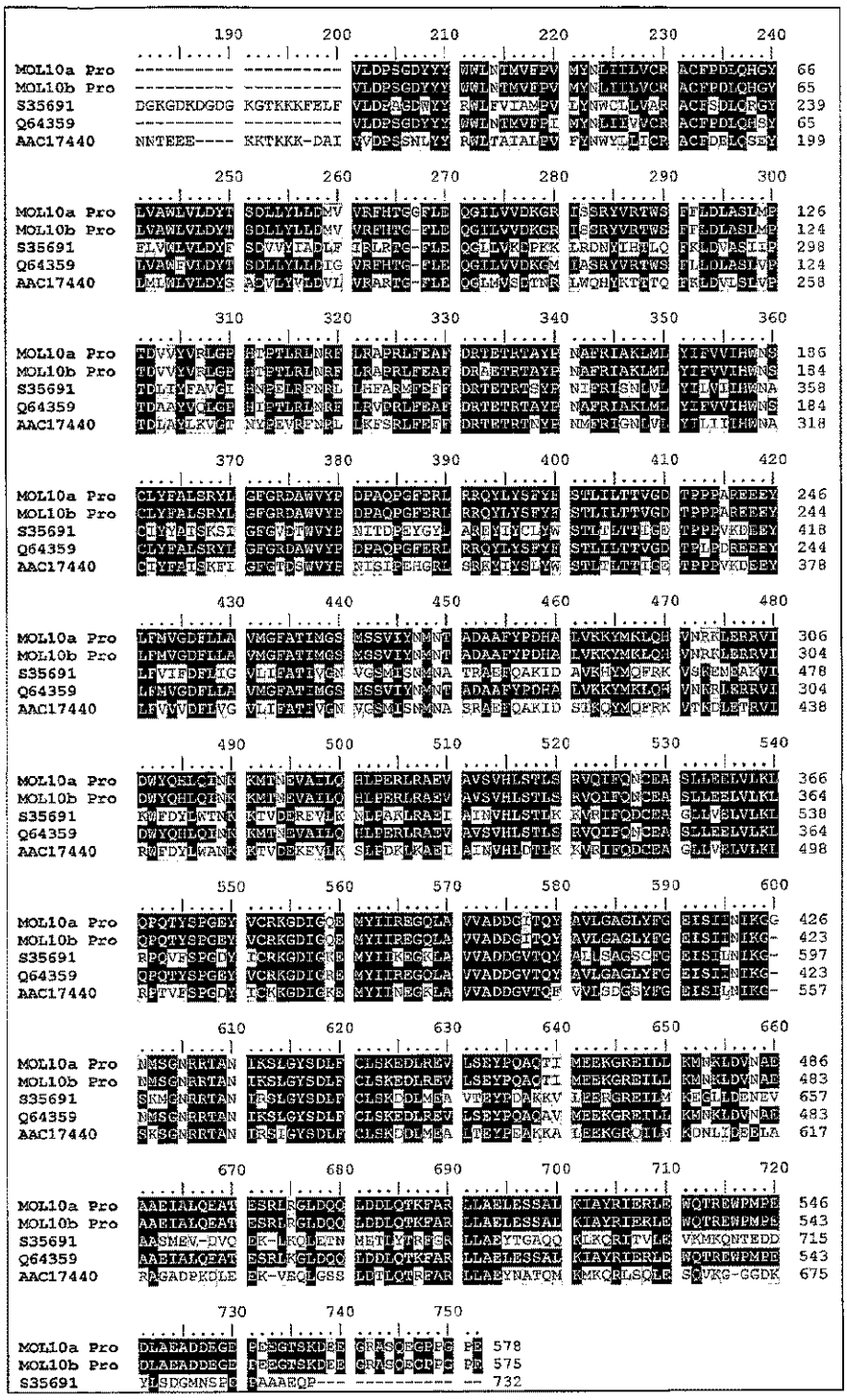
【０１９５】

【表５０】

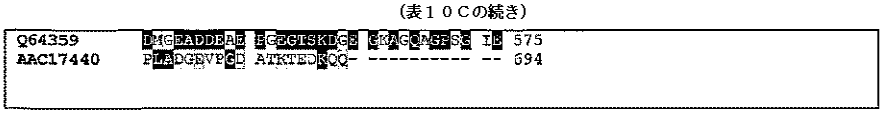


```
                10        20        30        40        50        60
          ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
MOL10a Pro ---------- ---------- ---------- ---------- ---------- ---------- 1
MOL10b Pro ---------- ---------- ---------- ---------- ---------- ---------- 1
S35691     MSSWRSCARA PLSGSAWRRS AATRRSRRCL KTKRKRWSSG KGTFMQSTQC ETRRRAQTPC 60
Q64359     ---------- ---------- ---------- ---------- ---------- ---------- 1
AAC17440   MAKINTQYSH P-S-----RTH LKVKTSDRDL NRAENGLSRA HSS---SEET SSVLQPGIAM 52

                70        80        90        100       110       120
          ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
MOL10a Pro ---------- ---------- ---------- ---------- MSQDT----- ---------- 5
MOL10b Pro ---------- ---------- ---------- ---------- MSQDT----- ---------- 5
S35691     ESTGHTWRMT EKSNGVKSSP ANNHNNHVPA TIKANGKDES RTRSR-PQSA ADDDTSSELQ 119
Q64359     ---------- ---------- ---------- ---------- MSQDG----- ---------- 5
AAC17440   ETRG----LA DSGQGSFTGQ GIARLSRLIF LLRRWAARHV HHQDQGPDSF PDRFRGAELK 108

                130       140       150       160       170       180
          ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
MOL10a Pro KVKTTESSPF ---------- ---------- ----AFSKAR RWLLP----- ---------- 26
MOL10b Pro KVKTTESSPF ---------- ---------- ----AFSKAR -WLLP----- ---------- 25
S35691     RLAEMDAPQQ RRGGFRRIVR LVGVIRQWAN RNFREEEARP DSFLERFRGP ELQTVTTQQG 179
Q64359     KVKTTESTPF ---------- ---------- ----AFTKAR -WLLP----- ---------- 25
AAC17440   EVSSQDSNAQ ---------- --------AN VGSQESADRG RSAWP----- -LAKCNTNTS 144
```

(表１０Ｃの続き)



(表１０Ｃの続き)



環状ヌクレオチド門（ＣＮＧ）チャネルは、視覚および嗅覚シグナル伝達において中心的な役割を果たす。網膜において、ロッドフォトレセプターは、サブユニットＣＮＣα１およびＣＮＣβ１ａを発現する。コーンフォトレセプターにおいて、ＣＮＣα２発現のみが、今日までに示されている。ラット嗅覚感覚神経（ＯＳＮ）は、２つの相同なサブユニットを発現し、ここではＣＮＣα３およびＣＮＣα４と命名する。本明細書は、ＯＳＮにおいて発現する第３のサブユニットであるＣＮＣβ１ｂの特徴ついて記載し、そしてそれをネイティブのチャネルの成分として確立する。ＣＮＣβ１ｂは、ロッドフォトレセプター

ＣＮＣβ１ａサブユニットの選択的スプライス形態である。ｍＲＮＡおよびタンパク質発現の分析は共に、ＯＳＮの感覚繊毛における３つのサブユニット全ての同時発現を示唆する。ネイティブのラット嗅覚チャネルの単一チャネル分析およびＣＮＣα３、ＣＮＣα４、およびＣＮＣβ１ｂサブユニットの全ての可能性のある組み合わせから異種的に発現されるチャネルの単一チャネル分析から、本発明者らは、ＯＳＮにおけるネイティブのＣＮＧチャネルが３つのサブユニット全てから構成されると結論づけた。従って、ロッドフォトレセプターおよび嗅覚感覚神経の両方におけるＣＮＧチャネルは、特異的なαサブユニットと種々の形態の選択的スプライシングされたβサブユニットとの共アッセンブリから生じる。

【０１９６】

光伝達は、酵素的カスケードにより媒介され、最終的にｃＧＭＰの加水分解を導く。フォトレセプター細胞、ロッドおよびコーンは、細胞膜の外側セグメントにおけるｃＧＭＰ門カチオン性チャネルを通じてｃＧＭＰ加水分解に組込まれ、そして応答する。Ｋａｕｐｐら（１９８９）は、ウシ網膜由来のこのチャネルをクローニングした。Ｄｈａｌｌａｎら（１９９１）は、ウシ配列を用いて、ヒトホモログの全タンパク質コード領域を含むｃＤＮＡおよびゲノムＤＮＡを単離した。第４染色体への割り当てを、体細胞ハイブリッドの研究により達成した。Ｐｉｔｔｌｅｒら（１９９２）は、ｃＤＮＡクローンおよび増幅されたＤＮＡの分析により、ヒトおよびマウス網膜ロッドｃＧＭＰ門カチオン性チャネルの一次構造を決定した。オープンリーディングフレームは、それぞれ６９０残基および６８３残基のポリペプチドと推測され、８８％の配列相同性を示した。嗅覚ｃＡＭＰ門チャネルに対する視覚ｃＧＭＰ門チャネルの有意な配列相同性（５９％）が示された。ＲＮＡ転写物は、ヒト、マウス、およびイヌにおいて３．２ｋｂ長であることを見出した。体細胞ハイブリッドＤＮＡと組み合わせて用いたＰＣＲにより、Ｐｉｔｔｌｅｒら（１９９２）は、ＣＮＣＧ遺伝子をセントロメア付近の４ｐ１４～ｑ１３にマッピングした。種間交配ハプロタイプ分析により、マウスにおける対応する遺伝子Ｃｎｃｇを第５染色体上のＫｉｔ遺伝子座に近位の０．９ｃＭ部位にマッピングした。Ｇｒｉｆｆｉｎら（１９９３）は、インサイチュハイブリダイゼーションにおける蛍光度により、ＣＮＣＧ１遺伝子を４ｐ１２－ｃｅｎにマッピングした。ロッドｃＧＭＰ　ＰＤＥβポリペプチド（ＰＤＥＢ；１８００７２）もまた４ｐ、４ｐ１６．３にマッピングされることは注目すべきことである。

【０１９７】

（本発明の組成物の使用）

ＭＯＬ１０についてのタンパク質の相同性の情報、発現パターン、および地図の配置は、それが環状ヌクレオチド門チャネルファミリーの重要な構造および／または生理学的な機能特徴を有することを示唆する。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用途において、および研究ツールとして有用である。これらとしては、特異的または選択的な核酸またはタンパク質診断および／または予後マーカーとしての使用（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）、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）タンパク質治療剤、（ｉｉ）低分子薬物標的、（ｉｉｉ）抗体標的（治療用抗体、診断用抗体、薬物標的／細胞障害性抗体）、（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）、および（ｖ）インビトロまたはインビボでの組織再生を推進する組成物（ｖｉ）生物学的防御手段。

【０１９８】

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および／または他の病理において関係する潜在的な診断および治療用途において有用である。例えば、本発明の組成物は、以下の疾患に罹患した患者の処置に対する効果を有する：色盲、ＣＮＳ発達障害、および類似の他の疾患、障害ならびに状態。

【０１９９】

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有用である。

【０２００】
本発明のＭＯＬＸ核酸およびタンパク質の要約を表１１に提供する。
【０２０１】
（表１１：本発明の核酸およびタンパク質の要約）
【０２０２】
【表５１】

名称	表	クローン：ホモログの説明	核酸配列番号	アミノ酸配列番号
MOL1	1A, 1B,	MOL1: GM_79960178	1	2
MOL2	2A, 2B	MOL2: 20466828_EXT1	3	4
MOL3	3A, 3B	MOL3: 82254077.0.1	5	6
MOL4	4A, 4B,	MOL4: AC004826	7	8
MOL5	5A, 5B,	MOL5: AC025535	9	10
MOL6	6A, 6B	MOL6a: GM_87760758_A	11	12
	6D, 6E	MOL6b: GM_87760758_A_da	13	14
MOL7	7A, 7B	MOL7: 30675745.0.499	15	16
MOL8	8A, 8B	MOL8a: 11800699-0-16	17	18
	8D, 8E	MOL8b: CG56222-01	19	20
MOL9	9A, 9B	MOL9a: 19506719_B_EXT	21	22
	9D, 9E	MOL9b: 19506719_B_EXT-S773	23	24
	9F, 9G	MOL9c: CG56222-01	25	26
MOL10	10A, 10B	MOL10a GM98960647_A	27	28
	10D, 10E	MOL10b CG54557-02	29	30

（ＭＯＬＸ核酸およびポリペプチド）
本発明の１つの局面は、ＭＯＬＸポリペプチドまたはそれらの生物学的に活性な部分をコードする単離された核酸分子に関する。また、ＭＯＬＸをコードする核酸（例えば、ＭＯＬＸ　ｍＲＮＡ）を同定するためにハイブリダイゼーションプローブとして使用するための十分な核酸フラグメントおよびＭＯＬＸ核酸分子の増幅および／または変異のためのＰＣＲプライマーとして使用するためのフラグメントも含まれる。本明細書において使用されるように、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産生されるＤＮＡまたはＲＮＡのアナログ、ならびにそれらの誘導体、フラグメントおよびホモログを含むことが意図される。核酸分子は、一本鎖または二本鎖であり得るが、好ましくは、二本鎖ＤＮＡである。
【０２０３】
ＭＯＬＸ核酸は、成熟ＭＯＬＸ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、本明細書中に記載されるポリペプチドまたはタンパク質の「成熟」形態は、天然に存在するポリペプチドあるいは前駆体形態またはプロタンパク質の産物である。天然に存在するポリペプチド、前駆体またはプロタンパク質としては、非限定的な例として、対応する遺伝子によってコードされる完全長遺伝子産物が挙げられる。あるいは、これは、本明細書中で記載されるＯＲＦによってコードされる、ポリペプチド、前駆体またはプロタンパク質として定義される。産物の「成熟」形態は、さらに非限定的な例として、遺伝子産物が産生される細胞中で発生し得る、１以上の天然に存在するプロセッシング工程の結果として発生する。ポリペプチドまたはタンパク質の「成熟」形態に導くこのようなプロセッシング工程の例としては、ＯＲＦの開始コドンによってコードされる、Ｎ－末端メチオニン残基の切断、またはシグナルペプチドまたはリーダー配列のタンパク分解性切断が挙げられる。従って、残基１～Ｎ（ここで、残基１は、Ｎ－末端メチオニンである）を有する、前駆体ポリペプチドまたはタンパク質から生じる成熟形態は、Ｎ－末端メチオニンの除去後に残った残基２～Ｎ末端を有する。あるいは、残基１～Ｎを有する前駆体ポリペプチドまたはタンパク質から生じる成熟形態（ここで、残基１～残基ＭのＮ末端シグナル配

列が切断される）は、残った残基Ｍ＋１～残基Ｎを有する。本明細書中でさらに使用されるように、ポリペプチドまたはタンパク質の「成熟」形態は、タンパク質分解性切断事象以外の、翻訳後改変事象の工程から生じ得る。このようなさらなるプロセスとしては、非制限例として、グリコシル化、ミリストイル化、またはリン酸化が挙げられる。一般に、成熟ポリペプチドまたは成熟タンパク質は、結果として、これらのプロセスの１つのみの作用、またはそれらの任意の組み合わせから得られ得る。

【０２０４】

本明細書中で使用する場合、用語「プローブ」とは、種々の長さの核酸配列をいい、好ましくは、特定の用途に依存して、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、メンブレンベースのハイブリダイゼーション技術またはＥＬＩＳＡのような技術において特異性を有するように設計される。

【０２０５】

本明細書中で使用する場合、用語「単離された」核酸分子は、この核酸の天然の供給源中に存在するその他の核酸分子から分離されている核酸分子である。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、種々の実施形態で、単離されたＭＯＬＸ核酸分子は、この核酸が由来する細胞のゲノムＤＮＡ中でこの核酸に天然で隣接する、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。

【０２０６】

本発明の核酸分子、例えば、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９のヌクレオチド配列を有する核酸分子、またはこれらのヌクレオチド配列の任意の相補体は、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、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９の核酸の全部または一部を使用して、ＭＯＬＸ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）を用いて単離され得る。

【０２０７】

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、ＭＯＬＸ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。

【０２０８】

本明細書で用いられる用語「オリゴヌクレオチド」は、一連の連結されたヌクレオチド残基をいい、このオリゴヌクレオチドは、ＰＣＲ反応で用いられ得る十分な数のヌクレオチド塩基を有する。短いオリゴヌクレオチド配列は、ゲノム配列もしくはｃＤＮＡ配列に基

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。１つの実施形態では、１００ｎｔ未満の長さの核酸分子を含むオリゴヌクレオチドは、さらに、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９の少なくとも６個連続するヌクレオチド、またはその相補体を含む。オリゴヌクレオチドは、化学的に合成され得、そしてプローブとして用いられ得る。

【０２０９】

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、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９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の相補体である核酸分子（例えば、プローブもしくはプライマーとして使用され得るフラグメント、またはＭＯＬＸ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）を含む。配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９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、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９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、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９に示される核酸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。

【０２１０】

本明細書で用いる用語「相補的」は、核酸分子のヌクレオチド単位間のＷａｔｓｏｎ－ＣｒｉｃｋまたはＨｏｏｇｓｔｅｅｎ塩基対形成をいい、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。

【０２１１】

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。

【０２１２】

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％、もしくは９５％もの同一性（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。

【０２１３】

「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、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸタンパク質をコードするヌクレオチド配列を含まない。相同核酸配列は、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９の保存的アミノ酸置換（以下を参照のこと）、ならびにＭＯＬＸ活性を有するポリペプチドをコードする核酸配列を含む。ＭＯＬＸタンパク質の生物学的活性は以下に記載されている。

【０２１４】

ＭＯＬＸポリペプチドは、ＭＯＬＸ核酸のオープンリーディングフレーム（「ＯＲＦ」）によってコードされる。ＯＲＦは、潜在的にポリペプチドに翻訳され得るヌクレオチド配列に対応する。ＯＲＦを含む核酸のストレッチは、終止コドンにより中断されない。完全タンパク質のコード配列を示すＯＲＦは、ＡＴＧ「開始」コドンで始まり、そして３つの「停止」コドン、すなわち、ＴＡＡ、ＴＡＧ、またはＴＧＡの１つで停止する。本発明の目的には、ＯＲＦは、開始コドン、ストップコドン、またはその両方をともなうか、またはそれらのないコード配列の任意の部分であり得る。真実の細胞タンパク質をコードするための良好な候補として考慮されるべきＯＲＦには、最小サイズの要求（例えば、５０アミノ酸またはそれ以上のタンパク質をコードするＤＮＡのストレッチ）がしばしば設定される。

【０２１５】

ヒトＭＯＬＸ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ＭＯＬＸホモログ、ならびに他の哺乳動物由来のＭＯＬＸ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、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９の少なくとも約１２個、約２５個、約５０個、約１００個、約１５０個、約２００個、約２５０個、約３００個、約３５０個または約４００個以上の連続するセンス鎖ヌクレオチド配列；または配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９；あるいは配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９の天然に存在する変異体の少なくとも約１２個、約２５個、約５０個、約１００個、約１５０個、約２００個、約２５０個、約３００個、約３５０個または約４００個以上の連続するセンス鎖ヌクレオチド配列に、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列の領域を含む。

【０２１６】

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

【０２１７】

「ＭＯＬＸ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。「ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸの生物学的活性（ＭＯＬＸ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、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９の一部を単離し、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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。

【０２１８】

（ＭＯＬＸ核酸およびポリペプチド改変体）

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、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９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する。したがって、これらの核酸は、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９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ＭＯＬＸ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、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８および３０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。

【０２１９】

配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９に示されるヒトＭＯＬＸヌクレオチド配列に加えて、ＭＯＬＸ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。ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸタンパク質、好ましくは哺乳動物のＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸの機能的活性を変化させない、ＭＯＬＸ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。

【０２２０】

さらに、他の種由来のＭＯＬＸタンパク質をコードし、従って、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９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ＭＯＬＸの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ＭＯＬＸ核酸に対するその相同性に基づいて、ストリンジェント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。

【０２２１】
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条件下で配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９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または２０００ヌクレオチド長である。別の実施形態では、本発明の単離された核酸分子は、コード領域にハイブリダイズする。本明細書中で用いられる場合、用語「ストリンジェント条件下でハイブリダイズする」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は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。

【０２２２】
ホモログ（すなわち、ヒト以外の種由来のＭＯＬＸ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（ｐａｒａｌｏｇｓ））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。

【０２２３】
本明細書で用いられる場合、語句「ストリンジェントハイブリダイゼーション条件」は、その条件下で、プローブ、プライマーまたはオリゴヌクレオチドが、その標的配列にハイブリダイズするが、その他の配列にはハイブリダイズしない条件をいう。ストリンジェントな条件は配列依存性であり、そして異なる状況で異なる。より長い配列は、より短い配列より高い温度で特異的にハイブリダイズする。一般に、ストリンジェントな条件は、規定されたイオン強度およびｐＨで、特定の配列の熱融解点（T_m）より約５℃低いように選択される。この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。

【０２２４】
ストリンジェント条件は、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。ストリンジェント条件下で配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９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。

【０２２５】
第２の実施形態では、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９またはそれらのフラグメント、アナログもしくは誘導体のヌクレオチド配列を含む核酸分子に、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。

【０２２６】
第３の実施形態では、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９、またはそれらのフラグメント、アナログもしくは誘導体のヌクレオチド配列を含む核酸分子に、低ストリンジェンシー条件下でハイブリダイズし得る核酸が提供される。低ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件の非限定的な例は、３５％ホルムアミド、５×ＳＳＣ、５０ ｍＭ 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）デキストラン硫酸中での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中での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。

【０２２７】
（保存的変異）
集団中に存在し得る、ＭＯＬＸ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、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９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、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８および３０の配列において行われ得る。「非必須」アミノ酸残基は、生物学的活性を有意に変更することなく、ＭＯＬＸ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、生物学的活性に必要とされる。例えば、本発明のＭＯＬＸ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。保存的置換が行われ得るアミノ酸は、当該分野で周知である。

【０２２８】
本発明の別の局面は、活性に必須ではないアミノ酸残基における変化を含む、ＭＯＬＸタンパク質をコードする核酸分子に関する。このようなＭＯＬＸタンパク質は、アミノ酸配列が、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８および３０とは異なるが、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、それぞれ、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８および３０のアミノ酸配列に少なくとも約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、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８および３０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、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８および３０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、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８および３０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、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８および３０に少なくとも約９０％相同性であり、最も好ましくは配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８および３０に少なくとも９５％相同性である。

【０２２９】

配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８および３０のタンパク質に相同なＭＯＬＸ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、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９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。

【０２３０】

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、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８および３０のヌクレオチド配列に導入され得る。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、アルパラギン酸、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、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９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。

【０２３１】

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。置換アミノ酸は、十分に保存される「強い」残基であり得るか、または十分に保存される「弱い」残基であり得る。保存的アミノ酸残基の「強い」群は、以下の群：ＳＴＡ、ＮＥＱＫ、ＮＨＱＫ、ＮＤＥＱ、ＱＨＲＫ、ＭＩＬＶ、ＭＩＬＦ、ＨＹ、ＦＹＷのうちのいずれか１つであり得、ここで一文字のアミノ酸コードは、互いに置換され得るアミノ酸により分類される。同様に、保存的残基の「弱い」群は、以下：ＣＳＡ、ＡＴＶ、ＳＡＧ、ＳＴＮＫ、

ＳＴＰＡ、ＳＧＮＤ、ＳＮＤＥＱＫ、ＮＤＥＱＨＫ、ＮＥＱＨＲＫ、ＶＬＩＭ、ＨＦＹのうちのいずれか１つであり得、ここで各群内の文字は、一文字のアミノ酸コードを表す。

【０２３２】

１つの実施形態では、変異ＭＯＬＸタンパク質は、以下についてアッセイされ得る：（ｉ）他のＭＯＬＸタンパク質、他の細胞表面タンパク質、または生物学的に活性なそれらの部分と、タンパク質：タンパク質相互作用を形成する能力、（ｉｉ）変異ＭＯＬＸタンパク質と、ＭＯＬＸのレセプターとの間の複合体形成；または（ｉｉｉ）変異ＭＯＬＸ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）。

【０２３３】

さらに別の実施形態において、変異ＭＯＬＸタンパク質は、特異的な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。

【０２３４】

（アンチセンス核酸）

本発明の別の局面は、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９またはそのフラグメント、アナログもしくは誘導体のヌクレオチド配列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ＭＯＬＸ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、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８および３０のＭＯＬＸ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、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７および２９のＭＯＬＸ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。

【０２３５】

１つの実施形態では、アンチセンス核酸分子は、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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）。

【０２３６】

本明細書中に開示されるＭＯＬＸ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の塩基対合の規則に従って設計され得る。アンチセンス核酸分子は、ＭＯＬＸ　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、ＭＯＬＸ　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、ＭＯＬＸ　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、化学的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）。
【０２３７】
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）。
【０２３８】
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、ＭＯＬＸ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、二重らせんの深いほうの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（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って）。この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。アンチセンス分子の十分な細胞内濃度を達成するために、アンチセンス核酸分子が強力な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。
【０２３９】
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を形成し、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。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，１９８７，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。
【０２４０】
（リボザイムおよびＰＮＡ部分）

核酸の改変としては、非制限的な例として、改変塩基、および糖リン酸バックボーンが改変または誘導体化された核酸が挙げられる。これらの改変は、少なくとも一部は、改変された核酸の化学的安定性を増強するために実施され、その結果、それらは、例えば、被験体での治療的適用におけるアンチセンス結合核酸として使用され得る。

【０２４１】

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、ＨａｓｅｌｈｏｆｆおよびＧｅｒｌａｃｈ １９８８．Ｎａｔｕｒｅ ３３４：５８５－５９１に記載されるハンマーヘッド型リボザイム）を使用して、ＭＯＬＸ ｍＲＮＡ転写物を触媒的に切断し、それによってＭＯＬＸ ｍＲＮＡの翻訳を阻害し得る。ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ ｃＤＮＡのヌクレオチド配列（すなわち、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、および２９）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、ＭＯＬＸ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らの米国特許第４，９８７，０７１号およびＣｅｃｈらの米国特許第５，１１６，７４２号を参照のこと。ＭＯＬＸ ｍＲＮＡをまた使用して、ＲＮＡ分子のプールから、特異的リボヌクレアーゼ活性を有する触媒性ＲＮＡを選択し得る。例えば、Ｂａｒｔｅｌら（１９９３）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２６１：１４１１～１４１８を参照のこと。

【０２４２】

あるいは、ＭＯＬＸ遺伝子発現は、ＭＯＬＸ核酸の調節領域（例えば、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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。

【０２４３】

種々の実施形態において、ＭＯＬＸ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．Ｂｉｏｏｒｇ Ｍｅｄ Ｃｈｅｍ ４：５－２３を参照のこと。本明細書中で使用される場合、用語「ペプチド核酸」または「ＰＮＡ」は、デオキシリボースリン酸骨格が偽ペプチド骨格によって置換され、そして４つの天然の核塩基（ｎｕｃｌｅｏｂａｓｅ）のみが保持されている核酸模倣物（例えば、ＤＮＡ模倣物）をいう。ＰＮＡの中性の骨格は、低いイオン強度の条件下でＤＮＡおよびＲＮＡに対する特異的ハイブリダイゼーションを可能にすることが示されている。ＰＮＡオリゴマーの合成は、Ｈｙｒｕｐら，１９９６．前出；Ｐｅｒｒｙ－Ｏ’Ｋｅｅｆｅら，１９９６．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９３：１４６７０－１４６７５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。

【０２４４】

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

Ｈｙｒｕｐら，１９９６，前出；Ｐｅｒｒｙ－Ｏ’Ｋｅｅｆｅら，１９９６，前出を参照のこと）、使用され得る。

【０２４５】

別の実施形態において、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸのＰＮＡ－ＤＮＡキメラが生成され得る。ＰＮＡ部分が高い結合親和性および特異性を提供する一方で、そのようなキメラは、ＤＮＡ認識酵素（例えば、ＲＮａｓｅ　ＨおよびＤＮＡポリメラーゼ）がＤＮＡ部分と相互作用するのを可能にする。ＰＮＡ－ＤＮＡキメラは、塩基のスタッキング、核塩基間の結合数および方向を考慮して選択される適切な長さのリンカーを使用して連結され得る（Ｈｙｒｕｐら，１９９６，前出を参照のこと）。ＰＮＡ－ＤＮＡキメラの合成は、Ｈｙｒｕｐら，１９９６，前出およびＦｉｎｎら，１９９６，Ｎｕｃｌ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ　２４：３３５７－３３６３において記載されるように行われ得る。例えば、ＤＮＡ鎖は、標準的なホスホ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－チミジンホスホルアミダイト）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モノマーは、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，前出を参照のこと。あるいは、５’ＤＮＡセグメントおよび３’ＰＮＡセグメントを用いて、キメラ分子が合成され得る。例えば、Ｐｅｔｅｒｓｅｎら，１９７５，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．５：１１１９～１１１２４を参照のこと。

【０２４６】

他の実施形態において、オリゴヌクレオチドは、以下のような他の付属の基を含み得る：ペプチド（例えば、インビボで宿主細胞レセプターを標的化するため）、または細胞膜を横切る輸送を容易にする因子（例えば、Ｌｅｔｓｉｎｇｅｒら、１９８９、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８６：６５５３～６５５６；Ｌｅｍａｉｔｒｅら、１９８７、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．８４：６４８～６５２；ＰＣＴ公開番号ＷＯ８８／０９８１０を参照のこと）、または血液脳関門（例えば、ＰＣＴ公開番号ＷＯ８９／１０１３４を参照のこと）。さらに、オリゴヌクレオチドは、ハイブリダイゼーション誘発切断剤（例えば、Ｋｒｏｌら、１９８８、ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　６：９５８～９７６を参照のこと）、またはインターカレーター剤（例えば、Ｚｏｎ，１９８８、Ｐｈａｒｍ．Ｒｅｓ．５：５３９～５４９を参照のこと）で改変され得る。この目的のために、オリゴヌクレオチドは、別の分子（例えば、ペプチド、ハイブリダイゼーション誘発架橋剤、輸送剤、ハイブリダイゼーション誘発切断剤など）に結合され得る。

【０２４７】

（ＭＯＬＸポリペプチド）

本発明に従うポリペプチドは、配列が配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０に提供されるＭＯＬＸポリペプチドのアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む。本発明はまた、なおそのＭＯＬＸ活性および生理学的機能を維持するタンパク質、またはその機能的フラグメントをコードするが、その任意の残基が配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０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。

【０２４８】

一般に、ＭＯＬＸ様機能を保持するＭＯＬＸ改変体は、配列中の特定位置の残基が他のアミノ酸により置換され、そしてさらに、親タンパク質の２つの残基間にさらなる残基を挿

入する可能性、および親配列から１つ以上の残基を欠失する可能性を含む。任意のアミノ酸置換、挿入または欠失が、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。

【０２４９】

本発明の１つの局面は、単離されたＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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。

【０２５０】

「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の生物学的に活性な部分は、ＭＯＬＸタンパク質の由来する細胞または組織供給源由来の細胞性物質または他の夾雑タンパク質を実質的に含まないか、あるいは化学合成される場合に化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まない。用語「細胞性物質を実質的に含まない」は、ＭＯＬＸタンパク質の調製物を含み、この調製物において、ＭＯＬＸ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分離されている。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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸタンパク質を約２０％未満、なおより好ましくは非ＭＯＬＸタンパク質を約１０％未満、そして最も好ましくは非ＭＯＬＸタンパク質を約５％未満有する、ＭＯＬＸタンパク質の調製物を含む。ＭＯＬＸタンパク質またはその生物学的に活性な部分が組換え産生される場合、好ましくは、培養培地を実質的に含まない。すなわち、培養培地は、そのタンパク質調製物の容量の約２０％未満、より好ましくは約１０％未満、そして最も好ましくは約５％未満を示す。

【０２５１】

用語「化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まない」は、タンパク質が、そのタンパク質の合成に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ＭＯＬＸタンパク質の調製物を含む。１つの実施形態において、用語「化学前駆体または他の化学物質を実質的に含まない」は、化学前駆体または非ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ化学物質を約５％未満有する、ＭＯＬＸタンパク質の調製物を含む。

【０２５２】

ＭＯＬＸタンパク質の生物学的に活性な部分は、全長ＭＯＬＸタンパク質より少ないアミノ酸を含み、そしてＭＯＬＸタンパク質の少なくとも１つの活性を示す、ＭＯＬＸタンパク質のアミノ酸配列（例えば、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０に示されるアミノ酸配列）に十分に相同なアミノ酸配列、またはＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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。ＭＯＬＸ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。

【０２５３】

さらに、タンパク質の他の領域が欠失している他の生物学的に活性な部分は、組換え技術によって調製され得、そしてネイティブなＭＯＬＸ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。

【０２５４】
１つの実施形態において、ＭＯＬＸタンパク質は、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０に示されるアミノ酸配列を有する。他の実施形態において、ＭＯＬＸタンパク質は、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０に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、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０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、ＭＯＬＸタンパク質は、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０のアミノ酸配列に少なくとも約４５％相同なアミノ酸配列を含み、そして、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０のＭＯＬＸタンパク質の機能的活性を保持するタンパク質である。

【０２５５】
（２つ以上の配列間の相同性の決定）
２つのアミノ酸配列または２つの核酸の相同性の百分率を決定するために、配列は、至適な比較の目的のために整列される（例えば、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、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）。

【０２５６】
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、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、および２９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。

【０２５７】
用語「配列同一性」は、２つのポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列が、特定の比較領域にわたって、残基毎を基準として同一である程度をいう。用語「配列同一性のパーセンテージ」は、以下により算出される：この比較領域にわたって最適に整列された２つの配列を比較すること、両方の配列において同一の核酸塩基（例えば、核酸の場合にはＡ、Ｔ、Ｃ、Ｇ、Ｕ、またはＩ）が存在する位置の数を決定し、一致した位置の数を導くこと、この一致した位置の数を、比較領域の内の位置の総数（すなわち、ウインドウサイズ）で除算すること、およびその結果を１００で乗算して、配列同一性のパーセンテージを導くこと。用語「実質的な同一性」は、本明細書中で使用される場合、ポリヌクレオチド配列の特徴を示し、ここでこのポリヌクレオチドは、比較領域にわたり参照配列と比較して、少なくとも８０％の配列同一性、好ましくは少なくとも８５％の配列同一性、そして頻繁には９０～９５％の配列同一性、より通常には少なくとも９９％の配列同一性を有する配列を含む。

【０２５８】
（キメラタンパク質および融合タンパク質）
本発明はまた、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ「キメラタンパク質」またはＭＯＬＸ「融合タンパク質」は、非ＭＯＬＸポリペプチドに作動可能に連結された、ＭＯＬＸポリペプチドを含む。「ＭＯＬＸポリペプチド」は、ＭＯＬＸタンパク質（配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０）に対応するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいうが、「非ＭＯＬＸポリペプチド」は、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸタンパク質とは異なり、かつ同一でかまたは異なる生物体に由来するタンパク質）に対応するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいう。ＭＯＬＸ融合タンパク質において、このＭＯＬＸポリペプチドは、ＭＯＬＸタンパク質の全てまたは一部分に対応し得る。１つの実施形態では、ＭＯＬＸ融合タンパク質は、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ融合タンパク質は、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ融合タンパク質は、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸポリペプチドおよび非ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸポリペプチドは、ＭＯＬＸポリペプチドのＮ末端またはＣ末端に融合され得る。

【０２５９】

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

【０２６０】

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ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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加され得る。

【０２６１】

なお別の実施形態において、この融合タンパク質は、ＭＯＬＸ－免疫グロブリン融合タンパク質であり、ここで、ＭＯＬＸ配列が、免疫グロブリンタンパク質ファミリーのメンバーに由来する配列に融合される。本発明のこのＭＯＬＸ－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ＭＯＬＸリガントとＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ媒介シグナル伝達を抑制し得る。このＭＯＬＸ－免疫グロブリン融合タンパク質を用い、ＭＯＬＸ同族リガンドの生体利用性に影響を与え得る。ＭＯＬＸリガンド／ＭＯＬＸ相互作用の阻害は、増殖障害および分化障害の両方の処置、および細胞生存性を調節（例えば、促進または阻害）するために、治療的に有用であり得る。さらに、本発明のこのＭＯＬＸ－免疫グロブリン融合タンパク質は、被験体中で抗ＭＯＬＸ抗体を産生するための免疫原として用いられ得、ＭＯＬＸリガンドを精製し、そしてＭＯＬＸリガンドとのＭＯＬＸの相互作用を阻害する分子を同定するスクリーニングアッセイで用いられ得る。

【０２６２】

本発明のＭＯＬＸキメラまたは融合タンパク質は、標準的な組換えＤＮＡ技法により産生され得る。例えば、異なるポリペプチド配列をコードするＤＮＡフラグメントを、従来の技法に従って、例えば、連結のための平滑末端または粘着（ｓｔａｇｇｅｒ）末端、適切な末端を提供するための制限酵素消化、必要に応じて粘着（ｃｏｈｅｓｉｖｅ）末端のフィルイン、所望しない連結を避けるためのアルカリホスファターゼ処理、および酵素的連結を採用することにより、インフレームで一緒に連結する。別の実施形態では、融合遺伝子を、自動化ＤＮＡ合成機を含む従来技法により合成し得る。あるいは、遺伝子フラグメントのＰＣＲ増幅を、キメラ遺伝子配列を生成するために次いでアニールおよび再増幅され得る、２つの連続遺伝子フラグメント間の相補的なオーバーハングを生じるアンカープライマーを用いて実施し得る（例えば、Ａｕｓｂｅｌら（編）ＣＵＲＲＥＮＴ　ＰＲＯＴＯＣＯＬＳ　ＩＮ　ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ　ＢＩＯＬＯＧＹ、Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏ

ｎｓ、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。ＭＯＬＸをコードする核酸は、この融合成分がＭＯＬＸタンパク質にインフレーム連結されるように、このような発現ベクター中にクローン化され得る。

【０２６３】

（ＭＯＬＸアゴニストおよびアンタゴニスト）

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

【０２６４】

ＭＯＬＸアゴニスト（すなわち、模倣物）またはＭＯＬＸアンタゴニストのいずれかとして機能するＭＯＬＸタンパク質の改変体は、ＭＯＬＸタンパク質アゴニストまたはアンタゴニスト活性のためのＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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。ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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存在する。縮重遺伝子配列の化学的合成は、自動化ＤＮＡ合成機中で実施され得、次いでこの合成遺伝子は、適切な発現ベクター中に連結される。遺伝子の縮重セットの使用は、１つの混合物において、潜在的なＭＯＬＸ配列の所望のセットをコードする配列のすべての供給を可能にする。縮重オリゴヌクレオチドを合成する方法は当該分野で周知である。例えば、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。

【０２６５】

（ポリペプチドライブラリー）

さらに、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸコード配列の二本鎖ＰＣＲフラグメントを、１分子あたり約１つのみのニックが生じる条件下にてヌクレアーゼで処理すること、二本鎖ＤＮＡを変性させること、異なるニック産物からのセンス／アンチセンス対を含み得る二本鎖ＤＮＡを形成するためにこのＤＮＡを再生すること、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し得る。この方法により、ＭＯＬＸタンパク質の種々のサイズのＮ末端および内部フラグメントをコードする発現ライブラリーが、派生し得る。

【０２６６】
点変異または短縮により作成されたコンビナトリアルライブラリーの遺伝子産物をスクリーニングするため、選択された性質を有する遺伝子産物のｃＤＮＡライブラリーをスクリーニングするための種々の技術が、当該分野で公知である。このような技法を、ＭＯＬＸタンパク質のコンビナトリアル変異誘発により生成された遺伝子ライブラリーの迅速スクリーニングに適用可能である。大きな遺伝子ライブラリーをスクリーニングするための、高スループット分析に適した最も広く用いられる技法は、代表的には、遺伝子ライブラリーを複製可能な発現ベクター中にクローニングすること、得られるベクターのライブラリーで適切な細胞を形質転換すること、およびこのコンビナトリアル遺伝子を、所望の活性の検出が、その産物が検出された遺伝子をコードするベクターの単離を容易にする条件下で発現することを含む。ライブラリー中の機能的変異体の頻度を増大する新規技法であるリクルーシブエンセブル変異誘発（ＲＥＭ）を、スクリーニングアッセイと組み合わせて用い、ＭＯＬＸ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。

【０２６７】
（抗ＭＯＬＸ抗体）
本発明は、本発明の任意のＭＯＬＸポリペプチドに免疫特異的に結合する、Ｆａｂまたは（Ｆａｂ）$_2$のような抗体または抗体フラグメントを包含する。

【０２６８】
単離されたＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸタンパク質が用いられ得るか、あるいは、本発明は、免疫原としての使用のためのＭＯＬＸタンパク質の抗原性ペプチドフラグメントを提供する。ＭＯＬＸの抗原性ペプチドは、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０で示されるアミノ酸配列の少なくとも４アミノ酸残基を含み、そしてこのペプチドに対して惹起された抗体がＭＯＬＸと特異的な免疫複合体を形成するように、ＭＯＬＸ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。

【０２６９】
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ＭＯＬＸの領域、例えば、親水性領域である。抗体産生を標的化する手段として、親水性および疎水性の領域を示すヒドロパシープロットを、例えば、フーリエ変換を伴うかまたは伴わないかのいずれか、Ｋｙｔｅ ＤｏｏｌｉｔｔｌｅまたはＨｏｐｐ Ｗｏｏｄｓ法を含む、当該分野で周知の任意の方法により生成し得る（例えば、ＨｏｐｐおよびＷｏｏｄｓ、１９８１、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７８：３８２４－３８２８；ＫｙｔｅおよびＤｏｏｌｉｔｔｌｅ １９８２、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５７：１０５－１４２を参照のこと。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）。

【０２７０】
本明細書で開示されるように、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０のＭＯＬＸタンパク質配列、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を、これらのタンパク質成分に免疫特異的に結合する抗体の産生における免疫原として利用し得る。本明細書で用いる用語「抗体」は、免疫グロブリン分子、および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、すなわち、ＭＯＬＸのような抗原に特異的に結合（免疫反応）する抗原結合部位を含む分子

をいう。このような抗体は、制限されずに、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、単鎖抗体、F_{ab}フラグメントおよび$F_{(ab')_2}$フラグメント、ならびにF_{ab}発現ライブラリーを含む。特定の実施形態では、ヒトＭＯＬＸ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、４、６、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、および３０のＭＯＬＸタンパク質配列、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対するポリクローナル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。

【０２７１】

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、もしくはその合成改変体、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ＭＯＬＸタンパク質または化学的に合成されたＭＯＬＸポリペプチドを含有し得る。この調製物は、アジュバントをさらに含み得る。免疫学的応答を増大するために用いられる種々のアジュバントは、制限されずに、フロイントアジュバント（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）、Ｂａｃｉｌｌｅ Ｃａｌｍｅｔｔｅ－ＧｕｅｒｉｎおよびＣｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｐａｒｖｕｍのようなヒトアジュバント、または類似の免疫刺激剤を含む。所望であれば、ＭＯＬＸに対して惹起された抗体分子は、哺乳動物（例えば、血液）から単離され、そしてさらに、ＩｇＧ画分を得るために、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得る。

【０２７２】

本明細書で用いられる場合、用語「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」は、ＭＯＬＸ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、代表的には、モノクローナル抗体組成物は、それと免疫反応する特定のＭＯＬＸタンパク質に対し、単一の結合親和性を示す。特定のＭＯＬＸタンパク質、またはその誘導体、フラグメント、アナログもしくはホモログに対して惹起された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。このような技術は、制限されずに、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）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）を含む。ヒトモノクローナル抗体を、本発明の実施において利用し得、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）産生し得る。上記の引用の各々は、それらの全体が参考として本明細書に援用される。

【０２７３】

本発明によれば、技術は、ＭＯＬＸ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}発現ライブラリーの構築のために適合されて（例えば、Ｈｕｓｅら、１９８９ Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４６：１２７５－１２８１を参照のこと）、ＭＯＬＸ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。ＭＯＬＸ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、これには、制限されないで：（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Ｆａｂ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。

【０２７４】

さらに、ヒトおよび非ヒト部分の両方を含むキメラ抗体およびヒト化モノクローナル抗体のような、組換え抗ＭＯＬＸ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。上記引用の各々は、それらの全体において参考として本明細書中に援用される。

【０２７５】

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は、当該分野内で公知の酵素結合イムノソルベント検定法（ＥＬＩＳＡ）および他の免疫学的に媒介された技術を含むが、これに限定されない。特定の実施形態において、ＭＯＬＸタンパク質の特定のドメインに対して特異的である抗体の選抜は、このようなドメインを所有しているＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸタンパク質、またはそれらの誘導体、フラグメント、アナログまたはホモログ内の所望のドメインに対して特異的である抗体がまた、本明細書において提供される。

【０２７６】

抗ＭＯＬＸ抗体は、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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対する抗体（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。

【０２７７】

抗ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸポリペプチドを単離するために用いられ得る。抗ＭＯＬＸ抗体は、細胞からの天然のＭＯＬＸポリペプチド、そして宿主細胞において発現される組換え的に産生されたＭＯＬＸポリペプチドの精製を容易にし得る

。さらに、抗ＭＯＬＸ抗体が、（例えば、細胞の溶解産物または細胞上清における）ＭＯＬＸタンパク質を検出するために用いられて、ＭＯＬＸタンパク質の発現のアバンダンスおよびパターンを評価し得る。抗ＭＯＬＸ抗体は、例えば、所定の治療レジメンの有効性を決定するために、臨床試験の手順の一部として、組織におけるタンパク質レベルを診断的にモニターするために用いられ得る。検出は、抗体を検出可能物質に結合する（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；適切な補欠分子族複合体の例としては、ストレプトアビジン／ビオチンおよびアビジン／ビオチンが挙げられる；適切な蛍光物質の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミン（ｄｉｃｈｌｏｒｏｔｒｉａｚｉｎｙｌａｍｉｎｅ）フルオレセイン、ダンシルクロリドまたはフィコエリトリンが挙げられる；発光物質の例としては、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。

【０２７８】

（ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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、ウイルス性ベクターであり、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、それらが作動可能に連結され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、ウイルス性ベクター（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。

【０２７９】

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。

【０２８０】

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得、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、ＭＯＬＸタンパク質、ＭＯＬＸ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。

【０２８１】

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、ＭＯＬＸタンパク質発現のために設計され得る。例えば、ＭＯＬＸ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。

【０２８２】

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

【０２８３】

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。

【０２８４】

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。

【０２８５】

別の実施形態において、ＭＯＬＸ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（Ｓｃｈｕｌｔｚら、（１９８７）Ｇｅｎｅ　５４：１１３－１２３）、ｐＹＥＳ２（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．）、およびｐｉｃＺ（ＩｎＶｉｔｒｏｇｅｎ　Ｃｏｒｐ．，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．）が挙げられる。

【０２８６】

あるいは、ＭＯＬＸ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。

【０２８７】

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。

【０２８８】

別の実施形態において、組換え哺乳動物発現ベクターは、特定の細胞型（例えば、組織特異的調節エレメントを使用して核酸を発現する）中で優先的に核酸の発現を指示し得る。組織特異的調節エレメントは、当該分野で公知である。適切な組織特異的なプロモーターの非限定的な例には、アルブミンプロモーター（肝臓特異的；Ｐｉｎｋｅｒｔら（１９８７）Ｇｅｎｅｓ　Ｄｅｖ．１：２６８－２７７）、リンパ特異的プロモーター（ＣａｌａｍｅおよびＥａｔｏｎ（１９８８）Ａｄｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．４３：２３５－２７５）、Ｔ細胞レセプターの特定のプロモーターにおいて（ＷｉｎｏｔｏおよびＢａｌｔｉｍｏｒｅ（１９８９）ＥＭＢＯ　Ｊ．８：７２９－７３３）および免疫グロブリンの特定のプロモーターにおいて（Ｂａｎｅｒｊｉら（１９８３）Ｃｅｌｌ　３３：７２９－７４０；ＱｕｅｅｎおよびＢａｌｔｉｍｏｒｅ（１９８３）Ｃｅｌｌ　３３：７４１－７４８）、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　２４９：３７

４－３７９）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）。

【０２８９】

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、ＭＯＬＸ ｍＲＮＡに対してアンチセンスであるＲＮＡ分子の発現（ＤＮＡ分子の転写によって）を可能にする様式で調節配列に作動可能に連結される。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。

【０２９０】

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、特定の改変は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、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。

【０２９１】

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、ＭＯＬＸ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。

【０２９２】

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容認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。

【０２９３】

哺乳動物細胞の安定な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、ＭＯＬＸ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）。

【０２９４】

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、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸタンパク質を産生するための方法を提供する。１つの実施形態において、本発明の方法は、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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、本発明はさらに、培地または宿主細胞からＭＯＬＸタンパク質を単離する工程を包含する。

【０２９５】

（トランスジェニックＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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。

【０２９６】

本発明のトランスジェニック動物は、ＭＯＬＸ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、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、および２９のヒトのＭＯＬＸ　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ＭＯＬＸ遺伝子の非ヒトホモログ（例えば、マウスのＭＯＬＸ遺伝子）は、ヒトのＭＯＬＸ　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、ＭＯＬＸタンパク質の発現を指示するように、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ 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、ＭＯＬＸ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。

【０２９７】

相同組換え動物を作製するために、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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）。ＭＯＬＸ遺伝子はヒト遺伝子（例えば、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、および２９のｃＤＮＡ）であり得るが、より好ましくは、ヒトのＭＯＬＸ遺伝子の非ヒトホモログである。例えば、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７、および２９のヒトのＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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）。

【０２９８】

あるいは、このベクターは、相同組換えに際して、内因性ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ遺伝子の変更された部分は、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ遺伝子と胚幹細胞中の内因性ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ遺伝子が内因性ＭＯＬＸ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）。

【０２９９】

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；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。

【０３００】

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。

【０３０１】

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。

【０３０２】

（薬学的組成物）

本発明のＭＯＬＸ核酸分子、ＭＯＬＸタンパク質、および抗ＭＯＬＸ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。

【０３０３】

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。

【０３０４】

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^{TM}（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。

【０３０５】

滅菌注射可能溶液は、必要量のこの活性化合物（例えば、ＭＯＬＸタンパク質または抗ＭＯＬＸ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。

【０３０６】

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）。

【０３０７】
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。
【０３０８】
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。
【０３０９】
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。
【０３１０】
１つの実施形態において、この活性化合物は、身体からの迅速な排出に対してこの化合物を保護するキャリアを用いて調製され（例えば、制御放出処方物）、これには、移植片およびマイクロカプセル化された送達系が挙げられる。酢酸エチレンビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸のような、生分解性、生体適合性ポリマーが使用され得る。このような処方物の調製のための方法は、当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。
【０３１１】
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、そしてこれらに直接依存する。
【０３１２】
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。
【０３１３】
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。
【０３１４】

（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を用いて、さらに以下に記載するように、ＭＯＬＸタンパク質を（例えば、遺伝子治療適用において、宿主細胞における組換え発現ベクターを介して）発現し得、ＭＯＬＸ　ｍＲＮＡ（例えば、生物学的サンプルにおいて）またはＭＯＬＸ遺伝子の遺伝子損傷を検出し得、そしてＭＯＬＸ活性を調節し得る。さらに、ＭＯＬＸタンパク質を用いて、ＭＯＬＸタンパク質活性または発現を調節する薬物もしくは化合物をスクリーニングし得、そしてＭＯＬＸタンパク質の不十分もしくは過剰な産生、または野生型ＭＯＬＸタンパク質に比べて減少もしくは異常な活性を有するＭＯＬＸ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（インス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する消耗性障害、および種々の癌、および感染性疾患（抗微生物活性を有する）、および種々の異脂肪血症）を処置し得る。さらに、本発明の抗ＭＯＬＸ抗体を用いて、ＭＯＬＸタンパク質を検出および単離し得、そしてＭＯＬＸ活性を調節し得る。なおさらなる局面において、本発明は、食欲、栄養の吸収および代謝性基質の解離をポジティブおよびネガティブの両方の様式において、影響する方法に用いられ得る。

【０３１５】
本発明はさらに、上記のように、本明細書において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新規な因子、および処置のためのその因子の使用に関する。

【０３１６】
（スクリーニングアッセイ）
本発明は、ＭＯＬＸタンパク質に結合するか、または例えば、ＭＯＬＸタンパク質発現もしくはＭＯＬＸタンパク質活性に刺激効果もしくは阻害効果を有する、調節因子、すなわち、候補物または試験化合物もしくは試験因子（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（本明細書ではまた、「スクリーニングアッセイ」とも呼ばれる）を提供する。本発明はまた、本明細書において記載されるスクリーニングアッセイにおいて同定される化合物を包含する。

【０３１７】
１つの実施形態において、本発明は、ＭＯＬＸタンパク質もしくはＭＯＬＸポリペプチドの膜結合形態、またはその生物学的に活性な部分に結合するかまたはその活性を調節する候補物また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、以下を含む、当該分野で公知のコンビナトリアルライブラリー法において任意の多数のアプローチを用いて得ることができる：生物学的ライブラリー；空間的に指定可能な平行固相または液相ライブラリー（ｓｐａｔｉａｌｌｙ　ａｄｄｒｅｓｓａｂｌｅ　ｐａｒａｌｌｅｌ　ｓｏｌｉｄ　ｐｈａｓｅ　ｏｒ　ｓｏｌｕｔｉｏｎ　ｐｈａｓｅ　ｌｉｂｒａｒｉｅｓ）；逆重畳を要する合成ライブラリー法（ｓｙｎｔｈｅｔｉｃ　ｌｉｂｒａｒｙ　ｍｅｔｈｏｄｓ　ｒｅｑｕｉｒｉｎｇ　ｄｅｃｏｎｖｏｌｕｔｉｏｎ）；「１ビーズ１化合物（ｏｎｅ－ｂｅａｄ　ｏｎｅ－ｃｏｍｐｏｕｎｄ）」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用い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つのアプローチが、化合物のペプチド、非ペプチドオリゴマー、または低分子の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。

【０３１８】
本明細書において用いる場合、「低分子（ｓｍａｌｌ　ｍｏｌｅｃｕｒｅ）」とは、約５ｋＤ未満、そして最も好ましくは約４ｋＤ未満の分子量を有する化合物をいうことを意図する。低分子は、例えば、核酸分子、ペプチド、ポリペプチド、ペプチド模倣物、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、細菌または藻類の抽出物）のライブラリーが、当該分野で公知であり、そして本発明の任意のアッセイを用いてスクリーニングされ得る。

【０３１９】
分子ライブラリーの合成のための方法の例が、当該分野、例えば、以下において見出されている：ＤｅＷｉｔｔら、１９９３．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９０：６９０９；Ｅｒｂら、１９９４．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９１：１１４２２；Ｚｕｃｋｅｒｍａｎｎら、１９９４．Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．３７：２６７８；Ｃｈｏら、１９９３．Ｓｃｉｅｎｃｅ ２６１：１３０３；Ｃａｒｒｅｌｌら，１９９４．Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．３３：２０５９；Ｃａｒｅｌｌら、１９９４．Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．３３：２０６１；および Ｇａｌｌｏｐら、１９９４．Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．３７：１２３３。

【０３２０】
化合物のライブラリーは、溶液において（例えば、Ｈｏｕｇｈｔｅｎ，１９９２．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ １３：４１２～４１２）、またはビーズ上に（Ｌａｍ，１９９１．Ｎａｔｕｒｅ ３５４：８２～８４）、チップ上に（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）またはファージ上に（ＳｃｏｔｔおよびＳｍｉｔｈ，１９９０．Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９：３８６～３９０；Ｄｅｖｌｉｎ，１９９０．Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９：４０４～４０６；Ｃｗｉｒｌａら，１９９０．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８７：６３７８～６３８２；Ｆｅｌｉｃｉ；１９９１．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：３０１～３１０；Ｌａｄｎｅｒ、米国特許第５，２３３，４０９号）存在し得る。

【０３２１】
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、このアッセイでＭＯＬＸタンパク質の膜結合形態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、そして試験化合物がＭＯＬＸタンパク質に結合する能力を決定する。この細胞は、例えば哺乳動物起源の細胞または酵母細胞であり得る。試験化合物がＭＯＬＸタンパク質に結合する能力を決定することは、例えば、放射性同位体または酵素標識と試験化合物を結合させ、これによりＭＯＬＸタンパク質、またはその生物学的に活性な部分に対する試験化合物の結合が、複合体中の標識された化合物を決定することにより決定され得ることによって達成され得る。例えば、試験化合物は直接または間接的のいずれかで、^{125}Ｉ、^{35}Ｓ、^{14}Ｃ、または^{3}Ｈで標識され得、そしてこの放射性同位体は放射線放出の直接カウントまたはシンチレーションカウントによって検出され得る。あるいは、試験化合物は、例えば、西洋ワザビペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、またはルシフェラーゼを用いて酵素的に標識され得、そしてこの酵素標識は産物への適切な基質の変換の検出によって検出され得る。１つの実施形態において、このアッセイは、ＭＯＬＸタンパク質の膜結合形態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、ＭＯＬＸに結合してアッセイ混合物を形成する既知の化合物と接触させる工程、このアッセイ混合物を試験化合物と接触させる工程、および試験化合物がＭＯＬＸタンパク質と相互作用する能力を決定する工程を包含する。ここで、試験化合物がＭＯＬＸ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、既知の化合物に比べて、ＭＯＬＸタンパク質またはその生物学的に活性な部分に優先的に結合する能力を決定する工程を包含する。

【０３２２】
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、このアッセイは、ＭＯＬＸタンパク質の膜結合形態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、およびこの試験化合物が、ＭＯＬＸ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する（例えば、刺激するかまたは阻害する）能力を決定する工程を包含する。試験化合物がＭＯＬＸ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は例えば、ＭＯＬＸタンパク質がＭＯＬＸ標的分子に結合するかま

たはこの分子と相互作用する能力を決定することにより達成され得る。本明細書において用いる場合、「標的分子」とは、ＭＯＬＸタンパク質が例えば、ＭＯＬＸ相互作用タンパク質を発現する細胞の表面上の分子、第二細胞の表面上の分子、細胞外環境における分子、細胞膜の内部表面に会合する分子、または細胞質分子に天然に結合するかまたは相互作用する分子である。ＭＯＬＸ標的分子は、本発明の非ＭＯＬＸ分子またはＭＯＬＸタンパク質またはＭＯＬＸポリペプチドであり得る。１つの実施形態において、ＭＯＬＸ標的分子は、細胞膜を通じる細胞内への細胞外シグナル（例えば、膜結合ＭＯＬＸ分子への化合物の結合によって生成されるシグナル）の伝達を容易にするシグナル伝達経路の構成要素である。この標的は、例えば、触媒活性を有する第二細胞内タンパク質、または下流シグナル伝達分子のＭＯＬＸとの会合を促進するタンパク質であり得る。

【０３２３】

ＭＯＬＸタンパク質が、ＭＯＬＸ標的分子と結合するかまたはこの分子と相互作用する能力を決定する工程は、直接結合を決定するための上記の方法の１つによって達成され得る。１つの実施形態において、ＭＯＬＸタンパク質がＭＯＬＸ標的分子と結合するかまたはこの分子と相互作用する能力を決定することは、この標的分子の活性を決定する工程により達成され得る。例えば、標的分子の活性は、標的の細胞性の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）の誘導を決定すること、標的の適切な基質の触媒活性／酵素活性を決定すること、レポーター遺伝子（検出可能マーカー、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ＭＯＬＸ反応性調節エレメントを含む）の誘導を決定すること、または、細胞性応答、例えば、細胞生存、細胞分化、もしくは細胞増殖を検出することにより決定され得る。

【０３２４】

なお別の実施形態において、本発明のアッセイは、無細胞アッセイであり、このアッセイは、ＭＯＬＸ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、およびこの試験化合物がＭＯＬＸ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を決定する工程を包含する。ＭＯＬＸタンパク質に対するこの試験化合物の結合は、上記のように直接または間接的のいずれかで決定され得る。このような実施形態の１つにおいて、このアッセイはＭＯＬＸタンパク質またはその生物学的に活性な部分を、ＭＯＬＸに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、およびこの試験化合物がＭＯＬＸタンパク質と相互作用する能力を決定する工程を包含する。ここでこの試験化合物がＭＯＬＸ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ＭＯＬＸまたはその生物学的に活性な部分に優先的に結合する能力を、既知の化合物と比較して、決定する工程を包含する。

【０３２５】

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、このアッセイは、ＭＯＬＸ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、およびこの試験化合物がＭＯＬＸ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ＭＯＬＸの活性を調節する能力を決定する工程は、例えば、ＭＯＬＸタンパク質が、直接結合を決定するための上記の方法の１つにより、ＭＯＬＸ標的分子に結合する能力を決定することによって、達成され得る。代替の実施形態において、試験化合物がＭＯＬＸタンパク質の活性を調節する能力を決定する工程は、ＭＯＬＸタンパク質がＭＯＬＸ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、適切な基質上の標的分子の触媒活性／酵素活性は、上記のように決定され得る。

【０３２６】

なお別の実施形態において、この無細胞アッセイは、ＭＯＬＸタンパク質またはその生物学的に活性な部分を、ＭＯＬＸタンパク質に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を試験化合物と接触する工程、およびこの試験化合物がＭＯＬＸタンパク質と相互作用する能力を決定する工程、を包含する。ここで

、この試験化合物がＭＯＬＸタンパク質と相互作用する能力を決定する工程は、このＭＯＬＸタンパク質がＭＯＬＸ標的分子と優先的に結合するかまたはＭＯＬＸ標的分子の活性を調節する能力を決定する工程を包含する。

【０３２７】

本発明の無細胞アッセイは、ＭＯＬＸタンパク質の可溶性形態または膜結合形態の両方の使用に受け入れられる。ＭＯＬＸタンパク質の膜結合形態を包含する無細胞アッセイの場合、ＭＯＬＸタンパク質の膜結合形態が溶液中に維持されるように因子を可溶化する工程を利用することが所望され得る。このような可溶化因子の例としては、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）、イソトリデシポリ（エチレングリコールエーテル）$_n$、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－クロラミドプロピル）ジメチルアミニオール－１－プロパンスルホネート（ＣＨＡＰＳ）、または３－（３－クロラミドプロピル）ジメチルアミニオール－２－ヒドロキシ－１－プロパンスルホネート（ＣＨＡＰＳＯ）のような非イオン性界面活性剤が挙げられる。

【０３２８】

本発明の上記のアッセイ方法の１つより多くにおいて、ＭＯＬＸタンパク質またはその標的分子のいずれかを固定して、このタンパク質の１つまたは両方の複合型でない形態と複合型形態を分離することを容易にすること、およびこのアッセイを自動化に適応させることが所望され得る。ＭＯＬＸタンパク質への試験化合物の結合、または候補化合物の存在下および非存在下での標的分子とのＭＯＬＸタンパク質の相互作用は、反応剤を入れるのに適切であればいずれの容器でも達成され得る。このような容器の例としては、マイクロタイタープレート、試験管、および微量遠心分離管が挙げられる。１つの実施形態において、融合タンパク質は、タンパク質の１つまたは両方がマトリックスに結合されることを可能にするドメインを付加され得る。例えば、ＧＳＴ－ＭＯＬＸ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、次いでこれらが試験化合物と、または試験化合物および非吸着標的タンパク質またはＭＯＬＸタンパク質のいずれかと混ぜ合わせられ、そしてこの混合物は、複合体形成につながる条件下（例えば、塩およびｐＨについて生理学的な条件）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、未結合の成分（ビーズの場合は固定されたマトリックス）をいずれも取り除き、例えば、上記のように、直接または間接的に複合体を決定する。あるいは、この複合体をマトリックスから分離し得、そして標準的な技術を用いてＭＯＬＸタンパク質結合または活性のレベルを決定し得る。

【０３２９】

マトリックス上でタンパク質を固定するための他の技術はまた、本発明のスクリーニングアッセイにおいて用いられ得る。例えば、ビオチンおよびストレプトアビジンの結合を利用して、ＭＯＬＸタンパク質またはその標的分子のいずれかを固定し得る。ビオチン化ＭＯＬＸタンパク質または標的分子を、当該分野で周知の技術（例えば、ビオチン化キット、Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，Ｉ１１．）を用いてビオチン－ＮＨＳ（Ｎ－ヒドロキシ－スクシンイミド）から調製し得、そしてストレプトアビジンでコートした９６ウェルプレート（Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ）のウェル中に固定し得る。あるいは、ＭＯＬＸタンパク質または標的分子と反応性の抗体は（しかし、ＭＯＬＸタンパク質がその標的分子へ結合することを阻害しない）は、プレートのウェルに対して誘導体化され得、そして未結合標的またはＭＯＬＸタンパク質が抗体結合体化によってこのウェルにトラップされ得る。ＧＳＴ固定複合体について上記された方法に加えて、このような複合体を検出するための方法としては、ＭＯＬＸタンパク質または標的分子と反応性の抗体を用いる複合体の免疫検出、およびＭＯＬＸタンパク質または標的分子と関

連する酵素活性を検出する工程に依る酵素結合アッセイが挙げられる。
【０３３０】
別の実施形態において、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ　ｍＲＮＡまたはタンパク質の発現が検出される方法において同定される。候補化合物の存在下でのＭＯＬＸ　ｍＲＮＡまたはタンパク質の発現のレベルを、候補化合物の非存在下におけるＭＯＬＸ　ｍＲＮＡまたはタンパク質の発現のレベルと比較する。次いでこの比較に基いて、候補化合物がＭＯＬＸ　ｍＲＮＡまたはタンパク質の発現のモジュレーターであることが同定され得る。例えば、ＭＯＬＸ　ｍＲＮＡまたはタンパク質の発現が、候補化合物の存在下において、その非存在下よりも大きい（すなわち、統計的に有意に大きい）場合、この候補化合物は、ＭＯＬＸ　ｍＲＮＡまたはタンパク質の発現の刺激因子であると同定される。あるいは、ＭＯＬＸ　ｍＲＮＡまたはタンパク質の発現が、候補化合物の存在下において、その非存在下よりも小さい（すなわち、統計的に有意に小さい）場合、この候補化合物は、ＭＯＬＸ　ｍＲＮＡまたはタンパク質の発現の阻害因子であると同定される。細胞中のＭＯＬＸ　ｍＲＮＡまたはタンパク質の発現のレベルは、ＭＯＬＸ　ｍＲＮＡまたはタンパク質を検出するための本明細書に記載の方法によって決定され得る。
【０３３１】
本発明の別の局面において、ＭＯＬＸタンパク質を、ツーハイブリッドアッセイまたはスリーハイブリッドアッセイ（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；ならびにＢｒｅｎｔ　ＷＯ　９４／１０３００）において「ベイトタンパク質」として用いて、ＭＯＬＸ（「ＭＯＬＸ結合タンパク質」すなわち「ＭＯＬＸ－ｂｐ」）に結合するかこれと相互作用し、そしてＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ結合タンパク質はまた、ＭＯＬＸタンパク質（例えば、ＭＯＬＸ経路の上流または下流のエレメント）によってシグナルの伝達に関与するようである。
【０３３２】
このツーハイブリッドシステムは、分離可能なＤＮＡ結合および活性化ドメインから構成される、ほとんどの転写因子のモジュラーの性質に基く。簡略に述べれば、このアッセイは、２つの異なるＤＮＡ構築物を利用する。１つの構築物において、ＭＯＬＸをコードする遺伝子は、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。他の構築物において、不明なタンパク質（「プレイ（ｐｒｅｙ）」または「サンプル」）をコードする、ＤＮＡ配列のライブラリー由来のＤＮＡ配列を、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する。「ベイト」タンパク質および「プレイ」タンパク質は、インビボで相互作用し得、ＭＯＬＸ依存性複合体を形成し、転写因子のＤＮＡ結合および活性化ドメインは、近くに接近される。この近接は、レポーター遺伝子（例えば、ＬａｃＺ）（この転写因子に反応性の転写調節部位に作動可能に連結している）の転写を可能にする。このレポーター遺伝子の発現を検出し、そして、機能的転写因子を含む細胞コロニーを単離し、そしてこれを用いて、ＭＯＬＸと相互作用するタンパク質をコードするクローニングした遺伝子を得ることができる。
【０３３３】
本発明はさらに、前述のスクリーニングアッセイによって同定された新規な因子および本明細書に記載されるような処置のためのその因子の使用に関与する。
【０３３４】
（検出アッセイ）
本明細書において同定されるｃＤＮＡ配列の部分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手段で用いることができる。例であって限定はしないが、これらの配列を用いて、以下（ｉ）染色体上のその各々の遺伝

子をマッピングして；これにより遺伝子疾患に関連する遺伝子領域を位置決めすること、：（ｉｉ）わずかな生物学的サンプルから個体を同定すること（組織型決定）；および（ｉｉｉ）生物学的サンプルの法医学的同定において補助すること、が可能である。これらの適用のいくつかを、下記の小セクションにおいて記載している。

【０３３５】

（染色体マッピング）

一旦、遺伝子の配列（またはその配列の一部）が単離されれば、この配列を用いて染色体上のこの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呼ばれる。従って、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７，および２９に示されるＭＯＬＸ配列の部分もしくはフラグメント、またはそのフラグメントもしくは誘導体を用いて、染色体上のＭＯＬＸ遺伝子の配置をそれぞれマッピングし得る。染色体に対するこのＭＯＬＸ配列のマッピングは、これらの配列を疾患に関連する遺伝子と関連付ける重要な最初の工程である。

【０３３６】

簡略には、ＭＯＬＸ遺伝子は、ＭＯＬＸ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って染色体にマッピングされ得る。ＭＯＬＸ配列のコンピューター分析を用いて、ゲノムＤＮＡ中の１つのエキソンをこえてまたがらないプライマー（したがって増幅プロセスを複雑にしない）を迅速に選択し得る。次いで、これらのプライマーを、個々のヒト染色体を含有する体細胞ハイブリッドのＰＣＲスクリーニングに用い得る。ＭＯＬＸ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フラグメントを生成する。

【０３３７】

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）を融合させることによって、体細胞ハイブリッドを調製する。ヒト細胞とマウス細胞のハイブリッドが成長し分裂する際、そのハイブリッドは、無作為な順序でヒト染色体を徐々に失うが、マウスの染色体は保持する。マウス細胞が増殖できない（なぜなら、それは特定の酵素を欠くため）が、ヒト細胞は増殖できる培地を用いることにより、必要な酵素をコードする遺伝子を含むヒト染色体の１つが維持される。種々の培地を用いることにより、ハイブリッド細胞株のパネルが樹立され得る。パネル中の各細胞株は、単一のヒト染色体か、または少数のヒト染色体のいずれか、およびマウス染色体の全セットを含み、これによって、特定のヒト染色体に対する個々の遺伝子の容易なマッピングが可能になる。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、転座および欠失を有するヒト染色体を用いることによって生成され得る。

【０３３８】

体細胞ハイブリッドのＰＣＲマッピングは、特定の染色体に対して特定の配列を割当てるための迅速な手順である。単一のサーマルサイクラーを用いて、１日あたり、３つ以上の配列を割当てることができる。オリゴヌクレオチドプライマーを設計するためのＭＯＬＸ配列を用い、特定の染色体由来のフラグメントのパネルを用いてサブ局在化を達成し得る。

【０３３９】

中期染色体開裂に対するＤＮＡ配列の蛍光インサイチュハイブリダイゼーション（ＦＩＳＨ）をさらに用いて、１工程で正確な染色体配置を提供し得る。細胞の分裂が、紡錘体を切断する化学物質様コルセミドによって中期にブロックされている細胞を用いて、染色体開裂がなされ得る。この染色体を、トリプシンで短時間処理し、次いでギムザ染色し得る。明るいバンドおよび暗いバンドのパターンが、各染色体上で発色し、その結果この染色体は個々に同定され得る。５００または６００塩基程度の短いＤＮＡ配列を用いて、ＦＩＳＨ法を用い得る。しかし、１，０００塩基より大きいクローンは、簡易な検出に十分なシグナル強度で特有の染色体位置に結合する可能性が、より高い。合理的な時間の長さで、良好な結果を得るには、好ましくは、１，０００塩基、そしてより好ましくは２，００

０塩基で十分である。この方法の概説については、Ｖｅｒｍａら、ＨＵＭＡＮ ＣＨＲＯＭＯＳＯＭＥＳ：Ａ ＭＡＮＵＡＬ ＯＦ ＢＡＳＩＣ ＴＥＣＨＮＩＱＵＥＳ（Ｐｅｒｇａｎｏｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ １９８８）を参照のこと。

【０３４０】

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

【０３４１】

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。

【０３４２】

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

【０３４３】

（組織型決定（ｔｉｓｓｕｅ ｔｙｐｉｎｇ））

本発明のＭＯＬＸ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。

【０３４４】

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

【０３４５】

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、固有の個体識別を提供し得る。本発明の配列は、個体由来および組織由来の配列のこのような識別を得るために使用され得る。本発明のＭＯＬＸ配列は、ヒトゲノムの部分を独特に表す。対立遺伝子のバリエーションは、これらの配列のコード領域においてある程度生じ得、そして非コード領域においてより大きな程度に生じる。個々のヒト間での対立遺伝子のバリエーションは、各５００塩基につき約１回の頻度で生じると推定される。対立遺伝子のバリエーションの多さは、制限フラグメント長多型（ＲＦＬＰ）を含む単一ヌクレオチド多型（ＳＮＰ

）に起因する。
【０３４６】
本明細書中で記載の配列の各々は、ある程度、標準物質（これに対して個体からのＤＮＡが識別の目的で比較され得る）として使用され得る。より多くの多型が非コード領域で生じるので、個体を区別するために、それほど多くの配列が必要であるわけではない。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、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７，および２９の配列）が使用される場合、ポジティブな個体識別に関するプライマーのより多くの適切な数は、５００～２，０００である。
【０３４７】
（予測医療）
本発明はまた、診断アッセイ、予後アッセイ、薬理遺伝学および臨床試験をモニタリングすることが、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、ＭＯＬＸタンパク質および／または核酸の発現、ならびにＭＯＬＸの活性を、生物学的サンプル（例えば、血液、血清、細胞、組織）の関連で決定し、これによって、異常なＭＯＬＸの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ための診断アッセイに関する。この疾患は、以下を含む：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、種々の異脂肪血症、肥満に関する種々の代謝障害、代謝異常症候群Ｘ、慢性病に関連する消耗障害、および種々の癌。本発明はまた、個体が、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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これらに関連した障害の発病の前に個体を予防的に処置する。
【０３４８】
本発明の別の局面は、個体におけるＭＯＬＸ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を選択する（本明細書において「薬理遺伝学」とよばれる）。薬理遺伝学は、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。
【０３４９】
本発明のなお別の局面は、臨床試験におけるＭＯＬＸ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。
【０３５０】
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。
【０３５１】
（診断アッセイ）
生物学的サンプルにおけるＭＯＬＸ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ＭＯＬＸタンパク質またはＭＯＬＸタンパク質をコードする核酸（例えば、ｍＲＮＡ、ゲノムＤＮＡ）を検出し得る化合物もしくは薬剤とを接触させ、その結果、ＭＯＬＸの存在が、その生物学的サンプルにおいて検出される、工程を包含する。ＭＯＬＸ　ｍＲＮＡもしくはゲノムＤＮＡを検出するための薬剤は、ＭＯＬＸ　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

ＭＯＬＸ核酸（例えば、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５、１７、１９、２１、２３、２５、２７，および２９の核酸）もしくはその部分の核酸（例えば、少なくとも、１５、３０、５０、１００、２５０もしくは５００ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドであり、ストリンジェントな条件下でＭＯＬＸ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。

【０３５２】

ＭＯＬＸのタンパク質を検出するための薬剤は、ＭＯＬＸ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であり得る。インタクトな抗体またはそのフラグメント（例えば、F_{ab}または$F_{(ab')_2}$）が使用され得る。本明細書中で使用される場合、用語「標識（された）」とは、プローブまたは抗体に関して、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。本明細書中で使用される場合、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、ＭＯＬＸのｍＲＮＡ、タンパク質またはゲノムＤＮＡを、生物学的サンプル中で、インビトロおよびインビボで検出し得る。例えば、ＭＯＬＸ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。ＭＯＬＸ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。ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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。

【０３５３】

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。

【０３５４】

別の実施形態において、これらの方法はさらに、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、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸのタンパク質、ｍＲＮＡもしくはゲノムＤＮＡの存在がその生物学的サンプルにおいて検出される、工程、およびそのコントロールサンプルにおけるＭＯＬＸのタンパク質、ｍＲＮＡもしくはゲノムＤＮＡの存在と、その試験サンプルにおけるＭＯＬＸ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。

【０３５５】

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

【０３５６】

（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、ＭＯＬＸの異常発現または異常活性に関連した疾患もしくは障害を有するかまたはその発症の危険にある被験体を同定し得る。例えば、本明細書に記載されるアッセイ（例えば、上述の診断アッセイまたは下記のアッセイ）を利用して、ＭＯＬＸのタンパク質、核酸の発現または活性に関連する障害またはその発症の危険に有る被験体を同定し得る。あるいは、この予後アッセイを利用して、疾患または障害を有するかまたはその発症の危険に有る被験体を同定し得る。従って、本発明は、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸのタンパク質または核酸の存在は、ＭＯＬＸの異常発現または異常活性に関連する疾患または障害を有するかまたはその発症の危険にある被験体についての診断指標である。本明細書において使用される場合、「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。

【０３５７】

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

【０３５８】

本発明の方法はまた、ＭＯＬＸ遺伝子における遺伝的損傷を検出し、それによって、その損傷遺伝子を有する被験体が異常な細胞増殖および／または分化によって特徴付けられる障害についての危険性を有するか否かを決定するためにも使用され得る。種々の実施形態において、この方法は、その被験体からの細胞のサンプルにおいて、ＭＯＬＸタンパク質をコードする遺伝子の完全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ＭＯＬＸ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）ＭＯＬＸ遺伝子からの１つ以上のヌクレオチドの欠失；（ｉｉ）ＭＯＬＸ遺伝子への１つ以上のヌクレオチドの付加；（ｉｉｉ）ＭＯＬＸ遺伝子の１つ以上のヌクレオチドの置換、（ｉｖ）ＭＯＬＸ遺伝子の染色体再配置；（ｖ）ＭＯＬＸ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）ＭＯＬＸ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）ＭＯＬＸ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）ＭＯＬＸタンパク質の非野生型レベル、（ｉｘ）ＭＯＬＸ遺伝子の対立遺伝子の欠失、ならびに（ｘ）ＭＯＬＸタンパク質の不適切な翻訳後修飾。本明細書において記載されるように、当該分野において、ＭＯＬＸ遺伝子における損傷を検出するために使用され得る、多数の公知のアッセイ技術が存在する。好ましい生物学的サンプルは、従来手段によって被験体から単離された末梢血白血球サンプルである。しかし、有核細胞を含む任意の生物学的サンプルが使用され得、これには、例えば、頬粘膜細胞が挙げられる。

【０３５９】

特定の実施形態において、損傷の検出は、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）（例えば、米国特許第４，６８３，１９５号および同第４，６８３，２０２号を参照のこと）（例えば、アンカーＰＣＲまたはＲＡＣＥ　ＰＣＲ）、あるいは、連結連鎖反応（ＬＣＲ）（例えば、Ｌａｎｄｅｇｒａｎら（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４１：１０７７－１０８０；およびＮａｋａｚａｗａら（１９９４）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９１：３６０－３６４を参照のこと）におけるプローブ／プライマーの使用を包含する。後者は、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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。

【０３６０】

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。

【０３６１】

代替の実施形態において、サンプル細胞からのＭＯＬＸ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欠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。

【０３６２】

他の実施形態において、ＭＯＬＸ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（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、ＭＯＬＸ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。

【０３６３】
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、ＭＯＬＸ遺伝子を直接配列決定し得、そしてサンプルＭＯＬＸ配列と対応する野生型（コントロール）配列とを比較することによって、変異を検出し得る。配列決定反応の例としては、ＭａｘｉｍおよびＧｉｌｂｅｒｔ（１９７７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７４：５６０またはＳａｎｇｅｒ（１９７７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７４：５４６３によって開発された技術に基づくものが挙げられる。診断アッセイを実施する場合、種々の自動化配列決定手順のいずれかを利用し得ることもまた意図される（例えば、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。

【０３６４】
ＭＯＬＸ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（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ＭＯＬＸ配列を含む（標識された）ＲＮＡまたはＤＮＡを、組織サンプルから得られた潜在的な変異体ＲＮＡまたはＤＮＡとハイブリダイズさせることによって形成されるヘテロ二重鎖を提供する工程によって始まる。この二本鎖の二重鎖を、二重鎖の一本鎖領域（例えば、そのコントロールとサンプルの鎖との間の塩基対ミスマッチに起因して存在するもの）を切断する薬剤を用いて処理する。例えば、ＲＮＡ／ＤＮＡ二重鎖を、ＲＮａｓｅを用いて処理し得、そしてＤＮＡ／ＤＮＡハイブリッドを、そのミスマッチ領域を酵素的に消化することに対して、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。

【０３６５】
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ＭＯＬＸ ｃＤＮＡにおける点変異を検出およびマッピングするために規定された系において使用する。例えば、Ｅ．ｃｏｌｉのｍｕｔＹ酵素は、Ｇ／ＡミスマッチでＡを切断し、そしてＨｅＬａ細胞からのチミジンＤＮＡグリコシラーゼは、Ｇ／ＴミスマッチでＴを切断する（Ｈｓｕら（１９９４）Ｃａｒｃｉｎｏｇｅｎｅｓｉｓ １５：１６５７～１６６２）。例示的な実施形態に従って、ＭＯＬＸ配列（例えば、野生型ＭＯＬＸ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。

【０３６６】
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、ＭＯＬＸ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

（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ＭＯＬＸ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。

【０３６７】

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、変性剤勾配の代わりに使用される。例えば、ＲｏｓｅｎｂａｕｍおよびＲｅｉｓｓｎｅｒ（１９８７）Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｃｈｅｍ．２６５：１２７５３を参照のこと。

【０３６８】

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

【０３６９】

あるいは、選択的ＰＣＲ増幅に依存する対立遺伝子特異的増幅技術は、本発明と合わせて使用され得る。特異的増幅についてのプライマーとして使用されるオリゴヌクレオチドは、分子の中心において（その結果、増幅は、差次的ハイブリダイゼーションに依存する）（Ｇｉｂｂｓら（１９８９）Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．１７：２４３７～２４４８）か、あるいは適切な条件下でミスマッチが妨げられ得るかまたはポリメラーゼ伸長を減少し得る、１つのプライマーの３’の最末端で、目的の変異を保有し得る（Ｐｒｏｓｓｎｅｒ（１９９３）Ｔｉｂｔｅｃｈ．１１：２３８）。さらに、変異領域に新規な制限部位を導入することは、切断に基づく検出を行うために望ましくあり得る。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。

【０３７０】

本明細書中に記載される方法は、例えば、本明細書中に記載される少なくとも１つのプロ

ーブ核酸または抗体試薬を含む、予めパッケージングされた診断キットを利用することによって実施され得、これは、例えば、ＭＯＬＸ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。

【０３７１】

さらに、ＭＯＬＸ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。

【０３７２】

（薬理ゲノム学（Ｐｈａｒｍａｃｏｇｅｎｏｍｉｃｓ））

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な、ＭＯＬＸ活性（例えば、ＭＯＬＸ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、障害（これらの障害としては以下が挙げられる：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、免疫障害および造血障害、ならびに肥満症、代謝症候群Ｘに関連する種々の異常脂肪性浮腫（ｄｙｓｌｉｐｉｄｅｍｉａｓ）、代謝障害、ならびに慢性疾患および種々の癌に関連する消耗障害）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）の選択を可能にする。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レジメンを決定するために使用され得る。従って、ＭＯＬＸタンパク質の活性、ＭＯＬＸ核酸の発現、あるいは個体におけるＭＯＬＸ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。

【０３７３】

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、薬物に対する応答における、臨床的に有意な遺伝性変更を扱う。例えば、Ｅｉｃｈｅｌｂａｕｍ、１９９６、Ｃｌｉｎ．Ｅｘｐ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｐｈｙｓｉｏｌ，２３：９８３～９８５およびＬｉｎｄｅｒ、１９９７、Ｃｌｉｎ．Ｃｈｅｍ，４３：２５４～２６６を参照のこと。一般に、２つの型の薬理ゲノム学状態が、区別され得る。薬物が身体に作用する方法を変更する１つの因子として伝達される遺伝的状態（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１つ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。

【０３７４】

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。

【０３７５】

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

【０３７６】

（臨床試験中の効果のモニタリング）

ＭＯＬＸ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だけでなく臨床試験にも適用され得る。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、ＭＯＬＸの遺伝子発現、タンパク質レベルを増加するため、またはＭＯＬＸ活性をアップレギュレートする薬剤の効力は、減少したＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸの遺伝子発現、タンパク質レベルの減少、またはＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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。

【０３７７】

例えば、ＭＯＬＸを含む遺伝子（これは、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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。

【０３７８】

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、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸの発現または活性を増加することが（すなわち、この薬剤の効力を増加すること）望ましくあり得る。あるいは、この薬剤の減少した投与は、検出されるよりも低いレベルにＭＯＬＸの発現または活性を減少することが（すなわち、この薬剤の効力を減少すること）望ましくあり得る。

【０３７９】

（処置方法）

本発明は、異常なＭＯＬＸ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、例えば、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、クーロン病；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。

【０３８０】

これらの処置方法は、以下により詳細に記載される。

【０３８１】

（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））。

【０３８２】

（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。
【０３８３】
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）。
【０３８４】
（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ＭＯＬＸの発現または活性と関連する疾患または状態を、ＭＯＬＸの発現または少なくとも１つのＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ異常の特徴である症状の発現の前に行い得る。このＭＯＬＸ異常の型に依存して、例えば、ＭＯＬＸアゴニスト薬剤またはＭＯＬＸ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。
【０３８５】
（治療方法）
本発明の別の局面は、治療目的のためにＭＯＬＸ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ＭＯＬＸタンパク質活性の活性のうちの１つ以上を調節する薬剤と接触させる工程を包含する。ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸタンパク質の天然に存在する同族リガンド、ペプチド、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸタンパク質活性のうちの１つ以上を刺激する。このような刺激薬剤の例としては、活性なＭＯＬＸタンパク質、およびその細胞に導入されたＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸタンパク質活性のうちの１つ以上を阻害する。このような阻害薬剤の例としては、アンチセンスＭＯＬＸ核酸分子、および抗ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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、ＭＯＬＸ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。
【０３８６】
ＭＯＬＸ活性の刺激は、ＭＯＬＸ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ＭＯＬＸ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。

【０３８７】

（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。

【０３８８】

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。

【０３８９】

（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ＭＯＬＸ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、神経変性疾患、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（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疾患、および種々の癌。

【０３９０】

例として、本発明のＭＯＬＸタンパク質をコードするｃＤＮＡは、遺伝子治療に有用であり、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、以下の障害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。

【０３９１】

本発明のＭＯＬＸタンパク質をコードする新規の核酸、およびＭＯＬＸタンパク質の両方、またはそれらのフラグメントはまた、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、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。

【０３９２】

（実施例）

（実施例１：種々の細胞および組織におけるクローンの定量的発現分析）

種々のクローンの定量的発現分析を、リアルタイム定量的ＰＣＲ（ＲＴＱ　ＰＣＲ；ＴＡＱＭＡＮ（登録商標））を使用して、種々の正常の細胞、細胞株および組織、ならびに病変由来の細胞、細胞株および組織由来の、ＲＮＡサンプルを含むマイクロタイタープレートを用いて評価した。Ｐｅｒｋｉｎ－Ｅｌｍｅｒ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　ＡＢＩ　ＰＲＩＳＭ（登録商標）７７００　Ｓｅｑｕｅｎｃｅ　Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ　Ｓｙｓｔｅｍで、ＲＴＱ　ＰＣＲを実施した。種々のサンプルの収集物を、そのプレート上にアセンブリし、そしてパネル１（正常な供給源および癌供給源由来の細胞および細胞株を含む）、パネル２（組織、特に外科的サンプル由来、正常な供給源および癌供給源由来のサンプルを含む）、パネル３（広範な種々の癌組織由来のサンプルを含む）ならびにパネル４（正常

細胞および炎症状態に関連する細胞由来の、細胞および細胞株を含む）として参照する。

【０３９３】

まず、ＲＮＡサンプルを、構成的に発現する遺伝子（例えば、βアクチンおよびＧＡＰＤＨ）に対して正規化した。ＲＮＡ（約５０ｎｇの総ＲＮＡ、または約１ｎｇのポリＡ＋ＲＮＡ）を、製造業者のプロトコルに従って、ＴＡＱＭＡＮ（登録商標）Ｒｅｖｅｒｓｅ Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ Ｒｅａｇｅｎｔ Ｋｉｔ（ＰＥ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ，ＣＡ；カタログ番号Ｎ８０８－０２３４）およびランダムヘキサマーを使用してｃＤＮＡに変換した。反応を２０μｌで実施し、そして４８℃で３０分間インキュベートした。次いで、ｃＤＮＡ（５μｌ）を、製造業者のプロトコルに従って、βアクチンおよびＧＡＰＤＨ ＴＡＱＭＡＮ（登録商標）アッセイ試薬（ＰＥ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ；それぞれ、カタログ番号４３１０８８１Ｅおよび４３１０８８４Ｅ）およびＴＡＱＭＡＮ（登録商標）ユニバーサルＰＣＲ Ｍａｓｔｅｒ Ｍｉｘ（ＰＥ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ；カタログ番号４３０４４４７）を使用するＴＡＱＭＡＮ（登録商標）反応のために別々のプレートに移した。以下のパラメーターを使用して、反応を２５μｌで実施した：５０℃で２分間；９５℃で１０分間；９５℃で１５秒間／６０℃で１分間（４０サイクル）。対数スケールを使用して、ＣＴ値（所定のサンプルが蛍光の閾値レベルを超えるときのサイクル）として、結果を記録した。ここで、所定のサンプルと最低のＣＴ値を伴うサンプルとの間のＲＮＡ濃度における差異は、ΔＣＴの出力に対して2で表される。次いで、相対的発現のパーセントを、このＲＮＡ差異の逆数を得て１００をかけることによって得る。βアクチンおよびＧＡＰＤＨについて得られた平均ＣＴ値を使用して、ＲＮＡサンプルを正規化した。最大ＣＴ値を生成するＲＮＡサンプルは、さらなる希釈を必要としなかったが、他の全てのサンプルを、βアクチン／ＧＡＰＤＨ平均ＣＴ値に従って、このサンプルに対して希釈した。

【０３９４】

正規化したＲＮＡ（５μｌ）を、ｃＤＮＡに変換し、そしてＯｎｅ Ｓｔｅｐ ＲＴ－ＰＣＲ Ｍａｓｔｅｒ Ｍｉｘ Ｒｅａｇｅｎｔ（ＰＥ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ；カタログ番号４３０９１６９）および遺伝子特異的プライマーを、製造業者の手引書に従って、ＴＡＱＭＡＮ（登録商標）を通じて解析した。標的配列を入力として使用して、Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ ＢｉｏｓｙｓｔｅｍのＰｒｉｍｅｒ Ｅｘｐｒｅｓｓソフトウエアパッケージ（Ａｐｐｌｅ ＣｏｍｐｕｔｅｒのＭａｃｉｎｔｏｓｈ Ｐｏｗｅｒ ＰＣ用のバージョンＩ）または同様のアルゴリズムに従って、プローブおよびプライマーを、各々のアッセイのために設計した。初期設定を、反応条件に使用し、そして以下のパラメーターを、プライマーを選択する前にセットした：プライマー濃度＝２５０ｎＭ、プライマー融解温度（T_m）範囲＝５８～６０℃、プライマー最適Ｔｍ＝５９℃、最大プライマー差異＝２℃、プローブは、５’Ｇを有さない、プローブT_mはプライマーT_mより１０℃高くなければならない、アンプリコンサイズ７５ｂｐ～１００ｂｐ。選択したプローブおよびプライマー（以下を参照のこと）を、Ｓｙｎｔｈｅｇｅｎ（Ｈｏｕｓｔｏｎ，ＴＸ，ＵＳＡ）によって合成した。プローブを、ＨＰＬＣによって二重精製して非結合色素を除去し、そして質量分析器によって評価させてレポーター色素およびクエンチャー色素がそれぞれプローブの５’末端および３’末端に結合することを確認した。これらの最終濃度は：正方向プライマーおよび逆方向プライマーは各々９００ｎＭ、そしてプローブは２００ｎＭであった。

【０３９５】

ＰＣＲ条件：各組織由来および各細胞株の正規化したＲＮＡを、９６ウェルＰＣＲプレート（Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）の各ウェルにスポットした。２つのプローブ（標的クローンについて特異的なプローブおよび標的配列と多重化した別の遺伝子特異的プローブ）を含むＰＣＲカクテルを、５ｍＭ ＭｇＣｌ２、ｄＮＴＰ（ｄＡ、Ｇ、Ｃ、Ｕを１：１：１：２の比で）、０．２５Ｕ／ｍｌ ＡｍｐｌｉＴａｑ Ｇｏｌｄ™（ＰＥ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）、および０．４Ｕ／μｌ ＲＮａｓｅインヒビター、ならびに０．２５Ｕ／μｌの逆転写酵素を有する１×ＴＡＱＭＡＮ™ ＰＣＲ Ｍ

ａｓｔｅｒ Ｍｉｘ Ｒｅａｇｅｎｔ ｆｏｒ ｔｈｅ ＰＥ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ ７７００を使用して、配置した。逆転写を４８℃で３０分間実施し、次に増幅／ＰＣＲサイクルを以下のように行った：９５℃で１０分間、次に９５℃で１５秒間、６０℃で１分間を４０サイクル。

【０３９６】

パネル１についての結果において、以下の略語を使用した：

ｃａ．＝癌

＊＝転移から確立した

ｍｅｔ＝転移

ｓ ｃｅｌｌ ｖａｒ＝小細胞変異株

ｎｏｎ－ｓ＝ｎｏｎ－ｓｍ＝小さくない

ｓｑｕａｍ＝鱗状の

ｐｌ．ｅｆｆ＝ｐｌ ｅｆｆｕｓｉｏｎ＝胸水

ｇｌｉｏ＝神経膠腫

ａｓｔｒｏ＝星状細胞腫、および

ｎｅｕｒｏ＝神経細胞腫。

【０３９７】

（パネル２）

パネル２についてのプレートは、一般に２つのコントロールウェルと、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃａｎｃｅｒ ＩｎｓｔｉｔｕｔｅのＣｏｏｐｅｒａｔｉｖｅ Ｈｕｍａｎ Ｔｉｓｓｕｅ Ｎｅｔｗｏｒｋ（ＣＨＴＮ）またはＮａｔｉｏｎａｌ Ｄｉｓｅａｓｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｉｎｉｔｉｎｔｉｖｅ（ＮＤＲＩ）と密接に提携する外科医によって獲得されるヒト組織から単離されたＲＮＡまたはｃＤＮＡから構成される９４の試験サンプルとを含む。これらの組織は、ヒト悪性腫瘍由来であり、そして多くの悪性組織は、腫瘍にすぐ隣接する非癌性組織より得られた「調和した辺縁（ｍａｔｃｈｅｄ ｍａｒｇｉｎ）」を有することを示す。これらは、正常隣接組織と呼ばれ、そして以下の結果において「ＮＡＴ」と表示される。腫瘍組織および「調和した辺縁」は、２人の独立した病理学者によって（外科的病理学者およびＮＤＲＩまたはＣＨＴＮでの病理学者によって再び）評価される。この分析は、腫瘍の分化等級の全体的組織化学的評価を提供する。さらに、ほとんどのサンプルは、患者の臨床段階を考慮する情報を提供する元々の外科的病理学の報告を含む。これらの調和した辺縁は、手術の区域を取り囲む（すなわち、すぐ近傍の）組織から得られる（表ＲＲにおいて、正常隣接組織について「ＮＡＴ」と表記される）。さらに、ＲＮＡおよびｃＤＮＡのサンプルを、老齢のヒトまたは急死した被災者（事故など）において実施された剖検由来の種々のヒト組織から得た。これらの組織は、疾患のないことが確認され、そしてＣｌｏｎｔｅｃｈ（Ｐａｌｏ Ａｌｔｏ，ＣＡ）、Ｒｅｓｅａｒｃｈ ＧｅｎｅｔｉｃｓおよびＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎのような商業的供給源から得られた。

【０３９８】

全てのサンプル由来のＲＮＡの完全性を、２８Ｓリボソームおよび１８ＳリボソームのＲＮＡ染色強度を指針（２８Ｓ：１８Ｓが２：１～２．５：１）としておよび分解産物の指標である低分子量ＲＮＡの非存在を、使用するアガロースゲル電気泳動の可視的評価によって品質について管理する。サンプルを、単一のエクソンの範囲を超えて増幅するように設計されたプローブおよびプライマーのセットを使用して逆転写酵素の非存在下で実行されるＲＴＱ ＰＣＲ反応によって、ゲノムＤＮＡの汚染に対して管理する。

【０３９９】

（パネル４）

パネル４は、炎症性状態に関連する種々のヒト細胞株または組織から単離されるＲＮＡ（パネル４ｒ）またはｃＤＮＡ（パネル４ｄ）から構成される９６ウェルプレート（２つのコントロールウェル、９４の試験サンプル）上にサンプルを含む。コントロール正常組織（例えば、結腸および肺（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ，Ｌａ Ｊｏｌｌａ，ＣＡ）ならびに胸腺および腎臓（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ））からの総ＲＮＡを使用した。クローン病および潰瘍

性結腸炎を有すると診断された患者からのＲＮＡの調製のための腸組織を、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｄｉｓｅａｓｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｉｎｔｅｒｃｈａｎｇｅ（ＮＤＲＩ）（Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，ＰＡ）から得た。

【０４００】

星状細胞、肺繊維芽細胞、皮膚繊維芽細胞、冠状動脈平滑筋細胞、小気道上皮、気管上皮、微小血管皮膚内皮細胞、微小血管肺内皮細胞、ヒト肺性大動脈内皮細胞、ヒト臍帯静脈内皮細胞を、全てＣｌｏｎｅｔｉｃｓ（Ｗａｌｋｅｒｓｖｉｌｌｅ，ＭＤ）から購入し、そしてＣｌｏｎｅｔｉｃｓによってこれらの細胞型に対して供給される培地中で増殖させた。これらの初代細胞型を、種々のサイトカインまたはサイトカインの組み合わせで、示したように6および／または１２～１４時間活性化した。以下のサイトカインを使用した：ＩＬ－１β（約１～５ｎｇ／ｍｌ）、ＴＮＦα（約５～１０ｎｇ／ｍｌ）、ＩＦＮγ（約２０～５０ｎｇ／ｍｌ）、ＩＬ－４（約５～１０ｎｇ／ｍｌ）、ＩＬ－９（約５～１０ｎｇ／ｍｌ）、ＩＬ－１３（約５～１０ｎｇ／ｍｌ）。０．１％血清を含むＣｌｏｎｅｔｉｃｓからの基本培地中での培養によって、内皮細胞を、種々の時間にわたって時々飢餓させた。

【０４０１】

単核細胞を、Ｆｉｃｏｌｌを使用して、ＣｕｒａＧｅｎ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎでの従業者の血液より調製した。５％ ＦＣＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ）、１００μＭの非必須アミノ酸（Ｇｉｂｃｏ／Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，ＭＤ）、１ｍＭ ピルビン酸ナトリウム（Ｇｉｂｃｏ）、５．５×１０$^{-5}$Ｍ メルカプトエタノール（Ｇｉｂｃｏ）、および１０ｍＭ Ｈｅｐｅｓ（Ｇｉｂｃｏ）、ならびにインターロイキン２を含むＤＭＥＭ中での４～６日間の培養によって、ＬＡＫ細胞を、これらの細胞より調製した。次いで、細胞を、１０～２０ｎｇ／ｍｌ ＰＭＡおよび１～２μｌ／ｍｌ イオノマイシン、ＩＬ－１２（５～１０ｎｇ／ｍｌ）、ＩＦＮγ（２０～５０ｎｇ／ｍｌ）ならびにＩＬ－１８（５～１０ｎｇ／ｍｌ）のいずれか6時間で活性化した。いくつかの場合、５％ ＦＣＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ）、１００μＭの非必須アミノ酸（Ｇｉｂｃｏ）、１ｍＭ ピルビン酸ナトリウム（Ｇｉｂｃｏ）、５．５×１０$^{-5}$Ｍ メルカプトエタノール（Ｇｉｂｃｏ）、および１０ｍＭ Ｈｅｐｅｓ（Ｇｉｂｃｏ）を含み、ＰＨＡ（フィトヘマグルチニン）またはＰＷＮ（アメリカヤマゴボウマイトジェン）を約５μｇ／ｍｌ有するＤＭＥＭ中で、単核細胞を、４～５日間培養した。ＲＮＡ調製のために、サンプルを、２４、４８および７２時間で得た。ＭＬＲ（混合リンパ球反応）サンプルを、2ドナーから採血すること、Ｆｉｃｏｌｌを用いて単核細胞を分離すること、および５％ ＦＣＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ）、１００μＭの非必須アミノ酸（Ｇｉｂｃｏ）、１ｍＭ ピルビン酸ナトリウム（Ｇｉｂｃｏ）、５．５×１０$^{-5}$Ｍ メルカプトエタノール（Ｇｉｂｃｏ）、および、１０ｍＭ Ｈｅｐｅｓ（Ｇｉｂｃｏ）を含むＤＭＥＭ中で、約２×１０^{6}細胞／ｍｌの最終濃度で単離された単核細胞を１：１に混合することによって得た。このＭＬＲを培養し、そしてＲＮＡ調製のために１～７日までの範囲の種々の時点でサンプルを得た。

【０４０２】

ＣＤ１４ Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｅａｄｓ、＋ｖｅ ＶＳ選択カラムおよびＶａｒｉｏ Ｍａｇｎｅｔを製造業者の手引書に従って使用して、単核細胞から、単球を単離した。５％ウシ胎仔血清（ＦＣＳ）（Ｈｙｃｌｏｎｅ，Ｌｏｇａｎ，ＵＴ）、１００μＭの非必須アミノ酸（Ｇｉｂｃｏ）、１ｍＭ ピルビン酸ナトリウム（Ｇｉｂｃｏ）、５．５×１０$^{-5}$Ｍ メルカプトエタノール（Ｇｉｂｃｏ）、および１０ｍＭ Ｈｅｐｅｓ（Ｇｉｂｃｏ）を含み、５０ｎｇ／ｍｌ ＧＭＣＳＦおよび５ｎｇ／ｍｌ ＩＬ－４を有するＤＭＥＭ中での５～７日間の培養によって、単球を、樹状細胞に分化させた。５％ ＦＣＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ）、１００μＭの非必須アミノ酸（Ｇｉｂｃｏ）、１ｍＭ ピルビン酸ナトリウム（Ｇｉｂｃｏ）、５．５×１０$^{-5}$Ｍ メルカプトエタノール（Ｇｉｂｃｏ）、および１０ｍＭ Ｈｅｐｅｓ（Ｇｉｂｃｏ）、１０％ ＡＢ Ｈｕｍａｎ ＳｅｒｕｍまたはＭＣＳＦ（約５０ｎｇ／ｍｌ）有するＤＭＥＭ中で５～７日間の単球の培養によって、

マクロファージを、調製した。単球、マクロファージおよび樹状細胞を、リポ多糖（ＬＰＳ）（１００ｎｇ／ｍｌ）で６時間および１２～１４時間刺激した。樹状細胞はまた、抗ＣＤ４０モノクローナル抗体（Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）を１０μｇ／ｍｌで６時間および１２～１４時間刺激した。

【０４０３】

ＣＤ４リンパ球、ＣＤ８リンパ球およびＮＫ細胞もまた、ＣＤ４、ＣＤ８およびＣＤ５６　Ｍｉｌｔｅｎｙｉビーズ、ポジティブＶＳ選択カラムならびにＶａｒｉｏ　Ｍａｇｎｅｔを製造業者の手引書に従って使用して、単核細胞より単離した。ＣＤ８、ＣＤ５６、ＣＤ１４、およびＣＤ１９のＭｉｌｔｅｎｙｉビーズ、および＋ＶＳ選択を使用して、ＣＤ８細胞、ＣＤ５６細胞、ＣＤ１４細胞、およびＣＤ１９細胞の単核細胞の涸渇によって、ＣＤ４５ＲＡおよびＣＤ４５ＲＯ　ＣＤ４リンパ球を、単離した。次いで、ＣＤ４５ＲＯビーズを使用して、ＣＤ４５ＲＯ　ＣＤ４リンパ球を単離し、残った細胞は、ＣＤ４５ＲＡ　ＣＤ４リンパ球であった。ＣＤ４５ＲＡ、ＣＤ４、ＣＤ４５ＲＯ　ＣＤ４リンパ球およびＣＤ８リンパ球を、５％　ＦＣＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ）、１００μＭの非必須アミノ酸（Ｇｉｂｃｏ）、１ｍＭ　ピルビン酸ナトリウム（Ｇｉｂｃｏ）、５．５×１０$^{-5}$Ｍ　メルカプトエタノール（Ｇｉｂｃｏ）、および１０ｍＭ　Ｈｅｐｅｓ（Ｇｉｂｃｏ）を含むＤＭＥＭ中に置き、そして、０．５μｇ／ｍｌの抗ＣＤ２８（Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）および３μｇ／ｍｌの抗ＣＤ３（ＯＫＴ３，ＡＴＣＣ）を含むＰＢＳで一晩コートしたＦａｌｃｏｎ　６ウェル組織培養プレート上に１０^{6}細胞／ｍｌで置いた。６時間および２４時間後、これらの細胞を、ＲＮＡ調製のために収集した。慢性的に活性化されたＣＤ８リンパ球を調製するために、本発明者らは、単離したＣＤ８リンパ球を抗ＣＤ２８および抗ＣＤ３でコートしたプレート上で４日間活性化し、次いで、これらの細胞を回収し、５％　ＦＣＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ）、１００μＭの非必須アミノ酸（Ｇｉｂｃｏ）、１ｍＭ　ピルビン酸ナトリウム（Ｇｉｂｃｏ）、５．５×１０$^{-5}$Ｍ　メルカプトエタノール（Ｇｉｂｃｏ）、１０ｍＭ　Ｈｅｐｅｓ（Ｇｉｂｃｏ）およびＩＬ－２を含むＤＭＥＭ中に拡張した。次いで、拡張されたＣＤ８細胞を、抗ＣＤ３および抗ＣＤ２８が結合したプレートで４日間再び活性化し、そして以前と同様に拡張した。ＲＮＡを、第二の活性化の６時間および２４時間後ならびに第二の拡張培養物の４日後に単離した。ＲＮＡを調製する前に、単離したＮＫ細胞を、５％　ＦＣＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ）、１００μＭの非必須アミノ酸（Ｇｉｂｃｏ）、１ｍＭ　ピルビン酸ナトリウム（Ｇｉｂｃｏ）、５．５×１０$^{-5}$Ｍ　メルカプトエタノール（Ｇｉｂｃｏ）、１０ｍＭ　Ｈｅｐｅｓ（Ｇｉｂｃｏ）およびＩＬ－２を含むＤＭＥＭ中で培養した。

【０４０４】

Ｂ細胞を得るために、扁桃をＮＤＲＩより購入した。扁桃を、滅菌切開鋏で切断し、次いで、篩を通した。次いで、扁桃細胞を、スピンダウンし、そして５％　ＦＣＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ）、１００μＭの非必須アミノ酸（Ｇｉｂｃｏ）、１ｍＭ　ピルビン酸ナトリウム（Ｇｉｂｃｏ）、５．５×１０$^{-5}$Ｍ　メルカプトエタノール（Ｇｉｂｃｏ）、および１０ｍＭ　Ｈｅｐｅｓ（Ｇｉｂｃｏ）を含むＤＭＥＭ中に１０^{6}細胞／ｍｌで再懸濁した。細胞を活性化するために、本発明者ら、ＰＷＮ（５μｇ／ｍｌ）または抗ＣＤ４０（Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）（約１０μｇ／ｍｌ）およびＩＬ－４（５～１０ｎｇ／ｍｌ）を使用した。２４、４８および７２時間後に、細胞を、ＲＮＡ調製のために回収した。

【０４０５】

Ｔｈ１／Ｔｈ２細胞およびＴｒ１細胞の初代細胞および二次細胞を調製するために、６ウェルＦａｌｃｏｎプレートを、１０μｇ／ｍｌの抗ＣＤ２８（Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）および２μｇ／ｍｌのＯＫＴ３（ＡＴＣＣ）で一晩コートし、次いで、ＰＢＳで２度洗浄した。臍帯血のＣＤ４リンパ球（Ｐｏｉｅｔｉｃ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｇｅｒｍａｎ　Ｔｏｗｎ，ＭＤ）を、５％　ＦＣＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ）、１００μＭの非必須アミノ酸（Ｇｉｂｃｏ）、１ｍＭ　ピルビン酸ナトリウム（Ｇｉｂｃｏ）、５．５×１０$^{-5}$Ｍ　メルカプトエタノール（Ｇｉｂｃｏ）、１０ｍＭ　Ｈｅｐｅｓ（Ｇｉｂｃｏ）、およびＩＬ－２（４ｎｇ／ｍｌ）を含むＤＭＥＭ中にて１０^{5}から１０^{6}細胞／ｍｌで培養した。ＩＬ－１

２（５ｎｇ／ｍｌ）および抗ＩＬ４（１□ｇ／ｍｌ）を使用してＴｈ１に指向したが、ＩＬ－４（５ｎｇ／ｍｌ）および抗ＩＦＮγ（１□ｇ／ｍｌ）を使用してＴｈ２に指向し、そしてＩＬ－１０（５ｎｇ／ｍｌ）を使用してＴｒ１に指向した。４～５日後、活性化したＴｈ１リンパ球、Ｔｈ２リンパ球およびＴｒ１リンパ球を、ＤＭＥＭ中で１度洗浄し、そして５％　ＦＣＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ）、１００μＭの非必須アミノ酸（Ｇｉｂｃｏ）、１ｍＭ　ピルビン酸ナトリウム（Ｇｉｂｃｏ）、５．５×１０$^{-5}$Ｍ　メルカプトエタノール（Ｇｉｂｃｏ）、１０ｍＭ　Ｈｅｐｅｓ（Ｇｉｂｃｏ）、およびＩＬ－２（４ｎｇ／ｍｌ）を含むＤＭＥＭ中にて４～７日間拡張した。これに、活性化したＴｈ１リンパ球、Ｔｈ２リンパ球およびＴｒ１リンパ球を抗ＣＤ２８／ＯＫＴ３およびサイトカインを用いて上記のように５日間再刺激したが、アポトーシスを防ぐために抗ＣＤ９５Ｌ（１□ｇ／ｍｌ）を加えた。４～５日後、Ｔｈ１リンパ球、Ｔｈ２リンパ球およびＴｒ１リンパ球を洗浄し、次いで、ＩＬ－２で４～７日間再度拡張した。活性化したＴｈ１リンパ球およびＴｈ２リンパ球を、この方法で最大３サイクル維持した。６時間および２４時間後に、ＲＮＡを、Ｔｈ１／Ｔｈ２細胞およびＴｒ１細胞の初代細胞および二次細胞から調製し、次いで、第２の活性化および第３の活性化を抗ＣＤ３ｍＡｂおよび抗ＣＤ２８ｍＡｂの結合したプレートで行い、そしてインターロイキン２中での第２の拡張および第３の拡張を４日間行った。

【０４０６】

以下の白血球細胞株を、ＡＴＣＣから得た：Ｒａｍｏｓ、ＥＯＬ－１、ＫＵ－８１２。ＥＯＬ細胞をさらに、０．１ｍＭ　ｄｂｃＡＭＰ（５×１０^{5}細胞／ｍｌ）中８日間の培養によって分化し、３日毎に培地を交換し、そして細胞密度を５×１０^{5}細胞／ｍｌに調整した。これらの細胞の培養について、本発明者らは、ＤＭＥＭまたはＲＰＭＩ（ＡＴＣＣによって推奨されるように）を、５％　ＦＣＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ）、１００μＭの非必須アミノ酸（Ｇｉｂｃｏ）、１ｍＭ　ピルビン酸ナトリウム（Ｇｉｂｃｏ）、５．５×１０$^{-5}$Ｍ　メルカプトエタノール（Ｇｉｂｃｏ）、１０ｍＭ　Ｈｅｐｅｓ（Ｇｉｂｃｏ）を添加して使用した。ＲＮＡを、休止細胞、またはＰＭＡ（１０ｎｇ／ｍｌ）およびイオノマイシン（１μｇ／ｍｌ）で６時間および１４時間活性化した細胞のいずれかより調製した。ケラチノサイト細胞株ＣＣＤ１０６および気道上皮腫瘍細胞株ＮＣＩ－Ｈ２９２もまた、ＡＴＣＣより得た。両方を、５％　ＦＣＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ）、１００μＭの非必須アミノ酸（Ｇｉｂｃｏ）、１ｍＭ　ピルビン酸ナトリウム（Ｇｉｂｃｏ）、５．５×１０$^{-5}$Ｍ　メルカプトエタノール（Ｇｉｂｃｏ）、および１０ｍＭ　Ｈｅｐｅｓ（Ｇｉｂｃｏ）を含むＤＭＥＭ中で培養した。ＣＣＤ１１０６細胞を、約５ｎｇ／ｍｌのＴＮＦαおよび１ｎｇ／ｍｌのＩＬ－１βで６時間および１４時間活性化したが、ＮＣＩ－Ｈ２９２細胞を、以下のサイトカインで６時間および１４時間活性化した：５ｎｇ／ｍｌのＩＬ－４、５ｎｇ／ｍｌのＩＬ－９、５ｎｇ／ｍｌのＩＬ－１３および２５ｎｇ／ｍｌのＩＦＮγ。

【０４０７】

これらの細胞株および血液細胞について、Ｔｒｉｚｏｌ（Ｇｉｂｃｏ　ＢＲＬ）を使用して、約１０^{7}細胞／ｍｌを溶解することによって、ＲＮＡを調製した。簡単には、１／１０容量のブロモクロロプロパン（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）を、ＲＮＡサンプルに添加し、ボルテックスし、そして室温で１０分後に、チューブを、Ｓｏｒｖａｌｌ　ＳＳ３４ローターにて１４，０００ｒｐｍでスピンした。水相を除去し、そして１５ｍｌのＦａｌｃｏｎチューブ中に置いた。等量のイソプロパノールを添加し、そして－２０℃で一晩置いた。沈降したＲＮＡを、Ｓｏｒｖａｌｌ　ＳＳ３４ローターにて９，０００ｒｐｍで１５分間スピンし、そして７０％エタノールで洗浄した。ペレットを、３００μｌのＲＮＡｓｅを含まない水中に再懸濁しそして３５μｌの緩衝液（Ｐｒｏｍｅｇａ）、５μｌ　ＤＴＴ、７μｌ　ＲＮＡｓｉｎおよび８μｌ　ＤＮＡｓｅを添加した。チューブを、３７℃で３０分間インキュベートして夾雑するゲノムＤＮＡを除去し、フェノールクロロホルムで１度抽出して１／１０容量の３Ｍ酢酸ナトリウムおよび２容量の１００％エタノールで再沈降させた。ＲＮＡをスピンダウンレギュレー

トして、ＲＮＡｓｅを含まない水中に置いた。ＲＮＡを、－８０℃で貯蔵した。

【０４０８】

（ＭＯＬ１）

遺伝子ＧＭ＿７９９６０１７８の発現を、プライマーセットＡｇ１６０５を使用して評価し、表１２に示した。ＲＴＱ－ＰＣＲ実行を、表１３および１４に示す。

【０４０９】

【表５２】

表12．プローブの名称：Ag1605

プライマー	配列	Tm	長さ	開始位置	配列番号
正方向	5'-CCTGAGCTACAACAACATCATG-3'	58.3	22	333	76
プローブ	FAM-5'-CCTCATATCCCTGTCCCTCAGCCATA-3'-TAMRA	69	26	378	77
逆方向	5'-GCAGAGTCTAGCATCAGGATGT-3'	58.6	22	407	78

（表１３．パネル１．３Ｄおよび２Ｄ）

【０４１０】

【表５３】

パネル1．3D		パネル2D		
組織名	相対実験% 1．3dx4tm5402f_ag1605_b1	組織名	相対実験% 2Dtm2728f_ag1605	相対実験% 2dx4tm4732 f_ag1605_a2
肺腺癌	1．9	正常結腸 GENPAK 061003	70．2	70．3
膵臓	0	83219 CC Well to Mod Diff (OD03866)	8．5	6．3
膵臓癌 CAPAN 2	17．6	83220 CC NAT (OD03866)	8．1	9．4
副腎	1．3	83221 CC Gr．2 直腸S状結腸(OD03868)	4．5	12．1
甲状腺	5．6	83222 CC NAT (OD03868)	1．6	6．3
唾液腺	8．9	83235 CC Mod Diff (OD03920)	17．9	19．7
下垂体	1．7	83236 CC NAT (OD03920)	21．5	11．6
脳（胎児）	21．2	83237 CC Gr．2 上行結腸 (OD03921)	18	34．4
脳（全体）	30．5	83238 CC NAT (OD03921)	8．9	9．8
脳（扁桃）	6．6	83241 CC部分的肝切除に由来する (OD04309)	7．1	4．9
脳（小脳）	14．6	83242 肝臓 NAT (OD04309)	17．1	6．9
脳（海馬）	8．7	87472 結腸肺への転移 (OD04451-01)	6．7	11．4
脳（黒質）	9．3	87473 肺 NAT (OD04451-02)	0．8	2．9
脳（視床）	4．8	正常前立腺 Clontech A+6546-1	17．8	52．9

大脳皮質	2. 6	84140 前立腺癌. (OD04410)	18. 6	23
脊髄	15. 7	84141 前立腺 NAT (OD04410)	9. 1	22
CNS 癌 (glio/astro) U87-MG	0	87073 前立腺癌 (OD04720-01)	20	14. 5
CNS 癌 (glio/astro) 118-MG	1. 5	87074 前立腺 NAT (OD04720-02)	21. 3	38. 1
CNS 癌 (astro) SW1783	0	正常肺 GENPAK 061010	69. 7	85. 9
CNS 癌 * (neuro ; met) SK-N-AS	1. 6	83239 肺筋肉への転移 (OD04286)	11. 1	6. 3
CNS 癌 (astro) SF-539	0	83240 筋肉 NAT (OD04286)	15. 1	23. 3
CNS 癌 (astro) SNB-75	0	84136 肺悪性癌 (OD03126)	30. 6	30. 8
CNS 癌 (glio) SNB-19	9. 7	84137 肺 NAT (OD03126)	8	16. 3
CNS 癌 (glio) U251	4. 8	84871 肺癌 (OD04404)	41. 8	45. 2
CNS 癌 (glio) SF-295	7. 7	84872 肺 NAT (OD04404)	15. 4	27. 5
心臓 (胎児)	0. 9	84875 肺癌 (OD04565)	7. 4	8. 5
心臓	6. 1	84876 肺 NAT (OD04565)	5. 3	1. 2
胎児の骨格	3. 5	85950 肺癌 (OD04237-01)	77. 9	72. 9
骨格筋	100	85970 肺 NAT (OD04237-02)	14. 3	12. 9
骨髄	22. 8	83255 眼メラノーマ肺へ転移 (OD04310)	2. 7	6
胸腺	12. 2	83256 肺 NAT (OD04310)	2. 3	5. 1
脾臓	14. 6	84139 黒色腫肺へ転移 (OD04321)	1. 3	6. 2
リンパ節	57. 9	84138 肺 NAT (OD04321)	36. 9	22. 4
結腸直腸	3. 4	正常腎臓 GENPAK 061008	9. 2	19. 2
胃	20. 7	83786 腎臓 Ca. Nuclear grade 2 (OD04338)	4. 2	6. 9
小腸	33. 5	83787 腎臓 NAT (OD04338)	7	8. 3
結腸 癌 SW480	0. 6	83788 腎臓 Ca Nuclear grade 1/2 (OD04339)	18. 7	11. 3
結腸 癌 * (SW480	0	83789 腎臓 NAT (OD04339)	4. 9	8. 5

転移) SW620				
結腸 癌 HT29	0	83790 腎臓 Ca, Clear cell type (OD 04340)	6. 3	14. 8
結腸 癌 HCT-116	0	83791 腎臓 NAT (OD04340)	10. 7	14. 6
結腸 癌 CaCo-2	2. 2	83792 腎臓 Ca, Nuclear grade 3 (O D04348)	6	7. 5
83219 CC Well to Mod Diff (O D03866)	0	83793 腎臓 NAT (OD04348)	14. 5	16. 5
結腸 癌 HCC-2998	0	87474 腎臓癌 (OD04622-01)	15. 4	25
胃 癌 * (肝臓転移) NCI－N87	7. 2	87475 腎臓 NAT (OD04622-03)	2. 3	2. 8
膀胱	2. 5	85973 腎臓癌 (OD04450-01)	3. 6	7. 3
気管	4. 9	85974 腎臓 NAT (OD04450-03)	1. 3	13. 3
腎臓	0	腎臓癌 Clontech 8120607	7. 3	5. 2
腎臓 (胎児)	7	腎臓 NAT Clontech 8120608	1. 1	3. 6
腎臓 癌 786-0	0	腎臓癌 Clontech 8120613	2. 8	7. 5
腎臓 癌 A498	1. 5	腎臓 NAT Clontech 8120614	3. 7	8
腎臓 癌 RXF 393	3	腎臓癌 Clontech 9010320	17. 4	14. 1
腎臓 癌 ACHN	1. 1	腎臓 NAT Clontech 9010321	16. 4	11. 3
腎臓 癌 UO-31	0	正常子宮 GENPAK 061018	4. 6	5. 2
腎臓 癌 TK-10	1. 2	子宮癌 GENPAK 064011	17. 2	32. 4
肝臓	0. 6	正常甲状腺 Clontech A+ 6570-1	17. 3	18. 1
肝臓(胎児)	8. 8	甲状腺癌 GENPAK 064010	6. 5	1. 1
肝臓癌 (胚芽細胞) HepG2	24. 6	胸甲状腺 INVITROGEN A302152	1. 7	1. 6
肝臓	1. 3	甲状腺 NAT INVITROGEN A302153	9. 2	17. 7
肺 (胎児)	15. 8	正常乳房 GENPAK 061019	21. 3	30. 1

肺 癌 (小細胞) LX-1	1. 5	84877 乳癌 (OD04566)	1. 4	1. 5
肺 癌 (小細胞) NCI-H69	4. 2	85975 乳癌 (OD04590-01)	12. 9	10. 1
肺 癌 (小細胞 var.) SHP-77	1. 4	85976 乳癌転移7 (OD04590-03)	100	88
肺 癌 (大細胞) NCI-H460	0	87070 乳癌転移 (OD04655-05)	32. 8	0
肺 癌 (非小細胞) A549	2. 9	GENPAK 乳癌 064006	25	28. 5
肺 癌 (非小細胞) NCI-H23	9. 5	乳癌 Res. Gen. 1024	51. 8	66. 3
肺 癌 (非小細胞) HOP-62	3.4	乳癌 Clontech 9100266	25	25.1
肺 癌 (非小細胞) NCI-H522	0	乳房 NAT Clontech 9100265	18. 2	31. 7
肺 癌 (扁平上皮) SW 900	4. 7	乳癌 INVITROGEN A209073	15	21
肺 癌 (扁平上皮) NCI- H596	0	乳房 NAT INVITROGEN A2090734	16. 2	12. 3
乳腺	0	正常肝臓 GENPAK 061009	5. 6	4. 9
乳 癌 * (胸水) MCF-7	0. 7	肝臓癌 GENPAK 064003	5. 4	11. 8
乳 癌 * (胸水) MDA - MB-231	6. 1	肝臓癌 Research Genetics RNA 1025	3. 7	3. 6
乳 癌 * (胸水) T47D	5. 1	肝臓癌 Research Genetics RNA 1026	4. 8	5. 5
乳 癌 BT-549	2. 8	対の肝臓癌組織 Research Genetics RNA 6004-T	10. 6	7
乳 癌 MDA-N	0	対の肝臓癌組織 Research Genetics RNA 6004-N	19. 3	28. 4
卵巣	2. 7	対の肝臓癌組織 Research Genetics RNA 6005- T	4. 6	6
卵巣 癌 OVCAR-3	3. 2	対の肝臓組織 Research Genetics RNA 6005-N	5	0
卵巣 癌 OVCAR-4	3. 7	正常膀胱 GENPAK 061001	18. 3	11. 5
卵巣 癌 OVCAR-5	2. 5	膀胱癌 Research Genetics RNA 1023	7. 9	21. 4
卵巣 癌 OVCAR-8	1. 7	膀胱癌 INVITROGEN A302173	33	18. 9
卵巣 癌 IGROV-1	0	87071 膀胱癌 (OD04718-01)	11	18. 5
卵巣 癌 * (胸水) SK- OV-3	1. 8	87072 膀胱正常隣接 (OD04718-03)	9. 4	9. 7
子宮	24. 6	正常卵巣 Res. Gen.	11. 6	11. 3

胎盤	2. 8	卵巣癌 GENPAK 064008	23. 3	22. 9
前立腺	2. 5	87492 卵巣癌 (OD04768-07)	80. 1	100
前立腺 癌 * (骨転移) PC-3	26. 5	87493 卵巣 NAT (OD04768-08)	3. 8	6. 4
精巣	0	正常胃 GENPAK 061017	15. 9	17. 1
黒色腫 Hs688 (A). T	0	胃癌 Clontech 9060358	36. 3	45. 8
黒色腫* (met) Hs688 (B). T	0	NAT 胃 Clontech 9060359	44. 4	60. 8
黒色腫 UACC-62	1. 2	胃癌 Clontech 9060395	13. 8	20. 4
黒色腫 M14	0	NAT 胃 Clontech 9060394	78. 5	93
黒色腫 LOX IMVI	0. 6	胃癌 Clontech 9060397	5. 8	11. 5
黒色腫* (転移) SK-MEL-5	4. 1	NAT 胃 Clontech 9060396	25. 5	30. 1
脂肪	2	胃癌 GENPAK 064005	35. 1	27. 6

(表１４．パネル３Ｄ)

【０４１１】

【表５４】

組織名	Rel. Expr., % 3dtm5227f_ag1605
94905_Daoy_Medulloblastoma/Cerebellum_sscDNA	0.0
94906_TE671_Medulloblastom/Cerebellum_sscDNA	0.4
94907_D283 Med_Medulloblastoma/Cerebellum_sscDNA	0.0
94908_PFSK-1_Primitive Neuroectodermal/Cerebellum_sscDNA	0.0
94909_XF-498_CNS_sscDNA	0.0
94910_SNB-78_CNS/glioma_sscDNA	0.0
94911_SF-268_CNS/glioblastoma_sscDNA	0.0
94912_T98G_Glioblastoma_sscDNA	0.0
96776_SK-N-SH_Neuroblastoma (metastasis)_sscDNA	0.0
94913_SF-295_CNS/glioblastoma_sscDNA	0.2
94914_Cerebellum_sscDNA	1.9
96777_Cerebellum_sscDNA	3.4
94916_NCI-H292_Mucoepidermoid lung carcinoma_sscDNA	0.4
94917_DMS-114_Small cell lung cancer_sscDNA	0.0
94918_DMS-79_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	3.8
94919_NCI-H146_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	0.0
94920_NCI-H526_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	14.6
94921_NCI-N417_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	0.0

表14 続き

94923_NCI-H82_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	0.2
94924_NCI-H157_Squamous cell lung cancer (metastasis)_sscDNA	0.0
94925_NCI-H1155_Large cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	0.0
94926_NCI-H1299_Large cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	0.0
94927_NCI-H727_Lung carcinoid_sscDNA	0.5
94928_NCI-UMC-11_Lung carcinoid_sscDNA	0.6
94929_LX-1_Small cell lung cancer_sscDNA	0.2
94930_Colo-205_Colon cancer_sscDNA	0.0
94931_KM12_Colon cancer_sscDNA	0.0
94932_KM20L2_Colon cancer_sscDNA	0.0
94933_NCI-H716_Colon cancer_sscDNA	0.0
94935_SW-48_Colon adenocarcinoma_sscDNA	0.1
94936_SW1116_Colon adenocarcinoma_sscDNA	0.0
94937_LS 174T_Colon adenocarcinoma_sscDNA	0.0
94938_SW-948_Colon adenocarcinoma_sscDNA	0.0
94939_SW-480_Colon adenocarcinoma_sscDNA	0.0
94940_NCI-SNU-5_Gastric carcinoma_sscDNA	0.2
94941_KATO III_Gastric carcinoma_sscDNA	0.4
94943_NCI-SNU-16_Gastric carcinoma_sscDNA	0.0
94944_NCI-SNU-1_Gastric carcinoma_sscDNA	0.0
94946_RF-1_Gastric adenocarcinoma_sscDNA	15.9
94947_RF-48_Gastric adenocarcinoma_sscDNA	18.7
96778_MKN-45_Gastric carcinoma_sscDNA	0.0
94949_NCI-N87_Gastric carcinoma_sscDNA	0.0
94951_OVCAR-5_Ovarian carcinoma_sscDNA	0.0
94952_RL95-2_Uterine carcinoma_sscDNA	0.0
94953_HelaS3_Cervical adenocarcinoma_sscDNA	0.0
94954_Ca Ski_Cervical epidermoid carcinoma (metastasis)_sscDNA	0.2
94955_ES-2_Ovarian clear cell carcinoma_sscDNA	0.0
94957_Ramos/6h stim_"; Stimulated with PMA/ionomycin 6h_sscDNA	14.7
94958_Ramos/14h stim_"; Stimulated with PMA/ionomycin 14h_sscDNA	22.7
94962_MEG-01_Chronic myelogenous leukemia (megokaryoblast)_sscDNA	0.5
94963_Raji_Burkitt's lymphoma_sscDNA	32.3
94964_Daudi_Burkitt's lymphoma_sscDNA	100.0
94965_U266_B-cell plasmacytoma/myeloma_sscDNA	0.3
94968_CA46_Burkitt's lymphoma_sscDNA	22.5
94970_RL_non-Hodgkin's B-cell lymphoma_sscDNA	29.5

表14続き

94972_JM1_pre-B-cell lymphoma/leukemia_sscDNA	23.5
94973_Jurkat_T cell leukemia_sscDNA	2.2
94974_TF-1_Erythroleukemia_sscDNA	0.3
94975_HUT 78_T-cell lymphoma_sscDNA	1.6
94977_U937_Histiocytic lymphoma_sscDNA	7.3
94980_KU-812_Myelogenous leukemia_sscDNA	0.1
94981_769-P_Clear cell renal carcinoma_sscDNA	0.2
94983_Caki-2_Clear cell renal carcinoma_sscDNA	0.1
94984_SW 839_Clear cell renal carcinoma_sscDNA	1.0
94986_G401_Wilms' tumor_sscDNA	0.0
94987_Hs766T_Pancreatic carcinoma (LN metastasis)_sscDNA	0.1
94988_CAPAN-1_Pancreatic adenocarcinoma (liver metastasis)_sscDNA	0.0
94989_SU86.86_Pancreatic carcinoma (liver metastasis)_sscDNA	0.0
94990_BxPC-3_Pancreatic adenocarcinoma_sscDNA	0.1
94991_HPAC_Pancreatic adenocarcinoma_sscDNA	0.1
94992_MIA PaCa-2_Pancreatic carcinoma_sscDNA	0.0
94993_CFPAC-1_Pancreatic ductal adenocarcinoma_sscDNA	0.2
94994_PANC-1_Pancreatic epithelioid ductal carcinoma_sscDNA	0.0
94996_T24_Bladder carcinma (transitional cell)_sscDNA	0.0
94997_5637_Bladder carcinoma_sscDNA	0.0
94998_HT-1197_Bladder carcinoma_sscDNA	0.0
94999_UM-UC-3_Bladder carcinma (transitional cell)_sscDNA	0.0
95000_A204_Rhabdomyosarcoma_sscDNA	0.0
95001_HT-1080_Fibrosarcoma_sscDNA	0.0
95002_MG-63_Osteosarcoma (bone)_sscDNA	0.1
95003_SK-LMS-1_Leiomyosarcoma (vulva)_sscDNA	0.2
95004_SJRH30_Rhabdomyosarcoma (met to bone marrow)_sscDNA	0.0
95005_A431_Epidermoid carcinoma_sscDNA	0.0
95007_WM266-4_Melanoma_sscDNA	0.0
95010_DU 145_Prostate carcinoma (brain metastasis)_sscDNA	0.0
95012_MDA-MB-468_Breast adenocarcinoma_sscDNA	0.0
95013_SCC-4_Squamous cell carcinoma of tongue_sscDNA	0.0
95014_SCC-9_Squamous cell carcinoma of tongue_sscDNA	0.3
95015_SCC-15_Squamous cell carcinoma of tongue_sscDNA	0.0
95017_CAL 27_Squamous cell carcinoma of tongue_sscDNA	0.0

ＲＴＱ－ＰＣＲ分析（表１３および表１４）は、パネル３Ｄにおいて、ＭＯＬ１がリンパ腫および白血病、具体的にはバーキットリンパ腫由来の細胞株で優勢に発現することを明らかにした。この結果は、Ｔ細胞リンパ腫由来のＴ細胞からのＧｅｎＢａｎｋ　ＥＳＴの存在によって支持される（Ｕｎｉｇｅｎｅ　ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｇｏｖ／ＵｎｉＧｅｎｅ／ｃｌｕｓｔ．ｃｇｉ？ＯＲＧ＝Ｈｓ＆ＣＩＤ＝８７９６８を参照のこと）。最近の報告は、このレセプターが通常は免疫細胞が非メチル化ＣｐＧジヌクレオチドの存在を感知するのを補助することを示す（Ｈｅｍｍｉ　Ｈ、Ｔａｋｅｕｔｉ　Ｏ、Ｋａｗａｉ　Ｔ、Ｋａｉｓｈｏ　Ｔ、Ｓａｔｏ　Ｓ、Ｓａｎｊｏ　Ｈ、Ｍａｔｓｕｍｏｔｏ　Ｍ、Ｈｏｓｈｉｎｏ　Ｋ、Ｗａｇｎｅｒ　Ｈ、Ｔａｋｅｄａ　Ｋ、Ａｋｉｒａ　Ｓ）。Ｔｏｌｌ様レセプターは、細菌ＤＮＡを認識し（Ｎａｔｕｒｅ　２０００　Ｄｅｃ　７；４０８（６８１３）：７４０－５）、そして脾細胞の増殖、マクロファージからの炎症性サイトカインの産生、および樹状細胞の成熟を誘導する。ｔｏｌｌ様レセプター９によって媒介されるシグナル伝達経路は、ＮＦ－κＢの活性化を介する。ＮＦ－κＢの活性がリンパ腫細胞および白血病細胞の生存に必要であるという証拠が存在する（Ｃｏｎｓｔｉｔｕｔｉｖｅ　ａｃｔｉｖａｔｉｏｎ　ｏｆ　ＮＦ－ｋａｐｐａＢ　ｉｎ　ｐｒｉｍａｒｙ　ａｄｕｌｔ　Ｔ－ｃｅｌｌ　ｌｅｕｋｅｍｉａ　ｃｅｌｌｓ．Ｍｏｒｉ　Ｎ、Ｆ

ｕｊｉｉ Ｍ、Ｉｋｅｄａ Ｓ、Ｙａｍａｄａ Ｙ、Ｔｏｍｏｎａｇａ Ｍ、Ｂａｌｌａｒｄ ＤＷ、Ｙａｍａｍｏｔｏ Ｎ．Ｂｌｏｏｄ １９９９ Ａｐｒ １；９３（７）：２３６０－８；Ｉｎｈｉｂｉｔｉｏｎ ｏｆ ＮＦ－ｋａｐｐａＢ ｉｎｄｕｃｅｓ ａｐｏｐｔｏｓｉｓ ｏｆ ＫＳＨＶ－ｉｎｆｅｃｔｅｄ ｐｒｉｍａｒｙ ｅｆｆｕｓｉｏｎ ｌｙｍｐｈｏｍａ ｃｅｌｌｓ．Ｋｅｌｌｅｒ ＳＡ、Ｓｃｈａｔｔｎｅｒ ＥＪ、Ｃｅｓａｒｍａｎ Ｅ．Ｂｌｏｏｄ、２０００年１０月１日、９６、Ｎｏ．７、２５３７－２５４２頁）。リンパ腫細胞および白血病細胞によるｔｏｌｌ様レセプター９の過剰発現は、リガンド非依存性のシグナル伝達を媒介する可能性があり、活性化、増殖および腫瘍形成の正常なプロセスに影響する。従って、コードされるタンパク質（ＧＭ＿７９９６０１７８）は、リンパ腫細胞および白血病細胞についての潜在的なマーカーとして働き得る。さらに、このたんぱく質に対するヒトモノクローナル抗体は、リンパ腫および白血病の処置のための治療剤たり得る。

【０４１２】

（ＭＯＬ２）

遺伝子ＭＯＬ２の発現を、表１５に記載されるプライマー－プローブセット（Ａｇ７４３）を使用して評価した。ＲＴＱ－ＰＣＲ試行の結果を表１６に示す。

【０４１３】

（表１５．プローブ名：Ａｇ７４３）

【０４１４】

【表５５】

プライマー	配列	Tm	長さ	開始位置	配列番号
順方向	5'-ATGTCTTGGTGGATGCAGAA-3'	59.1	20	1304	79
プローブ	TET-5'-CGGACTATAGCATTTCTAAGCGCCTCG-3'-TAMRA	69.2	27	1340	80
逆方向	5'-CACATCCTCCTTGCAAATGT-3'	58.6	20	1370	81

（表１６．パネル１．３Ｄおよび４Ｄ）

【０４１５】

【表５６】

パネル 1.3 D		パネル 4D	
組織名	Rel. Expr., % 1.3dx4tm5604t_ag743_a1	組織名	Rel. Expr., % 4Dtm2477t_ag743
肝臓腺腫	36.4	93768_Secondary Th1_anti-CD28/anti-CD3	27.2
膵臓	4.6	93769_Secondary Th2_anti-CD28/anti-CD3	19.6
膵臓 ca. CAPAN 2	16.6	93770_Secondary Tr1_anti-CD28/anti-CD3	23.2
副腎	6.5	93573_Secondary Th1_resting day 4-6 in IL-2	7.2
甲状腺	5.2	93572_Secondary Th2_resting day 4-6 in IL-2	7.1
唾液腺	12.0	93571_Secondary Tr1_resting day 4-6 in IL-2	11.9
下垂体	22.7	93568_primary Th1_anti-CD28/anti-CD3	43.2
脳(胎児)	8.4	93569_primary Th2_anti-CD28/anti-CD3	32.1
脳(全体)	38.6	93570_primary Tr1_anti-CD28/anti-CD3	50.0
脳(扁桃)	24.8	93565_primary Th1_resting dy 4-6 in IL-2	43.8
脳(小脳)	31.4	93566_primary Th2_resting dy 4-6 in IL-2	16.4
脳(海馬)	22.0	93567_primary Tr1_resting dy 4-6 in IL-2	22.4
脳(黒質)	11.8	93351_CD45RA CD4 lymphocyte_anti-CD28/anti-CD3	23.0
脳(視床)	30.3	93352_CD45RO CD4 lymphocyte_anti-CD28/anti-CD3	25.5
大脳皮質	22.0	93251_CD8 Lymphocytes_anti-CD28/anti-CD3	16.0
脊髄	20.6	93353_chronic CD8 Lymphocytes 2ry_resting dy 4-6 in IL-2	15.0
CNS ca. (glio/astro) U87-MG	28.1	93574_chronic CD8 Lymphocytes 2ry_activated CD3/CD28	10.2
CNS ca. (glio/astro) U-118-MG	27.9	93354_CD4_none	4.0
CNS ca. (astro) SW1783	31.1	93252_Secondary Th1/Th2/Tr1_anti-CD95 CH11	9.6
CNS ca.*	19.3	93103_LAK cells_resting	12.9

表16続き

(neuro; met) SK-N-AS			
CNS ca. (astro) SF-539	47.2	93788_LAK cells_IL-2	14.9
CNS ca. (astro) SNB-75	10.2	93787_LAK cells_IL-2+IL-12	12.5
CNS ca. (glio) SNB-19	24.3	93789_LAK cells_IL-2+IFN gamma	22.2
CNS ca. (glio) U251	20.9	93790_LAK cells_IL-2+IL-18	15.7
CNS ca. (glio) SF-295	10.7	93104_LAK cells_PMA/ionomycin and IL-18	4.0
心臓(胎児)	2.0	93578_NK Cells IL-2_resting	12.0
心臓	6.5	93109_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	9.8
胎児骨格	0.7	93110_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	14.3
骨格筋	18.3	93111_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	11.7
骨髄	11.2	93112_Mononuclear Cells (PBMCs)_resting	5.8
胸腺	7.8	93113_Mononuclear Cells (PBMCs)_PWM	51.8
脾臓	7.2	93114_Mononuclear Cells (PBMCs)_PHA-L	27.5
リンパ節	7.5	93249_Ramos (B cell)_none	0.2
結腸直腸	28.4	93250_Ramos (B cell)_ionomycin	6.7
胃	6.5	93349_B lymphocytes_PWM	100.0
小腸	10.0	93350_B lymphoytes_CD40L and IL-4	23.7
結腸ca. SW480	23.2	92665_EOL-1 (Eosinophil)_dbcAMP differentiated	15.5
結腸ca.* (SW480 met)SW620	12.3	93248_EOL-1 (Eosinophil)_dbcAMP/PMAionomycin	10.4
結腸ca. HT29	1.7	93356_Dendritic Cells_none	15.3
結腸ca. HCT-116	13.1	93355_Dendritic Cells_LPS 100 ng/ml	6.7
結腸ca. CaCo-2	12.5	93775_Dendritic Cells_anti-CD40	16.7
83219 CC Well to Mod	10.4	93774_Monocytes_resting	14.9

表16続き

Diff (OD03866)			
結腸ca. HCC-2998	11.3	93776_Monocytes_LPS 50 ng/ml	4.0
胃 ca.* (肝臓met) NCI-N87	17.6	93581_Macrophages_resting	19.5
膀胱	17.6	93582_Macrophages_LPS 100 ng/ml	7.5
気管	7.6	93098_HUVEC (Endothelial)_none	33.0
腎臓	5.7	93099_HUVEC (Endothelial)_starved	66.0
腎臓(胎児)	6.4	93100_HUVEC (Endothelial)_IL-1b	29.3
腎 ca. 786-0	10.0	93779_HUVEC (Endothelial)_IFN gamma	33.0
腎 ca. A498	23.6	93102_HUVEC (Endothelial)_TNF alpha + IFN gamma	23.0
腎 ca. RXF 393	37.8	93101_HUVEC (Endothelial)_TNF alpha + IL4	19.9
腎 ca. ACHN	18.1	93781_HUVEC (Endothelial)_IL-11	22.4
腎 ca. UO-31	26.1	93583_Lung Microvascular Endothelial Cells_none	27.5
ca. TK-10	10.9	93584_Lung Microvascular Endothelial Cells_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	25.2
肝臓	2.2	92662_Microvascular Dermal endothelium_none	51.4
肝臓(胎児)	4.4	92663_Microsvasular Dermal endothelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	22.5
肝臓ca. (肝芽腫) HepG2	28.1	93773_Bronchial epithelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml) **	17.0
肺	12.4	93347_Small Airway Epithelium_none	20.9
肺(胎児)	5.2	93348_Small Airway Epithelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	84.7
肺 ca. (小細胞) LX-1	10.8	92668_Coronery Artery SMC_resting	37.9
肺 ca. (小細胞) NCI-H69	20.2	92669_Coronery Artery SMC_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	26.8
肺 ca.	20.1	93107_astrocytes_resting	47.6

表16続き

(s.cell var.) SHP-77			
肺 ca. (大細胞) NCI-H460	10.7	93108_astrocytes_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	20.0
肺 ca. (non-sm. cell) A549	5.5	92666_KU-812 (Basophil)_resting	25.0
肺 ca. (non-s.cell) NCI-H23	13.2	92667_KU-812 (Basophil)_PMA/ionoycin	31.9
肺 ca (non-s.cell) HOP-62	18.3	93579_CCD1106 (Keratinocytes)_none	47.0
肺 ca. (non-s.cl) NCI-H522	13.8	93580_CCD1106 (Keratinocytes)_TNFa and IFNg **	7.2
肺 ca. (squam.) SW 900	17.2	93791_Liver Cirrhosis	4.2
肺 ca. (squam.) NCI-H596	20.9	93792_Lupus Kidney	3.8
乳腺 L	17.8	93577_NCI-H292	55.1
乳房 ca.* (pl. 滲出) MCF-7	20.4	93358_NCI-H292_IL-4	68.8
乳房 ca.* (pl.ef) MDA-MB-231	22.5	93360_NCI-H292_IL-9	59.5
乳房 ca.* (pl. 滲出) T47D	15.5	93359_NCI-H292_IL-13	35.1
乳房 ca. BT-549	13.9	93357_NCI-H292_IFN gamma	37.9
乳房 ca. MDA-N	9.9	93777_HPAEC_-	32.3
卵巣	5.6	93778_HPAEC_IL-1 beta/TNA alpha	23.2
卵巣 ca. OVCAR-3	15.4	93254_Normal Human Lung Fibroblast_none	29.7
卵巣 ca. OVCAR-4	12.4	93253_Normal Human Lung Fibroblast_TNFa (4 ng/ml) and IL-1b (1 ng/ml)	16.8
卵巣 ca. OVCAR-5	27.2	93257_Normal Human Lung Fibroblast_IL-4	55.5
卵巣 ca. OVCAR-8	9.0	93256_Normal Human Lung Fibroblast_IL-9	34.9

表16続き

卵巣 ca. IGROV-1	22.6	93255_Normal Human Lung Fibroblast_IL-13	36.9
卵巣 ca.* (腹水) SK-OV-3	100.0	93258_Normal Human Lung Fibroblast_IFN gamma	58.6
子宮	6.1	93106_Dermal Fibroblasts CCD1070_resting	74.2
胎盤	15.8	93361_Dermal Fibroblasts CCD1070_TNF alpha 4 ng/ml	64.2
前立腺	5.6	93105_Dermal Fibroblasts CCD1070_IL-1 beta 1 ng/ml	27.7
前立腺ca.* (骨met)PC-3	50.1	93772_dermal fibroblast_IFN gamma	24.0
精巣	8.3	93771_dermal fibroblast_IL-4	58.2
黒色腫 Hs688(A).T	12.6	93259_IBD Colitis 1**	2.8
黒色腫* (met) Hs688(B).T	14.5	93260_IBD Colitis 2	1.1
黒色腫 UACC-62	18.8	93261_IBD Crohns	2.1
黒色腫 M14	19.7	735010_Colon_normal	14.3
黒色腫 LOX IMVI	8.8	735019_Lung_none	21.5
黒色腫* (met) SK-MEL-5	11.0	64028-1_Thymus_none	27.0
脂肪	14.5	64030-1_Kidney_none	31.2

ＭＯＬ２は、パネル１．３Ｄおよび４Ｄの両方に示された組織および細胞株で広く発現され、最も高い発現は１つの卵巣癌細胞株（ＳＫ－ＯＶ－３）に見られる。従って、これは、卵巣癌についての診断マーカーとして働き得る。

【０４１６】

（ＭＯＬ３）

ＭＯＬ３の発現を、表１７および表１８に記載されるプライマー－プローブセット（Ａｇ４７４およびＡｇ７７０）を使用して評価した。ＲＴＱ－ＰＣＲ実施の結果を、表１９および表２０に示す。

【０４１７】

（表１７．プローブ名：Ａｇ４７４）

【０４１８】

【表５７】

プライマー	配列	長さ	開始位置	配列番号
順方向	5'-GGCACTGTCCCTCTGCACAT-3'	20	493	82
プローブ	FAM-5'-CCCTGAGAAAGATCTGCCACAAAGACATCTG-3'-TAMRA	31	516	83
逆方向	5'-AACCTGCCCACAGAGCAATC-3'	20	549	84

（表１８．プローブ名：Ａｇ７７０）

【０４１９】

【表５８】

プライマー	配列	Tm	長さ	開始位置
順方向	5'-ACAGTGCTGTCGCTGGTACTT-3'	60	21	717
プローブ	FAM-5'-TTCGTACTGAAAGGCGTACCTCTCCA-3'-TAMRA	67.9	26	746
逆方向	5'-CTCAAACAGCTCACGAGTGAT-3'	58.1	21	773

（表１９．Ａｇ４７４）

【０４２０】

【表５９】

パネル 1.3D		パネル2D	
組織名	Rel. Expr., % 1.3Dtm3254f_ag474	組織名	Rel. Expr., % 2Dtm3255f_ag474
肝臓腺腫	0.0	正常結腸 GENPAK 061003	0.3
膵臓	0.0	83219 CC Well to Mod Diff (ODO3866)	0.0
膵臓 ca. CAPAN2	0.0	83220 CC NAT (ODO3866)	0.0
副腎	0.3	83221 CC Gr.2 直腸S状結腸(ODO3868)	0.0
甲状腺	0.0	83222 CC NAT (ODO3868)	0.0
唾液腺	0.0	83235 CC Mod Diff (ODO3920)	0.0
下垂体	0.0	83236 CC NAT (ODO3920)	0.0
脳(胎児)	0.2	83237 CC Gr.2 上向結腸(ODO3921)	0.0
脳(全体)	0.0	83238 CC NAT (ODO3921)	0.0
脳(扁桃)	0.1	83241 CC 部分的肝切除由来 (ODO4309)	3.8
脳(小脳)	0.0	83242 肝臓NAT (ODO4309)	100.0

表19続き

脳(海馬)	0.0	87472 結腸mets to 肺 (OD04451-01)	0.0
脳(黒質)	0.0	87473 肺 NAT (OD04451-02)	0.0
脳(視床)	0.0	正常前立腺 Clontech A+ 6546-1	0.0
大脳皮質	0.1	84140 前立腺癌 (OD04410)	0.0
脊髄	0.0	84141 前立腺 NAT (OD04410)	0.0
CNS ca. (glio/astro) U87-MG	0.3	87073 前立腺癌 (OD04720-01)	0.0
CNS ca. (glio/astro) U-118-MG	0.0	87074 前立腺 NAT (OD04720-02)	0.0
CNS ca. (astro) SW1783	0.0	正常肺 GENPAK 061010	0.0
CNS ca.* (neuro; met) SK-N-AS	0.0	83239 肺 Met to 筋肉 (ODO4286)	0.0
CNS ca. (astro) SF-539	0.0	83240 筋肉 NAT (ODO4286)	0.0
CNS ca. (astro) SNB-75	0.0	84136 肺悪性癌 (OD03126)	0.0
CNS ca. (glio) SNB-19	0.0	84137 肺 NAT (OD03126)	0.0
CNS ca. (glio) U251	0.0	84871 肺癌 (OD04404)	0.0
CNS ca. (glio) SF-295	0.0	84872 肺 NAT (OD04404)	0.0
心臓(胎児)	0.0	84875 肺癌 (OD04565)	0.0
心臓	0.0	84876 肺 NAT (OD04565)	0.0
胎児骨格	0.2	85950 肺癌 (OD04237-01)	0.0
骨格筋	0.0	85970 肺 NAT (OD04237-02)	0.0
骨髄	0.0	83255 眼 Mel Met to 肝臓(ODO4310)	0.0
胸腺	0.0	83256 肝臓 NAT (ODO4310)	64.2
脾臓	0.2	84139 黒色腫 Mets to 肺 (OD04321)	0.0
リンパ節	0.0	84138 肺 NAT (OD04321)	0.0
結腸直腸	0.0	正常腎臓 GENPAK 061008	0.0
胃	0.1	83786 腎臓 Ca, 核グレード2	0.0

表19続き

		(OD04338)	
小腸	0.0	83787 腎臓 NAT (OD04338)	0.0
結腸 ca. SW480	0.3	83788 腎臓 Ca 核グレード 1/2 (OD04339)	0.0
結腸 ca.* (SW480 met)SW620	0.0	83789 腎臓 NAT (OD04339)	0.0
結腸 ca. HT29	0.0	83790 腎臓 Ca, 明細胞型 (OD04340)	0.1
結腸 ca. HCT-116	0.0	83791 腎臓 NAT (OD04340)	0.0
結腸 ca. CaCo-2	0.3	83792 腎臓 Ca, 核グレード 3 (OD04348)	0.0
83219 CC Well to Mod Diff (ODO3866)	0.3	83793 腎臓 NAT (OD04348)	0.0
結腸 ca. HCC-2998	0.5	87474 腎臓癌 (OD04622-01)	0.0
胃 ca.* (肝臓 met) NCI-N87	0.0	87475 腎臓 NAT (OD04622-03)	0.0
膀胱	0.0	85973 腎臓癌 (OD04450-01)	0.0
気管	0.0	85974 腎臓 NAT (OD04450-03)	0.1
腎臓	0.0	腎臓癌 Clontech 8120607	0.0
腎臓(胎児)	0.0	腎臓 NAT Clontech 8120608	0.0
腎 ca. 786-0	0.0	腎臓癌 Clontech 8120613	0.0
腎 ca. A498	0.0	腎臓 NAT Clontech 8120614	0.0
腎 ca. RXF 393	0.0	腎臓癌 Clontech 9010320	0.0
腎 ca. ACHN	0.0	腎臓 NAT Clontech 9010321	0.0
腎 ca. UO-31	0.3	正常子宮 GENPAK 061018	0.0
腎 ca. TK-10	0.1	子宮癌 GENPAK 064011	0.0
肝臓	100.0	正常甲状腺 Clontech A+ 6570-1	0.0
肝臓(胎児)	1.8	甲状腺癌 GENPAK 064010	0.0
肝臓 ca. (胚芽) HepG2	0.0	甲状腺癌 INVITROGEN A302152	0.0
肺	0.0	甲状腺 NAT INVITROGEN A302153	0.0

表19続き

肺(胎児)	0.0	正常乳房 GENPAK 061019	0.0
肺 ca. (小細胞) LX-1	0.0	84877 乳房癌 (OD04566)	0.0
肺 ca. (小細胞) NCI-H69	0.0	85975 乳房癌 (OD04590-01)	0.0
肺 ca. (s.cell var.) SHP-77	0.0	85976 乳房癌 Mets (OD04590-03)	0.0
肺 ca. (大細胞) NCI-H460	0.0	87070 乳房癌 転移 (OD04655-05)	0.0
肺 ca. (non-sm. cell) A549	0.1	GENPAK 乳房癌 064006	0.2
肺 ca. (non-s.cell) NCI-H23	0.2	乳房癌 Res. Gen. 1024	0.2
肺 ca (non-s.cell) HOP-62	0.0	乳房癌 Clontech 9100266	0.0
肺 ca. (non-s.cl) NCI-H522	0.0	乳房 NAT Clontech 9100265	0.0
肺 ca. (squam.) SW 900	0.0	乳房癌 INVITROGEN A209073	0.0
肺 ca. (squam.) NCI-H596	0.0	乳房 NAT INVITROGEN A2090734	0.0
乳腺	0.0	肝臓癌 GENPAK 061009	38.4
乳房 ca.* (pl. 滲出) MCF-7	0.0	肝臓癌 GENPAK 064003	49.0
乳房 ca.* (pl.ef) MDA-MB-231	0.0	肝臓癌 Research Genetics RNA 1025	62.4
乳房 ca.* (pl. 滲出) T47D	0.0	肝臓癌 Research Genetics RNA 1026	12.9
乳房 ca. BT-549	0.0	対肝臓癌組織 Research Genetics RNA 6004-T	74.2
乳房 ca. MDA-N	0.1	対肝臓組織 Research Genetics RNA 6004-N	8.5
卵巣	0.0	対肝臓癌組織 Research Genetics RNA 6005-T	5.0
卵巣 ca. OVCAR-3	0.5	対肝臓組織 Research Genetics RNA 6005-N	18.6
卵巣 ca. OVCAR-4	0.0	正常膀胱 GENPAK 061001	0.0
卵巣 ca. OVCAR-5	0.0	膀胱癌 Research Genetics RNA 1023	0.0
卵巣 ca. OVCAR-8	0.0	膀胱癌 INVITROGEN A302173	0.0
卵巣 ca.	0.0	87071 膀胱癌	0.0

表19続き

IGROV-1		(OD04718-01)	
卵巣 ca.* (腹水) SK-OV-3	0.0	87072 膀胱 正常 + 隣接 (OD04718-03)	0.0
子宮	0.0	正常卵巣 Res. Gen.	0.0
胎盤	0.0	卵巣癌 GENPAK 064008	0.0
前立腺	0.1	87492 卵巣癌 (OD04768-07)	0.1
前立腺ca.*(骨met)PC-3	0.0	87493卵巣 NAT (OD04768-08)	0.0
精巣	0.3	正常胃 GENPAK 061017	0.0
黒色腫 Hs688(A).T	0.0	胃癌 Clontech 9060358	0.0
黒色腫* (met) Hs688(B).T	0.0	NAT 胃 Clontech 9060359	0.0
黒色腫 UACC-62	0.0	胃癌 Clontech 9060395	0.4
黒色腫 M14	0.0	NAT 胃 Clontech 9060394	0.0
黒色腫 LOX IMVI	0.0	胃癌 Clontech 9060397	0.3
黒色腫* (met) SK-MEL-5	0.0	NAT 胃 Clontech 9060396	0.0
脂肪	0.0	胃癌 GENPAK 064005	0.0

（表２０．Ａｇ７７０）

【０４２１】

【表６０】

パネル1.3D		パネル4D		
組織名	Rel. Expr., % 1.3dx4tm5495 f_ag770_b2	組織名	Rel. Expr., % 4dtm1843f_ag770	Rel. Expr., % 4Dtm1910f_ag770
肝臓腺腫	0.0	93768_Secondary Th1_anti-CD28/anti-CD3	0.0	0.0
膵臓	0.0	93769_Secondary Th2_anti-CD28/anti-CD3	6.4	0.0
膵臓 ca. CAPAN 2	0.0	93770_Secondary Tr1_anti-CD28/anti-CD3	3.1	0.0
副腎	0.0	93573_Secondary Th1_resting day 4-6 in IL-2	0.0	0.0
甲状腺	0.0	93572_Secondary Th2_resting day 4-6 in IL-2	0.0	0.0
唾液腺	0.0	93571_Secondary Tr1_resting day 4-6 in IL-2	0.0	0.0

表20続き

下垂体	0.0	93568_primary Th1_anti-CD28/anti-CD3	3.7	0.0
脳(胎児)	0.0	93569_primary Th2_anti-CD28/anti-CD3	0.0	0.0
脳(全体)	0.0	93570_primary Tr1_anti-CD28/anti-CD3	0.0	0.0
脳(扁桃)	0.0	93565_primary Th1_resting dy 4-6 in IL-2	0.0	4.8
脳(小脳)	0.2	93566_primary Th2_resting dy 4-6 in IL-2	0.0	2.2
脳(海馬)	0.1	93567_primary Tr1_resting dy 4-6 in IL-2	0.0	7.0
脳(黒質)	0.0	93351_CD45RA CD4 lymphocyte_anti-CD28/anti-CD3	3.1	0.0
脳(視床)	0.0	93352_CD45RO CD4 lymphocyte_anti-CD28/anti-CD3	0.0	0.0
大脳皮質	0.0	93251_CD8 Lymphocytes_anti-CD28/anti-CD3	1.4	0.0
脊髄	0.0	93353_chronic CD8 Lymphocytes 2ry_resting day 4-6 in IL-2	0.0	0.0
CNS ca. (glio/astro) U87-MG	0.0	93574_chronic CD8 Lymphocytes 2ry_activated CD3/CD28	0.0	0.0
CNS ca. (glio/astro) U-118-MG	0.0	93354_CD4_none	0.0	0.0
CNS ca. (astro) SW1783	0.0	93252_Secondary Th1/Th2/Tr1_anti-CD95 CH11	0.0	41.2
CNS ca.* (neuro; met) SK-N-AS	0.0	93103_LAK cells_resting	0.0	0.0
CNS ca. (astro) SF-539	0.0	93788_LAK cells_IL-2	0.0	0.0
CNS ca. (astro) SNB-75	0.0	93787_LAK cells_IL-2+IL-12	0.0	0.0
CNS ca. (glio) SNB-19	0.0	93789_LAK cells_IL-2+IFN gamma	0.0	0.0
CNS ca. (glio) U251	0.0	93790_LAK cells_IL-2+IL-18	0.0	0.0
CNS ca. (glio) SF-295	0.0	93104_LAK cells_PMA/ionomycin and IL-18	0.0	5.9

表20続き

心臓(胎児)	0.0	93578_NK Cells IL-2_resting	0.0	0.0
心臓	0.3	93109_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	6.0	0.0
胎児骨格	0.0	93110_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	0.0	0.0
骨格筋	0.0	93111_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	0.0	1.3
骨髄	0.0	93112_Mononuclear Cells (PBMCs)_resting	0.0	18.4
胸腺	0.0	93113_Mononuclear Cells (PBMCs)_PWM	0.0	0.0
脾臓	0.0	93114_Mononuclear Cells (PBMCs)_PHA-L	0.0	6.6
リンパ節	0.0	93249_Ramos (B cell)_none	5.7	0.0
結腸直腸	0.1	93250_Ramos (B cell)_ionomycin	0.0	0.0
胃	0.0	93349_B lymphocytes_PWM	0.0	0.0
小腸	0.0	93350_B lymphoytes_CD40L and IL-4	0.0	0.0
結腸ca. SW480	0.0	92665_EOL-1 (Eosinophil)_dbcAMP differentiated	0.0	3.2
結腸ca.* (SW480 met)SW620	0.2	93248_EOL-1 (Eosinophil)_dbcAMP/PMA ionomycin	0.0	0.0
結腸 ca. HT29	0.0	93356_Dendritic Cells_none	0.0	0.0
結腸ca. HCT-116	0.0	93355_Dendritic Cells_LPS 100 ng/ml	0.0	0.0
結腸 ca. CaCo-2	0.0	93775_Dendritic Cells_anti-CD40	0.0	0.0
83219 CC Well to Mod Diff (ODO3866)	0.0	93774_Monocytes_resting	0.0	0.0
結腸 ca. HCC-2998	1.3	93776_Monocytes_LPS 50 ng/ml	0.0	0.0
胃 ca.* (肝臓met) NCI-N87	0.2	93581_Macrophages_resting	1.1	0.0
膀胱	0.0	93582_Macrophages_LPS 100 ng/ml	0.0	5.9
気管	0.0	93098_HUVEC (Endothelial)_none	0.0	0.0

表20続き

腎臓	0.0	93099_HUVEC (Endothelial)_starved	0.0	0.0
腎臓(胎児)	0.0	93100_HUVEC (Endothelial)_IL-1b	0.0	0.0
腎 ca. 786-0	0.0	93779_HUVEC (Endothelial)_IFN gamma	0.0	0.0
腎 ca. A498	0.5	93102_HUVEC (Endothelial)_TNF alpha + IFN gamma	0.0	0.0
腎 ca. RXF 393	0.0	93101_HUVEC (Endothelial)_TNF alpha + IL4	0.0	0.0
腎 ca. ACHN	0.0	93781_HUVEC (Endothelial)_IL-11	0.0	0.0
腎 ca. UO-31	0.0	93583_Lung Microvascular Endothelial Cells_none	0.0	0.0
腎 ca. TK-10	0.0	93584_Lung Microvascular Endothelial Cells_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	0.0	0.0
肝臓	100.0	92662_Microvascular Dermal endothelium_none	0.0	0.0
肝臓(胎児)	0.3	92663_Microsvasular Dermal endothelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	0.0	0.0
肝臓ca. (胚芽) HepG2	0.0	93773_Bronchial epithelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml) **	0.0	2.2
肺	0.0	93347_Small Airway Epithelium_none	0.0	0.0
肺(胎児)	0.0	93348_Small Airway Epithelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	0.0	3.7
肺 ca. (小細胞) LX-1	0.0	92668_Coronery Artery SMC_resting	0.0	0.0
肺 ca. (小細胞) NCI-H69	0.0	92669_Coronery Artery SMC_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	0.0	0.0
肺 ca. (s.cell var.) SHP-77	0.0	93107_astrocytes_resting	0.0	3.4
肺 ca. (大細胞) NCI-H460	0.0	93108_astrocytes_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	0.0	0.0
肺 ca. (non-sm. cell) A549	0.0	92666_KU-812 (Basophil)_resting	0.0	1.6
肺 ca. (non-s.cell) NCI-H23	0.0	92667_KU-812 (Basophil)_PMA/ionoycin	0.0	0.0

表20続き

肺 ca (non-s.cell) HOP-62	0.0	93579_CCD1106 (Keratinocytes)_none	0.0	0.0
肺 ca. (non-s.cl) NCI-H522	0.0	93580_CCD1106 (Keratinocytes)_TNFa and IFNg **	0.0	0.0
肺 ca. (squam.) SW 900	0.5	93791_Liver Cirrhosis	100.0	100.0
肺 ca. (squam.) NCI-H596	0.0	93792_Lupus Kidney	0.0	0.0
乳腺	0.0	93577_NCI-H292	0.0	0.0
乳房 ca.* (pl. 滲出) MCF-7	0.0	93358_NCI-H292_IL-4	0.0	0.0
乳房 ca.* (pl.ef) MDA-MB-231	0.0	93360_NCI-H292_IL-9	0.0	0.0
乳房 ca.* (pl. 滲出) T47D	0.0	93359_NCI-H292_IL-13	0.0	0.0
乳房 ca. BT-549	0.0	93357_NCI-H292_IFN gamma	0.0	0.0
乳房 ca. MDA-N	0.0	93777_HPAEC_-	2.3	3.4
卵巣	0.0	93778_HPAEC_IL-1 beta/TNA alpha	0.0	0.0
卵巣 ca. OVCAR-3	0.0	93254_Normal Human Lung Fibroblast_nc ıe	3.4	0.0
卵巣 ca. OVCAR-4	0.0	93253_Normal Human Lung Fibroblast_TNFa (4 ng/ml) and IL-1b (1 ng/ml)	0.0	0.0
卵巣 ca. OVCAR-5	0.0	93257_Normal Human Lung Fibroblast_IL-4	0.0	0.0
卵巣 ca. OVCAR-8	0.0	93256_Normal Human Lung Fibroblast_IL-9	0.0	0.0
卵巣 ca. IGROV-1	0.0	93255_Normal Human Lung Fibroblast_IL-13	0.0	0.0
卵巣 ca.* (腹水) SK-OV-3	0.0	93258_Normal Human Lung Fibroblast_IFN gamma	0.0	0.0
子宮	0.5	93106_Dermal Fibroblasts CCD1070_resting	0.0	0.0
胎盤	0.0	93361_Dermal Fibroblasts CCD1070_TNF alpha 4 ng/ml	0.0	0.0

表20続き

前立腺	0.0	93105_Dermal Fibroblasts CCD1070_IL-1 beta 1 ng/ml	0.0	4.3
前立腺ca.* (骨 met)PC-3	0.0	93772_dermal fibroblast_IFN gamma	0.0	7.9
精巣	0.4	93771_dermal fibroblast_IL-4	0.0	0.0
黒色腫 Hs688(A).T	0.0	93259_IBD Colitis 1**	6.0	13.1
黒色腫* (met) Hs688(B).T	0.0	93260_IBD Colitis 2	2.8	5.2
黒色腫 UACC-62	0.3	93261_IBD Crohns	0.0	1.9
黒色腫 M14	0.1	735010_Colon_normal	1.3	3.2
黒色腫 LOX IMVI	0.0	735019_Lung_none	14.9	0.0
黒色腫* (met) SK-MEL-5	0.4	64028-1_Thymus_none	2.3	7.3
脂肪	0.0	64030-1_Kidney_none	0.0	0.0

両方のプローブ／プライマーセットは、遺伝子登録番号ＭＯＬ３の配列に特異的である。ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｇｏｖ／ＵｎｉＧｅｎｅ／ｃｌｕｓｔ．ｃｇｉ？ＯＲＧ＝Ｈｓ＆ＣＩＤ＝８５０９におけるＵｎｉＧｅｎｅのデータならびに本発明者らのＲＴＱ－ＰＣＲパネル１．３Ｄ、２Ｄおよび４Ｄは、この遺伝子が肝臓によって特異的に発現され、そしていくつかの肝細胞癌腫（ＨＣＣ）においてアップレギュレートされることを示す。血清補体の試験が肝硬変（ｌｉｖｅｒ　ｃｉｒｒｏｓｉｓ）（ＬＣ）患者においてＨＣＣを検出するための有用な道具であり得る（Ｔａｋｅｚａｋｉ　Ｅ、Ｍｕｒａｋａｍｉ　Ｓ、Ｎｉｓｈｉｂａｙａｓｈｉ　Ｈ、Ｋａｇａｗａ　Ｋ、Ｏｈｍｏｒｉ　Ｈ　Ｇａｎ　Ｎｏ　Ｒｉｎｓｈｏ　１９９０　Ｏｃｔ；３６（１２）：２１１９－２２）ことを示唆する証拠が存在する。従って、このタンパク質の血清レベルを診断マーカーとして使用して、ＬＣおよびＨＣＣを検出し得、そしてこのタンパク質に対する抗体は、ＬＣおよびＨＣＣに対する潜在的な治療剤であり得る。さらに、この分子はまた、他の組織から肝臓を分化させるための特異的マーカーとして働き得る。

【０４２２】

（ＭＯＬ４）

遺伝子ＭＯＬ４の発現を、表２１に記載されるプライマー－プローブセット（Ａｇ１６１１）を使用して評価した。

【０４２３】

（表２１．プローブ名：Ａｇ１６１１）

【０４２４】

【表６１】

プライマー	配列	Tm	長さ	開始位置	配列番号
順方向	5'-ATATGCTGTGCTGCATTCAGT-3'	58.4	21	40	85
プローブ	TET-5'-CTGCCTGGTCAGTGAACAATTTCCTG-3'-TAMRA	68.9	26	65	86
逆方向	5'-CAAGGCCACACTAGTCGTGTAG-3'	59.9	22	117	87

パネル１．３Ｄ、４Ｄおよび２Ｄにおけるこの遺伝子の発現は、多くの組織で検出不能なほど非常に低い（Ｃｔ値＞３５）。

【０４２５】
（ＭＯＬ６）
遺伝子ＭＯＬ６ａの発現を、表２２に記載のプライマー－プローブセット（Ａｇ１１６７）を使用して評価した。ＲＴＱ－ＰＣＲ試行の結果を、表２３および表２４に示す。
【０４２６】
（表２２．プローブ名：Ａｇ１１６７）
【０４２７】
【表６２】

プライマー	配列	Tm	長さ	開始位置	配列番号
順方向	5'-TCTTTGCTGACTCATCTGTTCA-3'	58.7	22	51	88
プローブ	TET-5'-AAGAAGACCCTGCTCCCTATTTGGTG-3'-TAMRA	67.5	26	75	89
逆方向	5'-AGGGGTTGAAGTGAGACTTGAG-3'	59.8	22	104	90

（表２３．パネル１．３Ｄおよび４Ｄ）
【０４２８】
【表６３】

パネル1.3D		パネル4D	
組織名	Rel. Expr., % 1.3dx4tm5586t_ag1167_a1	組織名	Rel. Expr., % 4Dtm1937t_ag1167
肝臓腺腫	1.1	93768_Secondary Th1_anti-CD28/anti-CD3	1.7
膵臓	0.0	93769_Secondary Th2_anti-CD28/anti-CD3	0.0
膵臓ca. CAPAN 2	1.0	93770_Secondary Tr1_anti-CD28/anti-CD3	0.9
副腎	0.0	93573_Secondary Th1_resting day 4-6 in IL-2	2.7

表23続き

甲状腺	0.0	93572_Secondary Th2_resting day 4-6 in IL-2	0.0
唾液腺	0.0	93571_Secondary Tr1_resting day 4-6 in IL-2	0.0
下垂体	2.1	93568_primary Th1_anti-CD28/anti-CD3	0.0
脳(胎児)	4.1	93569_primary Th2_anti-CD28/anti-CD3	3.0
脳(全体)	1.1	93570_primary Tr1_anti-CD28/anti-CD3	2.4
脳(扁桃)	4.1	93565_primary Th1_resting dy 4-6 in IL-2	5.3
脳(小脳	6.7	93566_primary Th2_resting dy 4-6 in IL-2	3.7
脳(海馬)	4.3	93567_primary Tr1_resting dy 4-6 in IL-2	3.7
脳(黒質)	5.4	93351_CD45RA CD4 lymphocyte_anti-CD28/anti-CD3	1.6
脳(視床)	4.7	93352_CD45RO CD4 lymphocyte_anti-CD28/anti-CD3	2.6
大脳皮質	1.3	93251_CD8 Lymphocytes_anti-CD28/anti-CD3	0.9
脊髄	1.6	93353_chronic CD8 Lymphocytes 2ry_resting dy 4-6 in IL-2	0.4
CNS ca. (glio/astro) U87-MG	0.0	93574_chronic CD8 Lymphocytes 2ry_activated CD3/CD28	0.9
CNS ca. (glio/astro) U-118-MG	0.0	93354_CD4_none	1.0
CNS ca. (astro) SW1783	0.0	93252_Secondary Th1/Th2/Tr1_anti-CD95 CH11	2.5
CNS ca.* (neuro; met) SK-N-AS	0.0	93103_LAK cells_resting	7.0
CNS ca. (astro) SF-539	0.0	93788_LAK cells_IL-2	0.9
CNS ca. (astro) SNB-75	2.4	93787_LAK cells_IL-2+IL-12	1.6
CNS ca. (glio) SNB-19	4.3	93789_LAK cells_IL-2+IFN gamma	5.8
CNS ca. (glio) U251	1.3	93790_LAK cells_IL-2+ IL-18	1.7
CNS ca. (glio) SF-295	0.0	93104_LAK cells_PMA/ionomycin and IL-18	0.0
心臓(胎児)	0.0	93578_NK Cells IL-2_resting	2.2
心臓	0.0	93109_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	2.4
胎児骨格	0.0	93110_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	1.6

表23続き

骨格筋	1.0	93111_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	0.0
骨髄	0.0	93112_Mononuclear Cells (PBMCs)_resting	0.0
脳腺	0.0	93113_Mononuclear Cells (PBMCs)_PWM	6.0
脾臓	16.0	93114_Mononuclear Cells (PBMCs)_PHA-L	0.9
リンパ節	1.4	93249_Ramos (B cell)_none	6.8
結腸直腸	0.0	93250_Ramos (B cell)_ionomycin	5.9
胃	0.0	93349_B lymphocytes_PWM	3.8
小腸	2.9	93350_B lymphoytes_CD40L and IL-4	2.4
結腸ca. SW480	0.0	92665_EOL-1 (Eosinophil)_dbcAMP differentiated	82.9
結腸ca.* (SW480 met)SW620	1.7	93248_EOL-1 (Eosinophil)_dbcAMP/PMAionomycin	100.0
結腸ca. HT29	0.0	93356_Dendritic Cells_none	2.5
結腸ca. HCT-116	3.9	93355_Dendritic Cells_LPS 100 ng/ml	0.9
結腸ca. CaCo-2	1.0	93775_Dendritic Cells_anti-CD40	2.5
83219 CC Well to Mod Diff (ODO3866)	0.0	93774_Monocytes_resting	0.0
結腸ca. HCC-2998	1.9	93776_Monocytes_LPS 50 ng/ml	0.8
胃 ca.* (肝臓 met) NCI-N87	2.3	93581_Macrophages_resting	0.8
膀胱	4.9	93582_Macrophages_LPS 100 ng/ml	0.4
気管	0.0	93098_HUVEC (Endothelial)_none	0.9
腎臓	1.8	93099_HUVEC (Endothelial)_starved	1.5
腎臓(胎児)	2.3	93100_HUVEC (Endothelial)_IL-1b	0.0
腎 ca. 786-0	0.0	93779_HUVEC (Endothelial)_IFN gamma	2.4
腎 ca. A498	0.9	93102_HUVEC (Endothelial)_TNF alpha + IFN gamma	0.0
腎 ca. RXF 393	0.0	93101_HUVEC (Endothelial)_TNF alpha + IL4	0.0
腎 ca. ACHN	1.5	93781_HUVEC (Endothelial)_IL-11	0.9

表23続き

腎 ca. UO-31	0.0	93583_Lung Microvascular Endothelial Cells_none	2.1
腎 ca. TK-10	4.0	93584_Lung Microvascular Endothelial Cells_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	1.3
肝臓	0.0	92662_Microvascular Dermal endothelium_none	1.2
肝臓	0.0	92663_Microsvasular Dermal endothelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	1.5
肝臓ca. (胚芽) HepG2	0.5	93773_Bronchial epithelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml) **	44.1
肺	0.0	93347_Small Airway Epithelium_none	5.6
肺 (胎児)	2.2	93348_Small Airway Epithelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	25.7
肺 ca. (小細胞) LX-1	5.2	92668_Coronery Artery SMC_resting	0.7
肺 ca. (小細胞) NCI-H69	2.8	92669_Coronery Artery SMC_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	0.0
肺 ca. (s.cell var.) SHP-77	0.8	93107_astrocytes_resting	3.5
肺 ca. (大細胞) NCI-H460	2.0	93108_astrocytes_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	1.4
肺 ca. (non-sm. cell) A549	1.8	92666_KU-812 (Basophil)_resting	20.4
肺 ca. (non-s.cell) NCI-H23	4.7	92667_KU-812 (Basophil)_PMA/ionoycin	34.2
肺 ca (non-s.cell) HOP-62	1.3	93579_CCD1106 (Keratinocytes)_none	0.7
肺 ca. (non-s.cl) NCI-H522	0.0	93580_CCD1106 (Keratinocytes)_TNFa and IFNg **	19.1
肺 ca. (squam.) SW 900	0.0	93791_Liver Cirrhosis	3.2
肺 ca. (squam.) NCI-H596	2.2	93792_Lupus Kidney	5.2
乳腺	0.8	93577_NCI-H292	6.3
乳房 ca.* (pl. 漏出) MCF-7	3.8	93358_NCI-H292_IL-4	7.4
乳房 ca.* (pl.ef) MDA-MB-231	0.0	93360_NCI-H292_IL-9	6.5
乳房 ca.* (pl. 漏出) T47D	0.0	93359_NCI-H292_IL-13	8.8
乳房 ca. BT-549	0.0	93357_NCI-H292_IFN gamma	4.2

表23続き

乳房 ca. MDA-N	0.0	93777_HPAEC_-	0.9
卵巣	0.0	93778_HPAEC_IL-1 beta/TNA alpha	1.4
卵巣 ca. OVCAR-3	0.0	93254_Normal Human Lung Fibroblast_none	0.0
卵巣 ca. OVCAR-4	1.6	93253_Normal Human Lung Fibroblast_TNFa (4 ng/ml) and IL-1b (1 ng/ml)	0.0
卵巣 ca. OVCAR-5	1.9	93257_Normal Human Lung Fibroblast_IL-4	1.5
卵巣 ca. OVCAR-8	2.8	93256_Normal Human Lung Fibroblast_IL-9	0.0
卵巣 ca. IGROV-1	2.7	93255_Normal Human Lung Fibroblast_IL-13	1.9
卵巣 ca.* (腹水) SK-OV-3	5.6	93258_Normal Human Lung Fibroblast_IFN gamma	2.2
子宮	0.6	93106_Dermal Fibroblasts CCD1070_resting	0.8
胎盤	1.0	93361_Dermal Fibroblasts CCD1070_TNF alpha 4 ng/ml	1.6
前立腺	0.0	93105_Dermal Fibroblasts CCD1070_IL-1 beta 1 ng/ml	0.0
前立腺ca.* (骨met)PC-3	0.0	93772_dermal fibroblast_IFN gamma	2.0
精巣	100.0	93771_dermal fibroblast_IL-4	0.9
黒色腫 Hs688(A).T	0.0	93259_IBD Colitis 1**	21.0
黒色腫* (met) Hs688(B).T	0.0	93260_IBD Colitis 2	1.3
黒色腫 UACC-62	0.0	93261_IBD Crohns	0.7
黒色腫 M14	0.9	735010_Colon_normal	0.7
黒色腫 LOX IMVI	0.0	735019_Lung_none	2.2
黒色腫* (met) SK-MEL-5	0.0	64028-1_Thymus_none	41.8
脂肪	1.9	64030-1_Kidney_none	6.0

（表２４．パネル２Ｄおよび３Ｄ）

【０４２９】

【表６４】

パネル2D		パネル3D	
組織名	相対的発現%	組織名	相対的発現%

(表24の続き①)

	2Dtm2324t_ag1167		3dtm5309t_ag1167
正常結腸 GENPAK 061003	2.9	94905_Daoy_Medulloblastoma/Cerebellum_sscDNA	4.0
83219 CC 良好からの中等度の鑑別(ODO3866)	2.5	94906_TE671_Medulloblastom/Cerebellum_sscDNA	0.0
83220 CC NAT (ODO3866)	18.9	94907_D283 Med_Medulloblastoma/Cerebellum_sscDNA	8.4
83221 CC Gr.2 直腸S状結腸 (ODO3868)	2.2	94908_PFSK-1_Primitive Neuroectodermal/Cerebellum_sscDNA	7.0
83222 CC NAT (ODO3868)	0.0	94909_XF-498_CNS_sscDNA	0.0
83235 CC 中程度からの (ODO3920) 鑑別	6.3	94910_SNB-78_CNS/glioma_sscDNA	10.2
83236 CC NAT (ODO3920)	12.6	94911_SF-268_CNS/glioblastoma_sscDNA	0.0
83237 CC Gr.2 上行結腸 (ODO3921)	0.0	94912_T98G_Glioblastoma_sscDNA	0.0
83238 CC NAT (ODO3921)	7.7	96776_SK-N-SH_Neuroblastoma (metastasis)_sscDNA	0.0
83241 CC: 部分的切除標本 (ODO4309)	2.9	94913_SF-295_CNS/glioblastoma_sscDNA	0.0
83242 肺癌 NAT (ODO4309)	0.0	94914_Cerebellum_sscDNA	66.0
87472 肺への結腸転移癌(OD04451-01)	5.0	96777_Cerebellum_sscDNA	4.4
87473 肺 NAT (OD04451-02)	9.9	94916_NCI-H292_Mucoepidermoid lung carcinoma_sscDNA	7.3
正常前立腺 Clontech A+ 6546-1	17.4	94917_DMS-114_Small cell lung cancer_sscDNA	0.0
84140 前立腺癌 ... (OD04410)	2.7	94918_DMS-79_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	100.0
84141 前立腺 NAT (OD04410)	26.2	94919_NCI-H146_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	16.4
87073 前立腺癌 (OD04720-01)	20.6	94920_NCI-H526_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	2.1
87074 前立腺 NAT (OD04720-02)	13.9	94921_NCI-N417_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	0.0
正常肺 GENPAK 061010	17.7	94923_NCI-H82_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	3.5
83239 脳への肺癌転移物 (ODO4286)	5.0	94924_NCI-H157_Squamous cell lung cancer (metastasis)_sscDNA	0.0
83240 肺癌 NAT (ODO4286)	2.6	94925_NCI-H1155_Large cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	0.0

(表24の続き②)

(OD04286)		cancer/neuroendocrine_sscDNA	
84136 肺炎性癌 (OD03126)	4.9	94926_NCI-H1299_Large cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	11.3
84137 肺 NAT (OD03126)	0.0	94927_NCI-H727_Lung carcinoid_sscDNA	3.0
84871 肺癌 (OD04404)	5.5	94928_NCI-UMC-11_Lung carcinoid_sscDNA	10.1
84872 肺 NAT (OD04404)	2.4	94929_LX-1_Small cell lung cancer_sscDNA	0.0
84875 肺癌 (OD04565)	2.5	94930_Colo-205_Colon cancer_sscDNA	0.0
84876 肺 NAT (OD04565)	7.7	94931_KM12_Colon cancer_sscDNA	4.9
85950 肺癌 (OD04237-01)	18.4	94932_KM20L2_Colon cancer_sscDNA	0.0
85970 肺 NAT (OD04237-02)	7.8	94933_NCI-H716_Colon cancer_sscDNA	0.0
83255 肺臓への二次的黒色腫転移物 (OD04310)	0.0	94935_SW-48_Colon adenocarcinoma_sscDNA	0.0
83256 肺臓 NAT (OD04310)	0.0	94936_SW1116_Colon adenocarcinoma_sscDNA	1.6
84139 肺からの黒色腫転移物 (OD04321)	3.0	94937_LS 174T_Colon adenocarcinoma_sscDNA	0.0
84138 肺 NAT (OD04321)	2.6	94938_SW-948_Colon adenocarcinoma_sscDNA	4.4
正常腎臓 GENPAK 061008	100.0	94939_SW-480_Colon adenocarcinoma_sscDNA	0.0
83786 腎臓 Ca, Nuclear grade 2 (OD04338)	56.6	94940_NCI-SNU-5_Gastric carcinoma_sscDNA	0.0
83787 腎臓 NAT (OD04338)	23.2	94941_KATO III_Gastric carcinoma_sscDNA	2.6
83788 腎臓 Ca Nuclear grade 1/2 (OD04339)	0.0	94943_NCI-SNU-16_Gastric carcinoma_sscDNA	3.6
83789 腎臓 NAT (OD04339)	46.0	94944_NCI-SNU-1_Gastric carcinoma_sscDNA	0.0
83790 腎臓 Ca, 明細胞型 (OD04340)	12.9	94946_RF-1_Gastric adenocarcinoma_sscDNA	0.0
83791 腎臓 NAT (OD04340)	24.5	94947_RF-48_Gastric adenocarcinoma_sscDNA	0.0
83792 腎臓 Ca, Nuclear grade 3 (OD04348)	4.5	96778_MKN-45_Gastric carcinoma_sscDNA	0.0

(表14の続き③)

83793 腎臓 NAT (OD04348)	44.4	94949_NCI-N87_Gastric carcinoma_sscDNA	0.0
87474 腎臓癌 (OD04622-01)	2.8	94951_OVCAR-5_Ovarian carcinoma_sscDNA	0.0
87475 腎臓 NAT (OD04622-03)	0.0	94952_RL95-2_Uterine carcinoma_sscDNA	0.0
85973 腎臓癌 (OD04450-01)	4.4	94953_HelaS3_Cervical adenocarcinoma_sscDNA	0.0
85974 腎臓 NAT (OD04450-03)	24.8	94954_Ca Ski_Cervical epidermoid carcinoma (metastasis)_sscDNA	5.8
腎臓癌 Clontech 8120607	0.0	94955_ES-2_Ovarian clear cell carcinoma_sscDNA	0.0
腎臓 NAT Clontech 8120608	0.0	94957_Ramos/6h stim_"; Stimulated with PMA/ionomycin 6h_sscDNA	0.0
腎臓癌 Clontech 8120613	0.0	94958_Ramos/14h stim_"; Stimulated with PMA/ionomycin 14h_sscDNA	0.0
腎臓 NAT Clontech 8120614	0.0	94962_MEG-01_Chronic myelogenous leukemia (megakaryoblast)_sscDNA	28.3
腎臓 Clontech 9010320	2.6	94963_Raji_Burkitt's lymphoma_sscDNA	0.0
腎臓 NAT Clontech 9010321	8.4	94964_Daudi_Burkitt's lymphoma_sscDNA	2.9
平常子宮 GENPAK 061018	0.0	94965_U266_B-cell plasmacytoma/myeloma_sscDNA	6.4
子宮癌 GENPAK 064011	16.2	94968_CA46_Burkitt's lymphoma_sscDNA	0.0
正常甲状腺 Clontech A+ 6570-1	1.8	94970_RL_non-Hodgkin's B-cell lymphoma_sscDNA	0.0
甲状腺癌 GENPAK 064010	27.2	94972_JM1_pre-B-cell lymphoma/leukemia_sscDNA	6.7
甲状腺癌 INVITROGEN A302152	5.2	94973_Jurkat_T cell leukemia_sscDNA	4.2
甲状腺 NAT INVITROGEN A302153	19.9	94974_TF-1_Erythroleukemia_sscDNA	2.4
平常乳房 GENPAK 061019	47.3	94975_HUT 78_T-cell lymphoma_sscDNA	2.8
84877 乳癌 (OD04566)	7.0	94977_U937_Histiocytic lymphoma_sscDNA	6.6
85975 乳癌 (OD04590-01)	15.7	94980_KU-812_Myelogenous leukemia_sscDNA	18.2
85976 乳癌転移物 (OD04590-03)	17.7	94981_769-P_Clear cell renal carcinoma_sscDNA	2.6
87070 乳癌転移物 (OD04655-05)	76.8	94983_Caki-2_Clear cell renal carcinoma_sscDNA	0.0
GENPAK 乳癌	42.6	94984_SW 839_Clear cell renal [illegible]_sscDNA	1.9

(表24の続き(4))

064006		carcinoma_sscDNA	
乳癌 Res. Gen. 1024	47.6	94986_G401_Wilms' tumor_sscDNA	0.0
乳癌 Clontech 9100266	2.6	94987_Hs766T_Pancreatic carcinoma (LN metastasis)_sscDNA	0.0
乳房.NAT Clontech 9100265	5.1	94988_CAPAN-1_Pancreatic adenocarcinoma (liver metastasis)_sscDNA	0.0
乳癌 INVITROGEN A209073	10.7	94989_SU86.86_Pancreatic carcinoma (liver metastasis)_sscDNA	3.2
乳房 NAT INVITROGEN A2090734	12.9	94990_BxPC-3_Pancreatic adenocarcinoma_sscDNA	0.0
正常肝臓 GENPAK 061009	13.1	94991_HPAC_Pancreatic adenocarcinoma_sscDNA	3.6
肝臓癌 GENPAK 064003	4.8	94992_MIA PaCa-2_Pancreatic carcinoma_sscDNA	0.0
肝臓癌 Research Genetics RNA 1025	2.5	94993_CFPAC-1_Pancreatic ductal adenocarcinoma_sscDNA	13.6
肝臓癌 Research Genetics RNA 1026	0.0	94994_PANC-1_Pancreatic epithelioid ductal carcinoma_sscDNA	0.0
対性肝臓癌 Tissue Research Genetics RNA 6004-T	5.4	94996_T24_Bladder carcinma (transitional cell)_sscDNA	3.1
対性肝臓癌 Research Genetics RNA 6004-N	2.5	94997_5637_Bladder carcinoma_sscDNA	0.0
対性肝臓癌 Tissue Research Genetics RNA 6005-T	0.0	94998_HT-1197_Bladder carcinoma_sscDNA	20.2
対性肝臓癌 Research Genetics RNA 6005-N	0.0	94999_UM-UC-3_Bladder carcinoma (transitional cell)_sscDNA	0.0
正常膀胱 GENPAK 061001	3.1	95000_A204_Rhabdomyosarcoma_sscDNA	3.3
膀胱癌 Research Genetics RNA 1023	0.0	95001_HT-1080_Fibrosarcoma_sscDNA	5.2
膀胱癌 INVITROGEN A302173	16.7	95002_MG-63_Osteosarcoma (bone)_sscDNA	0.0
87071 膀胱癌 (OD04718-01)	0.0	95003_SK-LMS-1_Leiomyosarcoma (vulva)_sscDNA	7.9

(表24の続き(7))

87072 正常に隣接する膀胱 (OD04718-03)	2.9	95004_SJRH30_Rhabdomyosarcoma (met to bone marrow)_sscDNA	0.0
正常卵巣 Res. Gen.	0.0	95005_A431_Epidermoid carcinoma_sscDNA	0.0
卵巣癌 GENPAK 064008	12.6	95007_WM266-4_Melanoma_sscDNA	0.0
87492 卵巣癌 (OD04768-07)	2.9	95010_DU 145_Prostate carcinoma (brain metastasis)_sscDNA	0.0
87493 卵巣 NAT (OD04768-08)	0.0	95012_MDA-MB-468_Breast adenocarcinoma_sscDNA	0.0
胃癌 GENPAK 061017	5.9	95013_SCC-4_Squamous cell carcinoma of tongue_sscDNA	0.0
胃癌 Clontech 9060358	0.0	95014_SCC-9_Squamous cell carcinoma of tongue_sscDNA	0.0
NAT 胃 Clontech 9060359	0.0	95015_SCC-15_Squamous cell carcinoma of tongue_sscDNA	0.0
胃癌 Clontech 9060395	2.9	95017_CAL 27_Squamous cell carcinoma of tongue_sscDNA	0.0
NAT 胃 Clontech 9060394	0.0		
胃癌 Clontech 9060397	0.0		
NAT 胃 Clontech 9060396	0.0		
胃癌 GENPAK 064005	10.5		

パネル１．３Ｄにおける遺伝子ＭＯＬ６の発現は、精巣において検出され、そして脾臓において非常に低レベルで検出されるが、他のいずれの組織においても検出されない。パネル２Ｄにおける発現は、正常の腎臓におけるより高い発現および腎臓癌における顕著により低い発現を示す。これは、腎臓癌の場合におけるタンパク質治療剤としてのこの遺伝子の潜在的な役割を示す。パネル３Ｄにおいて、発現は、小細胞肺癌、慢性骨髄性白血病および膀胱癌の標本において最も高く見られる。

【０４３０】

パネル４Ｄにおける遺伝子ＭＯＬ６の発現を、ＴＮＦαおよびＩＬ－１βでの処置後、ケラチン合成細胞および小気道上皮において上方制御される。これはまた、処置に関係なく好酸球においておよび正常胸腺において上方制御される。

【０４３１】

炎症におけるＭＯＬ６の潜在的な役割：ＧＭ＿８７７６０７５８＿Ａの発現パターンは、これが、炎症誘発性のサイトカインに応答してケラチン合成細胞および小気道上皮において誘導されることを示す。従って、問題のタンパク質は、気道における組織破壊、白血球の補充および組織リモデリングに貢献し得る（Ｒｅｉｃｈａｒｔら，１９９６　Ｊ．Ｐａｔｈｏｌ．１７８（２）：２１５～２０）。

【０４３２】

ＭＯＬ６の治療剤標的化の影響：ＭＯＬ６に対する抗体または低分子治療剤は、皮膚および気道の両方において、乾癬、喘息および他の肥満細胞媒介疾患おける炎症に起因する組織損傷を減少または阻害し得る。この結果はまた、気腫の処置におけるＭＯＬ６の潜在的な役割を示唆する（Ｒｉｃｅら，１９９８　Ｃｕｒｒ　Ｐｈａｒｍ　Ｄｅｓ　４（５）：３８１－９６）。

【０４３３】

（ＭＯＬ７）

遺伝子ＭＯＬ７の発現を、表２５に記載されるプライマー－プローブセットＡｇ１８７６を使用して評価した。ＲＴＱ－ＰＣＲランの結果を、表２６に示す。

【０４３４】

【表６５】

表 25. プローブ名 : Ag1876

プライマー	配列	Tm	長さ	開始位置	配列番号
順方向	5'-AGCAAGATTGCTCACACAGAGT-3'	59.2	22	668	91
プローブ	TET-5'-CCAGTCAATACCATCATCATCCATGAGG-3'-TAMRA	69.1	28	692	92
逆方向	5'-TATGTTGTTGCTCATGGAGTTG-3'	58.7	22	730	93

【０４３５】

【表６６】

表 26. パネル 1.3D

組織名	相対的発現% 1.3dx4tm5422t_ag1876_a1	組織名	相対的発現% 1.3dx4tm5422t_ag1876_a1
肺腺腫	0.0	腎臓（胎児）	0.0
肺臓	0.0	腎臓 ca. 786-0	0.0
肺臓 CAPAN 2	0.4	腎臓 ca. A498	0.5
副腎	0.7	腎臓 ca. RXF 393	0.0
甲状腺	0.0	腎臓 ca. ACHN	0.6
唾液腺	0.4	腎臓 ca. UO-31	0.0
下垂体	0.0	腎臓 ca. TK-10	0.4
脳（胎児）	0.3	腎臓	0.0

(表2の続き)

脳(全体)	4.2	肝臓(胎児)	0.0
脳(扁桃)	2.5	肝臓 ca. (hepatoblast) HepG2	0.0
脳(小脳)	0.8	肺	0.0
脳(海馬)	2.7	肺(胎児)	0.0
脳(尾状)	1.4	肺 ca.(小細胞) LX-1	1.3
脳(視床)	1.6	肺 ca.(小細胞) NCI-H69	0.0
大脳皮質	0.6	肺 ca. (s.cell var.) SHP-77	0.0
脊髄	0.4	肺 ca.(大細胞)NCI-H460	0.4
CNS ca. (glio/astro) U87-MG	0.0	肺 ca. (non-sm. cell) A549	0.5
CNS ca. (glio/astro) U-118-MG	0.2	肺 ca. (non-s.cell) NCI-H23	0.0
CNS ca. (astro) SW1783	0.0	肺 ca (non-s.cell) HOP-62	0.0
CNS ca.* (neuro; met) SK-N-AS	0.7	肺 ca. (non-s.cl) NCI-H522	0.3
CNS ca. (astro) SF-539	0.0	肺 ca. (squam.) SW 900	0.8
CNS ca. (astro) SNB-75	0.0	肺 ca. (squam.) NCI-H596	0.0
CNS ca. (glio) SNB-19	2.2	乳腺	0.0
CNS ca. (glio) U251	1.3	乳房 ca.*(胸水) MCF-7	2.9
CNS ca. (glio) SF-295	0.4	乳房 ca.* (pl.ef) MDA-MB-231	0.0
心臓(胎児)	0.0	乳房 ca.*(胸水) T47D	0.0
心臓	0.0	乳房 ca. BT-549	0.6
胎児骨格	0.0	乳房 ca. MDA-N	0.0
骨格筋	0.0	卵巣	0.0
骨髄	0.0	卵巣 ca. OVCAR-3	0.0
胸腺	1.0	卵巣 ca. OVCAR-4	0.0
脾臓	0.0	卵巣 ca. OVCAR-5	0.3
リンパ節	0.5	卵巣 ca. OVCAR-8	0.8
結腸直腸	0.0	卵巣 ca. IGROV-1	0.0

(表26の続き②)

胃	0.4	卵巣 ca.*(腹水) SK-OV-3	0.6
小腸	0.7	子宮	0.0
結腸 ca. SW480	0.0	胎盤	5.5
結腸 ca.* (SW480 met)SW620	0.6	前立腺	0.0
結腸 ca. HT29	0.0	前立腺 ca.* (骨 met)PC-3	0.0
結腸 ca. HCT-116	0.3	睾丸	100.0
結腸 ca. CaCo-2	0.0	黒色腫 Hs688(A).T	0.0
83219 CC 良好分化性腺癌腫瘍 (ODO3866)	0.0	黒色腫 * (met) Hs688(B).T	0.0
結腸 ca. HCC-2998	0.2	黒色腫 UACC-62	1.4
胃 ca.* (肝臓 met) NCI-N87	0.0	黒色腫 M14	0.0
膀胱	0.0	黒色腫 LOX IMVI	0.0
気管	32.3	黒色腫 * (met) SK-MEL-5	0.0
骨髄	0.0	脂肪	8.2

パネル１．３Ｄにおける ＭＯＬ７の発現は、精巣において最も高く、次いで気管おいて高かった。脳における発現は、ずっと低いレベルである。従って、この分子は、雄性妊性において役割を有し得る。パネル４Ｄのサンプルにおける発現は低い検出不可能であった（ＣＴ値＞３５）。

【０４３６】

（ＭＯＬ８ｂ）

遺伝子ＭＯＬ８ｂの発現を、表２７に記載されるプライマー－プローブセットＡｇ３１８３を使用して評価した。ＲＴＱ－ＰＣＲランの結果を、表２８に示す。

【０４３７】

【表６７】

表 27. プローブ : Ag3183

プライマー	配列	Tm	長さ	開始位置	配列番号
順方向	5'-AAGGGGACGAGTGTGGGATT-3'	62	20	211	94
プローブ	TET-5'-TGGCACCGAAGTAGCCGTGGCG-3'-TAMRA	74	22	301	95
逆方向	5'-GCGGGCACTTGGTGTCGCA-3'	64	19	325	96

【０４３８】

【表６８】

表 28.(続き)4D

組織名	相対的発現% 4dx4tm4998t_ag3183_a2	組織名	相対的発現% 4dx4tm4998t_ag3183_a2
93768_Secondary Th1_anti-CD28/anti-CD3	0.0	93100_HUVEC (Endothelial)_IL-1b	5.7
93769_Secondary Th2_anti-CD28/anti-CD3	0.0	93779_HUVEC (Endothelial)_IFN gamma	18.4
93770_Secondary Tr1_anti-CD28/anti-CD3	0.0	93102_HUVEC (Endothelial)_TNF alpha + IFN gamma	9.6
93573_Secondary Th1_resting day 4-6 in IL-2	0.0	93101_HUVEC (Endothelial)_TNF alpha + IL4	11.2
93572_Secondary Th2_resting day 4-6 in IL-2	0.0	93781_HUVEC (Endothelial)_IL-11	19.3
93571_Secondary Tr1_resting day 4-6 in IL-2	2.5	93583_Lung Microvascular Endothelial Cells_none	21.6
93568_primary Th1_anti-CD28/anti-CD3	0.0	93584_Lung Microvascular Endothelial Cells_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	32.1
93569_primary Th2_anti-CD28/anti-CD3	0.0	92662_Microvascular Dermal endothelium_none	10.7
93570_primary Tr1_anti-CD28/anti-CD3	0.0	92663_Microsvasular Dermal endothelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	5.0
93565_primary Th1_resting dy 4-6 in IL-2	0.0	93773_Bronchial epithelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml) **	11.6
93566_primary Th2_resting dy 4-6 in IL-2	2.3	93347_Small Airway Epithelium_none	5.6
93567_primary Tr1_resting dy 4-6 in IL-2	0.7	93348_Small Airway Epithelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	4.8
93351_CD45RA CD4 lymphocyte_anti-CD28/anti-CD3	29.9	92668_Coronery Artery SMC_resting	46.8

(表2Bの続き)

93352_CD45RO CD4 lymphocyte_anti-CD28/anti-CD3	0.0	92669_Coronery Artery SMC_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	45.1
93251_CD8 Lymphocytes_anti-CD28/anti-CD3	0.0	93107_astrocytes_resting	82.4
93353_chronic CD8 Lymphocytes 2ry_resting dy 4-6 in IL-2	0.0	93108_astrocytes_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	74.9
93574_chronic CD8 Lymphocytes 2ry_activated CD3/CD28	0.0	92666_KU-812 (Basophil)_resting	0.0
93354_CD4_none	0.4	92667_KU-812 (Basophil)_PMA/ionocyin	0.0
93252_Secondary Th1/Th2/Tr1_anti-CD95 CH11	2.1	93579_CCD1106 (Keratinocytes)_none	0.0
93103_LAK cells_resting	0.0	93580_CCD1106 (Keratinocytes)_TNFa and IFNg **	0.0
93788_LAK cells_IL-2	0.0	93791_Liver Cirrhosis	5.6
93787_LAK cells_IL-2+IL-12	0.0	93792_Lupus Kidney	9.3
93789_LAK cells_IL-2+IFN gamma	0.0	93577_NCI-H292	2.5
93790_LAK cells_IL-2+ IL-18	0.0	93358_NCI-H292_IL-4	0.0
93104_LAK cells_PMA/ionomycin and IL-18	0.0	93360_NCI-H292_IL-9	0.0
93578_NK Cells IL-2_resting	0.0	93359_NCI-H292_IL-13	3.8
93109_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	0.0	93357_NCI-H292_IFN gamma	0.0
93110_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	0.0	93777_HPAEC_-	31.9
93111_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	0.0	93778_HPAEC_IL-1 beta/TNA alpha	22.4
93112_Mononuclear Cells (PBMCs)_resting	0.0	93254_Normal Human Lung Fibroblast_none	44.4
93113_Mononuclear Cells (PBMCs)_PWM	1.8	93253_Normal Human Lung Fibroblast_TNFa (4 ng/ml) and IL-1b (1 ng/ml)	28.3
93114_Mononuclear Cells (PBMCs)_PHA-L	0.0	93257_Normal Human Lung Fibroblast_IL-4	62.6
93249_Ramos (B cell)_none	0.0	93256_Normal Human Lung Fibroblast_IL-9	100.0

(表24の続き②)

93250_Ramos (B cell)_ionomycin	0.0	93255_Normal Human Lung Fibroblast_IL-13	73.3
93349_B lymphocytes_PWM	0.0	93258_Normal Human Lung Fibroblast_IFN gamma	57.1
93350_B lymphoytes_CD40L and IL-4	0.0	93106_Dermal Fibroblasts CCD1070_resting	91.5
92665_EOL-1 (Eosinophil)_dbcAMP differentiated	0.0	93361_Dermal Fibroblasts CCD1070_TNF alpha 4 ng/ml	31.1
93248_EOL-1 (Eosinophil)_dbcAMP/PMAionomycin	1.2	93105_Dermal Fibroblasts CCD1070_IL-1 beta 1 ng/ml	69.7
93356_Dendritic Cells_none	1.8	93772_dermal fibroblast_IFN gamma	18.3
93355_Dendritic Cells_LPS 100 ng/ml	0.0	93771_dermal fibroblast_IL-4	22.4
93775_Dendritic Cells_anti-CD40	0.4	93259_IBD Colitis 1**	3.2
93774_Monocytes_resting	2.8	93260_IBD Colitis 2	0.0
93776_Monocytes_LPS 50 ng/ml	0.0	93261_IBD Crohns	0.8
93581_Macrophages_resting	0.0	735010_Colon_normal	8.9
93582_Macrophages_LPS 100 ng/ml	0.0	735019_Lung_none	18.5
93098_HUVEC (Endothelial)_none	8.4	64028-1_Thymus_none	9.4
93099_HUVEC (Endothelial)_starved	29.9	64030-1_Kidney_none	3.0

パネル１．３Ｄの２つのランにおける遺伝子ＣＧ５０８８９＿０２の発現は、再現性がなく、そしてそれ以上は考慮されない。

【０４３９】

パネル４Ｄにおける遺伝子ＣＧ５０８８９＿０２の発現：休止ＣＤ４細胞と比較して活性化未刺激Ｔ細胞（ＣＤ４＋ＣＤ４５ＲＡ細胞）におけるＣＧ５０８８９＿０２の発現は、３０倍増加する。このタンパク質は、休止線維芽細胞および活性化線維芽細胞、内皮および上皮の両方において発現される。

【０４４０】

（炎症におけるＣＧ５０８８９－０２の潜在的役割）

ＭＯＬ８ｂは、未刺激Ｔ細胞の最初の活性化に重要であり得る。活性化Ｔ細胞は、サイトカインおよびケモカインを分泌することによって炎症プロセスを開始する。サイトカインおよびケモカインは、次には、Ｂ細胞抗体生成を誘導して、炎症部位への白血球の溢出となる

（ＭＯＬ８ｂの治療剤標的化の影響：）

ＭＯＬ８ｂに対する抗体または低分子治療剤は、組織移植に応答してＴ細胞活性化をブロックし、そして拒絶を低減またはブロックし得る。これらの治療的薬剤はまた、活性化Ｔ細胞が中心的な役割を果たす、喘息／アレルギー、乾癬、関節炎および糖尿病における炎症を低減または予防し得る。ＭＯＬ８ｂに対する抗体はまた、より分化したＴ細胞集団（記憶Ｔ細胞）から未刺激活性化Ｔ細胞を同定しおよび識別するために、診断的道具または実験道具として役立つ。

【０４４１】

（ＭＯＬ９ａ）

遺伝子ＭＯＬ９ａの発現を、表２９に記載されるプライマー－プローブセットＡｇ６７３を使用して評価した。ＲＴＱ－ＰＣＲランの結果を、表３０および表３１に示す。

【０４４２】
【表６９】

表. 29. プローブ名 : Ag673

プライマー	配列	Tm	長さ	開始位置	配列番号
順方向	5'-TAGAGTTGGTGGTTCCAGGATT-3'	59.9	22	6	97
プローブ	FAM-5'-TGATGTCTCCTCTTCAGGCAATGTCT-3'-TAMRA	66.6	26	56	98
逆方向	5'-TCTGCCAGCCACAGTATAGG-3'	58.9	20	83	99

【０４４３】
【表７０】

表. 30. パネル 1.3D および 2D

パネル 1.3D		パネル 2D	
組織名	相対的発現 % 1.3dx4tm5796f_ag673_b1	組織名	相対的発現 % 2Dtm2310f_ag673
肝臓腺種	23.4	正常結腸 GENPAK 061003	39.2
膵臓	0.9	83219 CC 良好から中程度の識別 (ODO3866)	15.0
膵臓 ca. CAPAN 2	8.4	83220 CC NAT (ODO3866)	15.1
副腎	0.2	83221 CC Gr.2 直腸S結腸 (ODO3868)	13.1
甲状腺	0.9	83222 CC NAT (ODO3868)	3.9
唾液腺	0.2	83235 CC 中程度の識別 (ODO3920)	20.3
下垂体	0.4	83236 CC NAT (ODO3920)	7.6
脳（胎児）	8.2	83237 CC Gr.2 上行結腸 (ODO3921)	36.3
脳（全体）	4.0	83238 CC NAT (ODO3921)	4.8
脳（扁桃）	1.5	83241 (前頭前野切除、由来) (ODO4309)	30.6
脳（小脳）	2.2	83242 膵臓 NAT (ODO4309)	20.3

(表70の続きの)

脳(海馬)	2.9	87472 肺への結腸転位 (OD04451-01)	41.5
脳(黒質)	1.6	87473 肺 NAT (OD04451-02)	12.1
脳(視床)	1.6	正常前立腺, Clontech A+6546-1	25.5
大脳皮質	5.3	84140 前立腺癌 (OD04410)	22.5
脊髄	1.7	84141 前立腺 NAT (OD04410)	23.2
CNS ca. (glio/astro) U87-MG	6.5	87073 前立腺癌 (OD04720-01)	10.7
CNS ca. (glio/astro) U-118-MG	8.5	87074 前立腺 NAT (OD04720-02)	24.5
CNS ca. (astro) SW1783	21.6	正常肺 GENPAK 061010	27.0
CNS ca.* (neuro; met) SK-N-AS	12.6	83239 筋肉への肺の転位 (ODO4286)	63.3
CNS ca. (astro) SF-539	3.9	83240 筋肉 NAT (ODO4286)	50.7
CNS ca. (astro) SNB-75	18.7	84136 肺扁平上皮癌 (OD03126)	42.3
CNS ca. (glio) SNB-19	4.3	84137 肺 NAT (OD03126)	29.1
CNS ca. (glio) U251	17.7	84871 肺癌 (OD04404)	69.3
CNS ca. (glio) SF-295	12.6	84872 肺 NAT (OD04404)	26.8
心臓(胎児)	0.2	84875 肺癌 (OD04565)	19.1
心臓	0.6	84876 肺 NAT (OD04565)	12.2
胎児胃腸	0.8	85950 肺癌 (OD04237-01)	94.0
胃腸 胃	6.5	85970 肺 NAT (OD04237-02)	20.3
胃髄	0.7	83255 肝臓への眼黒色腫の転位 (ODO4310)	74.2
肝臓腺	0.4	83256 肝臓 NAT (ODO4310)	40.1
脾臓	0.3	84139 肺への黒色腫転位 (OD04321)	36.3
リンパ節	0.8	84138 肺 NAT (OD04321)	29.7
結腸直腸	1.2	正常腎臓 GENPAK 061008	62.4
胃	0.2	83786 胃癌, Ca, Nuclear grade 2 (OD04338)	66.0
小腸	0.4	83787 胃 NAT (OD04338)	23.3

(表30の続き②)

結腸ca. SW480	10.2	83788 腎臓 Ca Nuclear grade 1/2 (OD04339)	34.9
結腸 ca.* (SW480 met)SW620	59.0	83789 腎臓 NAT (OD04339)	31.0
結腸 ca. HT29	8.4	83790 腎臓 Ca, 明細胞型 (OD04340)	45.7
結腸 ca. HCT-116	14.7	83791 腎臓 NAT (OD04340)	33.0
結腸 ca. CaCo-2	18.6	83792 腎臓 Ca, Nuclear grade 3 (OD04348)	18.3
83219 CC 皮膚と十指腹の識別 (ODO3866)	2.2	83793 腎臓 NAT (OD04348)	42.9
結腸 ca. HCC-2998	16.6	87474 腎臓癌 (OD04622-01)	14.5
胃 ca.* (肝臓 met) NCI-N87	12.3	87475 腎臓 NAT (OD04622-03)	3.9
膀胱	5.9	85973 腎臓癌 (OD04450-01)	70.2
気管	0.3	85974 腎臓 NAT (OD04450-03)	31.6
腎臓	1.8	腎臓癌 Clontech 8120607	11.4
腎臓(胎児)	7.8	腎臓 NAT Clontech 8120608	7.1
腎臓 ca. 786-0	8.5	腎臓癌 Clontech 8120613	8.2
腎臓 ca. A498	7.0	腎臓 NAT Clontech 8120614	8.1
腎臓 ca. RXF 393	17.6	腎臓癌 Clontech 9010320	18.3
腎臓 ca. ACHN	3.9	腎臓 NAT Clontech 9010321	33.4
腎臓 ca. UO-31	12.8	正常子宮 GENPAK 061018	11.8
腎臓 ca. TK-10	23.4	子宮癌 GENPAK 064011	30.1
肝臓	1.4	正常甲状腺 Clontech A+ 6570-1	17.3
肝臓(胎児)	1.0	甲状腺癌 GENPAK 064010	39.2
肝臓 Ca (肝芽腫) HepG2	9.3	甲状腺癌 INVITROGEN A302152	18.7
肺	77.4	甲状腺 NAT INVITROGEN A302153	18.7
肺(胎児)	1.7	正常乳房 GENPAK 061019	32.3
肺 ca. (小細胞) LX-1	57.5	84877 乳癌 (OD04566)	40.6

(表30の続き③)

肺 ca.(小細胞) NCI-H69	11.7	85975 乳癌 (OD04590-01)	100.0
肺 ca. (s.cell var.) SHP-77	100.0	85976 乳癌転移多臓器 (OD04590-03)	76.3
肺 ca.(大細胞) NCI-H460	6.3	87070 乳癌転移多臓器 (OD04655-05)	73.2
肺 ca. (non-sm. cell) A549	28.7	GENPAK 乳癌 064006	46.0
肺 ca. (non-s.cell) NCI-H23	4.8	乳癌 Res. Gen. 1024	31.2
肺 ca (non-s.cell) HOP-62	3.1	乳癌 Clontech 9100266	41.5
肺 ca. (non-s.cl) NCI-H522	31.7	乳癌 NAT Clontech 9100265	13.4
肺 ca. (squam.) SW 900	19.4	乳癌 INVITROGEN A209073	39.2
肺 ca. (squam.) NCI-H596	27.4	乳癌 NAT INVITROGEN A2090734	39.8
乳腺	3.7	正常肝臓 GENPAK 061009	20.9
乳房 ca.*(胸水) MCF-7	10.6	肝臓癌 GENPAK 064003	15.6
乳房 ca.* (pl.ef) MDA-MB-231	6.6	肝臓癌 Research Genetics RNA 1025	17.2
乳房 ca.*(胸水) T47D	17.8	肺臓癌 Research Genetics RNA 1026	9.6
乳房 ca. BT-549	15.0	対性肝臓癌組織 Research Genetics RNA 6004-T	42.9
乳房 ca. MDA-N	5.6	対性肝臓組織 Genetics RNA 6004-N	18.6
卵巣	1.4	対性肝臓組織 Research Genetics RNA 6005-T	12.2
卵巣 ca. OVCAR-3	8.4	対性肝臓組織 Research Genetics RNA 6005-N	8.1
卵巣 ca. OVCAR-4	2.6	正常膀胱 GENPAK 061001	33.7
卵巣 ca. OVCAR-5	44.9	膀胱癌 Research Genetics RNA 1023	5.7
卵巣 ca. OVCAR-8	5.0	膀胱癌 INVITROGEN A302173	23.5
卵巣 ca. IGROV-1	5.2	87071 膀胱癌 (OD04718-01)	69.7
卵巣 ca.*( ) SK-OV-3	50.1	87072 正常に隣接する膀胱 (OD04718-03)	20.6
子宮	0.7	正常卵巣 Res. Gen.	2.9
胎盤	0.0	卵巣癌 GENPAK 064008	18.6

表30の続き(4)

前立腺	0.4	87492 卵巣癌 (OD04768-07)	53.2
前立腺 ca.* (bone met)PC-3	1.9	87493 卵巣 NAT (OD04768-08)	13.5
精巣	0.3	正常胃 GENPAK 061017	15.0
黒色腫 Hs688(A).T	2.1	胃癌 Clontech 9060358	2.5
黒色腫 * (met) Hs688(B).T	2.3	NAT 胃 Clontech 9060359	8.3
黒色腫 UACC-62	5.7	胃癌 Clontech 9060395	19.1
黒色腫 M14	5.6	NAT 胃 Clontech 9060394	4.6
黒色腫 LOX IMVI	12.5	胃癌 Clontech 9060397	29.5
黒色腫 * (met) SK-MEL-5	11.3	NAT 胃 Clontech 9060396	3.7
脂肪	3.2	胃癌 GENPAK 064005	9.9

【０４４４】

【表７１】

表31. パネル 3D および 4D

パネル 3D		パネル 4D	
組織名	相対的発現 % 3dx4tm5137f_ag673_b1	組織名	相対的発現 % 4dtm4833f_ag673
94905_Daoy_Medulloblastoma/Cerebellum_sscDNA	13.6	93768_Secondary Th1_anti-CD28/anti-CD3	11.9
94906_TE671_Medulloblastom/Cerebellum_sscDNA	11.6	93769_Secondary Th2_anti-CD28/anti-CD3	8.2
94907_D283 Med_Medulloblastoma/Cerebellum_sscDNA	53.3	93770_Secondary Tr1_anti-CD28/anti-CD3	6.6
94908_PFSK-1_Primitive Neuroectodermal/Cerebellum_sscDNA	9.3	93573_Secondary Th1_resting day 4-6 in IL-2	0.0
94909_XF-498_CNS_sscDNA	7.8	93572_Secondary Th2_resting day 4-6 in IL-2	0.8
94910_SNB-78_CNS/glioma_sscDNA	8.6	93571_Secondary Tr1_resting day 4-6 in IL-2	0.5
94911_SF-268_CNS/glioblastoma_sscDNA	14.1	93568_primary Th1_anti-CD28/anti-CD3	17.7
94912_T98G_Glioblastoma_sscDNA	15.3	93569_primary Th2_anti-CD28/anti-CD3	9.1
96776_SK-N-SH_Neuroblastoma	15.1	93570_primary Tr1_anti-CD28/anti-CD3	16.3

(表31の続き①)

(metastasis)_sscDNA			
94913_SF-295_CNS/glioblastoma_sscDNA	13.6	93565_primary Th1_resting dy 4-6 in IL-2	7.9
94914_Cerebellum_sscDNA	5.5	93566_primary Th2_resting dy 4-6 in IL-2	2.6
96777_Cerebellum_sscDNA	0.9	93567_primary Tr1_resting dy 4-6 in IL-2	4.3
94916_NCI-H292_Mucoepidermoid lung carcinoma_sscDNA	36.5	93351_CD45RA CD4 lymphocyte_anti-CD28/anti-CD3	13.4
94917_DMS-114_Small cell lung cancer_sscDNA	8.1	93352_CD45RO CD4 lymphocyte_anti-CD28/anti-CD3	8.9
94918_DMS-79_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	100.0	93251_CD8 Lymphocytes_anti-CD28/anti-CD3	12.9
94919_NCI-H146_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	32.1	93353_chronic CD8 Lymphocytes 2ry_resting dy 4-6 in IL-2	10.5
94920_NCI-H526_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	30.0	93574_chronic CD8 Lymphocytes 2ry_activated CD3/CD28	5.2
94921_NCI-N417_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	30.6	93354_CD4_none	1.4
94923_NCI-H82_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	22.6	93252_Secondary Th1/Th2/Tr1_anti-CD95 CH11	0.8
94924_NCI-H157_Squamous cell lung cancer (metastasis)_sscDNA	67.1	93103_LAK cells_resting	18.0
94925_NCI-H1155_Large cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	19.8	93788_LAK cells_IL-2	7.8
94926_NCI-H1299_Large cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	36.3	93787_LAK cells_IL-2+IL-12	8.1
94927_NCI-H727_Lung carcinoid_sscDNA	20.2	93789_LAK cells_IL-2+IFN gamma	13.6
94928_NCI-UMC-11_Lung carcinoid_sscDNA	73.3	93790_LAK cells_IL-2+ IL-18	10.9

(表31の続き③)

94929_LX-1_Small cell lung cancer_sscDNA	20.2	93104_LAK cells_PMA/ionomycin and IL-18	4.8
94930_Colo-205_Colon cancer_sscDNA	11.6	93578_NK Cells IL-2_resting	1.7
94931_KM12_Colon cancer_sscDNA	31.6	93109_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	13.0
94932_KM20L2_Colon cancer_sscDNA	8.5	93110_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	11.4
94933_NCI-H716_Colon cancer_sscDNA	36.9	93111_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	3.2
94935_SW-48_Colon adenocarcinoma_sscDNA	12.5	93112_Mononuclear Cells (PBMCs)_resting	1.4
94936_SW1116_Colon adenocarcinoma_sscDNA	9.0	93113_Mononuclear Cells (PBMCs)_PWM	23.7
94937_LS 174T_Colon adenocarcinoma_sscDNA	32.6	93114_Mononuclear Cells (PBMCs)_PHA-L	8.7
94938_SW-948_Colon adenocarcinoma_sscDNA	1.5	93249_Ramos (B cell)_none	19.9
94939_SW-480_Colon adenocarcinoma_sscDNA	6.7	93250_Ramos (B cell)_ionomycin	100.0
94940_NCI-SNU-5_Gastric carcinoma_sscDNA	12.4	93349_B lymphocytes_PWM	65.1
94941_KATO III_Gastric carcinoma_sscDNA	55.9	93350_B lymphoytes_CD40L and IL-4	6.0
94943_NCI-SNU-16_Gastric carcinoma_sscDNA	12.2	92665_EOL-1 (Eosinophil)_dbcAMP differentiated	12.5
94944_NCI-SNU-1_Gastric carcinoma_sscDNA	58.1	93248_EOL-1 (Eosinophil)_dbcAMP/PMAionomycin	4.4
94946_RF-1_Gastric adenocarcinoma_sscDNA	11.4	93356_Dendritic Cells_none	9.5
94947_RF-48_Gastric adenocarcinoma_sscDNA	15.3	93355_Dendritic Cells_LPS 100 ng/ml	8.7
96778_MKN-45_Gastric carcinoma_sscDNA	33.2	93775_Dendritic Cells_anti-CD40	12.2
94949_NCI-N87_Gastric carcinoma_sscDNA	16.7	93774_Monocytes_resting	14.8
94951_OVCAR-5_Ovarian carcinoma_sscDNA	10.0	93776_Monocytes_LPS 50 ng/ml	15.5
94952_RL95-2_Uterine carcinoma_sscDNA	7.6	93581_Macrophages_resting	35.4
94953_HelaS3_Cervical adenocarcinoma_sscDNA	11.1	93582_Macrophages_LPS 100 ng/ml	4.4
94954_Ca Ski_Cervical epidermoid carcinoma (metastasis)_sscDNA	28.9	93098_HUVEC (Endothelial)_none	27.0
94955_ES-2_Ovarian clear cell carcinoma_sscDNA	15.5	93099_HUVEC (Endothelial)_starved	39.2

(表1の続き③)

cell carcinoma_sscDNA		(Endothelial)_starved	
94957_Ramos/6h stim_"; Stimulated with PMA/ionomycin 6h_sscDNA	15.8	93100_HUVEC (Endothelial)_IL-1b	12.7
94958_Ramos/14h stim_"; Stimulated with PMA/ionomycin 14h_sscDNA	12.4	93779_HUVEC (Endothelial)_IFN gamma	17.1
94962_MEG-01_Chronic myelogenous leukemia (megakaryoblast)_sscDNA	25.5	93102_HUVEC (Endothelial)_TNF alpha + IFN gamma	14.0
94963_Raji_Burkitt's lymphoma_sscDNA	8.4	93101_HUVEC (Endothelial)_TNF alpha + IL4	22.4
94964_Daudi_Burkitt's lymphoma_sscDNA	29.1	93781_HUVEC (Endothelial)_IL-11	11.7
94965_U266_B-cell plasmacytoma/myeloma_sscDNA	8.0	93583_Lung Microvascular Endothelial Cells_none	14.7
94968_CA46_Burkitt's lymphoma_sscDNA	7.2	93584_Lung Microvascular Endothelial Cells_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	19.2
94970_RL_non-Hodgkin's B-cell lymphoma_sscDNA	10.7	92662_Microvascular Dermal endothelium_none	26.8
94972_JM1_pre-B-cell lymphoma/leukemia_sscDNA	5.5	92663_Microsvasular Dermal endothelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	18.2
94973_Jurkat_T cell leukemia_sscDNA	15.5	93773_Bronchial epithelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml) **	2.4
94974_TF-1_Erythroleukemia_sscDNA	33.9	93347_Small Airway Epithelium_none	8.7
94975_HUT 78_T-cell lymphoma_sscDNA	23.7	93348_Small Airway Epithelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	37.9
94977_U937_Histiocytic lymphoma_sscDNA	29.4	92668_Coronery Artery SMC_resting	17.4
94980_KU-812_Myelogenous leukemia_sscDNA	27.2	92669_Coronery Artery SMC_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	7.4
94981_769-P_Clear cell renal carcinoma_sscDNA	17.3	93107_astrocytes_resting	13.1
94983_Caki-2_Clear cell renal carcinoma_sscDNA	19.9	93108_astrocytes_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	9.3
94984_SW 839_Clear cell renal carcinoma_sscDNA	15.4	92666_KU-812 (Basophil)_resting	13.0
94986_G401_Wilms' tumor_sscDNA	19.5	92667_KU-812 (Basophil)_PMA/ionoycin	26.8
94987_Hs766T_Pancreatic carcinoma (LN	12.7	93579_CCD1106 (Keratinocytes)_none	14.9

(表31の続き④)

metastasis)_sscDNA			
94988_CAPAN-1_Pancreatic adenocarcinoma (liver metastasis)_sscDNA	11.1	93580_CCD1106 (Keratinocytes)_TNFa and IFNg **	1.4
94989_SU86.86_Pancreatic carcinoma (liver metastasis)_sscDNA	38.5	93791_Liver Cirrhosis	2.3
94990_BxPC-3_Pancreatic adenocarcinoma_sscDNA	8.2	93792_Lupus Kidney	1.0
94991_HPAC_Pancreatic adenocarcinoma_sscDNA	24.3	93577_NCI-H292	12.3
94992_MIA PaCa-2_Pancreatic carcinoma_sscDNA	5.6	93358_NCI-H292_IL-4	20.0
94993_CFPAC-1_Pancreatic ductal adenocarcinoma_sscDNA	32.2	93360_NCI-H292_IL-9	31.4
94994_PANC-1_Pancreatic epithelioid ductal carcinoma_sscDNA	29.0	93359_NCI-H292_IL-13	13.7
94996_T24_Bladder carcinma (transitional cell)_sscDNA	13.0	93357_NCI-H292_IFN gamma	15.2
94997_5637_Bladder carcinoma_sscDNA	18.4	93777_HPAEC_-	14.7
94998_HT-1197_Bladder carcinoma_sscDNA	25.1	93778_HPAEC_IL-1 beta/TNA alpha	12.7
94999_UM-UC-3_Bladder carcinma (transitional cell)_sscDNA	3.3	93254_Normal Human Lung Fibroblast_none	8.0
95000_A204_Rhabdomyosarcoma_sscDNA	16.1	93253_Normal Human Lung Fibroblast_TNFa (4 ng/ml) and IL-1b (1 ng/ml)	3.6
95001_HT-1080_Fibrosarcoma_sscDNA	16.7	93257_Normal Human Lung Fibroblast_IL-4	18.7
95002_MG-63_Osteosarcoma (bone)_sscDNA	12.9	93256_Normal Human Lung Fibroblast_IL-9	13.5
95003_SK-LMS-1_Leiomyosarcoma (vulva)_sscDNA	34.7	93255_Normal Human Lung Fibroblast_IL-13	10.2
95004_SJRH30_Rhabdomyosarcoma (met to bone marrow)_sscDNA	16.9	93258_Normal Human Lung Fibroblast_IFN gamma	17.2
95005_A431_Epidermoid carcinoma_sscDNA	9.4	93106_Dermal Fibroblasts CCD1070_resting	39.0
95007_WM266-4_Melanoma_sscDNA	6.9	93361_Dermal Fibroblasts CCD1070_TNF alpha 4 ng/ml	47.0

(表3の続き⑨)

95010_DU 145_Prostate carcinoma (brain metastasis) sscDNA	0.3	93105_Dermal Fibroblasts CCD1070_IL-1 beta 1 ng/ml	15.7
95012_MDA-MB-468_Breast adenocarcinoma sscDNA	13.4	93772_dermal fibroblast_IFN gamma	5.6
95013_SCC-4_Squamous cell carcinoma of tongue sscDNA	0.1	93771_dermal fibroblast_IL-4	11.7
95014_SCC-9_Squamous cell carcinoma of tongue sscDNA	0.2	93259_IBD Colitis 1**	0.1
95015_SCC-15_Squamous cell carcinoma of tongue sscDNA	0.8	93260_IBD Colitis 2	0.3
95017_CAL 27_Squamous cell carcinoma of tongue sscDNA	29.0	93261_IBD Crohns	0.5
		735010_Colon_normal	3.1
		735019_Lung_none	7.1
		64028-1_Thymus_none	9.4
		64030-1_Kidney_none	3.0

パネル１．３Ｄの説明：遺伝子ＭＯＬ９ａは、多数の組織（中枢神経系、肺、乳腺および腎臓を含む）に発現する。さらに、この発現は、良い治療ウインドウを伴う多くの場合において正常組織と比較して腫瘍細胞株において増強されるようである。

【０４４５】

パネル２Ｄの説明：パネル２Ｄにおけるこの遺伝子ＭＯＬ９ａの組織分布は、パネル１．３Ｄにおいて得られた結果を確認する。正常隣接組織と比較して腫瘍組織（特に肺癌および腎臓癌においてであるが、結腸癌、卵巣癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、肝臓癌および甲状腺癌の場合もまた）においてこの遺伝子ＭＯＬ９ａの増強された発現が存在する。幾つかの転移物（特に肺転移物および黒色腫由来の肺転移物）は、高いレベルのＭＯＬ９ａを発現する。この分子に発現についての実証的な情報は、（多くは内皮細胞、結腸、卵巣腫瘍、膵臓および脳領域由来の）ＥＳＴの形態で入手可能である。パネル３Ｄは、種々の癌腫のおけるこの遺伝子ＭＯＬ９ａの増大した発現を実証し、これは、パネル１．３Ｄおよび２Ｄの結果を支持し、従って、抗体標的としてのこのタンパク質の有用性を実証する。従って、このタンパク質に対して特異的な抗体は、種々の型の癌の処置において治療剤として使用され得る。

【０４４６】

パネル４Ｄの説明：この遺伝子ＭＯＬ９ａは、刺激にかかわらず、内皮および上皮においてアップレギュレートされている。イオノマイシン（ｉｏｎｏｍｙｃｉｎ）処理したＢ細胞株およびマイトジェン（ヨウシュヤマゴボウマイトジェン、ＰＷＭ）処理したＢ細胞においてこのタンパク質の高レベルでの発現が存在する。この知見と一貫して、ＰＷＭで処理した末梢血液単核細胞（ＰＢＭＣ）はまた、この分子の発現を増大すること示す。さらに、ＭＯＬ９ａの誘導が活性化Ｔ細胞において見出される。ＰＢＭＣにおいて、Ｔ細胞特異的マイトジェン（フィトヘマグルチニン、ＰＨＡ）はこの転写物の発現を誘導し、そして急性活性化Ｔ細胞および慢性活性化Ｔ細胞において、この転写物の発現は、未処理Ｔ細胞または休止Ｔ細胞と比較して増大する。

【０４４７】

ＭＯＬ９ａは活性化Ｂリンパ細胞および活性化Ｔリンパ細胞で誘導され、従って、リンパ細胞トラフィッキングもしくは活性化を調節すること、または組織破壊を増加することによって炎症における潜在的な役割を有し得る。この分子はまた、活性化Ｔ細胞または活性化Ｂ細胞のマーカーとして働く。

【０４４８】
ＭＯＬ９ａの治療的標的化の影響：ＭＯＬ９ａによってコードされる分子に対する低分子治療または抗体治療は、Ｔ細胞活性化またはＢ細胞活性化およびこれらの細胞型によって産生された生物活性分子に起因した組織損傷を阻害し得る。これらの疾患としては、喘息／アレルギー、大腸炎、クローン病、狼瘡および関節炎が挙げられる。あるいは、この分子に基づいたタンパク質治療剤は、アジュバントとして働き得、そしてワクチンの有効量をブーストするか、または器官移植時の免疫状態を調節することを補助し得る。１９５０６７１９＿Ｂ＿ＥＸＴはまた、活性化されたＴ細胞に対するマーカーとして働き得、そして自己免疫疾患における炎症（例えば、喘息／アレルギー、大腸炎、クローン病、狼瘡および関節炎）の程度を決定する診断ツールとして働き得る。

【０４４９】
（ＭＯＬ９ｂ）
遺伝子ＭＯＬ９ｂの発現を、表３２に記載のプライマー－プローブセットＡｇ２４５８を使用して評価した。ＲＴＱ－ＰＣＲの実施結果を表３３および表３４において示した。

【０４５０】
【表７２】

表 32. プローブ名 **: Ag2458**

プライマー	配列	Tm	長さ	開始位置	配列番号
順方向	5'-GTTGGTGGTTCCAGGATTTT-3'	58.7	20	58	100
プローブ	TET-5'-TGATGTCTCCTCTTCAGGCAATGTCT-3'-TAMRA	66.6	26	104	101
逆方向	5'-CTGCCAGCCACAGTATAGGA-3'	58.9	20	130	102

【０４５１】
【表７３】

表 33. パネル１．３Ｄおよびパネル２Ｄ

パネル 1.3D			パネル 2D	
組織名	相対発現％ 1.3dtm4270t_ag2458	相対発現％ 1.3dx4tm5407t_ag2458_a2	組織名	相対発現％ 2dtm4271t_ag2458
肝臓腺癌	33.9	41.4	正常な結腸 GENPAK 061003	62.4
膵臓	1.3	0.8	83219 CC Well to Mod Diff (ODO3866)	16.8
膵臓 ca. CAPAN 2	6.9	44.3	83220 CC NAT (ODO3866)	11.7

（表33のつづき 1）

CAPAN 2				
副腎	0.7	1.1	83221 CC Gr.2 直腸S状結腸 (ODO3868)	18.6
甲状腺	2.8	3.3	83222 CC NAT (ODO3868)	8.4
唾液腺	0.6	2.0	83235 CC Mod Diff (ODO3920)	34.2
下垂体	1.6	0.4	83236 CC NAT (ODO3920)	11.3
脳（胎児）	9.2	19.7	83237 CC Gr.2 上行結腸 (ODO3921)	74.7
脳（全体）	5.4	17.7	83238 CC NAT (ODO3921)	9.6
脳（扁桃）	6.7	9.0	83241 CC （部分肝切除による） (ODO4309)	35.6
脳（小脳）	2.7	10.2	83242肝臓 NAT (ODO4309)	32.3
脳（海馬）	23.0	13.1	87472結腸から肺への転移物 (OD04451-01)	29.7
脳（黒質）	1.6	7.2	87473肺 NAT (OD04451-02)	6.4
脳（視床）	4.9	16.6	正常な前立腺 Clontech A+ 6546-1	8.8
大脳皮質	26.2	8.2	84140 前立腺癌 (OD04410)	25.9
脊髄	2.4	9.8	84141 前立腺 NAT (OD04410)	27.9
CNS ca. (glio/astro) U87-MG	11.0	19.7	87073 前立腺癌 (OD04720-01)	15.8
CNS ca. (glio/astro) U-118-MG	45.1	82.4	87074前立腺 NAT (OD04720-02)	28.1
CNS ca. (astro) SW1783	21.9	46.0	正常な肺 GENPAK 061010	24.8
CNS ca.* (神経 ; met) SK-N-AS	73.7	40.2	83239 肺から筋肉への転移物 (ODO4286)	100.0
CNS ca. (astro) SF-539	9.9	12.0	83240 筋肉 NAT (ODO4286)	31.9
CNS ca. (astro) SNB-75	22.5	71.5	84136 肺悪性癌 (OD03126)	29.5
CNS ca. (glio) SNB-19	6.2	18.1	84137 肺 NAT (OD03126)	27.9
CNS ca. (glio) U251	5.9	45.0	84871 肺癌 (OD04404)	71.7
CNS ca. (glio) SF-295	13.0	26.4	84872 肺 NAT (OD04404)	15.1
心臓（胎児）	1.7	0.0	84875 肺癌 (OD04565)	28.5
心臓	1.2	4.4	84876 肺 NAT (OD04565)	13.1

（表33のつづき 2）

胎児骨格	11.4	1.2	85950 肺癌 (OD04237-01)	90.1
骨格筋	3.8	41.7	85970 肺癌 NAT (OD04237-02)	16.8
骨髄	1.5	2.2	83255 眼Ｍｅｌから肝臓への転移物 (ODO4310)	76.3
胸腺	0.8	0.4	83256 肝臓 NAT (ODO4310)	26.8
脾臓	0.9	0.8	84139黒色腫から肺への転移物 (OD04321)	36.3
リンパ節	1.3	10.4	84138 肺 NAT (OD04321)	22.5
直腸結腸	4.8	3.1	正常な肺 GENPAK 061008	33.7
胃	0.0	3.1	83786 腎臓 Ca,核グレード 2 (OD04338)	68.8
小腸	1.1	2.3	83787 腎臓 NAT (OD04338)	33.4
結腸 ca. SW480	19.5	18.9	83788 腎臓 Ca 核グレード 1/2 (OD04339)	30.6
結腸 ca.* (SW480 met)SW620	29.9	29.8	83789 腎臓 NAT (OD04339)	27.2
結腸 ca. HT29	17.7	9.7	83790 腎臓 Ca, 明細胞型 (OD04340)	49.3
結腸 ca. HCT-116	22.1	43.8	83791 腎臓 NAT (OD04340)	32.1
結腸 ca. CaCo-2	13.5	18.4	83792 腎臓 Ca, Nuclear grade 3 (OD04348)	16.0
83219 CC Well to Mod Diff (ODO3866)	10.6	7.0	83793 腎臓 NAT (OD04348)	35.4
Colon ca. HCC-2998	45.7	21.1	87474 腎臓癌 (OD04622-01)	13.2
胃 ca.* (肝臓 met) NCI-N87	38.4	69.5	87475 Kidney NAT (OD04622-03)	4.0
膀胱	7.4	13.6	85973 腎臓癌 (OD04450-01)	48.6
気管	2.9	3.0	85974 Kidney NAT (OD04450-03)	30.4
腎臓	1.3	3.5	腎臓癌 Clontech 8120607	20.4
腎臓 （胎児）	3.6	3.9	腎臓 NAT Clontech 8120608	7.3
腎臓 ca. 786-0	10.0	19.0	腎臓癌 Clontech 8120613	14.4
腎臓 ca. A498	29.7	28.6	腎臓 NAT Clontech 8120614	8.8
腎臓 ca. RXF 393	5.6	53.0	腎臓癌 Clontech 9010320	12.2

（表33のつづき 3）

腎臓 ca. ACHN	5.5	13.3	腎臓 NAT Clontech 9010321	22.1
腎臓 ca. UO-31	21.6	45.5	正常な子宮 GENPAK 061018	8.3
腎臓 ca. TK-10	20.4	27.0	子宮癌 GENPAK 064011	15.3
肝臓	2.9	2.4	正常な甲状腺 Clontech A+ 6570-1	15.1
肝臓 （胎児）	3.8	5.0	甲状腺癌 GENPAK 064010	33.0
肝臓 ca. (胚芽細胞) HepG2	17.3	28.2	甲状腺癌 INVITROGEN A302152	21.6
肺	1.9	2.5	甲状腺 NAT INVITROGEN A302153	14.4
肺 （胎児）	1.4	5.6	正常な乳房 GENPAK 061019	33.2
肺 ca. (小細胞) LX-1	11.8	40.6	84877 乳癌 (OD04566)	44.8
肺 ca. (小細胞) NCI-H69	31.4	44.0	85975 乳癌 (OD04590-01)	95.9
肺 ca. (s.cell var.) SHP-77	69.3	90.5	85976 乳癌転移物 (OD04590-03)	61.1
肺 ca. (large cell)NCI-H460	9.9	63.6	87070 乳癌転移物 (OD04655-05)	38.4
肺 ca. (non-sm. cell) A549	20.9	25.9	GENPAK 乳癌 064006	33.2
肺 ca. (non-s.cell) NCI-H23	11.3	10.7	乳癌 Res. Gen. 1024	23.0
肺 ca (non-s.cell) HOP-62	4.1	9.1	乳癌 Clontech 9100266	33.4
肺 ca. (non-s.cl) NCI-H522	29.1	30.0	乳房 NAT Clontech 9100265	19.5
肺 ca. (squam.) SW 900	9.7	20.1	乳癌 INVITROGEN A209073	47.0
肺 ca. (squam.) NCI-H596	9.5	43.2	乳房 NAT INVITROGEN A2090734	37.6
乳腺	5.3	9.0	正常な肝臓 GENPAK 061009	15.5
乳房 ca.* (胸水) MCF-7	14.3	30.8	肝臓癌 GENPAK 064003	14.0
乳房 ca.* (pl.cf) MDA-MB-231	42.3	41.1	肝臓癌 Research Genetics RNA 1025	20.4
乳房 ca.* (胸水) T47D	9.6	13.8	肝臓癌 Research Genetics RNA 1026	7.1
乳房 ca. BT-549	100.0	100.0	対性肝臓癌組織 Research Genetics RNA 6004-T	24.8
乳房 ca. MDA-N	17.2	8.8	対性肝臓組織 Research Genetics RNA 6004-N	18.0

（表33のつづき 4）

MDA-N			Genetics RNA 6004-N	
卵巣	4.8	0.9	対性肝臓癌組織 Research Genetics RNA 6005-T	13.4
卵巣 ca. OVCAR-3	11.3	20.9	対性肝臓組織 Research Genetics RNA 6005-N	7.3
卵巣 ca. OVCAR-4	2.5	10.6	正常膀胱 GENPAK 061001	59.9
卵巣 ca. OVCAR-5	20.0	26.3	膀胱癌 Research Genetics RNA 1023	5.2
卵巣 ca. OVCAR-8	18.6	16.5	膀胱癌 INVITROGEN A302173	30.1
卵巣 ca. IGROV-1	6.9	6.8	87071 Bladder Cancer (OD04718-01)	65.5
卵巣 ca.* (ascites) SK-OV-3	32.3	64.3	87072 膀胱癌 Adjacent (OD04718-03)	18.4
子宮	1.8	4.3	正常卵巣 Res. Gen.	5.1
胎盤	2.2	1.1	卵巣癌 GENPAK 064008	29.1
前立腺	2.0	2.4	87492 卵巣癌 (OD04768-07)	66.0
前立腺 ca.* (骨 met)PC-3	3.1	3.2	87493 卵巣 NAT (OD04768-08)	7.7
精巣	2.0	1.5	正常胃 GENPAK 061017	16.4
黒色腫 Hs688(A).T	4.6	5.4	胃癌 Clontech 9060358	3.5
黒色腫 * (met) Hs688(B).T	2.4	6.9	NAT 胃 Clontech 9060359	10.5
黒色腫 UACC-62	1.3	12.6	胃癌 Clontech 9060395	29.9
黒色腫 M14	5.9	56.2	NAT 胃 Clontech 9060394	12.9
黒色腫 LOX IMVI	14.7	8.1	胃癌 Clontech 9060397	42.3
黒色腫 * (met) SK-MEL-5	16.2	24.7	NAT 胃 Clontech 9060396	6.2
脂肪	4.4	3.4	胃癌 GENPAK 064005	31.0

【０４５２】

【表７４】

表 34. パネル３Ｄおよびパネル４Ｄ

パネル 3D		パネル 4D	
組織名	相対発現％ 3dx4tm5121t_ag2458_b	組織名	相対発現％ 4dtm4272t_ag2458

（表34のつづき 1）

	2		
94905_Daoy_Medulloblastoma/Cerebellum_sscDNA	13.6	93768_Secondary Th1_anti-CD28/anti-CD3	14.5
94906_TE671_Medulloblastom/Cerebellum_sscDNA	7.4	93769_Secondary Th2_anti-CD28/anti-CD3	7.4
94907_D283 Med_Medulloblastoma/Cerebellum_sscDNA	53.0	93770_Secondary Tr1_anti-CD28/anti-CD3	9.5
94908_PFSK-1_Primitive Neuroectodermal/Cerebellum_sscDNA	6.5	93573_Secondary Th1_resting day 4-6 in IL-2	0.2
94909_XF-498_CNS_sscDNA	6.8	93572_Secondary Th2_resting day 4-6 in IL-2	0.6
94910_SNB-78_CNS/glioma_sscDNA	9.8	93571_Secondary Tr1_resting day 4-6 in IL-2	0.8
94911_SF-268_CNS/glioblastoma_sscDNA	10.2	93568_primary Th1_anti-CD28/anti-CD3	19.8
94912_T98G_Glioblastoma_sscDNA	15.7	93569_primary Th2_anti-CD28/anti-CD3	13.0
96776_SK-N-SH_Neuroblastoma (metastasis)_sscDNA	16.5	93570_primary Tr1_anti-CD28/anti-CD3	19.2
94913_SF-295_CNS/glioblastoma_sscDNA	7.4	93565_primary Th1_resting dy 4-6 in IL-2	8.8
94914_Cerebellum_sscDNA	3.9	93566_primary Th2_resting dy 4-6 in IL-2	2.2
96777_Cerebellum_sscDNA	0.8	93567_primary Tr1_resting dy 4-6 in IL-2	3.6
94916_NCI-H292_Mucoepidermoid lung carcinoma_sscDNA	46.9	93351_CD45RA CD4 lymphocyte_anti-CD28/anti-CD3	19.5
94917_DMS-114_Small cell lung cancer_sscDNA	10.9	93352_CD45RO CD4 lymphocyte_anti-CD28/anti-CD3	17.7
94918_DMS-79_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	100.0	93251_CD8 Lymphocytes_anti-CD28/anti-CD3	9.3
94919_NCI-H146_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	33.4	93353_chronic CD8 Lymphocytes 2ry_resting dy 4-6 in IL-2	11.0
94920_NCI-H526_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	30.2	93574_chronic CD8 Lymphocytes 2ry_activated CD3/CD28	5.5
94921_NCI-N417_Small cell lung	26.1	93354_CD4_none	0.7

（表34のつづき 2）

cancer/neuroendocrine_sscDNA			
94923_NCI-H82_Small cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	28.4	93252_Secondary Th1/Th2/Tr1_anti-CD95 CH11	0.9
94924_NCI-H157_Squamous cell lung cancer (metastasis)_sscDNA	88.0	93103_LAK cells_resting	15.8
94925_NCI-H1155_Large cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	31.3	93788_LAK cells_IL-2	6.1
94926_NCI-H1299_Large cell lung cancer/neuroendocrine_sscDNA	32.4	93787_LAK cells_IL-2+IL-12	8.8
94927_NCI-H727_Lung carcinoid_sscDNA	23.0	93789_LAK cells_IL-2+IFN gamma	11.7
94928_NCI-UMC-11_Lung carcinoid_sscDNA	75.0	93790_LAK cells_IL-2+ IL-18	13.2
94929_LX-1_Small cell lung cancer_sscDNA	17.0	93104_LAK cells_PMA/ionomycin and IL-18	8.5
94930_Colo-205_Colon cancer_sscDNA	11.1	93578_NK Cells IL-2_resting	2.5
94931_KM12_Colon cancer_sscDNA	37.3	93109_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	17.0
94932_KM20L2_Colon cancer_sscDNA	7.8	93110_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	10.2
94933_NCI-H716_Colon cancer_sscDNA	32.3	93111_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	7.4
94935_SW-48_Colon adenocarcinoma_sscDNA	7.8	93112_Mononuclear Cells (PBMCs)_resting	2.4
94936_SW1116_Colon adenocarcinoma_sscDNA	10.9	93113_Mononuclear Cells (PBMCs)_PWM	23.7
94937_LS 174T_Colon adenocarcinoma_sscDNA	29.3	93114_Mononuclear Cells (PBMCs)_PHA-L	9.6
94938_SW-948_Colon adenocarcinoma_sscDNA	1.9	93249_Ramos (B cell)_none	30.4
94939_SW-480_Colon adenocarcinoma_sscDNA	4.9	93250_Ramos (B cell)_ionomycin	100.0
94940_NCI-SNU-5_Gastric carcinoma_sscDNA	8.3	93349_B lymphocytes_PWM	70.2
94941_KATO III_Gastric carcinoma_sscDNA	53.1	93350_B lymphoytes_CD40L and IL-4	5.5
94943_NCI-SNU-16_Gastric	7.3	92665_EOL-1 (Eosinophil)_dbcAMP	11.7

（表34のつづき 3）

16_Gastric carcinoma_sscDNA		(Eosinophil)_dbcAMP differentiated	
94944_NCI-SNU-1_Gastric carcinoma_sscDNA	64.4	93248_EOL-1 (Eosinophil)_dbcAMP/PMAionomycin	6.3
94946_RF-1_Gastric adenocarcinoma_sscDNA	11.4	93356_Dendritic Cells_none	12.4
94947_RF-48_Gastric adenocarcinoma_sscDNA	15.4	93355_Dendritic Cells_LPS 100 ng/ml	9.0
96778_MKN-45_Gastric carcinoma_sscDNA	28.8	93775_Dendritic Cells_anti-CD40	12.5
94949_NCI-N87_Gastric carcinoma_sscDNA	19.5	93774_Monocytes_resting	15.2
94951_OVCAR-5_Ovarian carcinoma_sscDNA	11.7	93776_Monocytes_LPS 50 ng/ml	11.7
94952_RL95-2_Uterine carcinoma_sscDNA	4.5	93581_Macrophages_resting	41.8
94953_HelaS3_Cervical adenocarcinoma_sscDNA	11.3	93582_Macrophages_LPS 100 ng/ml	6.8
94954_Ca Ski_Cervical epidermoid carcinoma (metastasis)_sscDNA	24.3	93098_HUVEC (Endothelial)_none	35.8
94955_ES-2_Ovarian clear cell carcinoma_sscDNA	16.1	93099_HUVEC (Endothelial)_starved	58.2
94957_Ramos/6h stim_"; Stimulated with PMA/ionomycin 6h_sscDNA	8.7	93100_HUVEC (Endothelial)_IL-1b	16.5
94958_Ramos/14h stim_"; Stimulated with PMA/ionomycin 14h_sscDNA	8.3	93779_HUVEC (Endothelial)_IFN gamma	26.1
94962_MEG-01_Chronic myelogenous leukemia (megokaryoblast)_sscDNA	22.1	93102_HUVEC (Endothelial)_TNF alpha + IFN gamma	16.0
94963_Raji_Burkitt's lymphoma_sscDNA	8.3	93101_HUVEC (Endothelial)_TNF alpha + IL4	23.2
94964_Daudi_Burkitt's lymphoma_sscDNA	19.8	93781_HUVEC (Endothelial)_IL-11	13.6
94965_U266_B-cell plasmacytoma/myeloma_sscDNA	6.4	93583_Lung Microvascular Endothelial Cells_none	21.0
94968_CA46_Burkitt's lymphoma_sscDNA	6.5	93584_Lung Microvascular Endothelial Cells_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	18.3
94970_RL_non-Hodgkin's B-cell lymphoma_sscDNA	9.0	92662_Microvascular Dermal endothelium_none	35.4
94972_JM1_pre-B-cell lymphoma/leukemia_sscD	4.1	92663_Microsvasular Dermal endothelium_TNFa (4 ng/ml) and	20.0

（表34のつづき 4）

NA		IL1b (1 ng/ml)	
94973_Jurkat_T cell leukemia_sscDNA	9.8	93773_Bronchial epithelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml) **	14.9
94974_TF-1_Erythroleukemia_sscDNA	31.5	93347_Small Airway Epithelium_none	7.2
94975_HUT 78_T-cell lymphoma_sscDNA	15.7	93348_Small Airway Epithelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	45.4
94977_U937_Histiocytic lymphoma_sscDNA	30.5	92668_Coronery Artery SMC_resting	17.7
94980_KU-812_Myelogenous leukemia_sscDNA	21.7	92669_Coronery Artery SMC_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	10.8
94981_769-P_Clear cell renal carcinoma_sscDNA	16.6	93107_astrocytes_resting	11.1
94983_Caki-2_Clear cell renal carcinoma_sscDNA	16.8	93108_astrocytes_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	10.5
94984_SW 839_Clear cell renal carcinoma_sscDNA	11.8	92666_KU-812 (Basophil)_resting	18.8
94986_G401_Wilms' tumor_sscDNA	16.5	92667_KU-812 (Basophil)_PMA/ionoycin	27.9
94987_Hs766T_Pancreatic carcinoma (LN metastasis)_sscDNA	12.9	93579_CCD1106 (Keratinocytes)_none	20.9
94988_CAPAN-1_Pancreatic adenocarcinoma (liver metastasis)_sscDNA	12.0	93580_CCD1106 (Keratinocytes)_TNFa and IFNg **	7.4
94989_SU86.86_Pancreatic carcinoma (liver metastasis)_sscDNA	32.6	93791_Liver Cirrhosis	3.7
94990_BxPC-3_Pancreatic adenocarcinoma_sscDNA	4.0	93792_Lupus Kidney	1.9
94991_HPAC_Pancreatic adenocarcinoma_sscDNA	26.4	93577_NCI-H292	18.6
94992_MIA PaCa-2_Pancreatic carcinoma_sscDNA	8.2	93358_NCI-H292_IL-4	33.7
94993_CFPAC-1_Pancreatic ductal adenocarcinoma_sscDNA	30.3	93360_NCI-H292_IL-9	36.9
94994_PANC-1_Pancreatic epithelioid ductal carcinoma_sscDNA	26.7	93359_NCI-H292_IL-13	20.0
94996_T24_Bladder carcinma (transitional cell)_sscDNA	8.2	93357_NCI-H292_IFN gamma	20.4

（表34のつづき５）

94997_5637_Bladder carcinoma_sscDNA	20.5	93777_HPAEC_-	18.8
94998_HT-1197_Bladder carcinoma_sscDNA	18.0	93778_HPAEC_IL-1 beta/TNA alpha	18.9
94999_UM-UC-3_Bladder carcinma (transitional cell)_sscDNA	4.6	93254_Normal Human Lung Fibroblast_none	9.5
95000_A204_Rhabdomyosarcoma_sscDNA	20.0	93253_Normal Human Lung Fibroblast_TNFa (4 ng/ml) and IL-1b (1 ng/ml)	3.7
95001_HT-1080_Fibrosarcoma_sscDNA	15.4	93257_Normal Human Lung Fibroblast_IL-4	24.7
95002_MG-63_Osteosarcoma (bone)_sscDNA	16.2	93256_Normal Human Lung Fibroblast_IL-9	19.2
95003_SK-LMS-1_Leiomyosarcoma (vulva)_sscDNA	27.5	93255_Normal Human Lung Fibroblast_IL-13	14.3
95004_SJRH30_Rhabdomyosarcoma (met to bone marrow)_sscDNA	12.5	93258_Normal Human Lung Fibroblast_IFN gamma	23.2
95005_A431_Epidermoid carcinoma_sscDNA	6.9	93106_Dermal Fibroblasts CCD1070_resting	47.0
95007_WM266-4_Melanoma_sscDNA	7.5	93361_Dermal Fibroblasts CCD1070_TNF alpha 4 ng/ml	42.3
95010_DU 145_Prostate carcinoma (brain metastasis)_sscDNA	0.1	93105_Dermal Fibroblasts CCD1070_IL-1 beta 1 ng/ml	20.2
95012_MDA-MB-468_Breast adenocarcinoma_sscDNA	13.5	93772_dermal fibroblast_IFN gamma	9.2
95013_SCC-4_Squamous cell carcinoma of tongue_sscDNA	1.3	93771_dermal fibroblast_IL-4	22.1
95014_SCC-9_Squamous cell carcinoma of tongue_sscDNA	0.3	93259_IBD Colitis 1**	1.4
95015_SCC-15_Squamous cell carcinoma of tongue_sscDNA	0.3	93260_IBD Colitis 2	1.1
95017_CAL 27_Squamous cell carcinoma of tongue_sscDNA	24.5	93261_IBD Crohns	1.0
		735010_Colon_normal	4.1
		735019_Lung_none	8.9
		64028-1_Thymus_none	10.5

（表34のつづき６）

		64030-1_Kidney_none	3.6

パネル１．３Ｄの説明：遺伝子ＭＯＬ９ｂを多くの組織中（中枢神経系、肺、乳腺および腎臓）で発現する。さらにこの発現は、良好な治療手段を用いる殆どの場合、正常な組織

と比較して腫瘍細胞株中で増大されるようである。
パネル２Ｄの説明：パネル２Ｄにおけるこの遺伝子ＭＯＬ９ｂの組織分布は、パネル１．３Ｄで得られた結果を確証する。正常な隣接の組織に比較して、（特に、肺癌および腎臓癌おいて、また、直腸、卵巣、乳房、胃、膀胱、肝臓、および胸腺での癌においても）腫瘍組織におけるこの遺伝子（ＭＯＬ９ｂ）の発現の増大が存在する。いくつかの転移、特に肺転移および黒色腫からの転移では、特に高いレベルでこの遺伝子ＭＯＬ９ｂを発現する。この分子の発現の裏付けとなる情報は、（殆どの場合、内皮細胞、直腸、卵巣腫瘍、膵臓および脳領域由来である）ＥＳＴの形態で利用可能である。遺伝子ＭＯＬ９ｂについてのパネル３Ｄは、種々の癌における高いレベルの発現を示し、これはパネル１．３Ｄおよび２Ｄからの結果を支持し、そして抗体標的としてのこのタンパク質についての有用性を明示する。それゆえに、このタンパク質に特異的な抗体を様々なタイプの癌の治療における治療剤として使用し得る。
【０４５３】
パネル４Ｄの説明：遺伝子ＭＯＬ９ａは、刺激にかかわらず、内皮および上皮においてアップレギュレートされる。イオノマイシン（ｉｏｎｏｍｙｃｉｎ）処理したＢ細胞株におけるこの分子のアップレギュレーションが存在し、そしてマイトジェン（ＰＷＭ）処理したＢ細胞によって高く発現される。この知見と一貫して、ＰＷＭで処理したＰＢＭＣはまた、この分子をアップレギュレートする。遺伝子ＭＯＬ９ｂの誘導がまた、活性化Ｔ細胞においても見出される。ＰＢＭＣにおいて、Ｔ細胞特異的なＰＨＡはこの転写物の発現を誘導し、そして急性活性化Ｔ細胞および慢性活性化Ｔ細胞において、この転写物はまた、未処理Ｔ細胞または休止Ｔ細胞と比較して増大する。この転写物の発現は、休止マクロファージにおいて発現される。
【０４５４】
炎症の潜在的役割：分子ＭＯＬ９ｂがＢリンパ球またはＴリンパ球によって誘導され、そしてリンパ球トラフィッキングもしくは活性化を制御すること、または組織破壊を増加することによって炎症を強化し得る。この分子はまた、活性化Ｔ細胞または活性化Ｂ細胞のマーカーとして働き、そしてまた単球のマクロファージへの分化（参考文献を参照のこと）に関与し得る。マクロファージはまた、サイトカインのような複数の生物学的に活性なタンパク質を産生すること、局所的微細環境における他の細胞を活性化すること、ならびに死んだ細胞および死にかかった細胞を取り込むことによって、炎症に関係する。
【０４５５】
ＭＯＬ９ｂの治療的標的化の影響：ＭＯＬ９ｂによってコードされる分子に対する低分子治療または抗体治療は、Ｔ細胞活性化もしくはＢ細胞活性化またはマクロファージおよびこれらの細胞型によって産生された生物活性分子に起因した炎症および組織損傷を減少し得るかまたは除去し得る。これらの疾患としては、喘息／アレルギー、大腸炎、クローン病、狼瘡および関節炎が挙げられる。あるいは、この分子に基づいたタンパク質治療剤は、アジュバントとして働き得、そしてワクチンの有効量をブーストするか、または器官移植時の免疫状態の調節することを補助し得る。ＭＯＬ９ｂはまた、活性化されたＴ細胞およびＢ細胞に対するマーカーとして働き、そしてＴ細胞活性化またはＢ細胞活性化を誘導する自己免疫疾患に起因する炎症（例えば、喘息／アレルギー、大腸炎、クローン病、狼瘡および関節炎）の程度を間接的に測定して決定する診断ツールとして働く。マクロファージおける遺伝子ＭＯＬ９ｂの発現の増大は、単球、樹状細胞から休止マクロファージを区別する際に助けとなり得る。
【０４５６】
（ＭＯＬ１０ａ）
遺伝子ＭＯＬ１０ａの発現を、表３５に記載のプライマー－プローブセットＡｇ１１２９を使用して評価した。ＲＴＱ－ＰＣＲの実施結果を表３３および表３６において示す。
【０４５７】
【表７５】

表 35. プローブ名 : Ag1129

プライマー	配列	Tm	長さ	開始位置	配列番号
順方向	5'-CTAGACCAGCAGCTGGATGAT-3'	59.5	21	1518	103
プローブ	TET-5'-CTACAGACCAAGTTTGCTCGCCTCCT-3'-TAMRA	68.7	26	1539	104
逆方向	5'-CAATGCGGTAAGCAATCTTAAG-3'	59	22	1587	105

【０４５８】

【表７６】

表 36. パネル 1.3D およびパネル 4D

パネル 1.3D		パネル 4D	
組織名	相対発現% 1.3dx4tm5771t_ag1129_a2	組織名	相対発現% 4Dtm1984t_ag1129
肝臓腺癌	3.9	93768_Secondary Th1_anti-CD28/anti-CD3	0.0
膵臓	3.7	93769_Secondary Th2_anti-CD28/anti-CD3	9.0
膵臓 ca. CAPAN 2	2.8	93770_Secondary Tr1_anti-CD28/anti-CD3	9.0
副腎	1.8	93573_Secondary Th1_resting day 4-6 in IL-2	0.0
甲状腺	3.2	93572_Secondary Th2_resting day 4-6 in IL-2	0.0
唾液腺	3.8	93571_Secondary Tr1_resting day 4-6 in IL-2	0.0
下垂体	2.6	93568_primary Th1_anti-CD28/anti-CD3	0.0
脳（胎児）	21.9	93569_primary Th2_anti-CD28/anti-CD3	0.0
脳（全体）	14.6	93570_primary Tr1_anti-CD28/anti-CD3	8.9

（表36のつづき 1）

脳（扁桃）	13.0	93565_primary Th1_resting dy 4-6 in IL-2	6.8
脳（小脳）	1.8	93566_primary Th2_resting dy 4-6 in IL-2	14.6
脳（海馬）	13.7	93567_primary Tr1_resting dy 4-6 in IL-2	0.0
脳（黒質）	21.4	93351_CD45RA CD4 lymphocyte_anti-CD28/anti-CD3	5.9
脳（視床）	10.3	93352_CD45RO CD4 lymphocyte_anti-CD28/anti-CD3	14.3
大脳皮質	10.5	93251_CD8 Lymphocytes_anti-CD28/anti-CD3	33.0
脊髄	8.1	93353_chronic CD8 Lymphocytes 2ry_resting dy 4-6 in IL-2	4.2
CNS ca. (glio/astro) U87-MG	6.0	93574_chronic CD8 Lymphocytes 2ry_activated CD3/CD28	0.0
CNS ca. (glio/astro) U-118-MG	0.0	93354_CD4_none	1.4
CNS ca. (astro) SW1783	3.5	93252_Secondary Th1/Th2/Tr1_anti-CD95 CH11	20.2
CNS ca.* (神経 ; met) SK-N-AS	0.0	93103_LAK cells_resting	8.7
CNS ca. (astro) SF-539	1.7	93788_LAK cells_IL-2	30.8
CNS ca. (astro) SNB-75	0.0	93787_LAK cells_IL-2+IL-12	15.6
CNS ca. (glio) SNB-19	0.9	93789_LAK cells_IL-2+IFN gamma	53.2
CNS ca. (glio) U251	1.4	93790_LAK cells_IL-2+ IL-18	20.6
CNS ca. (glio) SF-295	0.0	93104_LAK cells_PMA/ionomycin and IL-18	0.0
心臓（胎児）	0.0	93578_NK Cells IL-2_resting	5.9
心臓	3.3	93109_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	12.9
胎児骨格	2.0	93110_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	3.5
骨格筋	2.3	93111_Mixed Lymphocyte Reaction_Two Way MLR	6.8
骨髄	4.0	93112_Mononuclear Cells (PBMCs)_resting	17.2
胸腺	3.9	93113_Mononuclear Cells (PBMCs)_PWM	32.5
脾臓	0.0	93114_Mononuclear Cells (PBMCs)_PHA-L	20.3
リンパ節	1.7	93249_Ramos (B cell)_none	22.2
結腸直腸	1.4	93250_Ramos (B cell)_ionomycin	68.3

（表36のつづき 2）

胃	0.0	93349_B lymphocytes_PWM	33.7
小腸	0.0	93350_B lymphoytes_CD40L and IL-4	9.4
結腸 ca. SW480	1.5	92665_EOL-1 (Eosinophil)_dbcAMP differentiated	15.3
結腸 ca.* (SW480 met)SW620	2.0	93248_EOL-1 (Eosinophil)_dbcAMP/PMAionomycin	0.0
結腸 ca. HT29	2.2	93356_Dendritic Cells_none	0.0
結腸 ca. HCT-116	3.7	93355_Dendritic Cells_LPS 100 ng/ml	6.7
結腸 ca. CaCo-2	0.6	93775_Dendritic Cells_anti-CD40	0.0
83219 CC Well to Mod Diff (ODO3866)	5.2	93774_Monocytes_resting	20.6
結腸 ca. HCC-2998	5.1	93776_Monocytes_LPS 50 ng/ml	15.8
胃 ca.* (肝臓 met) NCI-N87	10.0	93581_Macrophages_resting	15.9
膀胱	4.6	93582_Macrophages_LPS 100 ng/ml	64.2
気管	30.4	93098_HUVEC (Endothelial)_none	3.0
腎臓	3.3	93099_HUVEC (Endothelial)_starved	0.0
腎臓（胎児）	7.3	93100_HUVEC (Endothelial)_IL-1b	3.5
腎臓 ca. 786-0	0.0	93779_HUVEC (Endothelial)_IFN gamma	6.7
腎臓 ca. A498	0.0	93102_HUVEC (Endothelial)_TNF alpha + IFN gamma	0.0
腎臓 ca. RXF 393	4.4	93101_HUVEC (Endothelial)_TNF alpha + IL4	8.1
腎臓 ca. ACHN	0.0	93781_HUVEC (Endothelial)_IL-11	0.0
腎臓 ca. UO-31	0.0	93583_Lung Microvascular Endothelial Cells_none	24.0
腎臓 ca. TK-10	5.9	93584_Lung Microvascular Endothelial Cells_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	17.8
肝臓	3.4	92662_Microvascular Dermal endothelium_none	5.2
肝臓（胎児）	0.0	92663_Microsvasular Dermal endothelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	0.0
肝臓 ca. (胚芽 細胞) HepG2	0.0	93773_Bronchial epithelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml) **	79.6
肺	30.2	93347_Small Airway Epithelium_none	0.0
肺（胎児）	100.0	93348_Small Airway Epithelium_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	53.6

（表36のつづき 3）

肺 ca. (small cell) LX-1	1.9	92668_Coronery Artery SMC_resting	0.0
肺 ca. (small cell) NCI-H69	9.8	92669_Coronery Artery SMC_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	0.0
肺 ca. (s.cell var.) SHP-77	9.5	93107_astrocytes_resting	0.0
肺 ca. (large cell)NCI-H460	0.0	93108_astrocytes_TNFa (4 ng/ml) and IL1b (1 ng/ml)	19.6
肺 ca. (non-sm. cell) A549	1.5	92666_KU-812 (Basophil)_resting	0.0
肺 ca. (non-s.cell) NCI-H23	1.8	92667_KU-812 (Basophil)_PMA/ionoycin	15.1
肺 ca (non-s.cell) HOP-62	0.8	93579_CCD1106 (Keratinocytes)_none	0.0
肺 ca. (non-s.cl) NCI-H522	8.7	93580_CCD1106 (Keratinocytes)_TNFa and IFNg **	4.7
肺 ca. (squam.) SW 900	1.8	93791_Liver Cirrhosis	47.6
肺 ca. (squam.) NCI-H596	6.7	93792_Lupus Kidney	25.0
乳腺	8.0	93577_NCI-H292	17.0
乳房 ca.* （胸水） MCF-7	0.0	93358_NCI-H292_IL-4	4.8
乳房 ca.* (pl.ef) MDA-MB-231	0.0	93360_NCI-H292_IL-9	12.9
乳房 ca.* （胸水） T47D	0.0	93359_NCI-H292_IL-13	0.0
乳房 ca. BT-549	0.0	93357_NCI-H292_IFN gamma	4.4
乳房 ca. MDA-N	0.0	93777_HPAEC_-	0.0
卵巣	2.3	93778_HPAEC_IL-1 beta/TNA alpha	6.9
卵巣 ca. OVCAR-3	0.0	93254_Normal Human Lung Fibroblast_none	0.0
卵巣 ca. OVCAR-4	1.2	93253_Normal Human Lung Fibroblast_TNFa (4 ng/ml) and IL-1b (1 ng/ml)	6.2
卵巣 ca. OVCAR-5	7.7	93257_Normal Human Lung Fibroblast_IL-4	6.9
卵巣 ca. OVCAR-8	0.0	93256_Normal Human Lung Fibroblast_IL-9	0.0
卵巣 ca. IGROV-1	0.0	93255_Normal Human Lung Fibroblast_IL-13	0.0
卵巣 ca.* (腹水) SK-OV-3	0.0	93258_Normal Human Lung Fibroblast_IFN gamma	0.0
子宮	1.9	93106_Dermal Fibroblasts CCD1070_resting	12.9

（表36のつづき 4）

胎盤	0.0	93361_Dermal Fibroblasts CCD1070_TNF alpha 4 ng/ml	28.5
前立腺	4.9	93105_Dermal Fibroblasts CCD1070_IL-1 beta 1 ng/ml	0.0
前立腺 ca.* (骨met)PC-3	4.4	93772_dermal fibroblast_IFN gamma	9.8
精巣	57.0	93771_dermal fibroblast_IL-4	2.6
黒色腫 Hs688(A).T	0.0	93259_IBD Colitis 1**	88.3
黒色腫 * (met) Hs688(B).T	0.0	93260_IBD Colitis 2	0.0
黒色腫 UACC-62	0.0	93261_IBD Crohns	0.0
黒色腫 M14	0.0	735010_Colon_normal	20.2
黒色腫 LOX IMVI	3.6	735019_Lung_none	29.7
黒色腫 * (met) SK-MEL-5	3.3	64028-1_Thymus_none	100.0
脂肪	3.2	64030-1_Kidney_none	10.0

遺伝子ＭＯＬ１０ａは、パネル１．３Ｄにおける精巣および胎児の肺において高レベルであることを示す。これは、この遺伝子を肺における再生治療について使用し得ること、そしてこの遺伝子がまた雄性繁殖可能性において役割を担うことを示している。パネル４Ｄのプロフィールは、他の組織および細胞株においては検出不可能な低い発現であるが、胸腺においては高い発現を示している（Ｃｔ値＞３５）。それゆえに、この遺伝子はＴ細胞の発生に関与し得、そして未熟なＴ細胞に対するマーカーであり得る。

【０４５９】

（実施例２：ＭＯＬ６ＡのＳＮＰ分析）

改変型配列は本願に含まれる。改変型配列としては、一塩基多型（ＳＮＰ）が挙げられ得る。ＳＮＰは、このＳＮＰを含むヌクレオチド配列がｃＤＮＡ由来であることを示すためにいくつかの例では「ｃＳＮＰ」として称され得る。ＳＮＰはいくつかの方法で生じ得る。例えば、ＳＮＰは、多型部位で、あるヌクレオチドが別のヌクレオチドに置換することを起因し得る。このような置換は、トランジションまたはトランスバージョンのいずれかであり得る。ＳＮＰはまた、参照対立遺伝子と比較して、ヌクレオチド欠失、またはヌクレオチドの挿入から生じ得る。この場合、多型部位は１つの対立遺伝子が他の対立遺伝子における特定のヌクレオチドに対してギャップを保持する部位である。遺伝子内で生じたＳＮＰは、ＳＮＰの部位でこの遺伝子によってコードされるアミノ酸の変化を生じ得る。しかし、遺伝子内ＳＮＰはまた、遺伝コードの冗長の結果としてＳＮＰを含むコドンが同じアミノ酸をコードしている場合、サイレントであり得る。遺伝子領域の外または遺伝子中のイントロンの中で、生じるＳＮＰは、タンパク質のいずれのアミノ酸配列にも変化を生じないが、発現パターンの調節の変化（例えば、一過性発現、生理学的応答制御、細胞型発現調節、発現強度、転写されたメッセージの安定性における変化）を生じ得る。

【０４６０】

（新規ＳＮＰの同定方法）

ＳＮＰを、ＣｕｒａＧｅｎ所有のＳＮＰＴｏｏｌアルゴリズムを使用して配列アセンブリ（ａｓｓｅｍｂｌｙ）を解析することによって同定する。ＳＮＰＴｏｏｌは、以下のような基準をもってアセンブリ中の変異を同定する：アライメントの両末端の１０塩基対以内にあるＳＮＰは解析しない；ウインドウサイズ（一覧する塩基の数）は１０である；ウインドウ中で可能なミスマッチ数は２である；最小ＳＮＰ塩基性質（ＰＨＲＥＤスコア）は２３である；ＳＮＰを点数づけるための変化の最小数は２／アセンブリ位置（ａｓｓｅｍ

ｂｌｙ　ｐｏｓｉｔｉｏｎ）である。ＳＮＰＴｏｏｌは、このアセンブリを解析し、そしてアセンブリ中の個々の変異配列に関連するＳＮＰの位置、所定位置のアセンブリの深さ、推定アセンブリ対立遺伝子頻度、およびＳＮＰ配列変異を提示する。配列トレースを選択し、そして手動による検証のために目視する。次いで、このコンセンサスアセンブリ配列を、変異配列変化と共にＣｕｒａＴｏｏｌに取り込み、ＳＮＰ配列変異によって生じる潜在的なアミノ酸変化を同定する。次いで、包括的なＳＮＰデータ解析をＳＮＰＣａｌｌｉｎｇデータベースへエキスポートした。

【０４６１】

（新規ＳＮＰの確認方法）

ＳＮＰを、Ｐｙｒｏｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ（Ａｌｄｅｒｂｏｒｎら、Ｄｅｔｅｒｍｉｎａｔｉｏｎ　ｏｆ　Ｓｉｎｇｌｅ　Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ　Ｐｏｌｙｍｏｒｐｈｉｓｍｓ　ｂｙ　Ｒｅａｌ－ｔｉｍｅ　Ｐｙｒｏｐｈｏｓｐｈａｔｅ　ＤＮＡ　Ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ．（２０００）．Ｇｅｎｏｍｅ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ．１０，８月８日号、１２４９～１２６５を参照のこと）として公知の有効な方法用いて、確認した。簡潔にいうと、Ｐｙｒｏｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇは、遺伝子型分類（ｇｅｎｏｔｙｐｉｎｇ）のリアルタイムプライマー伸長プロセスである。このプロトコルは、２本鎖のビオチン化したＰＣＲ産物をゲノムＤＮＡサンプルから取り、これらをストレプトアビジンビーズに結合する。次いで、これらのビーズを変性し、そして１本鎖で結合したＤＮＡを産生する。ＳＮＰを、ＤＮＡ鎖伸長の際に各ｄＮＴＰから放出されるピロリン酸（PP_i）の間接的な生物発光アッセイに基づく技術を利用して特徴づける。クレノウポリメラーゼ媒介塩基取りこみ後、PP_iを放出し、アデノシン５’－ホスホサルフェート（ＡＰＳ）とともに、ＡＴＰスルフリラーゼに対する基質として使用し、このことはＡＴＰ形成を生じる。続いて、ルシフェラーゼの作用で、ＡＴＰは、ルシフェリンのそのオキシ誘導体（ｏｘｉ－ｄｅｒｉｖａｔｉｖｅ）への変換を達成する。光出力を確認することは、約４塩基までは、加えられた塩基の数に比例する。この方法の処理性を可能にするために、過剰なｄＮＴＰをアピラーゼで分解した。アピラーゼはまた開始反応混合物中にも存在し、その結果ｄＮＲＰのみが、配列決定の間のテンプレートへと添加される。このプロセスは、完全に自動化され、そして９６ウェル形式に適合され、このことは膨大なＳＮＰパネルの迅速なスクリーニングを可能にする。

【０４６２】

ＭＯＬ６ａのトリプシン様遺伝子（ＧＭ８７７６０７５８＿Ａ）の新規の１塩基多型変異についてのＤＮＡ配列およびタンパク質配列を、表３７で報告する。変異体を個々に報告するが、変異体の全てまたは選択されたサブセットの組み合わせのいずれかをまた、含む。表３７において、変異塩基および変異アミノ残基の位置を下線で示した。

【０４６３】

（表３７）

（Ａ．ＭＯＬ６ａヌクレオチド配列の変異体１３３７３７５０（配列番号１１））

第３６０位における、ＣからＡ。

【０４６４】

（Ｂ．第３６０位における変異のヌクレオチド配列）

【０４６５】

【表７７】

```
   1TACCATGAAATATGTCTTCTATTTGGGTGTCCTCGCTGGGACATTTTTCTTTGCTGACTCATCTGTCCAGAAAGAAGACC
  81CTGCTCCCTATTTGGTGTACCTCAAGTCTCACTTCAACCCCTGTGTGGGCGTCCTCATCAAACCCAGCTGGGTGCTGGCC
 161CCAGCTCACTGCTATTTACCAAATCTGAAAGTGATGCTGGGAAATTTCAAGAGCAGAGTCAGAGACGGTACTGAACAGAC
 241AATTAACCCCATTCAGATCGTCCGCTACTGGAACTACAGTCATAGCGCCCCACAGGATGACCTCATGCTCATCAAGCTGG
 321CTAAGCCTGCCATGCTCAATCCCAAAGTCCAGCCCCTTACCCTCGCCACCACCAATGTCAGGCCAGGCACTGTCTGTCTA
 401CTCTCAGGTTTGGACTGGAGCCAAGAAAACAGTGGCCGACACCCTGACTTGCGGCAGAACCTGGAGGCCCCCGTGATGTC
 481TGATCGAGAATGCCAAAAAAACAGAACAAGGAAAAAGCCACAGGAATTCCTTATGTGTGAAATTTGTGAAAGTATTCAGC
 561CGAATTTTTGGGGAGGTGGCCGTTGCTACTGTCATCTGCAAAGACAAGCTCCAGGGAATCGAGGTGGGGCACTTCATGGG
 641AGGGGACGTCGGCATCTACACCAATGTTTACAAATATGTATCCTGGATTGAGAACACTGCTAAGGACAAGTGAGACCCCA
 721A（配列番号１０６）
```

（Ｃ．第１１９位の変異にタンパク質配列）

【０４６６】

【表７８】

1MKYVFYLGVLAGTFFFADSSVQKEDPAPYLVYLKSHFNPCVGVLIKPSWVLAPAHCYLPNLKVMLGNFKSRVRDGTEQTI
81NPIQIVRYWNYSHSAPQDDLMLIKLAKPAMLNPKVQPLTLATTNVRPGTVCLLSGLDWSQENSGRHPDLRQNLEAPVMSD
161RECQKNRTRKKPQEFLMCHICESIQPNFWGGGRCYCHLQRQAPGNRGGALHGRGRRHLHQCLQICILD（配列番号107）

（Ｄ．アミノ酸残基における変異の効果）

ＰｒｏからＴｈｒ。

【０４６７】

（等価物）

特定の実施形態は、本明細書中で詳細に開示されてきたが、これは例示の目的のみのために例であり、そして特許請求の範囲に関して制限されることを意図しない。特に、様々な置換、変化、改変は、特許請求の範囲で規定された本発明の精神および範囲から逸脱することなしに、本発明となり得ることを発明者らによって意図される。核酸開始物質、目的クローン、またはライブラリー型の選択は、本明細書中に記載の実施形態の知識を持つ当業者にとっては慣用な事項であると考えられる。他の局面、利点、および改変は、上の特許請求の範囲内であると考えられる。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int onal Application No
PCT/US 01/13578

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12N15/12 C12N5/10 C07K16/28 C07K16/40 C07K16/18
C07K14/47 C07K14/475 C07K14/705 C12N9/64 G01N33/53
C12Q1/68 G01N33/50 A61K48/00 A61K38/16 A61K39/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12N C07K G01N A61K C12Q

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 50547 A (SCHERING CORP) 12 November 1998 (1998-11-12) the whole document	1-17,22
X	DATABASE EMBL SEQUENCE LIBRARY 'Online! 13 June 1997 (1997-06-13) HILLIER, L., ET AL. : "WashU-Merck EST Project 1997 - zx51b11.r1 Soares_testis_NHT Homo sapiens cDNA clone IMAGE:795741 5' similar to SW:TRY1_RAT P00762 TRYPSINOGEN I, ANIONIC PRECURSOR ;, mRNA" retrieved from HTTP://WWW2.EBI.AC.UK Database accession no. AA461584 XP002200674 abstract	1-11

-/--

[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
30 May 2002	14 06 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	Holtorf, S

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte ial Application No
PCT/US 01/13578

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication,where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL SEQUENCE LIBRARY 'Online! 28 October 1998 (1998-10-28) NCI-CGAP: ""National Cancer Institute, Cancer Genome Anatomy Project (CGAP), Tumor Gene Index http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ncicgap" - unpublished" retrieved from HTTP://WWW2.EBI.AC.UK Database accession no. AI217334; XP002200675 abstract	1-11
A	EP 0 867 508 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP) 30 September 1998 (1998-09-30) the whole document	
A	WO 95 18140 A (YEDA RES & DEV ;RYCUS AVIGAIL (IL); BEN ARIE NISSIM (IL); LANCET D) 6 July 1995 (1995-07-06) the whole document	
A	ROUQUIER S ET AL: "HOMO SAPIENS OLFACTORY RECEPTOR (OR5-40) GENE, PARTIAL CDS" EMBL, XP002168050 accession no. U86270	
A	GLUSMAN GUSTAVO ET AL: "Sequence, structure, and evolution of a complete human olfactory receptor gene cluster" GENOMICS, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, US, vol. 63, no. 2, 15 January 2000 (2000-01-15), pages 227-245, XP002178957 ISSN: 0888-7543 the whole document	
P,X	DATABASE EMBL SEQUENCE LIBRARY 'Online! 13 December 2000 (2000-12-13) AKIRA S., HEMMI H.: "A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA - Homo sapiens TLR9 mRNA for toll-like receptor 9, complete cds." XP002188006 accession no. AB045180	1-11
E	WO 01 55386 A (GLAXOSMITHKLINE ;RAY KEITH PAUL (GB); LEWIS ALAN PETER (GB)) 2 August 2001 (2001-08-02) the whole document	1-17, 22-24, 26-43, 48-51

-/--

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int nal Application No
PCT/US 01/13578

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 53312 A (CHEN RUI HONG ;GOODRICH RYLE (US); HYSEQ INC (US); WANG DUNRUI (US) 26 July 2001 (2001-07-26) the whole document	1-11
E	WO 01 66748 A (ZYMOGENETICS INC) 13 September 2001 (2001-09-13) examples	1-11
E	WO 01 66771 A (ZYMOGENETICS INC) 13 September 2001 (2001-09-13) the whole document	5-11
E	WO 01 98468 A (ELLIOTT VICKI S;INCYTE GENOMICS INC ; YUE HENRY (US)) 27 December 2001 (2001-12-27) examples	5-11

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 01/13578

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 and 48,49 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. [X] Claims Nos.: 25
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:

see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.

2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. [X] 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.:

1-52

4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

[X] No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 25

Present claims 25 relate to a product/compound/method defined by reference to a desirable characteristic or property, namely compounds that bind to the polypeptide of claim 1 to modulate the activity thereof.

The claims cover all products/compounds/methods having this characteristic or property, whereas the application provides no support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT for such products/compounds/methods.

In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible. Independent of the above reasoning, the claims also lack clarity (Article 6 PCT). An attempt is made to define the product/compound/method by reference to a result to be achieved. Again, this lack of clarity in the present case is such as to render a meaningful search over the whole of the claimed scope impossible.

Consequently, the search has not been carried out for claim 25.

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

International Application No. PCT/US 01 /13578

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. Claims: 1-52 partially

   Isolated polypeptide MOL1 as characterized by SEQID2, variants thereof differing in no more than 15% of the amino acid residues, a naturally-occurring variant thereof, a variant with conserved amino acid substitutions; an isolated nucleic acid molecule encoding a peptide as characterized by SEQID2 and variants thereof; a nucleic acid molecule that is characterized by SEQID1 and that differs by a single or no more than 20% of the nucleotides from the nucleic acid sequence of SEQID1, a nucleic acid sequence that hybridizes to SEQID1; the recombinant expression of the same in host cells; antibodies that bind to said polypeptides; a method to determine the presence or the amount of said polypeptide in a sample; a method to determine the presence or the amount of said nucleic acid molecule in a sample which can also be used as a marker for cell or tissue type; a method of identifying binding agents to said polypeptide or agents modulating the expression of said polypeptide, a method of modulating the activity of the polypeptide in a sample by contacting said polypeptide with a binding compound; a method of treating or preventing a MOLX-associated disorder by administering said polypeptides or nucleic acid molecules or said antibodies to the patient; a pharmaceutical compositions comprising said polypeptides or nucleic acid molecules or said antibodies and a kit comprising said compositions; a method for determining a predisposition to MOLX-associated disease by measuring the levels of said polypeptides or nucleic acid molecules in a sample; a method for treating a pathological state in a mammal by administering said polypeptides or said antibodies to the mammal; a method for screening candidate substances or ligand molecules interacting with the polypeptide of SEQID2.

2. Claims: 1-52 partially

   As invention 1, but relating to the MOL2-specific SEQIDs 3 + 4.

3. Claims: 1-52 partially

   As invention 1, but relating to the MOL3-specific SEQIDs 5 + 6.

4. Claims: 1-52 partially

   As invention 1, but relating to the MOL4-specific SEQIDs 7 + 8.

International Application No. PCT/US 01 /13578

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

5. Claims: 1-52 partially

As invention 1, but relating to the MOL5-specific SEQIDs 9 + 10.

6. Claims: 1-52 partially

As invention 1, but relating to the MOL6-specific SEQIDs 11,13 + 12,14.

7. Claims: 1-52 partially

As invention 1, but relating to the MOL7-specific SEQIDs 15 + 16.

8. Claims: 1-52 partially

As invention 1, but relating to the MOL8-specific SEQIDs 17,19 + 18,20.

9. Claims: 1-52 partially

As invention 1, but relating to the MOL9-specific SEQIDs 21,23,25 + 22,24,26.

10. Claims: 1-52 partially

As invention 1, but relating to the MOL10-specific SEQIDs 27,29 + 28,30.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inte nal Application No
PCT/US 01/13578

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9850547 A	12-11-1998	AU 740333 B2	01-11-2001
		AU 7175498 A	27-11-1998
		BR 9808747 A	11-07-2000
		CN 1263555 T	16-08-2000
		EP 0980429 A2	23-02-2000
		NO 995458 A	08-11-1999
		NZ 338073 A	28-09-2001
		PL 336635 A1	03-07-2000
		SK 146599 A3	11-07-2000
		WO 9850547 A2	12-11-1998
		HU 0001462 A2	28-07-2000
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 9518140 A	06-07-1995	WO 9518140 A1	06-07-1995
WO 0155386 A	02-08-2001	AU 2866501 A	07-08-2001
		WO 0155386 A1	02-08-2001
WO 0153312 A	26-07-2001	AU 2292401 A	31-07-2001
		AU 2591801 A	31-07-2001
		AU 2593601 A	31-07-2001
		AU 2595501 A	31-07-2001
		AU 2596501 A	31-07-2001
		AU 2598301 A	31-07-2001
		AU 2728401 A	31-07-2001
		AU 2734401 A	31-07-2001
		AU 2734801 A	31-07-2001
		AU 2738501 A	31-07-2001
		AU 3265701 A	31-07-2001
		WO 0153312 A1	26-07-2001
		WO 0153453 A2	26-07-2001
		WO 0153326 A1	26-07-2001
		WO 0153454 A2	26-07-2001
		WO 0153455 A2	26-07-2001
		WO 0153456 A2	26-07-2001
		WO 0153466 A1	26-07-2001
		WO 0152616 A2	26-07-2001
		WO 0153500 A1	26-07-2001
		WO 0153515 A1	26-07-2001
		WO 0153485 A1	26-07-2001
		AU 5362001 A	30-10-2001
		WO 0179446 A2	25-10-2001
WO 0166748 A	13-09-2001	AU 4007501 A	17-09-2001
		WO 0166748 A2	13-09-2001
WO 0166771 A	13-09-2001	AU 3872101 A	17-09-2001
		WO 0166771 A2	13-09-2001
WO 0198468 A	27-12-2001	AU 6983601 A	02-01-2002
		WO 0198468 A2	27-12-2001

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

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*3/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	1/16		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｐ	*3/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/00		４Ｃ０８５
Ａ６１Ｐ	*3/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/04		４Ｈ０４５
Ａ６１Ｐ	*3/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/06		
Ａ６１Ｐ	*3/14*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/10		
Ａ６１Ｐ	*5/14*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/14		
Ａ６１Ｐ	*5/16*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	5/14		
Ａ６１Ｐ	*7/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	5/16		
Ａ６１Ｐ	*9/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	7/00		
Ａ６１Ｐ	*9/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/00		
Ａ６１Ｐ	*9/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/10		
Ａ６１Ｐ	*11/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/10	１０１	
Ａ６１Ｐ	*11/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/12		
Ａ６１Ｐ	*13/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/00		
Ａ６１Ｐ	*15/08*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/06		
Ａ６１Ｐ	*17/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	13/12		
Ａ６１Ｐ	*25/08*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	15/08		
Ａ６１Ｐ	*25/14*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/02		
Ａ６１Ｐ	*25/16*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/08		
Ａ６１Ｐ	*25/22*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/14		
Ａ６１Ｐ	*25/28*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/16		
Ａ６１Ｐ	*27/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/22		
Ａ６１Ｐ	*29/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/28		
Ａ６１Ｐ	*31/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	27/02		
Ａ６１Ｐ	*31/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	29/00		
Ａ６１Ｐ	*31/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/00		
Ａ６１Ｐ	*33/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/04		
Ａ６１Ｐ	*35/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/12		
Ａ６１Ｐ	*37/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	33/00		
Ａ６１Ｐ	*43/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		
Ｃ０７Ｋ	*14/47*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/02		
Ｃ０７Ｋ	*16/18*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１０５	
Ｃ１２Ｎ	*1/15*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１１１	
Ｃ１２Ｎ	*1/19*	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	14/47		
Ｃ１２Ｎ	*1/21*	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	16/18		
Ｃ１２Ｐ	*21/08*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/15		
Ｃ１２Ｑ	*1/68*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/19		
Ｇ０１Ｎ	*33/15*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/21		
Ｇ０１Ｎ	*33/50*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｐ	21/08		
Ｇ０１Ｎ	*33/53*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｑ	1/68	Ａ	
Ｇ０１Ｎ	*33/566*	*(2006.01)*	Ｇ０１Ｎ	33/15	Ｚ	
Ｃ１２Ｎ	*5/10*	*(2006.01)*	Ｇ０１Ｎ	33/50	Ｚ	
Ａ６１Ｋ	*38/00*	*(2006.01)*	Ｇ０１Ｎ	33/53	Ｄ	
			Ｇ０１Ｎ	33/53	Ｍ	
			Ｇ０１Ｎ	33/566		
			Ｃ１２Ｎ	5/00	Ａ	
			Ａ６１Ｋ	37/02		

(31)優先権主張番号 60/201,006
(32)優先日 平成12年5月1日(2000.5.1)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/201,007
(32)優先日 平成12年5月1日(2000.5.1)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/201,236
(32)優先日 平成12年5月1日(2000.5.1)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/201,238
(32)優先日 平成12年5月1日(2000.5.1)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/201,186
(32)優先日 平成12年5月2日(2000.5.2)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/201,474
(32)優先日 平成12年5月3日(2000.5.3)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/201,508
(32)優先日 平成12年5月3日(2000.5.3)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/220,591
(32)優先日 平成12年7月25日(2000.7.25)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/232,678
(32)優先日 平成12年9月15日(2000.9.15)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/263,217
(32)優先日 平成13年1月22日(2001.1.22)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/265,160
(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 09/842,758
(32)優先日 平成13年4月25日(2001.4.25)
(33)優先権主張国 米国(US)

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),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),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 フェルナンデス, エルマ アール.
アメリカ合衆国 コネチカット ０６４０５, ブランフォード, フローレンス ロード ７７ ナンバー２ビー
(72)発明者 ガーラチ, バレリー
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 ３７５

(72)発明者 シムケッツ, リチャード エイ.
アメリカ合衆国 コネチカット ０６５１６, ウエスト ヘイブン, リート ストリート １９１
(72)発明者 マルヤンカー, ユリエル エム.
アメリカ合衆国 コネチカット ０６４０５, ブランフォード, アベリル プレイス ３５
(72)発明者 ボルドッグ, フェレンク エル.
アメリカ合衆国 コネチカット ０６４７３, ノース ヘイブン, ハートフォード ターンパイク １６８７
(72)発明者 ゼーフセン, ブライアン ディー.
アメリカ合衆国 コネチカット ０６４０５, ブランフォード, ジェファーソン ロード ４５, アパートメント ２－１０
(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 マジュムデル, クムド
アメリカ合衆国 コネチカット ０６４０５, ブランフォード, ハイ リッジ ロード ２３９８ ナンバー３－１２
(72)発明者 トカーネフ, フェリザー ティー.
アメリカ合衆国 コネチカット ０６４０５, ブランフォード, ジェファーソン ロード ４５ ナンバー３－１２
(72)発明者 パディガル, ムラリダラ
アメリカ合衆国 コネチカット ０６４０５ ブランフォード, モントヤ サークル ９８
(72)発明者 パチュラジャン, メエラ
アメリカ合衆国 コネチカット ０６４０５, ブランフォード, ハリソン アベニュー ４５, アパートメント １シー
(72)発明者 バーゲス, キャサリン イー.
アメリカ合衆国 コネチカット ０６１０９, ウエスターフィールド, キャリッジ ヒル ドライブ ９０
(72)発明者 ガンゴリ, エシャ エイ.
アメリカ合衆国 コネチカット ０６５０５, ブランフォード, ウォルデン グリーン ３８３
(72)発明者 スミスソン, グレンダ
アメリカ合衆国 コネチカット ０６５０４, ブランフォード, メイン ストリート ８１ ナンバー３２エイ
(72)発明者 ラステリ, ルカ
アメリカ合衆国 コネチカット ０６４３７, ギルフォード, ペッパーブッシュ レーン ５２
(72)発明者 マクドウガル, ジョン アール.
アメリカ合衆国 コネチカット ０６５１５, ハンデン, ラッセル ストリート １１７
(72)発明者 タウピール, レイモンド ジェイ. ジュニア
アメリカ合衆国 コネチカット ０６５１２, イースト ヘイブン, ホルムズ ストリート ４７
(72)発明者 グロッセ, ウィリアム エム.
アメリカ合衆国 コネチカット ０６４０５, ブランフォード, ライス テラス ロード １５, アパートメント シー
(72)発明者 スゼケレス, エドワード エス. ジュニア
アメリカ合衆国 コネチカット ０６５０４, ブランフォード, モントヤ ドライブ １３０
(72)発明者 アルソブルック, ジョン ピー. ザ セカンド
アメリカ合衆国 コネチカット ０６４４３, マディソン, レイク ドライブ ６０

Ｆターム(参考) 2G045 AA34 AA35 BB20 BB41 BB46 CB01 CB02 DA13 DA36 FB02

FB03
4B024 AA01 AA12 BA44 BA80 CA01 GA11 GA30 HA12 HA20
4B063 QA01 QA19 QA20 QQ02 QQ08 QQ42 QQ79 QQ91 QR08 QR32
QR42 QR55 QS34 QX01
4B064 AG01 AG27 CA19 CC24 DA01 DA13
4B065 AA93Y AB01 AC14 BA02 CA24 CA25 CA44 CA46
4C084 AA02 AA06 AA13 BA01 BA22 BA23 CA53 DC50 NA14 ZA022
ZA052 ZA062 ZA082 ZA152 ZA162 ZA332 ZA362 ZA402 ZA422 ZA452
ZA592 ZA662 ZA682 ZA702 ZA752 ZA812 ZA892 ZB052 ZB072 ZB112
ZB212 ZB262 ZB322 ZB332 ZB352 ZB372 ZC022 ZC062 ZC212 ZC332
ZC352
4C085 AA13 AA14 BB11 CC04 CC05 DD22 DD32 EE01
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 EA20 EA50 FA74

专利名称(译)	新蛋白质和编码该蛋白质的核酸		
公开(公告)号	JP2006501801A	公开(公告)日	2006-01-19
申请号	JP2001578649	申请日	2001-04-26
[标]申请(专利权)人(译)	CURAGEN CORP		
申请(专利权)人(译)	Kyurajen公司		
[标]发明人	ヴェルネコリーヌアーエム フェルナンデスエルマアール ガーラチバレリー シムケッツリチャードエイ マルヤンカーユリエルエム ボルドッグフェレンクエル ゼーフセンブライアンディー スパイテックキンバリーエイ マジュムデルクムド トカーネフフェリザーティー パディガルムラリダラ パチュラジャンメエラ バーゲスキャサリンイー ガンゴリエシャエイ スミスソングレンダ ラステリルカ マクドウガルジョンアール タウピールレイモンドジェイジュニア グロッセウィリアムエム スゼケレスエドワードエスジュニア アルソブルックジョンピーザセカンド		
发明人	ヴェルネ, コリーヌ アー. エム. フェルナンデス, エルマ アール. ガーラチ, バレリー シムケッツ, リチャード エイ. マルヤンカー, ユリエル エム. ボルドッグ, フェレンク エル. ゼーフセン, ブライアン ディー. スパイテック, キンバリー エイ. マジュムデル, クムド トカーネフ, フェリザー ティー. パディガル, ムラリダラ パチュラジャン, メエラ バーゲス, キャサリン イー. ガンゴリ, エシャ エイ. スミスソン, グレンダ ラステリ, ルカ マクドウガル, ジョン アール. タウピール, レイモンド ジェイ. ジュニア グロッセ, ウィリアム エム. スゼケレス, エドワード エス. ジュニア アルソブルック, ジョン ピー. ザ セカンド		

IPC分类号	C12N15/09 A61K39/395 A61K48/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P3/00 A61P3/04 A61P3/06 A61P3/10 A61P3/14 A61P5/14 A61P5/16 A61P7/00 A61P9/00 A61P9/10 A61P9/12 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/12 A61P15/08 A61P17/02 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/22 A61P25/28 A61P27/02 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P33/00 A61P35/00 A61P37/02 A61P43/00 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/08 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/566 C12N5/10 A61K38/00 A61K38/22 A61K38/28 C07K14/475 C07K14/705 C12N9/64 C12N15/12
CPC分类号	A61K38/00 A61K38/1725 A61K38/177 A61K38/18 A61K38/2292 A61K38/45 A61K38/482 A61K38/4886 A61P1/04 A61P1/16 A61P3/00 A61P3/04 A61P3/06 A61P3/10 A61P3/14 A61P5/14 A61P5/16 A61P7/00 A61P9/00 A61P9/10 A61P9/12 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/12 A61P15/08 A61P17/02 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/22 A61P25/28 A61P27/02 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P33/00 A61P35/00 A61P37/02 A61P43/00 C07K14/47 C07K14/475 C07K14/705 C12N9/6421 C12N9/6424 C12N9/6445 G01N33/5023 G01N33/566 G01N2500/04 A61K2300/00
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K39/395.D A61K39/395.N A61K48/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P3/00 A61P3/04 A61P3/06 A61P3/10 A61P3/14 A61P5/14 A61P5/16 A61P7/00 A61P9/00 A61P9/10 A61P9/10.101 A61P9/12 A61P11/00 A61P11/06 A61P13/12 A61P15/08 A61P17/02 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/22 A61P25/28 A61P27/02 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P33/00 A61P35/00 A61P37/02 A61P43/00.105 A61P43/00.111 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/08 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12N5/00.A A61K37/02
F-TERM分类号	2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/BB20 2G045/BB41 2G045/BB46 2G045/CB01 2G045/CB02 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA12 4B024/BA44 4B024/BA80 4B024/CA01 4B024/GA11 4B024/GA30 4B024/HA12 4B024/HA20 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QA20 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ79 4B063/QQ91 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR42 4B063/QR55 4B063/QS34 4B063/QX01 4B064/AG01 4B064/AG27 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA13 4C084/BA01 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/CA53 4C084/DC50 4C084/NA14 4C084/ZA022 4C084/ZA052 4C084/ZA062 4C084/ZA082 4C084/ZA152 4C084/ZA162 4C084/ZA332 4C084/ZA362 4C084/ZA402 4C084/ZA422 4C084/ZA452 4C084/ZA592 4C084/ZA662 4C084/ZA682 4C084/ZA702 4C084/ZA752 4C084/ZA812 4C084/ZA892 4C084/ZB052 4C084/ZB072 4C084/ZB112 4C084/ZB212 4C084/ZB262 4C084/ZB322 4C084/ZB332 4C084/ZB352 4C084/ZB372 4C084/ZC022 4C084/ZC062 4C084/ZC212 4C084/ZC332 4C084/ZC352 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/CC04 4C085/CC05 4C085/DD22 4C085/DD32 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74
优先权	60/200158 2000-04-26 US 60/200613 2000-04-28 US 60/200780 2000-04-28 US 60/201006 2000-05-01 US 60/201007 2000-05-01 US 60/201236 2000-05-01 US 60/201238 2000-05-01 US 60/201186 2000-05-02 US 60/201474 2000-05-03 US 60/201508 2000-05-03 US 60/220591 2000-07-25 US 60/232678 2000-09-15 US 60/263217 2001-01-22 US 60/265160 2001-01-30 US 09/842758 2001-04-25 US
外部链接	Espacenet

摘要(译)

本文公开了编码G-偶联的蛋白质 - 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，以及免疫特异性结合多肽的抗体，以及前述多肽，多核苷酸或抗体的衍生物，变体，突变体或片段。本发明还公开了用于诊断，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病症的治疗，诊断和研究方法。