

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11) 特許番号

特許第3501775号

(P 3 5 0 1 7 7 5)

(45) 発行日 平成16年3月2日 (2 0 0 4 . 3 . 2)

(24) 登録日 平成15年12月12日 (2 0 0 3 . 1 2 . 1 2)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I
C 1 2 N 15/09	Z N A	A 0 1 K 67/027
A 0 1 K 67/027		A 6 1 K 45/00
A 6 1 K 45/00		A 6 1 P 3/10
A 6 1 P 3/10		9/00
9/00		9/02

請求項の数15(全 25 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2001-151887(P2001-151887)	(73) 特許権者	000204343 ファイザー株式会社 東京都渋谷区代々木3丁目22番7号 新宿文化クイントビル
(22) 出願日	平成13年5月22日(2001.5.22)	(72) 発明者	新庄 勝浩 愛知県知多郡武豊町字五号地2 ファイザー製薬株式会社 中央研究所内
(65) 公開番号	特開2002-330769(P2002-330769A)	(72) 発明者	藪内 光 神奈川県相模原市東林間4-14-3-202
(43) 公開日	平成14年11月19日(2002.11.19)	(74) 代理人	100096666 弁理士 室伏 良信
審査請求日	平成13年5月22日(2001.5.22)	審査官	阪野 誠司
(31) 優先権主張番号	60/208156		
(32) 優先日	平成12年5月31日(2000.5.31)		
(33) 優先権主張国	米国 (U S)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒトパニロイド受容体様タンパク質

1

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】 配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド。

【請求項2】 以下の(a)又は(b)のポリペプチド。

(a) 配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド

(b) 配列番号4で表されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠質、置換、若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、VRL-2活性を有するポリペプチド。

【請求項3】 配列番号3で表される塩基配列における第43番～第1851番の塩基配列からなるポリヌクレオチド。

【請求項4】 以下の(c)又は(d)のポリヌクレオ

2

チド。

(c) 配列番号3で表される塩基配列からなるポリヌクレオチド

(d) 配列番号3で表される塩基配列と相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、VRL-2活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【請求項5】 請求項2に記載の(a)又は(b)のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【請求項6】 請求項3に記載のポリヌクレオチドにおける連続する15以上のヌクレオチドを含むプローブ又はプライマーであって、VRL-2活性を有するポリペプチドをコードするポリペプチドについてプローブ又はプライマーとして機能するプローブ又はプライマー。

【請求項7】 請求項3乃至請求項5のいずれか1項に

記載のポリヌクレオチドにおける連続する15以上のヌクレオチドを含むプローブ又はプライマーであって、VRL-2活性を有するポリペプチドをコードするポリペプチドについてプローブ又はプライマーとして機能するプローブ又はプライマー。

【請求項8】 請求項3に記載のポリヌクレオチドにおける連続する15以上のヌクレオチドからなるプローブ又はプライマー。

【請求項9】 請求項3に記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクターであって、宿主細胞においてVRL-2活性を有するポリペプチドを発現させるための発現ベクター。

【請求項10】 請求項3乃至請求項5のいずれか1項に記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクターであって、宿主細胞におけるVRL-2活性を有するポリペプチドの発現のための発現ベクター。

【請求項11】 請求項9又は請求項10に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項12】 請求項1又は請求項2に記載のポリペプチドを製造する方法であって、請求項9又は請求項10に記載の発現ベクターを用いることを特徴とする製造方法。

【請求項13】 請求項1又は請求項2に記載のポリペプチドに免疫特異的な抗体。

【請求項14】 請求項3乃至請求項5のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド又は請求項13に記載の抗体を含む、VRL-2タンパク質の生物学的機能に関連する疾病又は前記疾病に対する感受性を診断するための診断キット。

【請求項15】 VRL-2活性を調節する調節物質を同定するためのスクリーニング方法であって、試験化合物又は試料と請求項1又は請求項2に記載のポリペプチドとを接触させるステップ、及び、前記試験化合物又は前記試料が当該ポリペプチドに与える影響を検出するステップとを含むことを特徴とするスクリーニング方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ヒトバニロイド受容体様タンパク質2 (vanilloid receptor-like protein 2; VRL-2) ポリペプチド、前記ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、ポリヌクレオチドプローブ又はプライマー、前記DNA分子を含む発現ベクター及び宿主細胞に関する。更に、本発明は、前記ポリペプチドの製造方法；前記ポリペプチドに免疫特異的な抗体；VRL-2受容体に関連する疾病を診断するための診断キット；前記ポリペプチドを調節する調節物質(modulator)を同定するためのスクリーニング方法；前記スクリーニング方法によって得ることのできる調節物質；前記ポリペ

プチドの生物学的機能に関連する症状の治療用医薬組成物；及びバニロイド受容体様遺伝子に関する非ヒトトランスジェニック動物モデルに関する。

【0002】

【従来の技術】カプサイシン及びカプサイシノイド(capsaicinoid)の鎮痛性作用は、種々の障害、例えば、痛み、慢性の痛み、神経障害性の痛み、術後の痛み、慢性関節リウマチの痛み、神経痛、神経障害、痛覚過敏、神経傷害、虚血、神経変性、発作、失禁、及び炎症性障害の治療における使用において公知である[例えば、Campbellら, "Clinical Applications of Capsaicin and Its Analogues" in Capsaicin in the Study of Pain, Academic Press, 第255-272頁(1993)]。カプサイシン受容体は、イオンチャンネルファミリーに属するポリペプチドであると考えられている。これらの受容体は、カプサイシン(バニロイド化合物)の作用機構に関連するものと考えられている。カプサイシンは、有害な刺激に関する情報を中枢神経系に伝える感覚ニューロンを選択的に活性化することによって、強烈な痛みの感覚を引き出す[例えば、Caterina, M. J. ら, "The Capsaicin Receptor: A Heat Activated Ion Channel In the Pain Pathway", Nature, 389, 816-824 (1997)；及びCaterina, M. J. ら, "A Capsaicin-Receptor Homologue with a High Threshold For Noxious Heat", Nature, 398, 436-441 (1999)]。前記チャンネルは、カチオン透過性であり、二価カチオン(特にカルシウムイオン)に関して顕著な選択性を示す。カルシウムイオン透過性のレベルは、ほとんどの非選択性カチオンチャンネルで観察されるレベルを上回っており、NMDA型グルタミン酸受容体及び α -7ニコチン性アセチルコリン受容体で観察される値と同様である。

【0003】バニロイド受容体又はバニロイド様受容体をコードするいくつかのポリヌクレオチドがクローニングされ、同定されている[Caterina, M. J. ら, Nature, 389, 816-824 (1997)；及びCaterina, M. J. ら, Nature, 398, 436-441 (1999)]。PCT出願国際公開公報WO99/37675号は、バニロイド受容体ポリペプチド及びバニロイド受容体関連ポリペプチド(特にカプサイシン受容体サブタイプVR1及びVR2)並びにコードするポリヌクレオチド配列を開示する。PCT出願国際公開公報WO99/37765号は、VANILREP2ポリペプチド及びポリヌクレオ

チド、組換え体、並びにそれらの製造方法を開示する。

【0004】カプサイシン受容体の他のサブタイプが見出され、同定されたとすれば、例えば、カプサイシン受容体に関する新規リガンドを見出すために前記サブタイプを使用することは有用であろう。

【0005】

【発明が解決しようとする課題及び課題を解決するための手段】本発明は、(a) 配列番号2又は配列番号4で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド又はその変異体；及び(b) 配列番号1又は配列番号3で表されるポリヌクレオチド配列から翻訳される推定アミノ酸配列を有するポリペプチド又はその変異体から選択されるポリペプチドを提供する。前記ポリペプチドは、新規のヒトパニロイド受容体様タンパク質2ポリペプチドとして同定された。本明細書において、新規ヒトパニロイド受容体様タンパク質2を「VRL-2」又は「VRL-2タンパク質」と称する。本明細書において、これらのポリペプチドを「VRL-2ポリペプチド」又は「VRL-2受容体ポリペプチド」と称することができる。

【0006】また、本発明は、

(a) 配列番号2又は配列番号4で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；

(b) 配列番号1で表されるヌクレオチド配列における第85番～第2700番のヌクレオチド配列、若しくは配列番号3で表されるヌクレオチド配列における第43番～第1851番のヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチド、又はその変異体；

(c) 前記ポリヌクレオチド(a)又は(b)と少なくとも70%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド；

(d) 前記ポリヌクレオチド(a)～(c)のいずれか1つのポリヌクレオチドに対する相補体；

(e) 前記ポリヌクレオチド(a)～(d)のいずれか1つのポリヌクレオチドにハイブリダイズ可能なヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド；及び

(f) 前記ポリヌクレオチド(a)～(e)のいずれか1つのポリヌクレオチドのポリヌクレオチド断片から選択される、単離及び／又は精製ポリヌクレオチドを提供する。

【0007】また、本発明は、前記ポリヌクレオチドの少なくとも15個の隣接するヌクレオチドを含む、ポリヌクレオチドプローブ若しくはプライマー、又はその相補体を提供する。また、本発明は、発現ベクターが前記DNA分子を含有する、組換え宿主細胞におけるVRL-2タンパク質の発現のための発現ベクター、そして、宿主細胞が前記発現ベクターを含有する、組換えVRL-2タンパク質を発現する宿主細胞を提供する。また、本発明は、前記宿主細胞を、前記VRL-2受容体ポリペプチドの製造に十分な条件下で培養すること、及びその培養培地から前記ポリペプチドを回収することを含

む、前記ポリペプチドの製造方法を提供する。

【0008】VRL-2受容体ポリペプチド、前記VRL-2受容体をコードするDNA、前記発現ベクター、及び組換えVRL-2を発現する組換え宿主細胞は、VRL-2受容体の機能を調節する調節物質の同定に有用である。従って、本発明は、更に、試験化合物又は試料とVRL-2受容体ポリペプチドとを接触させること、及び前記VRL-2受容体ポリペプチドの機能を調節する前記化合物又は試料の活性を検出することを含む、前記VRL-2受容体ポリペプチドを調節(例えば、結合)する調節物質を同定するためのスクリーニング方法を提供する。

【0009】また、本発明は、前記スクリーニング方法により得ることのできるVRL-2受容体調節物質(例えば、アゴニスト及びアンタゴニスト)を提供する。これらのVRL-2受容体調節物質は、不適当なVRL-2受容体活性、又はVRL-2受容体の機能に関連する疾病又は症状の治療に有用である。前記疾病には、痛み、侵害受容の痛み、慢性の痛み、神経障害性の痛み、術後の痛み、癌の痛み、慢性関節リウマチの痛み、骨関節症、糖尿病性神経障害、神経痛、神経障害、痛覚過敏、神経傷害、筋肉-骨格の痛み、腰痛、神経変性、発作、炎症性障害、喘息、アレルギー、尿生殖器障害、失禁、高血圧症、低血圧症、及び血管周囲の疾病(perivascular disease)などが含まれる。

【0010】従って、VRL-2受容体調節物質は、前記疾病の治療に有用である。加えて、VRL-2受容体ポリペプチド及びVRL-2受容体をコードするポリヌクレオチドは、VRL-2受容体-関連疾病を検出するための診断アッセイに有用である。また、本発明は、前記ポリヌクレオチド又はVRL-2受容体ポリペプチドに対する抗体を含む、ヒトパニロイド受容体様タンパク質の生物学的機能に関連する疾病又は前記疾病に対する感受性を診断するための診断キットを提供する。加えて、本発明は、VRL-2受容体ポリペプチドに免疫特異的な抗体、そして、同種の正常な動物に対して、VRL-2受容体機能に関して変化を有する、VRL-2受容体遺伝子機能に関する非ヒトトランスジェニック動物モデルを提供する。

【0011】

【発明の実施の形態】本明細書において、用語「ヌクレオチド配列」とは、オリゴヌクレオチド配列又はポリヌクレオチド配列、並びに変異体、相同体、断片、及びそれらの誘導体(例えば、それらの部分)を意味する。前記ヌクレオチド配列は、ゲノム又は合成又は組換え起源のDNA又はRNAであることができ、更に、二重鎖、あるいは、センス鎖又はアンチセンス鎖のいずれかに相当する一重鎖であることができる。好ましくは、前記用語「ヌクレオチド配列」はDNAを意味する。更に好ま

しくは、前記用語「ヌクレオチド配列」は、組換えDNA技術の使用により調製したDNA（すなわち、組換えDNA）を意味する。

【0012】本明細書において、「アミノ酸配列」とは、ペプチド若しくはタンパク質配列又はその部分を意味する。本明細書において、用語「単離された(isolated)」及び「精製された(purified)」とは、天然環境から移され、天然で関連する少なくとも1つの他の成分から単離又は分離された分子（核酸又はアミノ酸配列のいずれか）を意味する。

【0013】本発明の好適ポリペプチドにおけるアミノ酸配列に関する用語「変異体(variant)」には、前記配列における、アミノ酸1又はそれ以上の任意の置換(substitution)、変異(variation)、改変(modification)、置換(replacement)、欠失(deletion)、又は付加(addition)が含まれる（但し、得られたポリペプチドがVRL-2活性を有する）。

【0014】本発明の好適ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列に関する用語「変異体(variant)」又は「断片」には、前記配列における、核酸1又はそれ以上の任意の置換(substitution)、変異(variation)、改変(modification)、置換(replacement)、欠失(deletion)、又は付加(addition)が含まれる（但し、得られたヌクレオチド配列が、VRL-2活性を有するポリペプチドをコードするか、あるいは、コードすることができる）。相対的配列相同性(relative sequence homology) [すなわち、配列同一性(sequence identity)] は、2又はそれ以上の配列間の「%相同性」を計算することのできる市販のコンピュータープログラムによって決定することができる。前記コンピュータープログラムの代表的な例は、「CLUSTAL」である。用語「変異体」には、ストリンジェント(stringent)な条件下 [例えば、65℃及び0.1×SSC (1×SSC=0.15M-NaCl, 0.015Mクエン酸Na₃, pH7.0)] で、本明細書に記載のヌクレオチド配列とハイブリダイズ可能な配列に相補的な配列が含まれる。

【0015】用語「発現ベクター」とは、インピボ又はインピトロ発現が可能な構築物を意味する。本明細書において、用語「抗体」には、ポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体、キメラ抗体、単鎖抗体、並びにヒト化抗体が含まれる。用語「免疫特異的」とは、抗体が、他の関連ポリペプチドに対するアフィニティーと比較して、発明のポリペプチドに対して、実質的に強いアフィニティーを有することを意味する。

【0016】以下、本発明を更に説明する。本発明は、

新規のヒトパニロイド受容体様タンパク質2 (VRL-2)ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を同定したことに基づく。前記ポリヌクレオチドを単離及び精製し、そのヌクレオチド配列を決定した。

【0017】《VRL-2受容体ポリペプチド》第1の観点によれば、本発明は、(a)配列番号2又は配列番号4で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチド又はその変異体；及び(b)配列番号1又は配列番号3で表されるポリヌクレオチド配列から翻訳される推定アミノ酸配列を有するポリペプチド又はその変異体から選択されるポリペプチドを提供する。

【0018】本発明のVRL-2受容体ポリペプチドは、イオンチャンネルファミリーのポリペプチドに属するものと考えられる。前記チャンネルは、カチオン透過性であり、二価カチオン（特にカルシウムイオン）に関して顕著な選択性を示す。VRL-2受容体のカチオン透過性及びシグナル伝達活性は、VRL-2受容体ポリペプチドの機能を調節（例えば、結合、阻害、及び活性化）するリガンドによって影響される。以下、これらの性質を「VRL-2受容体活性」と称する。

【0019】好ましくは、前記ポリペプチド又は変異体は、配列番号2又は配列番号4で表されるアミノ酸配列と少なくとも75% (より好ましくは少なくとも85%、更に好ましくは少なくとも95%)の同一性(identity)を有するアミノ酸配列を含む。前記変異体は、好ましくは、前記VRL-2活性の少なくとも1つを示す。より具体的には、前記ポリペプチドは、或る残基を、VRL-2活性を有する別の酸基に置換する保存性アミノ酸置換によって、これまで述べたものから変化することができる。前記置換は、アラニン、バリン、ロイシン、及びイソロイシンの間で；セリン及びトレオニンの間で；酸性残基であるアスパラギン酸及びグルタミン酸の間で；アスパラギン及びグルタミンの間で；塩基性残基であるリシン及びアルギニンの間で；あるいは、芳香族残基であるフェニルアラニン及びチロシンの間で；実施することができる。従って、本発明は、配列番号2又は配列番号4で表されるアミノ酸配列において、アミノ酸1~10、好ましくは1~5、より好ましくは1~3、更に好ましくは1~2、特に好ましくは1が、置換、欠失、又は付加（任意の組み合わせで）されたポリペプチドの変異体を含む。

【0020】本発明のポリペプチドは、「成熟(mature)」タンパク質の形であることもできるし、あるいは、より大きなタンパク質（例えば、前駆体又は融合タンパク質）の一部であることもできる。付加的なアミノ酸配列、例えば、分泌若しくはリーダー配列、プロ配列、精製に役立つ配列（例えば、多重ヒスチジン残基）、又は組換え製造中の安定性のための付加的配列を含むことが、多くの場合、有利である。

【0021】本発明のポリペプチドは、任意の適当な方

法により調製することができる。前記ポリペプチドには、単離された天然ポリペプチド、組換えにより製造されたポリペプチド、合成により製造されたポリペプチド、あるいは、これらの方法の組み合わせにより製造されたポリペプチドが含まれる。前記ポリペプチドの調製方法は、当業者には周知である。本発明のVRL-2受容体ポリペプチドは、前記ポリペプチドのアミノ酸配列をコードするDNA分子を用いて調製することができる。

【0022】《ポリヌクレオチド/DNA分子》別の観点によれば、本発明は、

(a) 配列番号2又は配列番号4で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；

(b) 配列番号1で表されるヌクレオチド配列における第85番～第2700番のヌクレオチド配列、若しくは配列番号3で表されるヌクレオチド配列における第43番～第1851番のヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチド、又はその変異体；

(c) 前記ポリヌクレオチド(a)又は(b)と少なくとも70%の同一性を有するヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド；

(d) 前記ポリヌクレオチド(a)～(c)のいずれか1つのポリヌクレオチドに対する相補体；

(e) 前記ポリヌクレオチド(a)～(d)のいずれか1つのポリヌクレオチドにハイブリダイズ可能なヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド；及び

(f) 前記ポリヌクレオチド(a)～(e)のいずれか1つのポリヌクレオチドのポリヌクレオチド断片

から選択される、単離及び/又は精製ポリヌクレオチドに関する。好ましくは、前記ポリヌクレオチドは、前記ポリヌクレオチド(b)のヌクレオチド配列と少なくとも75% (より好ましくは少なくとも85%、更に好ましくは少なくとも95%)の同一性を有するヌクレオチド配列を含む。

【0023】配列番号1及び配列番号3で表されるヌクレオチド配列は、ラットパニロイド受容体1(VR1)(M. J. Caterinaら, Nature, 389, 816-824, 1997)、ラット/ヒトパニロイド受容体様タンパク質1(VRL-1)(M. J. Caterinaら, Nature, 398, 436-441, 1999)、ラットストレッチ-活性化(stretch-activated)チャンネル(SIC)(J. Biol. Chem., 274, 6330-6335, 1999)、及びマウス増殖因子調節(growth-factor-regulated)チャンネル(GRC)(Nature Cell Biol., 1, 165-170)と相同性(homology)を示す。配列番号1及び配列番号3で表されるヌクレオチド配列は、それぞれ、VRL-2a及びVRL-2bポリペプチドをコードする全長cDNAであることを見出

した。アミノ酸配列に関して、ヒトVRL-2aの、ラットVR1、ラットVRL-1、ヒトVRL-1、ラットSIC、及びマウスGRCに対する類似性(similarity)は、それぞれ、51%、46%、47%、59%、及び47%であった。アミノ酸配列に関して、ヒトVRL-2bの、ラットVR1、ラットVRL-1、ヒトVRL-1、ラットSIC、及びマウスGRCに対する類似性は、それぞれ、50%、45%、46%、59%、及び45%であった。VR1は、熱、プロトン、及びカプサイシン活性化カチオンチャンネルである。ラットVRL-1は、熱活性化カチオンチャンネルである。ラットSICは、機械受容カチオンチャンネルである。マウスGRCは、IGF-1調節(IGF-1-regulated)カチオンチャンネルである。従って、ヒトVRL-2a及びVRL-2bの両者は、刺激(例えば、熱、プロトン、化学物質、膜の機械刺激、増殖因子)により活性化されるカチオンチャンネルであると予想される。

【0024】本発明のポリヌクレオチド(DNA分子)は、標準的なクローニング及びスクリーニング技術を使用して、ヒト胎盤、脳、心臓、メラノサイト、肝臓、脾臓、包皮、肺、上皮小体、扁桃、胚全体、ジャーキット(Jurkat)T細胞、B細胞、及び精巣の細胞中のmRNAに由来するcDNAライブラリーから取得することができる[例えば、Sambrookら, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989)]。また、本発明のDNA分子は、天然源(例えば、ゲノムDNAライブラリー)から取得することもできるし、あるいは、周知及び市販の技術を用いて合成することもできる。

【0025】また、他の細胞及びセルラインも、VRL-2cDNAを単離するための使用に適していることができる。適当な細胞の選択は、細胞表面上のVRL-2のスクリーニングにより行なうことができる。VRL-2活性の検出方法は、当業者に周知であり、放射性同位元素で標識された受容体特異的リガンドの結合を測定する。このアッセイにおけるVRL-2活性を有する細胞は、VRL-2cDNAの単離に適していることができる。

【0026】VRL-2cDNAをクローニングするのに、任意の種々の手法を用いることができる。これらの方法には、特に限定されるものではないが、適当な発現ベクター系におけるVRL-2含有cDNAライブラリー構築後のVRL-2cDNAの直接的機能発現が含まれる。別の方法は、VRL-2タンパク質のアミノ酸配列から設計した標識オリゴヌクレオチドプローブを用いる、バクテリオファージ又はプラスミドシャトルベクタ

ーにおいて構築したVRL-2含有cDNAライブラリーのスクリーニングである。好適な方法には、VRL-2タンパク質をコードする部分cDNAを用いる、バクテリオファージ又はプラスミドシャトルベクターにおいて構築したVRL-2含有cDNAライブラリーのスクリーニングが含まれる。この部分cDNAは、他のカプサイシン受容体において公知のアミノ酸配列由来の縮重オリゴヌクレオチドプライマーの設計を通して、VRL-2 DNA断片の特異的PCR増幅により得られる。

【0027】その他のタイプのライブラリー及び他の細胞又はセルラインから構築したライブラリーが、VRL-2をコードするDNAを単離するのに有用であることができることは、当業者にとって容易に明らかである。他のタイプのライブラリーには、特に限定されるものではないが、ゲノムDNAライブラリー、及びヒト赤白血病細胞(erythroleukemia cell)以外の他の細胞又はセルライン由来のcDNAライブラリーが含まれる。

【0028】VRL-2活性を有する細胞又はセルラインから、適当なcDNAライブラリーを調製することができることは、当業者にとって容易に明らかである。VRL-2を単離するためのcDNAライブラリー調製に使用するための細胞又はセルラインの選択は、先に引用し、本明細書において使用する公知の標識リガンド結合アッセイを用いて、細胞関連VRL-2活性の最初の測定によって行なうことができる。

【0029】cDNAライブラリーの調製は、当業者に周知の標準的技術によって行なうことができる。周知のcDNAライブラリー構築技術は、例えば、Maniatis, T., Fritsch, E. F., Sambrook, J., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N. Y., 1982)に見出すことができる。

【0030】また、VRL-2をコードするDNAが、適当なゲノムDNAライブラリーからも単離することができることは、当業者にとって容易に明らかである。ゲノムDNAライブラリーの構築は、当業者に周知の標準的技術により行なうことができる。周知のゲノムDNAライブラリー構築技術は、Maniatis, T., Fritsch, E. F., Sambrook, J., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N. Y., 1982)に見出すことができる。

【0031】好適方法の1つによりVRL-2遺伝子をクローニングするために、VRL-2又は相同タンパク質のアミノ酸配列又はDNA配列が必要である。これを

達成するために、VRL-2タンパク質又は相同タンパク質を精製し、自動シーケンサーにより部分アミノ酸配列を決定することができる。完全なアミノ酸配列を決定することは必要でないが、部分VRL-2 DNA断片のPCR増幅のために、アミノ酸6~8個の領域2つの一次配列を決定することができる。

【0032】一度適当なアミノ酸配列が同定されると、それらをコードすることのできるDNA配列を合成する。遺伝暗号は縮重であるので、特定アミノ酸をコードするのに1を越えるコドンを用いることができ、従って、任意の同様のDNAオリゴヌクレオチドセットによりアミノ酸配列をコードすることができる。前記セットの1つだけがVRL-2配列と同一であろうが、前記セットのその他も、ミスマッチを有するDNAオリゴヌクレオチドの存在にもかかわらず、VRL-2 DNAとハイブリダイズ可能であろう。前記ミスマッチDNAオリゴヌクレオチドは、まだ充分に、VRL-2 DNAとハイブリダイズすることができ、VRL-2をコードするDNAの同定及び単離を可能にする。

【0033】好適方法の1つを用いて、VRL-2ポリペプチドをコードするcDNAクローンを、2段階アプローチ[ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)に基づく技術とcDNAライブラリースクリーニングとを使用する]により単離する。第1段階では、精製したVRL-2又は相同タンパク質由来のNH₂末端及び内部アミノ酸配列を、VRL-2-特定DNA断片の増幅用縮重オリゴヌクレオチドプライマーを設計するのに用いる。第2段階では、これらの断片をクローニングし、ヒト赤白血病細胞由来のcDNAライブラリーから全長cDNAを単離するためのプローブとして使用する。

【0034】本発明のポリヌクレオチドは、本発明のポリペプチドをコードする全長cDNA及びゲノムクローンを単離するために、そして、配列番号1又は配列番号3と高い配列類似性を有する他の遺伝子[ヒト材料(source)由来のパラログ(paralog)並びにヒト以外の種由来のオーソログ(ortholog)及びパラログをコードする遺伝子を含む]のcDNA及びゲノムクローンを単離するために、cDNA及びゲノムDNA用のハイブリダイゼーションプローブとして、あるいは、核酸増幅(PCR)反应用プライマーとして、用いることができる。

【0035】本発明のプローブ又はプライマーは、少なくとも15ヌクレオチド(好ましくは少なくとも30ヌクレオチド)を一般的に含み、少なくとも50ヌクレオチドを含むことができる。特に好適なプローブは、30~50ヌクレオチドを有するであろう。特に好適なプライマーは、20~25ヌクレオチドを有するであろう。

【0036】本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド(ヒト以外の種由来の相同体を含む)は、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、配

列番号1又は配列番号3で表される配列を有する標識プローブ又はその断片を用いて、適当なライブラリーをスクリーニングする工程と、前記ポリヌクレオチド配列を含有する全長cDNA及びゲノムクローンを単離する工程とを含む方法により、取得することができる。前記ハイブリダイゼーション技術は、当業者に周知である。好ましいストリンジェントなハイブリダイゼーション条件には、溶液[50%ホルムアミド、5×SSC(150mM-NaCl, 15mMクエン酸三ナトリウム)、50mMリン酸ナトリウム(pH7.6)、5×Denhardt's溶液、10%硫酸デキストラン、及び20μg/mL変性及び剪断サケ精子DNAを含む]中の42°Cで一晩のインキュベーションの後、約65°Cの0.1×SSC中でのフィルターの洗浄が含まれる。従って、本発明には、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、配列番号1又は配列番号3で表される配列を有する標識プローブ又はその断片を用いて、適当なライブラリーをスクリーニングすることによって得ることのできるポリヌクレオチドも含まれる。

【0037】多くの場合、単離されたcDNA配列が不完全であり、前記cDNAの5'端においてポリペプチドをコードする領域が短いことを、当業者は認めるであろう。これは、第1鎖cDNA合成の際に、逆転写酵素がmRNA鋳型のDNAコピーを完全に行なうことができなかつたことの結果である。なお、逆転写酵素は、本来、「processivity」(重合反応の際に、酵素が鋳型に結合し続ける能力の程度)が低い酵素である。

【0038】全長cDNAを取得、あるいは、短いcDNAを伸張させるために、当業者が利用可能で、且つ周知ないくつかの方法、例えば、RACE(Rapid Amplification of cDNA ends)法に基づく方法が存在する(例えば、Frohmanら、PNAS USA, 85, 8998-9002, 1988参照)。前記方法の最近の改法[例えば、Marathon™ technology(Clontech Laboratories Inc.)により例示される]は、より長いcDNAに関する研究を十分に簡易化した。

【0039】《発現ベクター》本発明の組換えVRL-2ポリペプチドは、当業者に周知の方法により、発現ベクターを含む遺伝子工学的に作製した宿主細胞から調製することができる。従って、本発明は、組換え宿主細胞(発現ベクターが前記DNA分子を含有する)におけるヒトバニロイド受容体様タンパク質発現用の発現ベクターに関する。

【0040】先述した方法により得られたクローン化VRL-2cDNAは、適当なプロモーター及び他の適当な転写調節要素を含有する発現ベクターに分子クローニ

ングし、原核又は真核宿主細胞中に転移させて組換えVRL-2ポリペプチドを製造することにより、組換え的に発現させることができる。前記操作に関する技術は、先述のManiatis, T,らの文献に見出すことができ、当業者に周知である。

【0041】本明細書において、発現ベクターは、適当な宿主におけるクローン化DNAの転写及びそのmRNAの翻訳に必要とされるDNA配列として規定される。前記ベクターは、種々の宿主、例えば、細菌、藍藻、植物細胞、昆虫細胞、及び動物細胞における真核性DNAの発現に用いることができる。

【0042】特別に設計されたベクターは、宿主間、例えば、細菌-酵母間又は細菌-動物細胞間の往復を可能にする。適当に構築された発現ベクターは、宿主細胞における自立複製用の複製起点、選択マーカー、限定数の有用な制限酵素部位、高いコピー数の潜在性、及び活性プロモーターを含有すべきである。プロモーターは、RNAポリメラーゼをDNAに結合させ、RNA合成を開始させるDNA配列として規定される。強力なプロモーターは、高頻度でmRNAを始動させるプロモーターである。発現ベクターには、特に限定されるものではないが、クローニングベクター、改変クローニングベクター、特別に設計されたプラスミド又はウイルスが含まれる。

【0043】種々の哺乳動物発現ベクターを、哺乳動物細胞における組換えVRL-2の発現に用いることができる。組換えVRL-2発現に適することができる市販の哺乳動物発現ベクターには、特に限定されるものではないが、pMC1neo(Stratagene)、pXT1(Stratagene)、pSG5(Stratagene)、pcDNA1、pcDNA3.1(Invitrogen)、EBO-pSV2-neo(ATCC 37593)、pBPV-1(8-2)(ATCC 37110)、pdBPV-MMTneo(342-12)(ATCC 37224)、pRSVgpt(ATCC 37199)、pRSVneo(ATCC 37198)、pSV2-dhfr(ATCC 37146)、pUCTag(ATCC 37460)、及びIZD35(ATCC 37565)が含まれる。

【0044】《発現ベクターを含有する宿主細胞》また、VRL-2ポリペプチドをコードするDNAは、宿主細胞における発現用の発現ベクターにクローニングすることができる。宿主細胞は、原核細胞又は真核細胞であることができ、特に限定されるものではないが、細菌、真菌、昆虫、動物(哺乳動物を含む)、及び植物細胞が含まれる。適当な細菌細胞には、連鎖球菌(Streptococci)、ブドウ球菌(Staphylococci)、大腸菌(E. coli)、放線菌(Streptomyces)、及び枯草菌(Bacillus subtilis)細胞が含まれる。適当な真菌細胞には、酵母(yeast)細胞及びコウジカビ(As

10

20

30

40

50

pergillus) 細胞が含まれる。動物細胞には、ヒト、ウシ、ブタ、サル、及び齧歯動物起源のセルラインが含まれる。適当な昆虫細胞には、ショウジョウバエ (*Drosophila*) S2及びスピドプテラ (*Spodoptera*) Sf9細胞が含まれる。適当な動物細胞には、CHO、COS、HeLa、C127、3T3、BHK、HEK293、及びボーズメラノーマ (*Bowes melanoma*) 細胞が含まれる。適していることができ、且つ市販されている哺乳動物種由来のセルラインには、CV-1 (ATCC CCL 70)、COS-1 (ATCC CRL 1650)、COS-7 (ATCC CRL 1651)、CHO-K1 (ATCC CCL 61)、3T3 (ATCC CCL 92)、NIH/3T3 (ATCC CRL 1658)、HeLa (ATCC CCL 2)、C1271 (ATCC CRL 1616)、BS-C-1 (ATCC CCL 26)、及びMRC-5 (ATCC CCL 171) が含まれる。

【0045】発現ベクターは、いくつかの技術（特に限定されるものではないが、トランスフォーメーション、トランスフェクション、プロトプラスト融合、及びエレクトロポレーションが含まれる）のいずれか1つにより、宿主細胞に導入することができる。発現ベクターを含有する細胞は、個別に分析して、VRL-2タンパク質を製造するかどうかを決定する。VRL-2発現細胞の同定は、いくつかの方法（特に限定されるものではないが、抗VRL-2抗体による免疫学的反応性、及び宿主細胞関連VRL-2活性の存在が含まれる）により行なうことができる。

【0046】また、VRL-2 DNAの発現は、インビトロで製造した合成mRNAを用いて行なうことができる。合成mRNAは、種々のセルフリー (*cell-free*) 系（特に限定されるものではないが、コムギ胚芽抽出物及び網状赤血球抽出物が含まれる）において効率的に翻訳することができ、また、細胞に基づく系（特に限定されるものではないが、カエル卵母細胞へのマイクロインジェクションが含まれる）において効率的に翻訳することができる。カエル卵母細胞へのマイクロインジェクションによることが好ましい。

【0047】至適レベルの受容体活性及び/又はVRL-2を得るVRL-2 cDNA配列を決定するために、VRL-2 cDNA分子（特に限定されるものではないが、以下が含まれる）を構築することができる：VRL-2 cDNAの全長オープンリーディングフレーム、及び受容体タンパク質の特定ドメインのみ又は前記タンパク質の再配置したドメインをコードするcDNAの一部を含有する種々の構築物。全ての構築物は、VRL-2 cDNAの5'及び/又は3'非翻訳領域の全部又は一部を含有するように、あるいは、全く含有しないように、設計することができる。VRL-2活性及びタンバ

ク質の発現レベルは、適当な宿主細胞へのこれらの構築物の導入（単独及び組み合わせの両方）の後に、決定することができる。一過性 (*transient*) アッセイにおいて最適発現をもたらすVRL-2 cDNAカセットの決定に続いて、このVRL-2 cDNA構築物を、種々の発現ベクター（組換えウイルスを含む）（特に限定されるものではないが、哺乳動物細胞、植物細胞、昆虫細胞、卵母細胞、大腸菌、及び酵母細胞用のベクターを含む）に転移させる。

10 【0048】VRL-2受容体活性のレベル及びVRL-2タンパク質のレベルの両方について、哺乳動物細胞トランスフェクタント (*transfectant*) を以下の方法によりアッセイする。VRL-2受容体活性の評価は、細胞に対する標識リガンドの直接導入と、VRL-2発現細胞への前記リガンドの特異的結合量の決定とを含む。受容体活性に関する結合アッセイは、当業者に公知である (Freyら, 1993, *Eur. J. Pharmacol.*, 244, pp239-250)。

20 【0049】宿主細胞中のVRL-2タンパク質レベルは、種々の技術（特に限定されるものではないが、イムノアフィニティー及び/又はリガンドアフィニティー技術を含む）により定量される。VRL-2特異的アフィニティービーズ又はVRL-2特異的抗体は、³⁵S-メチオニン標識又は非標識VRL-2タンパク質を単離するのに使用される。標識VRL-2タンパク質は、SDS-PAGEにより分析される。非標識VRL-2タンパク質は、VRL-2特異的抗体を用いるウエスタンブロットティング、ELISA、又はRIAアッセイにより検出される。

30 【0050】宿主細胞におけるVRL-2の発現の後に、VRL-2タンパク質を回収することにより、VRL-2特異的リガンドを結合可能な活性型の形で、VRL-2を得ることができる。いくつかのVRL-2精製方法が可能であり、使用に適している。

40 【0051】組換えVRL-2は、細胞溶解物及び抽出物から、あるいは、馴化 (*conditioned*) 培養培地から、塩分別 (*salt fractionation*)、イオン交換クロマトグラフィー、サイズ排除 (*size exclusion*) クロマトグラフィー、ヒドロキシアパタイト吸着クロマトグラフィー、及び疎水性相互作用 (*hydrophobic interaction*) クロマトグラフィーの単独の適用又は種々の組み合わせにより、精製することができる。

50 【0052】従って、本発明は、前記DNA分子を含有する発現ベクターを含む宿主細胞を、VRL-2受容体ポリペプチドの製造に十分な条件下で培養すること、そして、前記培養培地から前記ポリペプチドを回収することを含む、前記ポリペプチドの製造方法も提供する。ポリペプチド製造の条件は、当業者により、容易に設計す

ることができる。ポリペプチドが細胞内合成、単離、及び/又は精製の際に変性した場合には、活性コンフォメーションを再生するために、タンパク質のリフォールディングに関する周知技術を使用することができる。

【0053】《抗体》また、本発明は、VRL-2受容体ポリペプチドに免疫特異的な抗体を提供する。前記抗体は、公知技術に従って、ポリペプチド又はエピトープ担持断片、類似体、又は細胞を動物（好ましくは非ヒト動物）に投与することによって得ることができる。モノクローナル抗体の調製のために、継代セルライン培養により製造される抗体を提供する任意の技術を用いることができる。例示には、ハイブリドーマ技術 [Kohler, G. 及びMilstein, C., Nature (1975) 256: 495-497]、トリオーマ (trioma) 技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術 [Kozborら, Immunology Today (1983) 4: 72]、及びEBV-ハイブリドーマ技術 (Coleら, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, 77-96, Alan R. Liss, Inc., 1985) が含まれる。また、単鎖抗体の製造技術（例えば、米国特許4,946,778号明細書に記載の技術）を、本発明のポリペプチドに対する単鎖抗体を製造するのに適合させることができる。また、トランスジェニックマウス又は他の生物（他の哺乳動物を含む）を、ヒト化抗体を発現させるのに使用することができる。これまで述べた抗体は、ポリペプチドを発現するクローンの単離又は同定するのに、あるいは、アフィニティークロマトグラフィーによりポリペプチドを精製するのに使用することができる。また、本発明のポリペプチドに対する抗体は、特に、疾病の治療に用いることができる。

【0054】《診断ツール》本発明のDNA分子は、診断試薬として用いることができる。本発明のポリヌクレオチドにより特徴づけられる遺伝子の変異型（機能不全に関連する）の検出は、疾病（遺伝子の発現不足、過剰発現、あるいは、空間的又は時間的に変化した発現に起因する）、又は疾病に対する感受性の診断の一助に、あるいは、明らかにすることができる診断ツールを提供する。遺伝子変異を担持する個体は、種々の技術によって、DNAレベルで検出することができる。

【0055】診断用核酸は、対象の細胞（例えば、血液、尿、唾液、組織生検、又は解剖材料に由来）から得ることができる。ゲノムDNAを、検出に直接用いることができるし、あるいは、分析前にPCR又は他の増幅技術により酵素的に増幅させることもできる。また、RNA又はcDNAを同様にして用いることができる。正常の遺伝子型と比較して、増幅産物の大きさの変化によって、欠失及び挿入を検出することができる。増幅DNAを標識VRL-2ヌクレオチド配列とハイブリダイズさせることによって、点変異を同定することができる。

RNアーゼ消化により、あるいは、融点の違いにより、完全にマッチする配列と、ミスマッチの二重鎖とを区別することができる。また、ゲル中のDNA断片の電気泳動移動度における変化（変性剤の存在下又は不在下）により、あるいは、直接的なDNA配列決定により、DNA配列の違いを検出することができる [例えば、Myersら, Science (1985) 230: 1242 参照]。

【0056】また、特定位置での配列変化を、ヌクレアーゼプロテクションアッセイ（例えば、RNアーゼ及びS1プロテクション）又は化学的切断法 [Cottonら, Proc Natl Acad Sci USA (1985) 85: 4397-4401] によって、明らかにすることができる。別の実施態様では、例えば、遺伝子変異を効率的にスクリーニングするために、VRL-2ヌクレオチド配列又はその断片を含むオリゴヌクレオチドプローブのアレイ (array) を構築することができる。アレイ技術方法は、周知であり、広く一般に適用可能である。また、アレイ技術方法は、分子遺伝学における種々の問題（遺伝子発現、遺伝的連鎖、及び遺伝的多様性を含む）に取り組むのに用いることができる [例えば、M. Cheeら, Science, Vol. 274, pp. 610-613 (1996) 参照]。

【0057】診断アッセイは、先述の方法によりVRL-2遺伝子中の変異を検出することによって、VRL-2関連疾病に対する感受性を診断又は決定する方法を提供する。加えて、前記疾病は、ポリペプチド又はmRNAレベルの異常な減少又は増加を、対象由来の試料から決定することを含む方法により診断することができる。発現の減少又は増加は、ポリヌクレオチドの定量に関する当業者に周知の任意の方法 [例えば、核酸増幅（例えば、PCR、RT-PCR）、RNアーゼプロテクション、ノーザンブロッティング、及び他のハイブリダイゼーション法] を用いて、RNAレベルで測定することができる。ホスト (host) 由来の試料中のタンパク質（例えば、本発明のポリペプチド）のレベルを決定するのに用いることのできるアッセイ技術は、当業者に周知である。前記アッセイ方法には、ラジオイムノアッセイ、競合的結合アッセイ、ウェスタンブロット分析、及びELISAアッセイが含まれる。

【0058】別の観点によれば、本発明は、本発明のDNA分子又は本発明のポリペプチドに対する抗体を含む診断キットに関する。所望により、前記診断キットは、公知の診断キットで用いることのできる他の材料を含むことができる。前記キットは、特に、疾病又は疾病に対する感受性（好ましくは、痛み、慢性の痛み、神経障害性の痛み、術後の痛み、慢性関節リウマチの痛み、神経痛、神経障害、痛覚過敏、神経傷害、虚血、神経変性、発作、失禁、及び炎症性障害）を診断するのに用い

10

20

30

40

50

ることができる。

【0059】《スクリーニング方法》本発明による新規のVRL-2受容体は、VRL-2受容体活性の機能を調節する(modulate)調節物質を同定するためのアッセイ方法における使用に適している。従って、また、本発明は、VRL-2ポリペプチドの機能を調節する調節物質のスクリーニング方法を提供する。本明細書において、「受容体の機能の調節」又は「受容体活性の調節」には、受容体の阻害又は活性化が含まれ、更に、受容体活性の正常な調整(regulation)に直接的又は間接的に影響を与えることが含まれる。本明細書において、用語「調節物質」は、受容体活性の調整に直接的又は間接的に影響を与える化合物、アゴニスト、アンタゴニスト、リガンド、基質、及び酵素を意味する。

【0060】本発明のVRL-2受容体は、受容体調節物質を同定するためのアッセイ方法で使用するための天然及び組換え材料(source)の両方から得ることができる。一般に、VRL-2受容体調節物質を同定するためのアッセイ方法は、本発明のVRL-2ポリペプチド(あるいは、前記ポリペプチドを担持する細胞又は膜)と、VRL-2受容体調節物質を含有することが予想される試験化合物又は試料とを接触させること、そして、VRL-2受容体の機能(例えば、結合活性)を調節する活性を検出することを含むことができる。試験化合物又は試料を、例えば、精製受容体、受容体製造細胞の細胞画分(subcellular fraction)、及び/又は受容体発現細胞の全体について、直接、試験することができる。試験化合物又は試料を、公知の標識又は非標識受容体リガンドの存在又は不在で、受容体に添加することができる。更に、これらのスクリーニング方法は、ポリペプチドを担持する細胞に適した検出系を用いることによって、ポリペプチドの活性化又は阻害により生じるシグナルを候補化合物が引き起こすか否かを試験することができる。試験化合物又は試料の調節活性は、例えば、受容体への結合、受容体の活性化、受容体活性の阻害、受容体への他の化合物の結合の阻害又は増強、受容体調整の調節、又は細胞内活性の調節に関する試験化合物又は試料の各能力を分析することによって決定することができる。

【0061】本発明においては、他の公知のスクリーニング方法を使用することができる。前記公知方法は、PCT国際公開公報WO99/37765号第13頁第5行〜第14頁第31行に見出すことができる。加えて、本発明のスクリーニング方法は、VRL-2調節活性を有しない或る化合物を同定するカウンターアッセイをその範囲に含む。前記スクリーニング方法は、本発明のポリペプチドに関する調節物質を同定するためのスクリーニングキットの使用により、実施することができる。前記キットは、(a)本発明のポリペプチド；(b)本発

明のポリペプチドを発現する組換え細胞；又は(c)本発明のポリペプチドを発現する細胞膜を含む。スクリーニングキットに用いることのできる任意の公知の材料又は成分を、本発明のスクリーニングキットに加えることができる。VRL-2受容体活性の調節物質は、これまで述べたように、VRL-2受容体活性に関連する疾病状態を治療するのに有用である。

【0062】《医薬組成物》更に、本発明は、治療に有効な量の前記スクリーニング方法で得られた調節物質(例えば、アゴニスト又はアンタゴニスト)と薬剤学的に許容することのできる担体とを含む、ヒトバニロイド受容体様タンパク質の生物学的機能に関連する症状の治療用医薬組成物を提供する。VRL-2受容体の生物学的機能に関連する症状には、痛み、侵害受容の痛み、慢性の痛み、神経障害性の痛み、術後の痛み、癌の痛み、慢性関節リウマチの痛み、骨関節症、糖尿病性神経障害、神経痛、神経障害、痛覚過敏、神経傷害、筋肉-骨格の痛み、腰痛、神経変性、発作、炎症性障害、喘息、アレルギー、尿生殖器障害、失禁、高血圧症、低血圧症、及び血管周囲の疾病などが含まれる。従って、本発明の医薬組成物は、前記疾病の治療用医薬として有用である。

【0063】本発明の医薬組成物は、経口、非経口、又は局所のいずれかの経路で哺乳動物に投与することができる。通常、これらの化合物は、最も望ましくは、1日当たり0.1mg〜750mg(好ましくは1日当たり10mg〜500mg)の投与範囲でヒトに投与するが、治療対象の体重及び状態、治療される疾病の状態、及び選択される特定の投与経路に応じて、必要な変更が行なわれるであろう。

【0064】本発明の化合物は、先述の前記経路のいずれかにより、単独で、あるいは、薬剤学的に許容することのできる担体又は希釈剤との組み合わせで、投与することができる。前記投与は、単回又は複数回投与で実施することができる。より具体的には、本発明の新規治療剤は、幅広い種々の剤形で投与することができる。すなわち、錠剤、カプセル剤、ロゼンジ剤、トローチ剤、ハードキャンディー剤、散剤、スプレー剤、クリーム剤、塗剤、坐剤、ゼリー剤、ゲル剤、ペースト剤、ローション剤、軟膏剤、水性懸濁液、注射溶液、エリキシル剤、及びシロップ剤などの形で、種々の薬剤学的に許容されることのできる不活性担体と組み合わせることができる。前記担体には、固体希釈剤若しくは充填剤、滅菌水性媒体、及び種々の非毒性有機溶媒などが含まれる。更に、経口医薬組成物には、適当な甘味及び/又は香気を付与することができる。通常、治療に有効な本発明の化合物は、前記剤形中に、5重量%〜70重量%(好ましくは10重量%〜50重量%)の範囲の濃度レベルで存在する。

【0065】経口投与用では、種々の賦形剤(例えば、微結晶セルロース、クエン酸ナトリウム、炭酸カルシウ

10

20

30

40

50

ム、リン酸二カリウム、及びグリシン)を含有する錠剤を、種々の崩壊剤〔例えば、デンプン(好ましくはコーン、ポテト、又はタピオカスターチ)、アルギン酸、及び或るケイ酸複合体〕と一緒に、顆粒化結合剤(例えば、ポリビニルピロリドン、スクロース、ゼラチン、及びアラビアゴム)と一緒に用いることができる。加えて、滑沢剤(例えば、ステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、及びタルク)が、多くの場合、錠剤形成用に非常に有用である。また、同型の固体組成物をゼラチンカプセルにおける充填剤として用いることができる。これに関連する好適材料には、ラクトース(乳糖)及び高分子量ポリエチレングリコールが含まれる。経口投与用に水性懸濁液及び/又はエリキシル剤が望まれる場合には、活性成分を、種々の甘味量若しくは香料、着色剤、又は色素と組み合わせることができ、所望により、更に乳化剤及び/又は懸濁剤と、前記希釈剤(例えば、水、エタノール、プロピレングリコール、グリセリン、及びそれらの種々の組み合わせ)と一緒に組み合わせることができる。

【0066】非経口投与用では、ゴマ若しくはピーナッツオイル又は水性プロピレングリコールのいずれかにおける本発明の化合物の溶液を用いることができる。所望に応じて、前記水溶液を適当に緩衝化(好ましくはpH>8)すべきであり、液体希釈剤を最初に等張性にするべきである。これらの水溶液は、静脈注射用に適している。油性溶液は、関節内、筋内、及び皮下注射用に適している。滅菌条件下におけるこれらの全ての溶液の調製は、当業者に周知の標準的薬剤学的技術により、容易に達成される。加えて、また、皮膚の炎症症状を治療する場合に、本発明の化合物を局所投与することができる。この場合、好ましくは、標準的薬剤学的手法に従って、クリーム剤、ゼリー剤、ゲル剤、ペースト剤、及び軟膏剤により行なうことができる。

【0067】《トランスジェニック動物》本発明のポリペプチド及び/又はDNA分子は、遺伝学的に改変した非ヒト動物、あるいは、セルラインにおける部位特異的遺伝子改変を生じさせるのに用いることができる。用語「トランスジェニック」は、例えば、VRL-2受容体遺伝子活性の欠失又は他のノックアウト、宿主細胞に安定的に転移された外来性VRL-2受容体遺伝子、変化したVRL-2受容体遺伝子発現を有する「ノックイン(knock-in)」、あるいは、レポーター遺伝子に作動可能に結合させた外来性VRL-2受容体ポリペプチドプロモーターを有する、遺伝学的に改変した動物を含むことを意図する。VRL-2受容体ポリペプチド機能のホモ接合性(homozygous)及びヘテロ接合性(heterozygous)のノックアウト及びノックインが特に好ましい。

【0068】トランスジェニック動物は、当業者に公知の方法に従って作製することができる。例えば、トラン

スジェニック動物は、内在性VRL-2受容体座を変化させる相同組換えによって作製することができる。あるいは、核酸構築物をゲノムにランダムに組み込む。安定的な組み込み用ベクターには、プラスミド、レトロウイルス及びその他の動物ウイルス、並びにYACなどが含まれる。トランスジェニック動物としては、ハツカネズミ属(Mus)(例えば、マウス)、クマネズミ属(Rattus)(例えば、ラット)、アナウサギ属(Oryctolagus)(例えば、ラビット)、及びゴールデンハムスター属(Mesocricetus)(例えば、ハムスター)からなる群から選んだ属由来の哺乳動物が好ましい。トランスジェニック動物の調製及び使用に関する、より具体的な記載は、WO99/37675号公報第34頁第36行~第37頁第12行に見出すことができる。

【0069】

【実施例】以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

【実施例1】《hVRL-2 cDNAのクローニング》ラットパニロイド受容体サブタイプ1(以下、「VR1」と称する)のポリヌクレオチド及びポリペプチド配列を用いて、LifeSeq™データベース(Incyte)に対してBLAST検索を行なった。ラットVR1に対して高い相同性を示すヌクレオチド配列を含有するcDNAクローン6個が得られた。クローン6個の内、5個は、ラットVR1のヒト相同体、すなわち、ヒトパニロイド受容体様タンパク質1(以下、VRL-1と称する)であった。しかし、cDNAクローン1個は、VR1又はVRL-1のいずれともマッチせず、パニロイド受容体サブタイプに相同な新規のヒト受容体をコードした。このcDNAを「VRL-2」と命名した。このcDNAクローンは、完全なオープンリーディングフレームを含有していなかった。

【0070】更に、ヒトVRL-2の全長cDNAのクローニングを実施した。VRL-2の開始コドンと同定するために、インサイト社のクローン及びヒト脾臓Marathon-Ready™ cDNA(Clontech, Palo Alto, Calif.)の配列データから設計したプライマー2個[5'-GCT GTC GGG GAA GAG GCG GGC ACA CTT G-3'(配列番号5)及び5'-GCA GCA GTT CAT TGA TGG GCT CCA CAG C-3'(配列番号6)]を使用した。

5'RACE(rapid amplification of cDNA ends)を、以下の条件下(94℃で1分間及び68℃で2分間を、30サイクル)で実施した。増幅された1.1kbのRACE産物をクローニングし、自動DNAシーケンサーABI PRISM 310(PE Biosystems, Fost

10

20

30

40

50

erCity, Calif. ; TOYOBO製造) により配列決定した。これらの配列データは、5' RACE産物が2種類の5'部分(インフレームの終始コドンの下流に、潜在的な開始コドンを含む)を含有することを示した。VRL-2は、少なくとも2つのスプライスト(spliced)変異体を含有するサブファミリーを構成した。一方のクローンをVRL-2aと命名し、もう一方をVRL-2bと命名した。

【0071】VRL-2a及びVRL-2bの完全なオープンリーディングフレームを単離するために、アドバンテージ-HF(Advantage-HF)PCRキット(Clontech, Palo Alto, Calif.)及びヒト腎臓cDNAライブラリー(Clontech, Palo Alto, Calif.)を用いてPCRを実施した。5' RACE産物及びインサイト社のクローンの配列データからプライマー2セットを設計した:

VRL-2aフォワード: 5' -ATC TGC GC A TGA AGT TCC AG-3' (配列番号7);

VRL-2bフォワード: 5' -GAC ATC GC G GAG CGC ACC GGC AAC ATG -3' (配列番号8);及び

VRL-2a, bリバーズ: 5' -GCT GGA C TA GAA ATGAGT GGG CAG AGA A-3' (配列番号9)。

【0072】PCRは、以下の条件下(94°Cで20秒間、58°Cで30秒間、及び72°Cで30秒間を、25サイクル)で実施した。2.6kbのPCR産物(VRL-2a)及び1.9kbのPCR産物(VRL-2b)をクローニングし、自動DNAシーケンサーABI PRISM 310(PE Biosystems, Foster City, Calif. ; TOYOBO Gene Analysis製造)により配列決定した。VRL-2a及びVRL-2bのアミノ酸配列を、それぞれ、配列番号2及び配列番号4に示す。

【0073】

【実施例2】《哺乳動物細胞におけるhVRL-2の発現》ヒトVRL-2aをコードするcDNAを、真核性発現ベクターpcDNA3.1(Invitrogen)にサブクローニングした。CHO-K1細胞及びHEK293細胞を、ポリ-L-リシンでコートしたガラス底ディッシュ上に蒔いた後、発現ベクター及びpIRES2-EGFP(Clontech)(合計1.0µg)並びにFuGENE6トランスフェクション試薬(Roche)3µL[35mmディッシュ当たり、OptiMEM培地(Life Technologies)97µL中]を用いて、一過性のトランスフェクションを行なった。

【0074】

【実施例3】《hVRL-2の機能解析》カチオンチャンネルとしてのVRL-2の活性は、蛍光色素及び通常の顕微鏡を用いて容易に検出される。ガラスのカバークラス上に載せたVRL-2発現細胞(実施例2で得られたもの)に、ハンクスバランス塩緩衝液(Hank's balanced salt buffer)中の膜ポテンシャル指示薬DiBAC4又はカルシウム指示薬(例えば、fura-2又はfluo-3)を加える。蛍光色素を加えたVRL-2発現細胞に、浸透圧刺激、機械刺激、又は熱刺激が加わると、蛍光の変化が、倒立蛍光顕微鏡上に配置した単一細胞画像システム(single cell imaging system)によりモニターされる。

【0075】本実施例では、Ca²⁺測定を、トランスフェクションの24~48時間経過後に実施した。単一細胞におけるCa²⁺測定は、倒立蛍光顕微鏡(IX70; OLYMPUS)上に配置した蛍光画像システムMERLIN(OLYMPUS)と一緒に、蛍光Ca²⁺指示薬fura-2を用いて行なった。Ca²⁺イメージングのために、等張(300mosmol/L)測定緩衝液[88mM-NaCl, 5mM-KCl, 1mM-MgCl₂, 1mM-CaCl₂, 5.5mMグルコース及び10mM-HEPES(pH7.4)を含有する]中において、室温で30分間、5µM-fura-2アセトキシメチルエステル(Dojin)を細胞に加えた。浸透度(osmolality)は、適当量のマニトールの添加によって調整した。一連の蛍光画像(340nm/380nm励起)を撮ることによって、浸透圧変化の前及び後における、GFPの発現を伴うか、あるいは、伴わない、細胞中のCa²⁺流入応答をモニターした。細胞は、最初に、等張溶液中に維持した。200mosmol/L測定緩衝液を用いた灌流により、低張刺激を達成した。マニトール濃度の減少により、より低い浸透度の溶液が得られた。効果的なアッセイ緩衝液の容量は2mLであり、灌流は3mL/分の流速で室温にて実施した。灌流溶液の完全な交換は、2分後と仮定した。トランスフェクションしなかった細胞を対照として使用した。別の対照実験を、pcDNA3.1でトランスフェクションした細胞を用いて実施した。

【0076】実験結果を図1~図4に見ることができ、図1及び図2は、hVRL-2をトランスフェクションしたCHO-K1細胞において、細胞外浸透度の減少に対する応答におけるCa²⁺増加を示す。図1において、ライン1及びライン2は、発現ベクターを含まない細胞[モック(mock)トランスフェクション]の応答曲線を示す。図2において、ライン1は、GFPネガティブ細胞(非トランスフェクション細胞)の応答曲線を示し、ライン2は、GFPポジティブ細胞(hVRL-2aトランスフェクション細胞)の応答曲線を示す。図3及び図4は、hVRL-2をトランスフェクション

したHEK293細胞において、細胞外浸透度の減少に対する応答におけるCa²⁺増加を示す。図3において、ライン1及びライン2は、発現ベクターを含まない細胞[モック(mock)トランスフェクション]の応答曲線を示す。図4において、ライン1は、GFPネガティブ細胞(非トランスフェクション細胞)の応答曲線を示し、ライン2は、GFPポジティブ細胞(hVRL-2aトランスフェクション細胞)の応答曲線を示す。これらの図に示されているように、細胞外浸透度が減少すると、細胞内Ca²⁺は、hVRL-2aトランスフェクシ

オン細胞では顕著に増加し、対照細胞では増加しなかった。この応答は可逆的であり、浸透度の増加が細胞内Ca²⁺の減少を導いた。

【0077】本明細書で引用した全ての刊行物(特に限定されるものではないが、特許及び特許出願を含む)の内容(特に、WO99/37765号公報に記載の技術用語の定義)については、個々の刊行物を参照されたい。

【0078】

【配列表】

```

<110> Pfizer Product Inc.
<120> Human Vanilloid Receptor-Like Proteins
<130> JPC9979A
<140>
<141>
<150> US 60/208,156
<151> 2000-05-31
<160> 9
<170> PatentIn Ver. 2.1
<210> 1
<211> 2749
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<220>
<221> CDS
<222> (85)..(2700)
<400> 1
aaccgcttga ggatttaagc tttgccactt tggctccgga gcaaggccag agggctgagc 60
agtqcaqacq ggcttgggac aggc atg gcg gat tcc aqc gaa ggc ccc cgc 111
Met Ala Asp Ser Ser Glu Gly Pro Arg
1 5
gcg ggg ccc ggg gag gtg gct gaq ctc ccc ggg gat gaq agt ggc acc 159
Ala Gly Pro Gly Glu Val Ala Glu Leu Pro Gly Asp Glu Ser Gly Thr
10 15 20 25
cca ggt ggg gag gct ttt cct ctc tcc tcc ctg gcc aat ctg ttt gaq 207
Pro Gly Gly Glu Ala Phe Pro Leu Ser Ser Leu Ala Asn Leu Phe Glu
30 35 40
ggg gag gat ggc tcc ctt tcg ccc tca ccg gct gat gcc agt cgc cct 255
Gly Glu Asp Gly Ser Leu Ser Pro Ser Pro Ala Asp Ala Ser Arg Pro
45 50 55
gct ggc cca ggc gat ggg cga cca aat ctg cgc atg aag ttc caq ggc 303
Ala Gly Pro Gly Asp Gly Arg Pro Asn Leu Arg Met Lys Phe Gln Gly
60 65 70
gcc ttc cgc aag ggg gtg ccc aac ccc atc gat ctg ctg gaq tcc acc 351
Ala Phe Arg Lys Gly Val Pro Asn Pro Ile Asp Leu Leu Glu Ser Thr
75 80 85
cta tat gaq tcc tcg qtg qtg cct ggg ccc aag aaa gca ccc atg gac 399
Leu Tyr Glu Ser Ser Val Val Pro Gly Pro Lys Lys Ala Pro Met Asp
90 95 100 105
tca ctg ttt gac tac ggc acc tat cgt cac cac tcc agt gac aac aag 447

```

27	28
Ser Leu Phe Asp Tyr Gly Thr Tyr Arg His His Ser Ser Asp Asn Lys	
110	115 120
agg tgg agq aag aag atc ata gag aag caq ccq caq agc ccc aaa gcc	495
Arg Trp Arg Lys Lys Ile Ile Glu Lys Gln Pro Gln Ser Pro Lys Ala	
125	130 135
cct gcc cct caq ccq ccc ccc atc ctc aaa gtc ttc aac cgg cct atc	543
Pro Ala Pro Gln Pro Pro Pro Ile Leu Lys Val Phe Asn Arg Pro Ile	
140	145 150
ctc ttt gac atc gtg tcc cgg gcc tcc act gct gac ctg gac ggg ctg	591
Leu Phe Asp Ile Val Ser Arg Gly Ser Thr Ala Asp Leu Asp Gly Leu	
155	160 165
ctc cca ttc ttg ctg acc cac aag aaa cgc cta act gat gag gag ttt	639
Leu Pro Phe Leu Leu Thr His Lys Lys Arg Leu Thr Asp Glu Glu Phe	
170	175 180 185
cga gag cca tct acg ggg aag acc tgc ctg ccc aag gcc ttg ctg aac	687
Arg Glu Pro Ser Thr Gly Lys Thr Cys Leu Pro Lys Ala Leu Leu Asn	
190	195 200
ctg agc aat gcc cgc aac gac acc atc cct gtg ctg ctg gac atc gcg	735
Leu Ser Asn Gly Arg Asn Asp Thr Ile Pro Val Leu Leu Asp Ile Ala	
205	210 215
gag cgc acc gcc aac atg cgg gag ttc att aac tcg ccc ttc cgt gac	783
Glu Arg Thr Gly Asn Met Arg Glu Phe Ile Asn Ser Pro Phe Arg Asp	
220	225 230
atc tac tat cga ggt caq aca gcc ctg cac atc gcc att gag cgt cgc	831
Ile Tyr Tyr Arg Gly Gln Thr Ala Leu His Ile Ala Ile Glu Arg Arg	
235	240 245
tgc aaa cac tac gtg gaa ctt ctc gtg gcc caq gga gct gat gtc cac	879
Cys Lys His Tyr Val Glu Leu Leu Val Ala Gln Gly Ala Asp Val His	
250	255 260 265
gcc caq gcc cgt ggg cgc ttc ttc caq ccc aag gat gag ggg gcc tac	927
Ala Gln Ala Arg Gly Arg Phe Phe Gln Pro Lys Asp Glu Gly Gly Tyr	
270	275 280
ttc tac ttt ggg gag ctg ccc ctg tcg ctg gct gcc tgc acc aac caq	975
Phe Tyr Phe Gly Glu Leu Pro Leu Ser Leu Ala Ala Cys Thr Asn Gln	
285	290 295
ccc cac att gtc aac tac cta acg gag aac ccc cac aag aag gcg gac	1023
Pro His Ile Val Asn Tyr Leu Thr Glu Asn Pro His Lys Lys Ala Asp	
300	305 310
atg cgg cgc caq gac tcg cga gcc aac aca gtg ctg cat gcg ctg gtg	1071
Met Arg Arg Gln Asp Ser Arg Gly Asn Thr Val Leu His Ala Leu Val	
315	320 325
gcc att gct gac aac acc cgt gag aac acc aag ttt gtt acc aag atg	1119
Ala Ile Ala Asp Asn Thr Arg Glu Asn Thr Lys Phe Val Thr Lys Met	
330	335 340 345
tac gac ctg ctg ctg ctc aag tgt gcc cgc ctc ttc ccc gac agc aac	1167
Tyr Asp Leu Leu Leu Leu Lys Cys Ala Arg Leu Phe Pro Asp Ser Asn	
350	355 360
ctg gag gcc gtg ctc aac aac gac gcc ctc tcg ccc ctc atg atg gct	1215
Leu Glu Ala Val Leu Asn Asn Asp Gly Leu Ser Pro Leu Met Met Ala	
365	370 375

29	30
gcc aag acg ggc aag att ggg atc ttt cag cac atc atc cgg cgg gag	1263
Ala Lys Thr Gly Lys Ile Gly Ile Phe Gln His Ile Ile Arg Arg Glu	
380	385
gtg acg gat gag gac aca cgg cac ctg tcc cgc aag ttc aag gac tgg	1311
Val Thr Asp Glu Asp Thr Arg His Leu Ser Arg Lys Phe Lys Asp Trp	
395	400
gcc tat ggg cca gtg tat tcc tcg ctt tat gac ctc tcc tcc ctg gac	1359
Ala Tyr Gly Pro Val Tyr Ser Ser Leu Tyr Asp Leu Ser Ser Leu Asp	
410	415
acg tgt ggg gaa gag gcc tcc gtg ctg gag atc ctg gtg tac aac aqc	1407
Thr Cys Gly Glu Glu Ala Ser Val Leu Glu Ile Leu Val Tyr Asn Ser	
430	435
aag att gag aac cgc cac gag atg ctg gct gtg gag ccc atc aat gaa	1455
Lys Ile Glu Asn Arg His Glu Met Leu Ala Val Glu Pro Ile Asn Glu	
445	450
ctg ctg cgg gac aag tgg cgc aag ttc ggg gcc gtc tcc ttc tac atc	1503
Leu Leu Arg Asp Lys Trp Arg Lys Phe Gly Ala Val Ser Phe Tyr Ile	
460	465
aac gtg gtc tcc tac ctg tgt gcc atg gtc atc ttc act ctc acc gcc	1551
Asn Val Val Ser Tyr Leu Cys Ala Met Val Ile Phe Thr Leu Thr Ala	
475	480
tac tac cag ccg ctg gag ggc aca ccg ccg tac cct tac cgc acc acg	1599
Tyr Tyr Gln Pro Leu Glu Gly Thr Pro Pro Tyr Pro Tyr Arg Thr Thr	
490	495
gtg gac tac ctg cgg ctg gct ggc gag gtc att acg ctc ttc act ggg	1647
Val Asp Tyr Leu Arg Leu Ala Gly Glu Val Ile Thr Leu Phe Thr Gly	
510	515
gtc ctg ttc ttc ttc acc aac atc aaa gac ttg ttc atg aag aaa tgc	1695
Val Leu Phe Phe Phe Thr Asn Ile Lys Asp Leu Phe Met Lys Lys Cys	
525	530
cct gga gtg aat tct ctc ttc att gat ggc tcc ttc cag ctg ctc tac	1743
Pro Gly Val Asn Ser Leu Phe Ile Asp Gly Ser Phe Gln Leu Leu Tyr	
540	545
ttc atc tac tct gtc ctg gtg atc gtc tca qca gcc ctc tac ctg qca	1791
Phe Ile Tyr Ser Val Leu Val Ile Val Ser Ala Ala Leu Tyr Leu Ala	
555	560
ggg atc gag gcc tac ctg gcc gtg atg gtc ttt gcc ctg gtc ctg ggc	1839
Gly Ile Glu Ala Tyr Leu Ala Val Met Val Phe Ala Leu Val Leu Gly	
570	575
tgg atg aat gcc ctt tac ttc acc cgt ggg ctg aag ctg acg ggg acc	1887
Trp Met Asn Ala Leu Tyr Phe Thr Arg Gly Leu Lys Leu Thr Gly Thr	
590	595
tat aqc atc atg atc cag aag att ctc ttc aag gac ctt ttc cga ttc	1935
Tyr Ser Ile Met Ile Gln Lys Ile Leu Phe Lys Asp Leu Phe Arg Phe	
605	610
ctg ctc gtc tac ttg ctc ttc atg atc ggc tac gct tca gcc ctg gtc	1983
Leu Leu Val Tyr Leu Leu Phe Met Ile Gly Tyr Ala Ser Ala Leu Val	
620	625
tcc ctc ctg aac ccg tgt gcc aac atg aag gtg tgc aat gag gac cag	2031
Ser Leu Leu Asn Pro Cys Ala Asn Met Lys Val Cys Asn Glu Asp Gln	

31		32
635	640	645
acc aac tgc aca gtg ccc act tac ccc tcg tgc cgt qac agc gag acc		2079
Thr Asn Cys Thr Val Pro Thr Tyr Pro Ser Cys Arg Asp Ser Glu Thr		
650	655	660
ttc agc acc ttc ctc ctg qac ctg ttt aag ctg acc att ggc atg ggc		2127
Phe Ser Thr Phe Leu Leu Asp Leu Phe Lys Leu Thr Ile Gly Met Gly		
670	675	680
gac ctg gag atg ctg agc agc acc aag tac ccc gtg gtc ttc atc atc		2175
Asp Leu Glu Met Leu Ser Ser Thr Lys Tyr Pro Val Val Phe Ile Ile		
685	690	695
ctg ctg gtg acc tac atc atc ctc acc ttt gtg ctg ctc ctc aac atg		2223
Leu Leu Val Thr Tyr Ile Ile Leu Thr Phe Val Leu Leu Asn Met		
700	705	710
ctc att gcc ctc atg ggc gag aca gtg ggc caq gtc tcc aag gag agc		2271
Leu Ile Ala Leu Met Gly Glu Thr Val Gly Gln Val Ser Lys Glu Ser		
715	720	725
aag cac atc tqg aag ctg caq tqg gcc acc acc atc ctg qac att gag		2319
Lys His Ile Trp Lys Leu Gln Trp Ala Thr Thr Ile Leu Asp Ile Glu		
730	735	740
cgc tcc ttc ccc gta ttc ctg agg aag gcc ttc cgc tct ggg gag atg		2367
Arg Ser Phe Pro Val Phe Leu Arg Lys Ala Phe Arg Ser Gly Glu Met		
750	755	760
gtc acc gtg ggc aag agc tcg qac ggc act cct qac cgc agg tqg tgc		2415
Val Thr Val Gly Lys Ser Ser Asp Gly Thr Pro Asp Arg Arg Trp Cys		
765	770	775
ttc aag gtg gat gag gtg aac tqg tct cac tqg aac caq aac ttg ggc		2463
Phe Arg Val Asp Glu Val Asn Trp Ser His Trp Asn Gln Asn Leu Gly		
780	785	790
atc atc aac gag qac ccg ggc aag aat gag acc tac caq tat tat ggc		2511
Ile Ile Asn Glu Asp Pro Gly Lys Asn Glu Thr Tyr Gln Tyr Tyr Gly		
795	800	805
ttc tcg cat acc gtg ggc cgc ctc cgc agg gat cgc tqg tcc tcg gtg		2559
Phe Ser His Thr Val Gly Arg Leu Arg Arg Asp Arg Trp Ser Ser Val		
810	815	820
gta ccc cgc gtg gtg gaa ctg aac aag aac tcg aac ccg qac gag gtg		2607
Val Pro Arg Val Val Glu Leu Asn Lys Asn Ser Asn Pro Asp Glu Val		
830	835	840
gtg gtg cct ctg qac agc atg ggg aac ccc cgc tgc gat ggc cac caq		2655
Val Val Pro Leu Asp Ser Met Gly Asn Pro Arg Cys Asp Gly His Gln		
845	850	855
caq ggt tac ccc cgc aag tqg agg act gat qac gcc ccg ctc tag		2700
Gln Gly Tyr Pro Arg Lys Trp Arg Thr Asp Asp Ala Pro Leu		
860	865	870
ggactgcagc ccagccccag cttctctgcc cactcatttc tagtccagc		2749

<210> 2

<211> 871

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

33 34
 Met Ala Asp Ser Ser Glu Gly Pro Arg Ala Gly Pro Gly Glu Val Ala
 1 5 10 15
 Glu Leu Pro Gly Asp Glu Ser Gly Thr Pro Gly Gly Glu Ala Phe Pro
 20 25 30
 Leu Ser Ser Leu Ala Asn Leu Phe Glu Gly Glu Asp Gly Ser Leu Ser
 35 40 45
 Pro Ser Pro Ala Asp Ala Ser Arg Pro Ala Gly Pro Gly Asp Gly Arg
 50 55 60
 Pro Asn Leu Arg Met Lys Phe Gln Gly Ala Phe Arg Lys Gly Val Pro
 65 70 75 80
 Asn Pro Ile Asp Leu Leu Glu Ser Thr Leu Tyr Glu Ser Ser Val Val
 85 90 95
 Pro Gly Pro Lys Lys Ala Pro Met Asp Ser Leu Phe Asp Tyr Gly Thr
 100 105 110
 Tyr Arg His His Ser Ser Asp Asn Lys Arg Trp Arg Lys Lys Ile Ile
 115 120 125
 Glu Lys Gln Pro Gln Ser Pro Lys Ala Pro Ala Pro Gln Pro Pro Pro
 130 135 140
 Ile Leu Lys Val Phe Asn Arg Pro Ile Leu Phe Asp Ile Val Ser Arg
 145 150 155 160
 Gly Ser Thr Ala Asp Leu Asp Gly Leu Leu Pro Phe Leu Leu Thr His
 165 170 175
 Lys Lys Arg Leu Thr Asp Glu Glu Phe Arg Glu Pro Ser Thr Gly Lys
 180 185 190
 Thr Cys Leu Pro Lys Ala Leu Leu Asn Leu Ser Asn Gly Arg Asn Asp
 195 200 205
 Thr Ile Pro Val Leu Leu Asp Ile Ala Glu Arg Thr Gly Asn Met Arg
 210 215 220
 Glu Phe Ile Asn Ser Pro Phe Arg Asp Ile Tyr Tyr Arg Gly Gln Thr
 225 230 235 240
 Ala Leu His Ile Ala Ile Glu Arg Arg Cys Lys His Tyr Val Glu Leu
 245 250 255
 Leu Val Ala Gln Gly Ala Asp Val His Ala Gln Ala Arg Gly Arg Phe
 260 265 270
 Phe Gln Pro Lys Asp Glu Gly Gly Tyr Phe Tyr Phe Gly Glu Leu Pro
 275 280 285
 Leu Ser Leu Ala Ala Cys Thr Asn Gln Pro His Ile Val Asn Tyr Leu
 290 295 300
 Thr Glu Asn Pro His Lys Lys Ala Asp Met Arg Arg Gln Asp Ser Arg
 305 310 315 320
 Gly Asn Thr Val Leu His Ala Leu Val Ala Ile Ala Asp Asn Thr Arg
 325 330 335
 Glu Asn Thr Lys Phe Val Thr Lys Met Tyr Asp Leu Leu Leu Leu Lys
 340 345 350
 Cys Ala Arg Leu Phe Pro Asp Ser Asn Leu Glu Ala Val Leu Asn Asn
 355 360 365
 Asp Gly Leu Ser Pro Leu Met Met Ala Ala Lys Thr Gly Lys Ile Gly
 370 375 380
 Ile Phe Gln His Ile Ile Arg Arg Glu Val Thr Asp Glu Asp Thr Arg
 385 390 395 400

35 36
 His Leu Ser Arg Lys Phe Lys Asp Trp Ala Tyr Gly Pro Val Tyr Ser
 405 410 415
 Ser Leu Tyr Asp Leu Ser Ser Leu Asp Thr Cys Gly Glu Glu Ala Ser
 420 425 430
 Val Leu Glu Ile Leu Val Tyr Asn Ser Lys Ile Glu Asn Arg His Glu
 435 440 445
 Met Leu Ala Val Glu Pro Ile Asn Glu Leu Leu Arg Asp Lys Trp Arg
 450 455 460
 Lys Phe Gly Ala Val Ser Phe Tyr Ile Asn Val Val Ser Tyr Leu Cys
 465 470 475 480
 Ala Met Val Ile Phe Thr Leu Thr Ala Tyr Tyr Gln Pro Leu Glu Gly
 485 490 495
 Thr Pro Pro Tyr Pro Tyr Arg Thr Thr Val Asp Tyr Leu Arg Leu Ala
 500 505 510
 Gly Glu Val Ile Thr Leu Phe Thr Gly Val Leu Phe Phe Phe Thr Asn
 515 520 525
 Ile Lys Asp Leu Phe Met Lys Lys Cys Pro Gly Val Asn Ser Leu Phe
 530 535 540
 Ile Asp Gly Ser Phe Gln Leu Leu Tyr Phe Ile Tyr Ser Val Leu Val
 545 550 555 560
 Ile Val Ser Ala Ala Leu Tyr Leu Ala Gly Ile Glu Ala Tyr Leu Ala
 565 570 575
 Val Met Val Phe Ala Leu Val Leu Gly Trp Met Asn Ala Leu Tyr Phe
 580 585 590
 Thr Arg Gly Leu Lys Leu Thr Gly Thr Tyr Ser Ile Met Ile Gln Lys
 595 600 605
 Ile Leu Phe Lys Asp Leu Phe Arg Phe Leu Leu Val Tyr Leu Leu Phe
 610 615 620
 Met Ile Gly Tyr Ala Ser Ala Leu Val Ser Leu Leu Asn Pro Cys Ala
 625 630 635 640
 Asn Met Lys Val Cys Asn Glu Asp Gln Thr Asn Cys Thr Val Pro Thr
 645 650 655
 Tyr Pro Ser Cys Arg Asp Ser Glu Thr Phe Ser Thr Phe Leu Leu Asp
 660 665 670
 Leu Phe Lys Leu Thr Ile Gly Met Gly Asp Leu Glu Met Leu Ser Ser
 675 680 685
 Thr Lys Tyr Pro Val Val Phe Ile Ile Leu Leu Val Thr Tyr Ile Ile
 690 695 700
 Leu Thr Phe Val Leu Leu Leu Asn Met Leu Ile Ala Leu Met Gly Glu
 705 710 715 720
 Thr Val Gly Gln Val Ser Lys Glu Ser Lys His Ile Trp Lys Leu Gln
 725 730 735
 Trp Ala Thr Thr Ile Leu Asp Ile Glu Arg Ser Phe Pro Val Phe Leu
 740 745 750
 Arg Lys Ala Phe Arg Ser Gly Glu Met Val Thr Val Gly Lys Ser Ser
 755 760 765
 Asp Gly Thr Pro Asp Arg Arg Trp Cys Phe Arg Val Asp Glu Val Asn
 770 775 780
 Trp Ser His Trp Asn Gln Asn Leu Gly Ile Ile Asn Glu Asp Pro Gly
 785 790 795 800

37	38
Lys Asn Glu Thr Tyr Gln Tyr Tyr Gly Phe Ser His Thr Val Gly Arg	
805	810
Leu Arg Arg Asp Arg Trp Ser Ser Val Val Pro Arg Val Val Glu Leu	
820	825
Asn Lys Asn Ser Asn Pro Asp Glu Val Val Val Pro Leu Asp Ser Met	
835	840
Gly Asn Pro Arg Cys Asp Gly His Gln Gln Gly Tyr Pro Arg Lys Trp	
850	855
Arg Thr Asp Asp Ala Pro Leu	
865	870

- <210> 3
- <211> 1900
- <212> DNA
- <213> Homo sapiens
- <220>
- <221> CDS
- <222> (43)..(1851)

gcggccgctg aattctagga catcgcggag cgcaccggca ac atg cgg gag ttc	54
Met Arg Glu Phe	
1	
att aac tcg ccc ttc cgt qac atc tac tat cga ggg gag ctg ccc ctg	102
Ile Asn Ser Pro Phe Arg Asp Ile Tyr Tyr Arg Gly Glu Leu Pro Leu	
5	10
15	20
tcg ctg gct gcc tgc acc aac cag ccc cac att gtc aac tac ctg acg	150
Ser Leu Ala Ala Cys Thr Asn Gln Pro His Ile Val Asn Tyr Leu Thr	
25	30
35	
gag aac ccc cac aag aag gcg qac atg cgg cgc cag qac tcg cga ggc	198
Glu Asn Pro His Lys Lys Ala Asp Met Arg Arg Gln Asp Ser Arg Gly	
40	45
50	
aac aca gtg ctg cat gcg ctg gtg gcc att gct qac aac acc cgt gag	246
Asn Thr Val Leu His Ala Leu Val Ala Ile Ala Asp Asn Thr Arg Glu	
55	60
65	
aac acc aag ttt gtt acc aag atg tac qac ctg ctg ctg ctc aag tgt	294
Asn Thr Lys Phe Val Thr Lys Met Tyr Asp Leu Leu Leu Leu Lys Cys	
70	75
80	
gcc cgc ctc ttc ccc qac agc aac ctg gag gcc gtg ctc aac aac qac	342
Ala Arg Leu Phe Pro Asp Ser Asn Leu Glu Ala Val Leu Asn Asn Asp	
85	90
95	100
ggc ctc tcg ccc ctc atg atg gct gcc aag acg ggc aag att ggg atc	390
Gly Leu Ser Pro Leu Met Met Ala Ala Lys Thr Gly Lys Ile Gly Ile	
105	110
115	
ttt cag cac atc atc cgg cgg gag gtg acg gat gag qac aca cgg cac	438
Phe Gln His Ile Ile Arg Arg Glu Val Thr Asp Glu Asp Thr Arg His	
120	125
130	
ctg tcc cgc aag ttc aag qac tgg gcc tat ggg cca gtg tat tcc tcg	486
Leu Ser Arg Lys Phe Lys Asp Trp Ala Tyr Gly Pro Val Tyr Ser Ser	
135	140
145	

39	40		
ctt tat gac ctc tcc tcc ctg gac acg tgt ggg gaa gag gcc tcc gtg	534		
Leu Tyr Asp Leu Ser Ser Leu Asp Thr Cys Gly Glu Glu Ala Ser Val			
150	160		
ctg gag atc ctg gtg tac aac agc aag att gag aac cgc cac gag atg	582		
Leu Glu Ile Leu Val Tyr Asn Ser Lys Ile Glu Asn Arg His Glu Met			
165	170	175	180
ctg gct gtg gag ccc atc aat gaa ctg ctg cgg gac aag tgg cgc aag	630		
Leu Ala Val Glu Pro Ile Asn Glu Leu Leu Arg Asp Lys Trp Arg Lys			
185	190	195	
ttc ggg gcc gtc tcc ttc tac atc aac gtg gtc tcc tac ctg tgt gcc	678		
Phe Gly Ala Val Ser Phe Tyr Ile Asn Val Val Ser Tyr Leu Cys Ala			
200	205	210	
atg gtc atc ttc act ctc acc gcc tac tac caq ccq ctg gag ggc aca	726		
Met Val Ile Phe Thr Leu Thr Ala Tyr Tyr Gln Pro Leu Glu Gly Thr			
215	220	225	
ccq ccq tac cct tac cgc acc acg gtg gac tac ctg cgg ctg gct ggc	774		
Pro Pro Tyr Pro Tyr Arg Thr Thr Val Asp Tyr Leu Arg Leu Ala Gly			
230	235	240	
gag gtc att acg ctc ttc act ggg gtc ctg ttc ttc ttc acc aac atc	822		
Glu Val Ile Thr Leu Phe Thr Gly Val Leu Phe Phe Phe Thr Asn Ile			
245	250	255	260
aaa gac ttg ttc atg aag aaa tgc cct gga gtg aat tct ctc ttc att	870		
Lys Asp Leu Phe Met Lys Lys Cys Pro Gly Val Asn Ser Leu Phe Ile			
265	270	275	
gat ggc tcc ttc caq ctg ctc tac ttc atc tac tct gtc ctg gtg atc	918		
Asp Gly Ser Phe Gln Leu Leu Tyr Phe Ile Tyr Ser Val Leu Val Ile			
280	285	290	
gtc tca gca gcc ctc tac ctg gca ggg atc gag gcc tac ctg gcc gtg	966		
Val Ser Ala Ala Leu Tyr Leu Ala Gly Ile Glu Ala Tyr Leu Ala Val			
295	300	305	
atg gtc ttt gcc ctg gtc ctg ggc tgg atg aat gcc ctt tac ttc acc	1014		
Met Val Phe Ala Leu Val Leu Gly Trp Met Asn Ala Leu Tyr Phe Thr			
310	315	320	
cgt ggg ctg aag ctg acg ggg acc tat agc atc atg atc caq aag att	1062		
Arg Gly Leu Lys Leu Thr Gly Thr Tyr Ser Ile Met Ile Gln Lys Ile			
325	330	335	340
ctc ttc aag gac ctt ttc cga ttc ctg ctc gtc tac ttg ctc ttc atg	1110		
Leu Phe Lys Asp Leu Phe Arg Phe Leu Leu Val Tyr Leu Leu Phe Met			
345	350	355	
atc ggc tac gct tca gcc ctg gtc tcc ctc ctg aac ccq tgt gcc aac	1158		
Ile Gly Tyr Ala Ser Ala Leu Val Ser Leu Leu Asn Pro Cys Ala Asn			
360	365	370	
atg aag gtg tgc aat gag gac caq acc aac tgc aca gtg ccc act tac	1206		
Met Lys Val Cys Asn Glu Asp Gln Thr Asn Cys Thr Val Pro Thr Tyr			
375	380	385	
ccc tcg tgc cgt gac agc gag acc ttc agc acc ttc ctc ctg gac ctg	1254		
Pro Ser Cys Arg Asp Ser Glu Thr Phe Ser Thr Phe Leu Leu Asp Leu			
390	395	400	
ttt aag ctg acc atc ggc atg ggc gac ctg gag atg ctg agc agc acc	1302		
Phe Lys Leu Thr Ile Gly Met Gly Asp Leu Glu Met Leu Ser Ser Thr			

43	44
Asp Ser Arg Gly Asn Thr Val Leu His Ala Leu Val Ala Ile Ala Asp	
50	55
Asn Thr Arg Glu Asn Thr Lys Phe Val Thr Lys Met Tyr Asp Leu Leu	
65	70
Leu Leu Lys Cys Ala Arg Leu Phe Pro Asp Ser Asn Leu Glu Ala Val	
85	90
Leu Asn Asn Asp Gly Leu Ser Pro Leu Met Met Ala Ala Lys Thr Gly	
100	105
Lys Ile Gly Ile Phe Gln His Ile Ile Arg Arg Glu Val Thr Asp Glu	
115	120
Asp Thr Arg His Leu Ser Arg Lys Phe Lys Asp Trp Ala Tyr Gly Pro	
130	135
Val Tyr Ser Ser Leu Tyr Asp Leu Ser Ser Leu Asp Thr Cys Gly Glu	
145	150
Glu Ala Ser Val Leu Glu Ile Leu Val Tyr Asn Ser Lys Ile Glu Asn	
165	170
Arg His Glu Met Leu Ala Val Glu Pro Ile Asn Glu Leu Leu Arg Asp	
180	185
Lys Trp Arg Lys Phe Gly Ala Val Ser Phe Tyr Ile Asn Val Val Ser	
195	200
Tyr Leu Cys Ala Met Val Ile Phe Thr Leu Thr Ala Tyr Tyr Gln Pro	
210	215
Leu Glu Gly Thr Pro Pro Tyr Pro Tyr Arg Thr Thr Val Asp Tyr Leu	
225	230
Arg Leu Ala Gly Glu Val Ile Thr Leu Phe Thr Gly Val Leu Phe Phe	
245	250
Phe Thr Asn Ile Lys Asp Leu Phe Met Lys Lys Cys Pro Gly Val Asn	
260	265
Ser Leu Phe Ile Asp Gly Ser Phe Gln Leu Leu Tyr Phe Ile Tyr Ser	
275	280
Val Leu Val Ile Val Ser Ala Ala Leu Tyr Leu Ala Gly Ile Glu Ala	
290	295
Tyr Leu Ala Val Met Val Phe Ala Leu Val Leu Gly Trp Met Asn Ala	
305	310
Leu Tyr Phe Thr Arg Gly Leu Lys Leu Thr Gly Thr Tyr Ser Ile Met	
325	330
Ile Gln Lys Ile Leu Phe Lys Asp Leu Phe Arg Phe Leu Leu Val Tyr	
340	345
Leu Leu Phe Met Ile Gly Tyr Ala Ser Ala Leu Val Ser Leu Leu Asn	
355	360
Pro Cys Ala Asn Met Lys Val Cys Asn Glu Asp Gln Thr Asn Cys Thr	
370	375
Val Pro Thr Tyr Pro Ser Cys Arg Asp Ser Glu Thr Phe Ser Thr Phe	
385	390
Leu Leu Asp Leu Phe Lys Leu Thr Ile Gly Met Gly Asp Leu Glu Met	
405	410
Leu Ser Ser Thr Lys Tyr Pro Val Val Phe Ile Ile Leu Leu Val Thr	
420	425
Tyr Ile Ile Leu Thr Phe Val Leu Leu Leu Asn Met Leu Ile Ala Leu	
435	440
	445

45
 Met Gly Glu Thr Val Gly Gln Val Ser Lys Glu Ser Lys His Ile Trp
 450 455 460
 Lys Leu Gln Trp Ala Thr Thr Ile Leu Asp Ile Glu Arg Ser Phe Pro
 465 470 475 480
 Val Phe Leu Arg Lys Ala Phe Arg Ser Gly Glu Met Val Thr Val Gly
 485 490 495
 Lys Ser Ser Asp Gly Thr Pro Asp Arg Arg Trp Cys Phe Arg Val Asp
 500 505 510
 Glu Val Asn Trp Ser His Trp Asn Gln Asn Leu Gly Ile Ile Asn Glu
 515 520 525
 Asp Pro Gly Lys Asn Glu Thr Tyr Gln Tyr Tyr Gly Phe Ser His Thr
 530 535 540
 Val Gly Arg Leu Arg Arg Asp Arg Trp Ser Ser Val Val Pro Arg Val
 545 550 555 560
 Val Glu Leu Asn Lys Asn Ser Asn Pro Asp Glu Val Val Val Pro Leu
 565 570 575
 Asp Ser Met Gly Asn Pro Arg Cys Asp Gly His Gln Gln Gly Tyr Pro
 580 585 590
 Arg Lys Trp Arg Thr Asp Asp Ala Pro Leu
 595 600

<210> 5

<211> 28

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

gctgtcggg aagagcggg cacacttg

28

<210> 6

<211> 28

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

gcagcagttc attgatggc tccacagc

28

<210> 7

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

atctgcgat gaagttccag

20

<210> 8

<211> 27

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 8

gacatcggg agcgcaccgg caacatg

27

47

48

<210> 9
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 9
 qctggactag aatqagtqq qcaqaa

28

【図面の簡単な説明】

【図1】発現ベクターを含まないCHO-K1細胞 [モック (m o c k) トランスフェクション] において、細胞外浸透度の減少に対する応答におけるCa²⁺増加を示すグラフである。

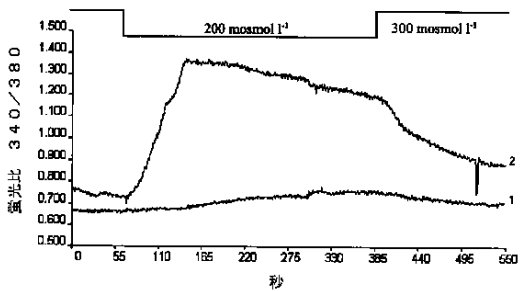
【図2】hVRL-2をトランスフェクションしたCHO-K1細胞 (hVRL-2 a トランスフェクション細胞/非トランスフェクション細胞) において、細胞外浸透度の減少に対する応答におけるCa²⁺増加を示すグラフ

*フである。

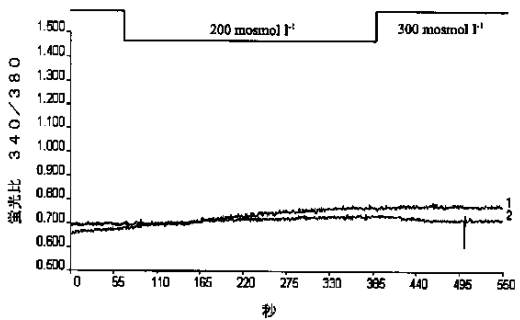
【図3】発現ベクターを含まないHEK293細胞 [モック (m o c k) トランスフェクション] において、細胞外浸透度の減少に対する応答におけるCa²⁺増加を示すグラフである。

【図4】hVRL-2をトランスフェクションしたHEK293細胞 (hVRL-2 a トランスフェクション細胞/非トランスフェクション細胞) において、細胞外浸透度の減少に対する応答におけるCa²⁺増加を示すグラフである。

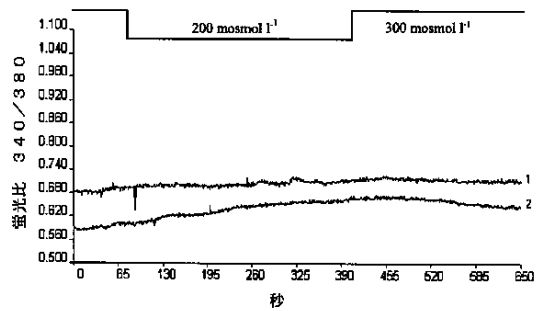
【図2】



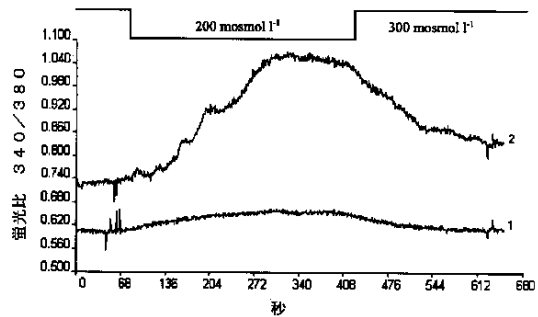
【図1】



【図3】



【図4】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I
A 6 1 P	9/02	A 6 1 P 9/12
	9/12	11/06
	11/06	13/02
	13/02	15/00
	15/00	19/02
	19/02	21/00

	21/00		25/00	
	25/00		25/02	1 0 1
	25/02	1 0 1	25/04	
	25/04		29/00	
	29/00			1 0 1
		1 0 1	35/00	
	35/00		37/08	
	37/08		41/00	
	41/00		43/00	1 1 1
	43/00	1 1 1	C 0 7 K 14/705	
C 0 7 K	14/705		16/28	
	16/28		C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N	1/15		1/19	
	1/19		1/21	
	1/21		C 1 2 P 21/02	C
	5/10		G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 P	21/02		33/50	Z
G 0 1 N	33/15		33/53	D
	33/50			M
	33/53		33/566	
			C 1 2 N 15/00	Z N A A
	33/566		5/00	A

(56)参考文献 特表2003-513669 (J P, A)
 特表2002-531085 (J P, A)
 国際公開99/037675 (W O, A 1)

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, D B名)

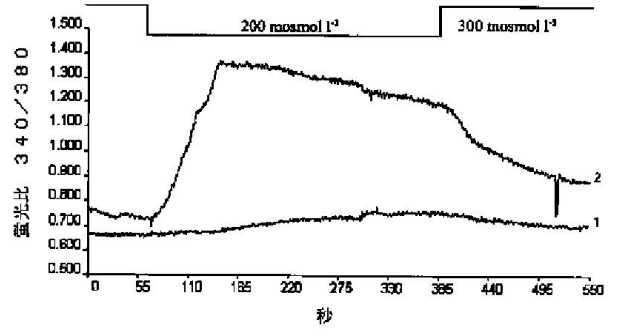
C12N 15/00 - 15/90
 A61K 31/00 - 48/00
 A61P 1/00 - 43/00
 C07K 14/00 - 16/46
 C12N 1/00 - 7/08
 C12P 21/00 - 21/08
 J I C S T ファイル (J O I S)
 B I O S I S / M E D L I N E / W P I D
 S (S T N)
 S w i s s P r o t / P I R / G e n e S
 e q
 G e n B a n k / E M B L / D D B J / G
 e n e S e q
 E U R O P A T (Q U E S T E L)

专利名称(译)	人类香草素受体样蛋白		
公开(公告)号	JP3501775B2	公开(公告)日	2004-03-02
申请号	JP2001151887	申请日	2001-05-22
[标]申请(专利权)人(译)	美国辉瑞有限公司		
申请(专利权)人(译)	ファイザー製薬株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	辉瑞公司日本		
[标]发明人	新庄勝浩 藪内光		
发明人	新庄 勝浩 藪内 光		
IPC分类号	A01K67/027 A61K36/81 A61K38/00 A61K45/00 A61P3/10 A61P9/00 A61P9/02 A61P9/12 A61P11/06 A61P13/02 A61P15/00 A61P19/02 A61P21/00 A61P23/00 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/04 A61P29/00 A61P35/00 A61P37/08 A61P41/00 A61P43/00 C07K14/705 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12P21/02 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61K38/00 C07K14/705 A01K2217/05 A61P3/10 A61P11/06 A61P13/02 A61P15/00 A61P19/02 A61P21/00 A61P23/00 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/04 A61P29/00 A61P35/00		
FI分类号	A01K67/027 A61K45/00 A61P3/10 A61P9/00 A61P9/02 A61P9/12 A61P11/06 A61P13/02 A61P15/00 A61P19/02 A61P21/00 A61P25/00 A61P25/02.101 A61P25/04 A61P29/00 A61P29/00.101 A61P35/00 A61P37/08 A61P41/00 A61P43/00.111 C07K14/705 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N5/00.101 C12N5/10		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/BA11 2G045/BB50 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA63 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA20 4B024/DA02 4B024/DA03 4B024/EA04 4B024/GA13 4B024/HA11 4B024/HA14 4B064/AG01 4B064/AG20 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA58X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/BA05 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZA01 4C084/ZA08 4C084/ZA21 4C084/ZA36 4C084/ZA59 4C084/ZA81 4C084/ZA94 4C084/ZA96 4C084/ZB11 4C084/ZB13 4C084/ZB15 4C084/ZB26 4C084/ZC35 4C084/ZC42 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/EA50		
代理人(译)	枸杞庆喜		
优先权	60/208156 2000-05-31 US		
其他公开文献	JP2002330769A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供可用于构建香草素受体样蛋白2 (VRL-2) 相关疾病的治疗剂的筛选系统的多肽，编码其的多核苷酸，多核苷酸探针或引物，DNA分子表达载体和宿主细胞，产生所述多肽的方法，对所述多肽免疫特异性的抗体，用于诊断与VRL-2受体相关的疾病的诊断试剂盒，用于调节所述多肽的调节物质通过筛选方法可获得的调节物质，用于治疗与所述多肽的生物学功能相关的病症的药物组合物，以及关于香草素受体样基因的非人转基因动物模型提供。该多肽是人VRL-2。

【图2】



【图1】