

(19)日本国特許庁 ( J P )

(12) 公表特許公報 ( A )

(11)特許出願公表番号

特表2002 - 537791

(P2002 - 537791A)

(43)公表日 平成14年11月12日(2002.11.12)

(51) Int.Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 39/00	H 4 B 0 2 4
A 6 1 K 39/00		39/39	4 B 0 5 0
39/39		47/48	4 B 0 6 3
47/48		A 6 1 P 35/00	4 B 0 6 5
A 6 1 P 35/00		C 0 7 K 16/40	4 C 0 7 6

審査請求 未請求 予備審査請求 (全109数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 602268(P2000 - 602268)

(86)(22)出願日 平成12年3月2日(2000.3.2)

(85)翻訳文提出日 平成13年9月3日(2001.9.3)

(86)国際出願番号 PCT/US00/05612

(87)国際公開番号 W000/52044

(87)国際公開日 平成12年9月8日(2000.9.8)

(31)優先権主張番号 09/261,416

(32)優先日 平成11年3月3日(1999.3.3)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 ザ ボード オブ トラスティーズ オブ  
ザ ユニヴァ-シティー オブ ア-カ  
ンソー

アメリカ合衆国 ア-カンソー州 72207 -  
3608 リトル ロック ノース ユニヴァ  
-シティー アヴェニュー 2404

(72)発明者 オブライアン, ティモシー ジェイ  
アメリカ合衆国 ア-カンソー州 72207  
リトル ロック ノース ピアース 261  
0

(74)代理人 弁理士 柳田 征史 (外1名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 卵巣癌において過剰発現される膜貫通型セリンプロテアーゼおよびその使用

(57)【要約】

本発明は、T A D G - 1 2 タンパク質およびそのタンパク質をコードするDNA断片を提供する。また、本発明は、そのDNAを発現し得るベクター / 宿主細胞を提供する。さらに、本発明は、この中に開示されたDNAおよび / タンパク質を利用することによる、関連する卵巣癌および他の癌を早期検出する種々の方法ならびに癌治療のための最新の種々の治療法を提供する。

**【特許請求の範囲】**

【請求項1】 腫瘍関連差別的発現遺伝子 - 12 (TADG - 12) タンパク質をコードするDNA断片であって：

(a) TADG - 12 タンパク質をコードする単離DNA断片；

(b) 前記(a)の単離DNA断片に対してハイブリダイズし、かつTADG - 12 タンパク質をコードする単離DNA断片；さらに

(c) 遺伝暗号の縮重のためコドン配列において前記(a)および(b)の単離DNA断片と異なり、かつTADG - 12 タンパク質をコードする単離DNA断片：

より成る群から選択されたDNA断片。

【請求項2】 配列番号1および配列番号3より成る群から選択された配列を有することを特徴とする請求項1記載のDNA断片。

【請求項3】 前記TADG - 12 タンパク質が、配列番号2および配列番号4より成る群から選択されたアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項1記載のDNA断片。

【請求項4】 請求項1記載のDNA断片、および細胞における該DNA断片の発現に必要な調節要素を含むことを特徴とするベクター。

【請求項5】 前記DNA断片が、配列番号2および配列番号4より成る群から選択されたアミノ酸配列を有するTADG - 12 タンパク質をコードすることを特徴とする請求項4記載のベクター。

【請求項6】 請求項4記載のベクターで形質転換させた宿主細胞であって、該ベクターがTADG - 12 タンパク質を発現することを特徴とする宿主細胞。

【請求項7】 細菌細胞、哺乳類細胞、植物細胞および昆虫細胞より成る群から選択されることを特徴とする請求項6記載の宿主細胞。

【請求項8】 前記細菌細胞が大腸菌であることを特徴とする請求項7記載の宿主細胞。

【請求項9】 請求項1記載のDNA断片に対するアンチセンスオリゴヌクレオチド。

【請求項10】 単離および精製したTADG-12タンパク質であって：

- (a) TADG-12タンパク質をコードする単離DNA；
  - (b) 前記(a)の単離DNAに対してハイブリダイズし、かつTADG-12タンパク質をコードする単離DNA；さらに
  - (c) 遺伝暗号の縮重のためコドン配列において前記(a)および(b)の単離DNAと異なり、かつTADG-12タンパク質をコードする単離DNA；
- より成る群から選択されたDNAによってコードされることを特徴とする単離および精製したTADG-12タンパク質。

【請求項11】 配列番号2および配列番号4より成る群から選択されたアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項10記載の単離および精製したTADG-12タンパク質。

【請求項12】 請求項10記載のTADG-12タンパク質の発現を検出する方法であって：

- (a) 細胞から採取したmRNAを標識ハイブリダイゼーションプローブと接触させ；さらに
  - (b) 該プローブとmRNAとのハイブリダイゼーションを検出する；
- 各工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項13】 請求項10記載のTADG-12タンパク質に対する抗体

。

【請求項14】 個体における癌を診断する方法であって：

- (a) 前記個体から生物試料を採取し；さらに
- (b) 前記試料中におけるTADG-12タンパク質を検出し、ここで、該試料中のTADG-12タンパク質の存在が前記個体における癌の存在の指標となり、該試料中のTADG-12タンパク質の不在が該個体における癌の不在の指標となる；

各工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項15】 前記生物試料が、血液、尿、唾液、涙液、間質液、腹水、腫瘍組織生検試料および循環腫瘍細胞より成る群から選択されることを特徴とする請求項14記載の方法。

【請求項16】 前記TADG-12タンパク質の検出が、ノーザンブロット、ウェスタンブロット、PCR、ドットブロット、ELISA、サンドイッチアッセイ、ラジオイムノアッセイ、DNAアレイチップおよびフローサイトメトリーより成る群から選択された手段によってなされることを特徴とする請求項14記載の方法。

【請求項17】 前記癌が、卵巣癌、乳癌、肺癌、結腸癌、前立腺癌およびTADG-12が過剰発現されている他の癌より成る群から選択されることを特徴とする請求項14記載の方法。

【請求項18】 生物試料中における悪性過形成を検出する方法であって：  
(a) 前記試料からmRNAを単離し；さらに  
(b) 前記試料中におけるTADG-12mRNAを検出し、ここで、該試料中のTADG-12mRNAの存在が悪性過形成の存在の指標となり、該試料中のTADG-12mRNAの不在が悪性過形成の不在の指標となる；  
各工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項19】 前記TADG-12mRNAを基準情報と比較する工程をさらに含み、該比較が悪性過形成の診断を提供することを特徴とする請求項18記載の方法。

【請求項20】 前記TADG-12mRNAを基準情報と比較する工程をさらに含み、該比較が悪性過形成の治療を決定することを特徴とする請求項18記載の方法。

【請求項21】 前記TADG-12mRNAの検出がPCR増幅によってなされることを特徴とする請求項18記載の方法。

【請求項22】 前記PCR増幅が、配列番号28-31より成る群から選択されたプライマーを用いることを特徴とする請求項21記載の方法。

【請求項23】 前記生物試料が、血液、尿、唾液、涙液、間質液、腹水、腫瘍組織生検試料および循環腫瘍細胞より成る群から選択されることを特徴とする請求項18記載の方法。

【請求項24】 生物試料中における悪性過形成を検出する方法であって：  
(a) 前記試料からタンパク質を単離し；さらに

(b) 前記試料中におけるTADG-12タンパク質を検出し、ここで、該試料中のTADG-12タンパク質の存在が悪性過形成の存在の指標となり、該試料中のTADG-12タンパク質の不在が悪性過形成の不在の指標となる：

各工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項25】 前記TADG-12mRNAを基準情報と比較する工程をさらに含み、該比較が悪性過形成の診断を提供することを特徴とする請求項24記載の方法。

【請求項26】 前記TADG-12mRNAを基準情報と比較する工程をさらに含み、該比較が悪性過形成の治療を決定することを特徴とする請求項24記載の方法。

【請求項27】 前記検出が、TADG-12タンパク質に対する抗体への免疫親和性によってなされることを特徴とする請求項24記載の方法。

【請求項28】 前記生物試料が、血液、尿、唾液、涙液、間質液、腹水、腫瘍組織生検試料および循環腫瘍細胞より成る群から選択されることを特徴とする請求項24記載の方法。

【請求項29】 細胞中における内因性TADG-12mRNAの発現を阻害する方法であって：

発現に必要な要素に作動可能に結合した逆配向のTADG-12のDNA断片を包含するベクターを細胞に導入する工程を含み、ここで該細胞中における該ベクターの発現によってTADG-12アンチセンスmRNAが産生され、該TADG-12アンチセンスmRNAが内因性TADG-12mRNAに対してハイブリダイズして該細胞中における内因性TADG-12mRNAの発現を阻害する：

ことを特徴とする方法。

【請求項30】 細胞中におけるTADG-12タンパク質の発現を阻害する方法であって：

TADG-12に対する抗体またはその断片を細胞に導入する工程を含み、ここで該抗体のまたはその断片のTADG-12タンパク質への結合がTADG-12タンパク質の発現を阻害する：

ことを特徴とする方法。

【請求項31】 個体に対するターゲット治療の方法であって：

個体にターゲット部分および治療部分を有する化合物を投与する工程を含み、該ターゲット部分がTADG-12タンパク質に特異的である：

ことを特徴とする方法。

【請求項32】 前記ターゲット部分が、TADG-12タンパク質に対する抗体、およびTADG-12タンパク質に結合するリガンドまたはリガンド結合領域より成る群から選択されることを特徴とする請求項31記載の方法。

【請求項33】 前記TADG-12タンパク質が、配列番号2および配列番号4より成る群から選択されたアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項32記載の方法。

【請求項34】 前記治療部分が、放射性同位体、毒素、化学療法剤、免疫促進剤および細胞傷害性物質より成る群から選択されることを特徴とする請求項31記載の方法。

【請求項35】 前記個体が、卵巣癌、肺癌、前立腺癌、結腸癌およびTADG-12が過剰発現されている他の癌より成る群から選択される疾患に罹っていることを特徴とする請求項31記載の方法。

【請求項36】 個体にTADG-12に対するワクチン接種を行う方法であって、TADG-12活性を欠くTADG-12タンパク質またはその断片を該個体に接種する工程を含み、ここで、該TADG-12タンパク質またはその断片の接種が該個体において免疫反応を誘導して、個体にTADG-12に対するワクチン接種を行うことを特徴とする方法。

【請求項37】 前記個体が、癌を有し、癌を有する疑いが高く、あるいは癌になる危険性があることを特徴とする請求項36記載の方法。

【請求項38】 前記TADG-12タンパク質が、配列番号2および配列番号4より成る群から選択されたアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項36記載の方法。

【請求項39】 前記TADG-12断片が、配列番号8に示す配列を有することを特徴とする請求項36記載の方法。

【請求項40】 前記TADG-12断片が、配列番号35、36、55、56、83、84、97、98、119、120、122、123および136より成る群から選択された9残基断片であることを特徴とする請求項36記載の方法。

【請求項41】 TADG-12タンパク質の免疫原断片および適切なアジュバントを含むことを特徴とする免疫原組成物。

【請求項42】 前記TADG-12タンパク質の免疫原断片が、配列番号8に示す配列を有することを特徴とする請求項41記載の免疫原組成物。

【請求項43】 前記TADG-12タンパク質の免疫原断片が、配列番号35、36、55、56、83、84、97、98、119、120、122、123および136より成る群から選択された9残基断片であることを特徴とする請求項41記載の免疫原組成物。

**【発明の詳細な説明】****【0001】****発明の背景****関連出願への相互参照**

本出願は一部継続特許出願であり、1999年3月3日に出願の米国特許出願第09/261,416号に基づき米国特許法第120条による優先権を主張する。

**【0002】****発明の分野**

本発明は、概して、細胞生物学および新生物性疾患の診断の分野に関連する。より詳細には、本発明は、卵巣癌において過剰発現される、腫瘍関連差別的発現遺伝子-12 (Tumor Associated Differentially-Expressed Gene-12) (TAG-12) と称される膜貫通型セリンプロテアーゼに関するものである。

**【0003】****関連技術**

腫瘍細胞は、その原発部位から遊離される一連のプロテアーゼの発現に基づき、さらに離れた部位に移動して致死性をもたらす。その転移性は腫瘍細胞および腫瘍周囲のストローマ細胞によるプロテアーゼの異常発現パターンの結果である [1-3]。転移性となるほとんどの腫瘍において、腫瘍周囲の細胞外マトリックス成分を破壊し、基底膜を破壊して血流またはリンパ系へ接近し、さらに逆向きにその過程を繰り返して第二の宿主部位に定着することが必要である [3-6]。それら過程の全ては、同調プロテアーゼカスケードと現在思われているものに基づく。さらには、腫瘍細胞は、進行的に腫瘍を増殖させる増殖因子および血管新生促進因子を活性化するためにプロテアーゼの力を用いる [1]。従って、腫瘍関連プロテアーゼの同定、および治療手段としてのそれら酵素の阻害を目的とした多数の研究がなされてきた。より重要なこととして、多くのそれらプロテアーゼの分泌性および/高レベルでの発現は、患者血清における異常レベルでの検出を可能とし、例えば前立腺特異的抗原 (PSA) は前立腺癌の早期診断を可能とする [7]。

## 【0004】

プロテアーゼは、腫瘍増殖、腫瘍細胞の脱落およびターゲット器官の浸潤に直接関連している。各クラスのプロテアーゼは、限定はされないが、(1)最初の腫瘍領域の周囲のストロマの消化、(2)腫瘍細胞の解離をもたらす細胞接着分子の消化、および(3)転移性増殖および腫瘍増殖因子と血管新生促進因子の両方の活性化のための基底膜の浸潤に関連する。

## 【0005】

多くの形態の癌において、この10年間に診断および治療が劇的に改善されている。しかしながら、診断前に進んだステージに疾患を進行させるあいまいな兆候のため、卵巣癌の5年生存率は、依然として50%未満である。CA125抗原の利用は卵巣癌の再発をモニターするためのマーカーとして有用であるが、早期診断のための理想的マーカーであることは証明されていない。従って、細胞から分泌または遊離されかつ卵巣癌において高発現される新しいマーカーは、早期診断のためおよび卵巣癌患者における治療的介入のために有用な手段を提供することができる。

## 【0006】

先行技術は、癌において過剰発現されるプロテアーゼの完全な同定を欠き、従って、特に卵巣癌のための、早期疾患の指標として有用な腫瘍マーカーを欠いている。詳細には、膜貫通型セリンプロテアーゼであるTADG-12は、これまで核酸またはタンパク質の何れも同定されていなかった。本発明は、本技術分野における長年の必要性および要求を満たすものである。

## 【0007】

## 発明の概要

本発明は、腫瘍関連差別的発現遺伝子(TADG)ファミリーの新しいメンバーであるTADG-12、ならびに切断タンパク質産物をもたらし得るTADG-12の変異スプライシング形態(TADG-12V)について開示する。TADG-12は卵巣癌において過剰発現される膜貫通型セリンプロテアーゼである。TADG-12の完全なcDNAが同定されている(配列番号1)。その配列は454アミノ酸から成る推定上のタンパク質(配列番号2)をコードし、その

タンパク質は潜在的な膜貫通領域、LDL受容体様領域、スカベンジャー受容体システインリッチ領域およびセリンプロテアーゼ領域を包含する。それらの特性は、TAG-12が細胞表面において発現され、さらに治療および診断マーカーの分子ターゲットととして用いられ得ることを暗示する。

【0008】

本発明の1つの実施形態において、(a) TAG-12タンパク質をコードする単離DNA断片；(b)上記(a)の単離DNA断片に対してハイブリダイズし、かつTAG-12タンパク質をコードする単離DNA断片；(c)遺伝暗号の縮重のためコドン配列において上記(a)および(b)の単離DNA断片と異なり、かつTAG-12タンパク質をコードする単離DNA断片：より成る群から選択されたTAG-12タンパク質をコードするDNA断片を提供する。詳細には、そのDNA断片は、配列番号1または配列番号3に示される配列を有する。

【0009】

本発明の別の実施形態において、本発明のDNAを発現し得るベクター/宿主細胞を提供する。

【0010】

本発明のさらに別の実施形態において、(a) TAG-12タンパク質をコードする単離DNA；(b)上記(a)の単離DNAに対してハイブリダイズし、かつTAG-12タンパク質をコードする単離DNA；(c)遺伝暗号の縮重のためコドン配列において(c)上記(a)および(b)の単離DNAと異なり、かつTAG-12タンパク質をコードする単離DNA：より成る群から選択されたDNAによってコードされる単離および精製したTAG-12タンパク質を提供する。詳細には、そのTAG-12タンパク質は配列番号2または配列番号4に示されるアミノ酸配列を有する。

【0011】

本発明のさらに別の実施形態において、(a)細胞から採取したmRNAを標識ハイブリダイゼーションプローブと接触させ；さらに(b)そのプローブとmRNAとのハイブリダイゼーションを検出する：工程を含むTAG-12タン

パク質の発現を検出する方法を提供する。

【0012】

本発明は、さらに、この中に開示のTADG-12タンパク質またはmRNAを検出することによって癌または他の悪性過形成(malignant hyperplasia)を診断する方法を提供する。

【0013】

本発明のさらに別の実施形態において、細胞内でベクターが発現に必要な要素に作動可能に結合した逆配向のTADG-12のDNA断片を包含するように細胞にベクターを導入することによって細胞中における内因性TADG-12 mRNAの発現を阻害する方法を提供する。

【0014】

本発明のさらに別の実施形態において、TADG-12タンパク質またはその断片に対する抗体を導入することによって細胞中におけるTADG-12タンパク質の発現を阻害する方法を提供する。

【0015】

本発明のさらに別の実施形態において、TADG-12タンパク質に特異的なターゲット部分および治療部分を有する化合物を投与することによって、ターゲット治療の方法を提供する。詳細には、TADG-12タンパク質は、配列番号2または配列番号4に示すアミノ酸配列を有する。

【0016】

本発明は、さらに、TADG-12タンパク質またはその断片を個体に接種することによって、個体にTADG-12に対するワクチン接種を行う方法を提供する。詳細には、TADG-12タンパク質は、配列番号2または配列番号4に示すアミノ酸配列を有する。TADG-12断片として、配列番号8に示す配列を有するTADG-12Vの切断形態、およびTADG-12タンパク質の9残基断片から12残基断片までの断片が挙げられる。

【0017】

本発明のさらに別の実施形態において、TADG-12タンパク質の免疫原断片および適切なアジュバントを含む免疫原組成物を提供する。TADG-12断

片として、配列番号8に示す配列を有するTADG-12Vペプチドの切断形態、およびTADG-12タンパク質の9残基断片から12残基断片までの断片が挙げられる。

#### 【0018】

本発明の他の態様、特徴および利点は、以下の開示の目的で提供された本発明の現在の好ましい実施形態の記載から明らかであろう。

#### 【0019】

##### 図面の簡単な説明

本発明の上記の特徴、利点および目的、ならびに明らかになるであろう他のことが達成されかつ詳細に理解され得るように、添付図面に例示された本発明のある実施形態を参照することによって上記において簡単に要約された本発明についてのより詳細な説明を行う。それら図面は本明細書の一部を構成する。しかしながら、添付図面は本発明の好ましい実施形態を例示したものであり、本発明の範囲を限定することを意図していないことに注意すべきである。

#### 【0020】

図1Aは、重複セリンプロテアーゼプライマーを用いた約180bpの予測されたPCR産物および約300bpの予測外のPCR産物が、正常卵巣cDNAからは増幅されない(レーン1)が、卵巣腫瘍cDNAから異常に増幅される(レーン2)ことを示す。PCR反応のためのプライマー配列を水平の矢印で示唆する。図1Bは、TADG-12が180bpバンドからサブクローン化され、一方、大きな300bpバンドがTADG-12Vを指定することを示す。その配列において、180bp(ヌクレオチド配列が配列番号5、推測アミノ酸配列が配列番号6)が、追加の133塩基の挿入を有する300bpTADG-12V(ヌクレオチド配列が配列番号7、推定アミノ酸配列が配列番号8)と重複することが分かった。その挿入(垂直の矢印)はフレームシフトをもたらし、TADG-12Vの転写を生じさせて変異アミノ酸配列を有するTADG-12の切断形態を潜在的に産生する。

#### 【0021】

図2は、TADG-12のノーザンブロット分析において、2.4、1.6お

よび0.7 kbの3つの転写物が顕示されたことを示す。それら転写物は、卵巣腫瘍および癌細胞株において顕著なレベルで認められたが、正常卵巣では低レベルでのみ認められた。

#### 【0022】

図3はTADG-12を詳細に調べたRNAドットプロット(CLONTECH)を示す。最も転写量の多い心臓に代表されるように、50全てのヒト組織において、転写物が検出された(バックグラウンドレベルで)。被殻、扁桃、腎臓、肝臓、小腸、骨格筋および副腎が中間レベルのTADG-12転写物を有することも分かった。

#### 【0023】

図4は、オープンリーディングフレームの予測454アミノ酸(配列番号2)と共に、TADG-12のcDNA配列(配列番号1)を示す。ヌクレオチド配列内において、転写開始のためのコザックのコンセンサス配列およびポリアデニル化シグナルに下線を引いている。タンパク質配列において、潜在的な膜貫通領域を線で囲んでいる。セリンプロテアーゼ領域の触媒三つ組残基を丸で囲み、さらに潜在的なタンパク質分解部位として指定されている触媒領域の先頭に矢印で印をつけている。\*は転写を終結させる終止コドンを表す。

#### 【0024】

図5Aは、セリンプロテアーゼTMPRSS2(U75329、配列番号14)からの他のLDLR-Aモチーフ、補体サブユニットC8(P07358、配列番号9)、糖タンパク質GP300の2つのLDLR-A領域(P98164、配列番号11-12)およびセリンプロテアーゼのマトリプターゼ(matrilysin)(AF118224、配列番号10)と整列させて、TADG-12の35アミノ酸LDLR-A領域(配列番号13)を示す。TADG-12は他のセリンプロテアーゼと最も高い類似性を有し、TMPRSS2に対して54%類似し、マトリプターゼに対して53%類似する。高度に保存されたシステイン残基を太字で示す。図5Bは、ヒトマクロファージスカベンジャー受容体(P21757、配列番号16)、ヒトエンテロキナーゼ(P98073、配列番号19)、ウシエンテロキナーゼ(P21758、配列番号15)およびセリンプロテアーゼ

TMPRSS2 (配列番号18) 等の他のドメインファミリーメンバーと整列させて、TADG-12のSRCR領域 (配列番号17) を示す。前記と同様にTADG-12はその領域内においてプロテアーゼTMPRSS2に対して最も類似性を示し、43%類似する。図5Cは、プロテアーゼM (U62801、配列番号20)、トリプシノーゲンI (P07477、配列番号21)、血漿カリクレイン (P03952、配列番号22)、ヘプシン (P05981、配列番号25) およびTMPRSS2 (配列番号24) 等の他のヒトセリンプロテアーゼと整列させて、TADG-12のプロテアーゼ領域 (配列番号23) を示す。各配列のコンセンサス配列を示している。

#### 【0025】

図6は、TADG-12 (上段パネル) およびTADG-12V (下段パネル) について実施した半定量的PCR分析を示す。内部対照としての $\beta$ -チューブリン産物のPCR増幅と並行して、TADG-12またはTADG-12Vの増幅を実施した。TADG-12転写物は55の癌の内41において過剰発現していることが認められた。TADG-12V転写物は調べた22の癌の内8において過剰発現していることが認められた。上段パネルの試料は下段パネルの試料と必ずしも同じでないことに注意すべきである。

#### 【0026】

図7は、TADG-12特異的ペプチドに対して作成されたポリクロナールウサギ抗体を用いて実施した正常卵巣および卵巣腫瘍の免疫組織化学染色を示す。正常卵巣 (図7A) において顕著な染色は検出されなかった。調べた29の癌の内22において強い陽性染色が観察された。図7Bおよび図7Cは、それぞれ、漿液性癌および粘液性癌を示す。何れも腫瘍細胞の細胞質に亘り広汎な染色を示したが、ストロマ細胞は相対的に染色されずに残った。

#### 【0027】

図8は、細胞内でのTADG-12の経過を示す。正常環境において、TADG-12転写物は適切にスプライシングされて、得られたタンパク質は細胞表面において発現され、そこでプロテアーゼによって活性形態に分解される。残されたりリガンド結合領域の役割は特定されていないが、活性化、内在化またはその両

方のために他の分子に結合し得ることを想像できる。いくつかの腫瘍において生じるTADG-12Vの転写物は突然変異の結果でありおよび/またはmRNAの弱いプロセシングは機能的プロテアーゼ領域を持たないTADG-12の切断形態を産生し得る。さらには、その切断産物は腫瘍細胞表面における新規なエピトープを提供し得る。

#### 【0028】

##### 発明の詳細な説明

卵巣癌において発現されているセリンプロテアーゼを調べるため、それらタンパク質における最も高度に保存されたアミノ酸に対して設計された重複PCRプライマーを利用するPCRに基づく差別的表示技術を用いた[9]。結果として、腫瘍関連差別的発現遺伝子-12(TADG-12)と称される新規な細胞表面のマルチドメイン(multi-domain)セリンプロテアーゼを同定した。TADG-12は多くの卵巣腫瘍において過剰発現すると思われる。TADG-12の細胞外特性は、TADG-12特異的測定法を介した腫瘍の検出を可能とする。さらには、調べた腫瘍の35%において、TADG-12Vと称されるTADG-12のスプライシング変異体が上昇レベルで検出された。TADG-12Vは将来の治療的アプローチのための独特な腫瘍特異的ターゲットとなり得る変化したアミノ酸配列と共に、TADG-12の切断形態をコードする。

#### 【0029】

TADG-12 cDNAは2413塩基対長(配列番号1)であり、454アミノ酸タンパク質(配列番号2)をコードする。変異形態のTADG-12V(配列番号3)は294アミノ酸タンパク質(配列番号4)をコードする。TADG-12および/またはTADG-12V遺伝子を利用し得ることは、種々の応用につながる多くの研究を可能とする。例えば、卵巣癌、ならびに乳癌、前立腺癌、肺癌および結腸癌等の他の癌における診断的または治療的ターゲットとしてTADG-12および/またはTADG-12V遺伝子を用いることができる。

#### 【0030】

本発明に基づき、当業技術内の従来分子生物、微生物および組換えDNA技術を用いて差し支えない。そのような技術は文献に全て記載されている。例えば

、Maniatis, Fritsch & Sambrook, “Molecular Cloning”: A Laboratory Manual (1988); “DNA Cloning: A Practical Approach”, Volumes I and II (D.N. Glover ed. 1985); “Oligonucleotide Synthesis” (M.J. Gait ed. 1984); “Nucleic Acid Hybridization” [B.D.Hames & S.J.Higgins eds. (1985)]; “Transcription and Translation” [B.D. Hames & S.J. Higgins eds. (1984)]; “Animal Cell Culture” [R.I. Freshney, ed. (1986)]; “Immobilized Cells And Enzymes” [IRL Press, (1986)]; B.Perbal, “A Practical Guide To Molecular Cloning” (1984)を参照。

【0031】

従って、この中に出てきた場合に、以下の用語は次に示す定義を有する。

【0032】

この中で用いられた「cDNA」の用語は遺伝子のmRNA転写物のDNA複製物を称する。

【0033】

この中で用いられた「誘導アミノ酸配列」の用語は、cDNAにおける3塩基連鎖を読むことによって特定されるアミノ酸配列を意味する。

【0034】

この中で用いられた「ライブラリーをスクリーニングする」の用語は、標識プローブを用いて、適切な条件下においてプローブに対して相補的である配列が特定DNAライブラリー中に存在するか否かを調べる方法を称する。さらには、「ライブラリーをスクリーニングする」ことは、PCRによって実施しても差し支えない。

【0035】

この中で用いられた「PCR」の用語は、米国特許第4,683,195号および第4,683,202号(Mullis)の主題であるポリメラーゼ連鎖反応、ならびに当業界で現在公知である他の改良法を称する。

【0036】

この中に記載のアミノ酸は、好ましくは、「L」異性体である。しかしながら、ポリペプチドによる免疫グロブリン-結合の所望の機能的特性が維持される限

り、「D」異性体の残基もLアミノ酸残基を代用し得る。NH<sub>2</sub>はポリペプチドのアミノ末端に存在するフリーのアミノ基を称する。COOHはポリペプチドのカルボキシ末端に存在するフリーのカルボキシル基を称する。標準ポリペプチド命名法, J Biol. Chem., 243: 3552-59 (1969)を踏まえて、アミノ酸残基の省略形は当業界で公知である。

【0037】

この中で、全てのアミノ酸残基配列は、左から右への方向がアミノ末端からカルボキシ末端への従来の方向で示されていることに注意すべきである。さらには、アミノ残基配列の始めまたは終わりにおけるダッシュ記号は、1つ以上のアミノ酸残基から成る別の配列に対するペプチド結合を指示する。

【0038】

「レプリコン」は、インビボにおいてDNA複製の自律単位として機能する；すなわち、それ自体の制御下において複製し得る任意の遺伝要素（例えば、プラスミド、染色体、ウィルス）である。

【0039】

「ベクター」は、例えばプラスミド、ファージまたはコスミドのようなレプリコンであり、それに対して別のDNA断片が結合してその結合した断片の複製をもたらすことができる。

【0040】

「DNA分子」は、一本鎖形態または二本鎖螺旋形態の何れかのデオキシリボヌクレオチド（アデニン、グアニン、チミンまたはシトシン）の重合体を称する。DNA分子の用語は、その分子の1次および2次構造のみを称し、特定の3次構造に限定されない。従って、DNA分子の用語は、特に、直線DNA分子（例えば制限酵素断片）、ウィルス、プラスミドおよび染色体において認められる二本鎖DNAを含む。この中で構造について議論する際に、DNAの転写されない鎖（すなわちmRNAに相同な配列を有する鎖）に沿って5'から3'方向にある配列のみを与える通常のやり方に従う。

【0041】

「複製起点」は、DNA合成を開始するDNA配列を称する。

## 【0042】

DNA「コード配列」は、適切な調節配列の制御下に置かれた場合に、インピボにおいて、転写されかつポリペプチドに翻訳される二本鎖DNA配列を称する。5'（アミノ）末端における開始コドンおよび3'（カルボキシル）末端における翻訳終止コドンによって、コード配列の境界を特定する。コード配列として、限定はされないが、原核生物の配列、真核生物のmRNA由来のcDNA、真核生物（例えば、哺乳類）のDNA由来のゲノムDNA配列および合成DNA配列等が挙げられる。ポリアデニル化シグナルおよび転写終結配列は、通常、コード配列の3'側に位置する。

## 【0043】

転写および翻訳の制御配列は、宿主細胞においてコード配列の発現をもたらす、例えばプロモーター、エンハンサー、ポリアデニル化シグナル、ターミネーター等のDNA調節配列である。

## 【0044】

「プロモーター配列」は、細胞においてRNAポリメラーゼに結合しかつ下流（3'側）のコード配列の転写を開始し得るDNA調節領域である。本発明を特定する目的において、プロモーター配列は、その3'末端において転写開始部位に結合し、さらに、バックグラウンドを越える検出可能なレベルで転写を開始するのに必要な最小数の塩基または要素を含むように上流（5'側）に伸長する。プロモーター配列内に、転写開始部位、ならびにRNAポリメラーゼに対する結合を担うタンパク質結合部位（コンセンサス配列）が認められるであろう。真核生物のプロモーターは、必ずではないが、「TATA」ボックスおよび「CAT」ボックスを包含することが多い。原核生物プロモーターは、-10および-35コンセンサス配列に加えて、シャイン・ダルガーノ配列を包含する。

## 【0045】

「発現調節配列」は、別のDNA配列の転写および翻訳を制御および調節するDNA配列である。RNAポリメラーゼがコード配列をmRNAに転写し、さらにその転写物がそのコード配列によってコードされるタンパク質に翻訳される場合、コード配列は転写および翻訳調節配列の「制御下」にある。

## 【0046】

「シグナル配列」はコード配列の近くに包含されていて差し支えない。その配列は、宿主細胞に伝達してそのポリペプチドを細胞表面に方向付けしあるいはそのポリペプチドを媒体中に分泌するようなそのポリペプチドのN末端にあるシグナルペプチドをコードし、そのシグナルペプチドは、そのタンパク質が細胞から遊離する前に宿主細胞によって切り離される。シグナル配列は原核生物および真核生物に天然に存在する種々のタンパク質に関連することが分かるであろう。

## 【0047】

本発明のプロープについて言及する際にこの中で用いられる「オリゴヌクレオチド」の用語は、2つ以上、好ましくは3つより多くのリボヌクレオチドを包含する分子として定義される。その正確なサイズは、そのオリゴヌクレオチドの最終機能および用途に依存する多くの因子に基づくであろう。

## 【0048】

この中で用いられている「プライマー」の用語は、精製制限酵素消化物の場合のような自然に生じたものがあるか、あるいは合成したものであるかにかかわらず、核酸鎖に相補的であるプライマー伸長産物の合成が誘導されるような条件下、すなわち適切な温度およびpHにおいてヌクレオチドおよびDNAポリメラーゼのような誘発剤の存在下に置かれた場合に、合成の開始地点として働き得るオリゴヌクレオチドを称する。プライマーは一本鎖であっても二本鎖であっても差し支えなく、誘発剤の存在下において所望の伸長産物の合成を開始するのに十分な長さである必要がある。プライマーの正確な長さは、温度、プライマーの起源および使用する方法等の多くの因子に依存するであろう。例えば、診断に用いる場合には、ターゲット配列の複雑さに依存し、オリゴヌクレオチドプライマーは通常15 - 25以上のヌクレオチドを包含するが、それより少ないヌクレオチドを包含するものであっても差し支えない。

## 【0049】

この中のプライマーは、特定ターゲットDNA配列の異なる鎖に対して「実質的に」相補的であるように選択される。このことは、プライマーが各鎖とハイブリダイズするのに十分相補的でなければならないことを意味する。従って、プラ

イマー配列は、鋳型の正確な配列を反映する必要はない。例えば、プライマー配列の残り部分とその鎖に相補的であるプライマーの5'末端に、非相補的ヌクレオチド断片が結合していて差し支えない。あるいは、プライマー配列がその鎖に十分な相補性を有しまたはその鎖とハイブリダイズして伸長産物の合成のための鋳型を形成することを条件として、非相補的塩基またはより長い配列がプライマー中に散在していて差し支えない。

#### 【0050】

この中で用いられている「制限エンドヌクレアーゼ」および「制限酵素」の用語は、特異的ヌクレオチド配列部分またはその近くで二本鎖DNAを切断する酵素を称する。

#### 【0051】

外因性または異種DNAが細胞内に導入された場合、細胞はそのようなDNAによって「形質転換されている」。形質転換DNAは細胞のゲノム中に（共有結合して）一体化されても一体化されなくても差し支えない。例えば、原核細胞、酵母および哺乳類細胞において、形質転換DNAは、プラスミドのようなエピソーム要素上に保持されていて差し支えない。真核細胞に関して、安定に形質転換された細胞は、形質転換DNAが染色体に一体化されて染色体複製を介して娘細胞に受け継がれるような細胞である。その安定性は、真核細胞が、形質転換DNAを包含する娘細胞の集団から成る細胞株またはクローンを樹立する能力によって説明される。「クローン」は、有糸分裂によって単一の細胞または祖先に由来する細胞集団である。「細胞株」は何世代にも亘りインビトロで安定に増殖し得る初代細胞のクローンである。

#### 【0052】

ヌクレオチドの約75%以上（好ましくは約80%以上、さらに最も好ましくは約90%または95%以上）がDNA配列の特定された長さに亘り一致する場合、2つのDNA配列は「実質的に相同である」。配列データベースにおいて利用可能な標準ソフトウェアを用いて配列を比較することによって、あるいは、例えば、特定の系のために決定された厳しい条件下におけるサザンハイブリダイゼーション実験において、実質的に相同である配列を同定することができる。適切

なハイブリダイゼーション条件を決定することは、当業技術の範囲内である。例えば、Maniatis et al., supra; DNA Cloning, Vols. I & II, supra; Nucleic Acid Hybridization, supraを参照。

【0053】

DNA構築物の「異種」領域は、より大きなDNA分子内の同定可能なDNA断片であって、そのより大きな分子に関連して天然では認められないDNA断片である。従って、その異種領域が哺乳類遺伝子をコードする場合、通常、その遺伝子は、その由来生物のゲノム中ではその哺乳類遺伝子に隣接しないようなDNAに隣接するであろう。別の例において、コード配列は、そのコード配列自体が天然では認められないような構造である（例えば、ゲノムコード配列がイントロンまたは天然遺伝子と異なるコドンを含む合成配列を包含するようなcDNA）。対立遺伝子変異または自然に生じる突然変異事象は、この中で定義されたDNAの異種領域を生じさせない。

【0054】

そのような研究のために最も一般的に用いられる標識は、放射性元素、酵素、紫外線に暴露された際に蛍光を発する化学物質等である。多くの蛍光物質が公知であり、標識として用いることができる。蛍光物質として、例えば、フルオレセイン、ローダミン、オーラミン、テキサスレッド、AMCAブルーおよび黄燐イエロー(Lucifer Yellow)が挙げられる。特定検出物質は、ヤギにおいて調製しかつイソチオシアネートを介してフルオレセインに結合させた抗ウサギ抗体である。

【0055】

また、放射性元素または酵素を用いてタンパク質を標識しても差し支えない。任意の現在利用可能な測定法によって放射能標識を検出することができる。<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C、<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S、<sup>36</sup>Cl、<sup>51</sup>Cr、<sup>57</sup>Co、<sup>58</sup>Co、<sup>59</sup>Fe、<sup>90</sup>Y、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>Iおよび<sup>186</sup>Reから好ましいアイソトープを選択することができる。

【0056】

酵素標識も同様に有用であり、任意の現在利用されている比色、分光測光、蛍

光測光、電流滴定またはガス定量技術によって検出することができる。カルボジイミド、ジイソシアネート、グルタルアルデヒド等のような架橋分子を用いた反応によって、選択された粒子に酵素を結合させる。それら方法において用いられる多くの酵素は公知でありかつ利用できる。好ましい酵素は、ペロキシダーゼ、 $\alpha$ -グルクロニダーゼ、 $\alpha$ -D-グルコシダーゼ、 $\beta$ -D-ガラクトシダーゼ、ウレアーゼ、グルコースオキシダーゼとペロキシダーゼ、およびアルカリホスファターゼである。代用の標識物質および方法の開示を例示する目的で、米国特許第3,654,090号、第3,850,752号および第4,016,043号を参照する。

#### 【0057】

本技術分野において開発されかつ利用される特定測定系は受容体測定法として知られている。受容体測定法において、測定すべき物質を適切に標識し、次に、多くのその標識物質を特定細胞試験コロニーに接種して、その後、標識物質が細胞受容体に結合する割合を特定するために結合試験を行う。その方法において、物質間の親和性の違いを確かめることができる。

#### 【0058】

本技術分野において有用である測定法は、「シス/トランス」測定法として知られている。詳細には、その測定法は2つの遺伝子構築物を用い、第一の構築物は通常適切な細胞株にトランスフェクトされた場合に特定の関心受容体を連続的に発現するプラスミドであり、第二の構築物は受容体/リガンド複合体の制御下においてルシフェラーゼのような受容体を発現するプラスミドである。従って、例えば、特定受容体に対するリガンドとして化合物を評価するのが望ましい場合、第一のプラスミドは選択された細胞株において受容体の発現をもたらす構築物であり、一方、第二のプラスミドは特定受容体に対する応答要素が挿入されたルシフェラーゼ遺伝子に結合したプロモーターを有するであろう。試験された化合物が受容体のアゴニストである場合、そのリガンドは受容体と複合体を形成し、さらに得られた複合体はその反応要素に結合してルシフェラーゼ遺伝子の転写を開始させるであろう。得られた化学ルミネセンスを光度測定によって測定し、さらに用量反応曲線を作成して公知リガンドのものと比較する。前記プロトコルは

米国特許第4,981,784号に詳細に記載されている。

【0059】

この中で用いられている「宿主」の用語は、原核細胞のみでなく、酵母、植物および動物細胞等の真核細胞も含むことを意味する。本発明のヒトTADG-12タンパク質をコードする組換えDNA分子または遺伝子を用いて、当業者に周知な任意の技術を利用して、宿主を形質転換させて差し支えない。原核生物を形質転換させる目的で、本発明のヒトTADG-12タンパク質をコードする遺伝子のコード配列を包含するベクターを用いることが特に好ましい。原核宿主として、大腸菌、*S・ティムフィムリウム*(*S. typhimurium*)、セラシア・マルセツセンスおよび枯草菌が挙げられる。真核宿主として、ピッチア・パストリス(*Pic hia pastoris*)のような酵母、哺乳類細胞および昆虫細胞が挙げられる。

【0060】

通常、宿主との関連において、挿入DNA断片の効率的な転写を促進させるプロモーターを包含する発現ベクターを用いる。発現ベクターは、通常、複製起点、プロモーター、ターミネーター、ならびに形質転換細胞において表現型の選択をもたらす得る特定遺伝子を包含する。当業界で公知の手段に従って形質転換宿主を発酵および培養して、最適な細胞増殖を得ることができる。

【0061】

本発明は、実質的に純粋なTADG-12タンパク質をコードするDNAを含み、そのDNA鎖は、配列番号1または配列番号3に示す配列の少なくとも15連続ヌクレオチドから成る配列を包含するプローブに対して、非常に厳しい条件下でハイブリダイズするであろう。本発明のDNAによってコードされるタンパク質は、配列番号2または配列番号4に記載されたアミノ酸と80%以上(好ましくは85%以上、さらに最も好ましくは95%以上)の配列の一致を有するであろう。より好ましくは、そのDNAは、図4のヌクレオチド(配列番号1)のコード配列、またはそのような配列の縮重変異体を包含する。

【0062】

本発明のDNAがハイブリダイズするプローブは、図4に記載したヌクレオチド(配列番号1)のコード配列またはその相補体の好ましくは20連続ヌクレオ

チド、より好ましくは40ヌクレオチド、よりさらに好ましくは50ヌクレオチド、最も好ましくは100ヌクレオチド以上(100%まで)の配列から成る。そのようなプローブは、(a)細胞から採取したmRNAを標識ハイブリダイゼーションプローブと接触させ;さらに(b)そのプローブとmRNAとのハイブリダイゼーションを検出する工程を含む方法によってヒト細胞におけるTAGG-12の発現を検出するのに有用である。

【0063】

また、本発明は、配列番号1に記載のヌクレオチドの1から2413までのヌクレオチドの領域または配列番号3に記載のヌクレオチドの1から2544までのヌクレオチドの領域の15連続ヌクレオチド以上(好ましくは20、より好ましくは30、さらにより好ましくは50、最も好ましくは全てのヌクレオチド)の配列を包含する実質的に純粋なDNAを含む。また、本発明は、その新規なDNAに対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む。本発明の技術を考慮して、当業者は本DNAに対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを容易に開発することができる。

【0064】

「非常に厳しい条件」は、例えば約 $0.1 \times SSC$ の塩濃度による65 での洗浄条件のような、高温および低い塩濃度によって特徴付けされるDNAハイブリダイゼーションおよび洗浄の条件、あるいは機能的にそれに対応するような条件を意味する。例えば、非常に厳しい条件として:50%ホルムアミドの存在下における約42 でのハイブリダイゼーション;1%SDSを含有する約 $2 \times SSC$ による約65 での1回目の洗浄;続く約 $0.1 \times SSC$ による約65 での2回目の洗浄:が挙げられる。

【0065】

「実質的に純粋なDNA」は、その環境中のいくつかのまたは全ての分子の分離(部分精製または全精製)によって、あるいは請求DNAに隣接する配列の変化によって生じた、そのDNAが自然に生じた環境の一部ではないDNAを意味する。従って、その用語は、例えば、ベクター、自律複製プラスミドもしくはウイルスに組み込まれたまたは原核生物または真核生物のゲノムDNAに組み込ま

れた組換えDNA、あるいは他の配列から独立した分離分子（例えば、cDNA、またはポリメラーゼ連鎖反応（PCR）または制限エンドヌクレアーゼ消化によって作成されたゲノムもしくはcDNA断片）として存在する組換えDNAを含む。また、その用語は、例えば融合タンパク質のような追加のポリペプチド配列をコードするハイブリッド遺伝子の一部である組換えDNAを含む。また、その用語は、TAG-12の選択的スプライシング変異体（TAG-12V）をコードする、配列番号3に示すヌクレオチドの一部を包含する組換えDNAを含む。

#### 【0066】

DNAは、配列番号1または配列番号3に記載のヌクレオチドのコード配列に対して、約70%以上、好ましくは75%以上（例えば80%以上）、最も好ましくは90%以上の配列同一性を有する。その2つの配列間の同一性はマッチングまたは同一位置の数の一次関数である。例えば2つのDNA分子のそれぞれにおいて所定の位置がアデニンによって占められている場合のように、その2つの配列両方におけるサブユニット部位が同じ単量サブユニットで占められている場合に、その位置においてそれら2つの配列は同一である。例えば、長さが10ヌクレオチドの配列中の7つの位置が、第二の10ヌクレオチド配列中の対応する位置と同一である場合に、その2つの配列は70%配列同一性を有する。比較配列の長さは、通常、50ヌクレオチド以上であり、好ましくは60ヌクレオチド以上、より好ましくは75ヌクレオチド以上、最も好ましくは100ヌクレオチドである。通常、配列分析ソフトウェア（Sequence Analysis Software Package of the Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison, WI 53705）を用いて、配列同一性を測定する。

#### 【0067】

本発明は、ヒトTAG-12タンパク質をコードするDNA配列を包含するベクターを含み、そのベクターは、作動可能に結合したa)複製起点；b)プロモーター；およびc)TAG-12タンパク質をコードするDNA配列：を包含する宿主細胞において複製することができる。好ましくは、本発明のベクター

は、配列番号1または配列番号3に示すDNA配列の一部を包含する。「ベクター」は、例えばプラスミドまたはウィルス核酸のような複製可能な核酸構築物として定義される。TADG-12タンパク質をコードする核酸を増幅および/または発現させるためにベクターを用いることができる。発現ベクターは、細胞においてポリペプチドの発現をもたらす得る適切な制御配列に、ポリペプチドをコードする核酸配列が作動可能に結合した複製可能な構築物である。そのような制御配列の必要性は、選択された細胞および選択された形質転換法に依存して変化するであろう。通常、制御配列は、転写プロモーターおよび/またはエンハンサー、適切なmRNAリボソーム結合部位、ならびに転写および翻訳の終結を制御する配列を含む。適切な転写および調節制御シグナルを包含する発現ベクターを構築するために、当業者に周知の方法を用いることができる。例えば、Sambrook et al., 1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd Ed.), Cold Spring Harbor Press, N.Y. に記載の技術を参照のこと。転写制御配列が効率的に遺伝子の転写を制御する場合には、遺伝子およびその転写制御配列が「作動可能に結合している」と定義される。本発明のベクターとして、限定はされないが、プラスミドベクターおよびウィルスベクターが挙げられる。本発明の好ましいウィルスベクターは、レトロウィルス、アデノウィルス、アデノ随伴ウィルス、SV40ウィルスまたはヘルペスウィルスが挙げられる。

#### 【0068】

「実質的に純粋なタンパク質」は、天然において付随する成分の少なくともいくつから分離されたタンパク質を意味する。通常、インビボにおいて目的タンパク質と共に自然に生じたタンパク質および天然の他の有機分子を含まないで60重量%以上の純度である場合に、そのタンパク質は実質的に純粋である。好ましくは、調製物の純度は、75重量%以上、より好ましくは90重量%以上、さらに最も好ましくは99重量%以上である。例えば、天然供給源からの抽出によって；TADG-12ポリペプチドをコードする組換え核酸の発現によって；またはタンパク質の化学合成によって：実質的に純粋なTADG-12タンパク質を得ることができる。カラムクロマトグラフィー、TADG-12に特異的な抗体を用いたイムノアフィニティークロマトグラフィー、ポリアクリルアミドゲル

電気泳動またはHPLC分析のような任意の適切な方法によって純度を測定することができる。天然の状態では目的タンパク質に付随する不純物の少なくともいくつかから分離された場合には、そのタンパク質は天然において付随する成分を実質的に含まない。従って、化学的に合成されたまたはそれが天然において由来する細胞と異なる細胞系において産生されたタンパク質は、定義によれば、天然において付随する成分を実質的に含まない。従って、実質的に純粋なタンパク質は、大腸菌または他の原核生物において合成された原核生物タンパク質、あるいは自然に生じた任意の他の有機体を含む。

#### 【0069】

実質的に完全長のタンパク質に加えて、本発明はTADG-12タンパク質の断片（例えば抗原性断片）も含む。この中で用いられたポリペプチドに適用される「断片」は、一般的に10残基以上、より一般的に20残基以上、さらに好ましくは30残基以上（例えば50残基）の長さであるが、完全な無傷の配列より短い。例えば、天然のまたは組換えのTADG-12タンパク質の酵素消化によって、または特定されたTADG-12の断片をコードする発現ベクターを用いた組換えDNA技術によって、または化学合成によって、当業者に公知の方法でTADG-12タンパク質の断片を作成することができる。この中に記載の方法によって、候補断片がTADG-12の特性（例えばTADG-12に特異的な抗体に結合する）を示す能力を評価することができる。当業者に公知の標準プロトコルによって、精製TADG-12またはTADG-12の抗原性断片を用いて新規な抗体を作成しまたは既存の抗体を試験する（例えば、診断的測定における陽性コントロールとして）ことができる。免疫原としてTADG-12またはTADG-12の断片を用いることによって例えばウサギにおいて作成されたポリクロナール抗血清も本発明に含まれる。当業者に公知であるモノクロナールおよびポリクロナール抗体作成の標準プロトコルを用いる。組換えTADG-12 cDNAクローンを同定する能力、および公知のcDNAクローンからTADG-12 cDNAクローンを区別する能力について、本方法によって作成したモノクロナール抗体をスクリーニングすることができる。

#### 【0070】

さらには、例えば選択的mRNAスプライシングまたは選択的タンパク質プロセッシング事象の産物のような配列番号1または配列番号3の一部によって少なくともその一部がコードされているTADG-12タンパク質、あるいはTADG-12の配列の一部が欠失しているTADG-12タンパク質も本発明に含まれる。例えば標識、リガンドまたは抗原性を高める手段として作用するような別のポリペプチドに、その断片または完全TADG-12ポリペプチドを共有結合させて差し支えない。

#### 【0071】

また、本発明は、TADG-12に特異的に結合するポリクロナールまたはモノクロナール抗体も含む。本発明は、完全なモノクロナール抗体のみならず、例えばFabまたは(Fab)<sub>2</sub>断片；人工単鎖Fv分子；または例えばマウス由来の1つの抗体の結合特異性および例えばヒト由来の別の抗体の残りの部分を有する抗体のようなキメラ分子；等の免疫活性抗体断片も含む。

#### 【0072】

1つの実施形態において、抗体またはその断片を毒素、または放射性標識、非放射性同位体標識、蛍光標識、化学ルミネセンス標識、常磁性標識、酵素標識または比色標識等の検出可能な標識に結合させて差し支えない。適切な毒素の例として、ジフテリア毒素、シュドモナス内毒素A、リシンおよびコレラ毒素が挙げられる。適切な酵素標識として、リンゴ酸ヒドロゲナーゼ、ブドウ球菌ヌクレアーゼ、  
- 5 - ステロイドイソメラーゼ、アルコール脱水素酵素、  
- グリセロールリン酸デヒドロゲナーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、ペロキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、アスパラギナーゼ、グルコースオキシダーゼ、  
- ガラクトシダーゼ、リボヌクレアーゼ、ウレアーゼ、カタラーゼ、グルコース  
- 6 - リン酸デヒドロゲナーゼ、グルコアミラーゼ、アセチルコリンエステラーゼ等が挙げられる。適切な放射性標識として、<sup>3</sup>H、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S、<sup>14</sup>C等が挙げられる。

#### 【0073】

本発明の方法に基づいて、インビボ診断のために常磁性同位体を用いて差し支えない。磁気共鳴映像法において有用である元素について多くの例がある。イン

ピボでの核磁気共鳴映像法について検討するために、例えば、Schaefer et al., (1989) JACC 14, 472-480; Shreve et al., (1986) Magn. Reson. Med. 3, 336-340; Wolf, G.L., (1984) Physiol. Chem. Phys. Med. NMR 16, 93-95; Wesbey et al., (1984) Physiol. Chem. Phys. Med. NMR 16, 145-155; Runge et al., (1984) Invest. Radiol. 19, 408-415を参照。適切な蛍光標識の例として、イソチオシアネート標識、ローダミン標識、フィコエリスリン標識、フィコシアニン標識、アロフィコシアニン標識、オフタルデヒド (ophthaldehyde) 標識、フルオレサミン標識等が挙げられる。化学ルミネセンス標識の例として、ルミナル標識、イソルミナル標識、芳香族アクリジニウムエステル標識、イミダゾール標識、アクリジニウム塩標識、シュウ酸エステル標識、ルシフェリン標識、ルシフェラーゼ標識、エクオリン標識等が挙げられる。

#### 【0074】

当業者は、本発明に基づいて用い得る他の適切な標識を知っているであろう。当業者に公知の標準技術を用いて、それら標識を抗体またはその断片に結合させることができる。一般的な技術は、Kennedy et al., (1976) Clin. Chim. Acta 70, 1-31; and Schurs et al., (1977) Clin. Chim. Acta 81, 1-40に記載されている。後者の文献に記載のカップリング技術はグルタルアルデヒド法、過ヨウ素酸法、ジマレイミド法、m - マレイミドベンジル - N - ヒドロキシ - スクシニミドエステル法である。それら方法の全てが参照によってこの中に組み込まれる。

#### 【0075】

生物試料中のTADG - 12タンパク質を検出する方法も本発明の範囲内であり、その方法は、例えば放射性にタグ付けしたTADG - 12特異的抗体のような標識抗体と試料とを接触させ、さらにその抗体が試料中の成分に結合したか否かを特定する工程を含む。

#### 【0076】

この中に記載のように、本発明は多くの診断的利点および用途を提供する。例えば、本発明において開示されたTADG - 12タンパク質は、そのタンパク質が腫瘍細胞において高度に過剰発現されていることから、様々な組織における癌

を診断するのに有用である。TADG-12に特異的なエピトープに結合する抗体（またはその抗原結合断片）は癌または新生物の形質転換を診断するための生物試料中のTADG-12タンパク質を検出する方法において有用である。その方法は、癌を有することが疑わしい患者から生物試料（例えば細胞、血液、血漿、組織等）を採取し、さらにELISAのような標準免疫測定技術を用いてTADG-12を検出する工程を含む。生物試料に対する抗体結合は、その試料がTADG-12内のエピトープに特異的に結合する成分を含むことを示唆する。

#### 【0077】

同様に、標準のノーザンブロット法を用いて、当業者に公知の従来のノーザンハイブリダイゼーション技術に基づいて、癌を有することが疑わしい細胞または組織中におけるTADG-12 mRNAの相対的量を確かめることができる。そのノーザン法は、例えば、配列番号1または配列番号3に相補的である配列を有する完全長の一本鎖DNA、あるいは20以上（好ましくは30以上、より好ましくは50以上、さらに最も好ましくは100以上の連続ヌクレオチドの長さ）の上記DNA配列の断片の何れかを包含する放射性標識TADG-12 cDNAのようなハイブリダイゼーションプローブを用いる。当業者に周知の任意の多くの異なる方法によってそのDNAハイブリダイゼーションプローブを標識することができる。

#### 【0078】

免疫測定においてTADG-12タンパク質に対する抗体を用いて、新生物性形質転換の疑いが高い組織におけるTADG-12タンパク質発現レベルの上昇を検出することができる。ノーザンブロット法および分析を用いてそれら同じ用途を達成できる。

#### 【0079】

本発明は、(a) TADG-12タンパク質をコードする単離DNA断片；(b) 上記(a)の単離DNA断片に対してハイブリダイズし、かつTADG-12タンパク質をコードする単離DNA断片；(c) 遺伝暗号の縮重のためコドン配列において上記(a)および(b)の単離DNA断片と異なり、かつTADG-12タンパク質をコードする単離DNA断片：より成る群から選択されたTA

D G - 1 2 タンパク質をコードするDNA断片に関する。好ましくは、そのDNAは、配列番号1または配列番号3に示す配列を有する。より好ましくは、そのDNAは配列番号2または配列番号4に示すアミノ酸配列を有するT A D G - 1 2 タンパク質をコードする。

【0080】

また、本発明は、本発明のDNAを発現し得るベクターおよび/または宿主細胞に関する。好ましくは、そのベクターは、配列番号2または配列番号4に示すアミノ酸配列を有するT A D G - 1 2 タンパク質をコードするDNAを包含する。代表的宿主細胞として、細菌細胞、酵母細胞、哺乳類細胞および昆虫細胞が挙げられる。

【0081】

また、本発明は(a) T A D G - 1 2 タンパク質をコードする単離DNA ; (b) 上記(a)の単離DNAに対してハイブリダイズし、かつT A D G - 1 2 タンパク質をコードする単離DNA ; (c) 遺伝暗号の縮重のためコドン配列において上記(a)および(b)の単離DNAと異なり、かつT A D G - 1 2 タンパク質をコードする単離DNA : より成る群から選択されたDNAによってコードされる単離および精製したT A D G - 1 2 タンパク質に関する。好ましくは、その単離および精製したT A D G - 1 2 タンパク質は配列番号2または配列番号4に示すアミノ酸配列を有する。

【0082】

また、本発明は、(a) 細胞から採取したmRNAを標識ハイブリダイゼーションプローブと接触させ ; さらに(b) そのプローブとmRNAとのハイブリダイゼーションを検出する : 工程を含む、この中に記載のT A D G - 1 2 タンパク質の発現を検出する方法に関する。

【0083】

切断産物T A D G - 1 2 Vを含む、T A D G - 1 2 遺伝子および遺伝子産物のための多くの潜在的用途がある。

【0084】

本発明の1つの実施形態において、生物試料中のT A D G - 1 2 タンパク質を

検出することによって癌を診断する方法を提供しており、その方法において、TADG-12タンパク質の存在または不在が癌の存在または不在を示唆する。好ましくは、生物試料は、血液、尿、唾液、涙液、間質液、腹水、腫瘍組織生検試料および循環腫瘍細胞である。さらに好ましくは、TADG-12タンパク質の検出は、ノーザンブロット、ウェスタンブロット、ドットブロット、ELISAサンドイッチ法、ラジオイムノアッセイ、DNAアレイチップおよびフローサイトメトリーより成る群から選択される手段によって成される。卵巣癌、乳癌、肺癌、結腸癌、前立腺癌、およびTADG-12が過剰発現する他の癌を検出するためにそのような方法を用いる。

#### 【0085】

本発明の別の実施形態において、生物試料中におけるTADG-12タンパク質またはTADG-12 mRNAを検出することによって悪性過形成を検出する方法を提供する。さらに、TADG-12タンパク質またはTADG-12 mRNAを基準情報と比較することによって、診断または治療を提供することができる。好ましくは、TADG-12 mRNAを検出するためにPCR増幅を用い、ここで用いられるプライマーは配列番号28-31より成る群から選択される。さらに好ましくは、TADG-12タンパク質に対する抗体への免疫親和性によって、TADG-12タンパク質の検出を行う。

#### 【0086】

本発明のさらに別の実施形態において、発現に必要な要素に作動可能に結合した逆配向のTADG-12のDNA断片を包含するベクターを導入することによって、細胞中の内因性TADG-12 mRNAの発現を阻害する方法を提供する。結果として、そのベクターは細胞中においてTADG-12 アンチセンスmRNAを産生し、そのアンチセンスmRNAは内因性TADG-12 mRNAにハイブリダイズし、それによって内因性TADG-12 mRNAの発現を阻害する。

#### 【0087】

本発明のさらに別の実施形態において、TADG-12タンパク質またはその断片に対する抗体を導入することによってTADG-12タンパク質の発現を阻

害する方法を提供する。結果として、その抗体がTADG-12タンパク質またはその断片に結合することによって、TADG-12タンパク質の発現を阻害する。

#### 【0088】

切断形態を含むTADG-12遺伝子産物をターゲット治療のために用いることができる。詳細には、そのような治療を必要とする個体に、TADG-12タンパク質に特異的なターゲット部分および治療部分を有する化合物を投与する。好ましくは、ターゲット部分は、TADG-12タンパク質に治する抗体およびTADG-12タンパク質に結合するリガンドまたはリガンド結合領域より成る群から選択される。TADG-12タンパク質は、配列番号2および配列番号4に示すアミノ酸配列を有する。好ましくは、治療部分は、放射性同位体、毒素、化学療法剤、免疫促進剤および細胞傷害性物質より成る群から選択される。卵巣癌、肺癌、前立腺癌、結腸癌およびTADG-12が過剰発現する他の癌より成る群から選択される疾患を有する個体を治療するために、そのような方法を用いることができる。

#### 【0089】

本発明のさらに別の実施形態において、個体にTADG-12タンパク質またはその断片を接種することによって、個体にTADG-12に対するワクチン接種を行いまたは免疫反応を生じさせる方法を提供する。詳細には、TADG-12タンパク質またはその断片は、TADG-12活性を欠き、その接種によって個体中に免疫反応を誘導し、それによって個体にTADG-12に対するワクチン接種を行う。好ましくは、その個体は、癌を有し、癌を有する疑いが高く、あるいは癌になる危険性がある。さらに好ましくは、TADG-12タンパク質は、配列番号2または配列番号4に示すアミノ酸配列を有するが、一方TADG-12断片は配列番号8に示す配列を有しまたは9残基断片から20残基断片までの断片である。9残基断片の例として、配列番号35、36、55、56、83、84、97、98、119、120、122、123および136が示されている。

#### 【0090】

本発明のさらに別の実施形態において、TADG-12タンパク質の免疫原断片および適切なアジュバントを含む免疫原組成物を提供する。好ましくは、TADG-12タンパク質の免疫原断片は、配列番号8に示す配列を有し、あるいは9残基断片から20残基断片までの断片である。9残基断片の例として、配列番号35、36、55、56、83、84、97、98、119、120、122、123および136が示されている。

#### 【0091】

以下の実施例は、本発明の種々の実施形態を例示する目的で与えられており、何ら本発明を限定することを意図していない。

#### 【0092】

##### 実施例1

##### 組織採取および保存

患者の子宮摘出、両方の卵巣摘出、または新生組織の外科的除去の際に、標本を回収して氷上に置いた。特定組織試料の単離および同定のために、その標本を研修医の病理学者に渡した。最終的に、液体窒素中においてその試料を凍結し、実験記録に記入して、-80℃に保存した。時々、ヒト組織ネットワーク協会(CHTN)から追加の標本を得た。それら試料はCHTNによって調製され、ドライアイスに入れて出荷された。到達すると、それら標本を実験記録に記入して、-80℃で保存した。

#### 【0093】

##### 実施例2

##### mRNA抽出およびcDNA合成

69の卵巣腫瘍(4の良性腫瘍、10の低悪性潜在的腫瘍(low malignant potential tumor)、および55の癌)、ならびに10の正常卵巣を外科的標本から得て、液体窒素中において凍結した。American Type Culture Collection(Rockville, MD)から、ヒト卵巣癌細胞株SW626およびCaov3、ヒト乳癌細胞株MDA-MB-231およびMDA-MB-435Sを購入した。10%(v/v)ウシ胎児血清および抗生物質を補足したダルベッコの調製イーグル培地中において、サブコンフルエントになるまで細胞を培養した。

## 【0094】

以前記載された方法 [ 14 - 16 ] によって、mRNAの抽出およびcDNA合成を実施した。Ribosep mRNA単離キット(Becton Dickinson Labware)を用いてmRNAを単離した。その方法において、オリゴ(dT)セルロースを介したアフィニティークロマトグラフィーを用いて、組織溶解物からポリA+mRNAを直接単離した。第一鎖cDNA合成キット(CLONTECH)を用いたランダムヘキサマープライミング(random hexamer priming)によって、mRNA (5.0 μg) を用いてcDNAを合成した。

## 【0095】

実施例3

重複プライマーを用いたPCRおよびTADG-12 cDNAのクローニング

セリンプロテアーゼのための触媒三つ組残基の周囲のアミノ酸のコンセンサス配列のための重複プライマーとして、前進の5' - TGGGTIGTIACIGCIGCICA(CT)TG - 3' (配列番号26)、および反対の5' - A(AG)IA(AG)IGCIATITCITTTICC - 3' (配列番号27)を用いて、正常および癌のcDNAからの産物を比較した。プロメガT-ベクタープラスミド中に適切なバンドを連結し、さらに選択培地中で増殖するJM109細胞(Promega)を形質転換するためにその連結産物を用いた。個々のコロニーを選択した後、それらコロニーを培養し、さらにウィザードミニプレップDNA精製システム(Promega)によってプラスミドDNAを単離した。PRISM Ready Reaction Dye Deoxyターミネーターサイクルシーケンスキット(Applied Biosystems)を用いて、ヌクレオチド配列決定を実施した。直接cDNA配列決定のために、Applied Biosystemsモデル373A DNAシーケンスシステムを用いた。

## 【0096】

初代のTADG-12サブクローンを無作為に標識して、標準ハイブリダイゼーション技術 [ 11、15 ] によって卵巣腫瘍cDNAライブラリーをスクリーニングするためのプローブとして用いた。そのライブラリーは、ステージIII/グレードIIIの卵巣腺癌患者の癌細胞から単離したmRNAを用いて、ZAP

中において構築された。2315ヌクレオチドの長さの3つの重複するクローンを得た。遺伝子バンクESTデータベースにおいて利用可能なクローンとの相同性によって、ポリAテイルを含むほとんどの3'配列をコードする最後の99ヌクレオチドを同定した。

【0097】

#### 実施例4

##### 定量的PCR

定量的PCRを用いて、TADG-12のmRNA過剰発現を特定した。以前報告された方法[16]に基づいて、定量的PCRを実施した。オリゴヌクレオチドプライマーとして：TADG-12のために、前進の5'-GAAACATGTCCTTGCTCTCG-3'（配列番号28）、および反対の5'-ACTAACTTCCACAGCCTCCT-3'（配列番号29）；変異TADG-12のために、5'-TCCAGGTGGGTCTAGTTTCC-3'（配列番号30）、反対の5'-CTCTTTGGCTTGTACTTGCT-3'（配列番号31）； $\alpha$ -チューブリンのために、前進の5'-CGCATCAACGTGTA CTACAA-3'（配列番号32）、反対の5'-TACGAGCTGGTGGACTGAGA-3'（配列番号33）：を用いた。内部対照として $\alpha$ -チューブリンを利用した。PCR反応混合物は、最終容積25 $\mu$ l中に、反応バッファー(Promega)と共に、mRNA(50ng)から誘導されたcDNA、TADG-12遺伝子および $\alpha$ -チューブリン遺伝子のためのセンスおよびアンチセンスプライマー(5pmol)、dNTPs(200 $\mu$ mol)、 $^{32}$ PdCTP(5 $\mu$ Ci)、ならびにTaq DNAポリメラーゼ(0.25unit)を含む。 $\alpha$ -チューブリン遺伝子と並行させて、ターゲット配列を増幅した。サーマルサイクラー(Thermal Cycler)(Perkin-Elmer Cetus)において、PCRを30サイクル実施した。PCRの各サイクルは、94 $^{\circ}$ Cでの30秒間の変性、60 $^{\circ}$ Cでの30秒間のアニーリング、および72 $^{\circ}$ Cでの30秒間の伸長を含む。2%アガロースゲル上でPCR産物を分離し、さらに、ホスホイメージャー(Molecular Dynamics)を用いることによって、各PCR産物の放射能を特定した。本研究は、ホスホイメージャーによって測定した発現比(TADG-12/ $\alpha$ -チュ

ープリン)を用いて遺伝子発現を評価し、さらに、正常卵巣の平均値+2SDを、過剰発現を特定するためのカットオフ値として定義した。正常卵巣と腫瘍の平均値を比較するために、student's t testを用いた。

#### 【0098】

##### 実施例5

TADG-12/TADG-12Vの配列決定

クローニング部位近くのプラスミド特異的プライマーを利用して、使用説明書に従って、PRISM™ Ready Reaction Dye Deoxy™ターミネーター(Applied Biosystems cat#401384)を用いて配列決定反応を実施した。Centri-step™スピンカラム(Princeton Separation cat.# CS-901)を用いて、完了した配列決定反応から残留染色ターミネーターを除去した。Applied Biosystemsモデル373A DNAシーケンスシステムを利用可能であり、配列分析のために用いた。

#### 【0099】

##### 実施例6

抗体産生

TADG-12カルボキシ末端タンパク質配列であるNH<sub>2</sub>-WIHEQMERDLKT-COOH(WIHEQMERDLKT、配列番号34)由来の多価抗原ペプチドにポリリジンを結合させたものでホワイトニュージールウサギを免疫することによって、ポリクロナールウサギ抗体を作成した。そのペプチドは、完全長TADG-12中に存在するが、TADG-12Vには存在しない。RiBiアジュバント中において乳化させたペプチド(約100μg)でウサギを免疫した。続く追加免疫を6週間に3回実施し、さらに最終免疫の10日後に、ウサギの血清を採取した。ドットプロット分析によって血清を試験して、TADG-12特異的ペプチドに対する親和性を特定した。ウサギの免疫前血清を陰性対照として用いた。

#### 【0100】

##### 実施例7

ノーザンプロット分析

1%ホルムアルデヒド-アガロースゲルにmRNA(10μg)を装填し、電

気泳動し、さらにHybond-N+ナイロン膜(Amersham)上にプロットした。Prime-a-Gene標識システム(Promega)によって、 $^{32}\text{P}$ 標識cDNAプローブを作成した。上記と同じプライマーによって増幅したPCR産物をプローブのために用いた。プロットを30分間プレハイブリダイズさせ、さらにExpressHybハイブリダイゼーション溶液(CLONTECH)中の $^{32}\text{P}$ 標識cDNAプローブと、68℃で60分間ハイブリダイズさせた。-チューブリンプローブを用いて、相対的ゲル装填量を特定するための対照ハイブリダイゼーションを実施した。

#### 【0101】

同じハイブリダイゼーション法によって、正常なヒト組織；脾臓、胸腺、前立腺、精巣、卵巣、小腸、結腸および末梢血白血球、ならびに正常ヒト胎児組織；脳、肺、肝臓および腎臓を評価した(Human Multiple Tissue Northern Blot；CLONTECH)。

#### 【0102】

##### 実施例8

##### 免疫組織化学

Vectastain Elite ABCキット(Vector)を用いて、免疫組織化学染色を実施した。ホルマリン固定およびパラフィン包埋した標本をいつものように脱パラフィン処理し、さらに、0.01Mクエン酸ナトリウムバッファー(pH6.0)中においてマイクロ波熱処理を用いて処理した。加湿チャンバー中において30分間、正常なヤギ血清と共にその標本をインキュベートした。加湿チャンバー中において1時間、TADG-12ペプチド抗体をその標本と共にインキュベートした。リン酸緩衝生理食塩水で過剰な抗体を洗浄して除いた。ビオチン化抗ウサギIgGと共に30分間インキュベートした後、その標本をABC試薬(Vector)と共に30分間インキュベートした。ABC基質系(DAKO)を用いて最終産物を可視化し、さらに標本にする前にヘマトキシリンで対比染色した。一次抗体の代わりに正常血清を用いることによって、陰性対照を実施した。

#### 【0103】

##### 実施例9

TADG-12およびTADG-12変異体の触媒領域サブクロンの単離

卵巣腫瘍において発現されているセリンプロテアーゼを同定するために、それら酵素の触媒三つ組残基の保存領域に対して設計された重複PCRプライマーを用いた。鋳型としての正常卵巣または卵巣腫瘍の何れかのcDNAと共に、保存ヒスチジンの周囲の領域に対して設計されたセンスプライマー、および保存アスパラギン酸の周囲の領域に対して設計されたアンチセンスプライマーを用いた。卵巣腫瘍cDNAとの反応において、約180bpの予測されたサイズの強い産物のバンド、ならびにいくつかの卵巣腫瘍cDNAにおいて強い発現を示した約300kbの予測外のPCR産物が観察された(図1A)。それらPCR産物の両方をサブクローン化し、さらに配列決定した。180bpバンドからのサブクローンの配列(配列番号5)は、大きい方のバンドが133ヌクレオチドの追加の挿入部分を有することを除いて、その大きい方の予測外のバンドにおいて同定された配列(配列番号7)に相同であることが見出された(図1B)。適切なサイズの小さい方の産物は他の公知のプロテアーゼと相同であるタンパク質配列(配列番号6)をコードするが、一方、挿入部分(配列番号8)を有する配列はセリンプロテアーゼ触媒領域からのフレームシフト、およびそれに続く未熟な翻訳終止コドンにコードする。また、4つの各腫瘍由来のTADG-12変異体をサブクローン化し、さらにその配列を決定した。その配列および挿入部分は一致することが分かった。PCRによってそれらcDNA派生クローンのゲノム配列を増幅しかつ調べて、変異転写産物をもたらすであろう潜在的なAG/GTスプライシング部位を包含することがわかった。

#### 【0104】

#### 実施例10

##### TADG-12発現のノーザンプロット分析

転写サイズおよび組織分布を調べるため、触媒領域サブクローンを無作為に標識して、正常卵巣組織、卵巣腫瘍、ならびに癌細胞株SW626、CAOV3、HeLa、MD-MBA-435SおよびMD-MBA-231のノーザンプロットを調べるのに用いた(図2)。2.4、1.6および0.7kbの3つの転写物が観察された。正常卵巣および卵巣腫瘍のプロットにおいて、正常卵巣では最も小さい転写サイズの0.7kbのバンドの発現が低かったが、一方、漿液性

癌では全ての転写物(2.4、1.6および0.7 kb)が異常に存在していた。さらには、正常ヒト組織: 膵臓、胸腺、前立腺、精巣、卵巣、小腸、結腸および末梢血白血球、ならびに正常ヒト胎児組織: 脳、肺、肝臓および腎臓についてノーザンブロットを調べた。同じ3つの転写物が全てのそれら組織において弱く発現されていることが分かった(データは示していない)。相対的な試料装填量の対照として、ヒト - チューブリン特異的プローブを利用した。さらには、50のヒト組織についてRNAドットブロットを調べて、示された全ての組織において、そのクローンが弱く発現されていることを特定した(図3)。心臓において最も高いレベルであり、被殻、扁桃、腎臓、肝臓、小腸、骨格筋および副腎において中間レベルであることが分かった。

#### 【0105】

##### 実施例1.1

TADG-12の配列決定および特徴付け

プローブとして触媒領域サブクローンをを用い、標準ハイブリダイゼーション技術によって、ZAP中に構築された卵巣腫瘍cDNAライブラリーをスクリーニングした。プローブと重複した2つのクローンを同定し、さらに2316ヌクレオチドに相当することが分かった。遺伝子バンクのESTデータベースにおいて利用可能なクローンとの相同性によって、ポリ-アデニル化シグナルおよびポリ(A)テイルを包含するその転写物の3'末端の97ヌクレオチドを同定した。これによって、転写物の全サイズを2413塩基とした(配列番号1、図4)。それに続く遺伝子バンクのゲノムデータベースのスクリーニングは、TADG-12が17染色体からのコスミドに相同であることを示した。そのコスミドは登録番号AC015555を有する。

#### 【0106】

同定されたcDNAは、腫瘍関連差別的発現遺伝子12(TADG-12)と称される、454アミノ酸(配列番号2)から成る予測タンパク質を産生するであろうオープンリーディングフレームを包含する。その配列を遺伝子バンクデータベースに提出して、登録番号#AF201380を与えられた。相同配列プログラムを用いたところ、そのタンパク質は、アミノ末端細胞質領域、潜在的なII

型膜貫通領域およびそれに続く低密度リポタンパク質受容体様クラスA領域 (LDLR-A)、スカベンジャー受容体システインリッチ領域 (SRCR)、および細胞外セリンプロテアーゼ領域等のいくつかの領域を包含する。

#### 【0107】

<sup>TM</sup>Predプログラムによって予測したところ、TADG-12は潜在的な膜貫通領域として働き得る疎水性の高いアミノ酸領域を包含し、その領域は細胞質内にタンパク質のアミノ末端を残して、リガンド結合領域およびプロテアーゼ領域を細胞外空間に曝している。その一般構造はヘプシン [17] およびTMPRSS [18] 等の他の公知の膜貫通型プロテアーゼと一致し、さらにTADG-12はTMPRSS2プロテアーゼにその構造が特に類似している。

#### 【0108】

TADG-12のLDLR-A領域は、アミノ酸74から108の配列 (配列番号13) によって表される。LDLR-A領域は、当初は、LDL受容体内において、6不変システイン残基および高度に保存されたアスパラギン酸およびグルタミン酸残基を包含する一連の約40アミノ酸の反復配列として同定された [19]。その最初の同定以来、その領域に相同なモチーフを包含する多数の他の遺伝子が同定された [20]。マトリプターゼ、TMPRSS2およびいくつかの補体成分等のLDLR-Aモチーフを包含するいくつかのプロテアーゼが同定された。TADG-12と他の公知のLDLR-A領域との比較を図5Aに示す。それら配列の類似性は、44%から54%の類似または同一アミノ酸の範囲である。

#### 【0109】

LDLR-A領域に加えて、TADG-12は、SRCRファミリーのA群に対する相同性を有する別の細胞外リガンド結合領域を包含する。そのタンパク質領域のファミリーは、一般的に、約100アミノ酸から成る配列内の6システイン残基の保存によって定義される [23]。TADG-12のSRCR領域は、アミノ酸109から206によってコードされ (配列番号17)、その領域を他のSRCR領域と整列させることによって、36%から43%の間の類似性を有することが分かった (図5B)。しかしながら、TADG-12は6つの保存シ

ステイン残基の内4つしか持たない。このことは、プロテアーゼTMPRSS2において認められるSRCR領域に類似する。

#### 【0110】

また、TAG-12タンパク質は、プロテアーゼのチロシンファミリーのセリンプロテアーゼ領域を包含する。TAG-12の触媒領域を他の公知のプロテアーゼと整列させて図5Cに示す。それら配列間の類似性は、48%から55%の範囲であり、TAG-12はセリンプロテアーゼTMPRSS2に最も類似しており、TMPRSS2も膜貫通領域、LDLE-A領域およびSRCR領域を包含する。SRCR領域の下流側に、そのファミリーの多くのセリンプロテアーゼに共通の潜在的な分解/活性化部位である保存アミノ酸モチーフ(RIVGG)がある[25]。このことは、TAG-12が細胞表面に運ばれ、そこで、リガンド結合領域が細胞外分子と相互作用することができかつプロテアーゼ領域が潜在的に活性化されることを示唆する。また、TAG-12は保存システイン残基(アミノ酸208および243)を包含しており、その残基は、他のプロテアーゼにおいて、活性化プロテアーゼを他の細胞外領域に結合させ得るジスルフィド結合を形成する。

#### 【0111】

### 実施例12

#### 選択的転写産物の定量的PCRによる特徴付け

本来のTAG-12サブクローンは、最初の重複プライマーPCR実験において高発現されているとして同定された。133bpの挿入部分を有するTAG-12変異体(TAG-12V)もその最初の実験において容易に検出された。その発現の頻度、および正常卵巣と卵巣腫瘍との間でその発現レベルが異なるか否かを特定するために、既に認証されている半定量的PCR技術を用いた[16]。PCR分析において、放射性標識ヌクレオチドの存在下、TAG-12またはTAG-12Vの何れかに特異的な産物と共に、 $\alpha$ -チューブリンの産物を同時増幅させた。アガロースゲル電気泳動によってその産物を分離し、さらに各PCR産物の相対的装填量を定量化するためにホスホイメージャーを用いた。TAG-12およびTAG-12Vの両方におけるそれら増幅産物の例

を図6に示す。正常卵巢試料中において調べた - チューブリンに対するTADG-12 (またはTADG-12V) の平均比 $\pm 2SD$ として、正常な発現を定義した。その結果を表1および表2に要約する。TADG-12は評価した55の癌の内41において過剰発現されているが、一方、変異体は22の癌の内8において異常に高いレベルで存在することが認められた。student's t test によって特定したところ、それらの差は統計的に有意であった ( $p < 0.05$ )。

## 【0112】

## 【表1】

表1

卵巢癌におけるTADG-12の過剰発現の頻度

組織型	TADG-12 (%)
正常	0/16 (0%)
LMP-漿液性	3/6 (50%)
LMP-粘液性	0/4 (0%)
漿液性癌	23/29 (79%)
粘液性癌	7/12 (58%)
子宮内膜癌	8/8 (100%)
明細胞癌	3/6 (50%)
良性腫瘍	3/4 (75%)

過剰発現=正常卵巢の平均値よりも2標準偏差以上大きい

LMP=低悪性潜在的腫瘍

## 【表2】

表2

卵巢癌におけるTADG-12Vの過剰発現の頻度

組織型	TADG-12V (%)
正常	0/10 (0%)
LMP-漿液性	0/5 (0%)
LMP-粘液性	0/3 (0%)
漿液性癌	4/14 (29%)
粘液性癌	3/5 (60%)
子宮内膜癌	1/3 (33%)
明細胞癌	N/D

過剰発現=正常卵巢の平均値よりも2標準偏差以上大きい

LMP=低悪性潜在的腫瘍

### 実施例13

#### 卵巣腫瘍細胞におけるTADG-12の免疫組織化学分析

TADG-12タンパク質について調べるために、カルボキシ末端のアミノ酸配列中に位置するペプチドに対するポリクロナールウサギ抗血清を開発した。それら抗体を用いて、TADG-12タンパク質の発現レベルを調べ、さらに免疫学的局在決定によって正常卵巣および卵巣腫瘍細胞内でのその局在性を調べた。正常卵巣組織では全く染色が観察されなかった(図7A)が、一方、試験した29の腫瘍の内22において顕著な染色が観察された。図7Bおよび7Cにおいて、代表的腫瘍試料を示している。TADG-12は細胞質に亘り広汎に認められ、輸送経路中のタンパク質であることが示唆されることに注意すべきである。また、予想通り、それら腫瘍試料において、TADG-12は細胞表面において認められる。免疫組織化学分析のために開発されかつ用いられた抗体はTADG-12V切断タンパク質を検出しないことに注意すべきである。

#### 【0113】

免疫組織化学染色の結果を表3に要約する。29の卵巣腫瘍の内22がTADG-12の陽性染色を示したが、正常卵巣上皮はTADG-12抗原の発現を全く示さなかった。10の漿液性腺癌の内8つ、8の粘液性腺癌の内8つ、2の明細胞癌の内1つ、さらに6の子宮内膜癌の内4つが陽性染色を示した。

#### 【0114】

#### 【表3】

表3

事例	ステージ	組織	グレード	LN*	TADG-12	予後
1		正常卵巣			0-	
2		正常卵巣			0-	
3		正常卵巣			0-	
4		粘液性B		ND	0-	生存
5		粘液性B		ND	1+	生存
6	1a	漿液性LMP	G1	ND	1+	生存
7	1a	粘液性LMP	G1	ND	1+	生存
8	1a	粘液性CA	G1	ND	1+	生存
9	1a	粘液性CA	G2	ND	1+	生存
10	1a	子宮内膜CA	G1	ND	0-	生存
11	1c	漿液性CA	G1	N	1+	生存
12	1c	粘液性CA	G1	N	1+	生存
13	1c	粘液性CA	G1	N	2+	生存
14	1c	明細胞CA	G2	N	0-	生存
15	1c	明細胞CA	G2	N	0-	生存
16	2c	漿液性CA	G3	N	2+	生存
17	3a	粘液性CA	G2	N	2+	生存
18	3b	漿液性CA	G1	ND	1+	生存
19	3c	漿液性CA	G1	N	0-	死亡
20	3c	漿液性CA	G3	P	1+	生存
21	3c	漿液性CA	G2	P	2+	生存
22	3c	漿液性CA	G1	P	2+	不明
23	3c	漿液性CA	G3	ND	2+	生存
24	3c	漿液性CA	G2	N	0-	死亡
25	3c	粘液性CA	G1	P	2+	死亡
26	3c	粘液性CA	G2	ND	1+	不明
27	3c	粘液性CA	G2	N	1+	生存
28	3c	子宮内膜CA	G1	P	1+	死亡
29	3c	子宮内膜CA	G2	N	0-	生存
30	3c	子宮内膜CA	G2	P	1+	死亡
31	3c	子宮内膜CA	G3	P	1+	生存
32	3c	明細胞CA	G3	P	2+	死亡

LN\*=リンパ節: B=良性; N=陰性; P=陽性; ND=未実施

#### 実施例14

##### ペプチドの順位付け

ワクチンまたは免疫刺激のために、それぞれ9-マーから11-マーのTADG-12タンパク質を調べて、一般人口の上位8つのハプロタイプに対する各ペ

プチドの結合を順位付けした [ Parker et al., (1994) ]。 [http://www-bimas.dcrf.nih.gov/molbio/hla\\_bind/](http://www-bimas.dcrf.nih.gov/molbio/hla_bind/)において、その分析に用いられるコンピュータプログラムを見つけることができる。表4は、各ペプチドの特定HLA対立遺伝子に対する結合の予測半減期に基づくペプチドの順位付けを示す。より長い半減期は、そのペプチドと特定HLA分子とのより強い結合を示唆する。HLA対立遺伝子に対して強く結合するTADG-12ペプチドは推定上の免疫原であり、かつ個体にTADG-12に対するワクチン接種を行うために用いられる。

【0115】

【表4】

表4

## TADG-12ペプチド順位付け

HLA型&順位付け	開始	ペプチド	予測解離半減期	配列番号
HLA A0201				
1	40	ILSLLPFEV	685.783	35
2	144	AQLGFPSYV	545.316	36
3	225	LLSQWPWQA	63.342	37
4	252	WIITAAHCV	43.992	38
5	356	VLNHAAVPL	36.316	39
6	176	LLPDDKVTA	34.627	40
7	13	FSFRSLFGL	31.661	41
8	151	YVSSDNLRV	27.995	42
9	436	RVTSFLDWI	21.502	43
10	234	SLQFQGYHL	21.362	44
11	181	KVTALHHSV	21.300	45
12	183	TALHHSVYV	19.658	46
13	411	RLWKLVGAT	18.494	47
14	60	LILALAIGL	18.476	48
15	227	SQWPWQASL	17.977	49
16	301	RLGNDIALM	11.426	50
17	307	ALMKLAGPL	10.275	51
18	262	DLYLPKSWT	9.837	52
19	416	LVGATSEFI	9.001	53
20	54	SLGIIALIL	8.759	54
HLA A0205				
1	218	IVGGNMSLL	47.600	55
2	60	LILALAIGL	35.700	48

【表5】

表4 (続き)

3	35	AVAAQILSL	28.000	56
4	307	ALMKLAGPL	21.000	51
5	271	IQVGLVSL	19.040	57
6	397	CQGDSGGPL	16.800	58
7	227	SQWPWQASL	16.800	49
8	270	TIQVGLVSL	14.000	59
9	56	GIIALILAL	14.000	60
10	110	RVGGQNAVL	14.000	61
11	181	KVTALHHSV	12.000	45
12	151	YVSSDNLRV	12.000	42
13	356	VLNHAHVPL	11.900	39
14	144	AQLGFPSYV	9.600	36
15	13	FSFRSLFGL	7.560	41
16	54	SLGIIALIL	7.000	54
17	234	SLQFQGYHL	7.000	44
18	217	RIVGGNMSL	7.000	62
19	411	RLWKLVGAT	6.000	47
20	252	WIITAAHCV	6.000	38
HLA A1				
1	130	CSDDWKGHY	37.500	63
2	8	AVEAPFSFR	9.000	64
3	328	NSEENFPDG	2.700	65
4	3	ENDPPAVEA	2.500	66
5	98	DCKDGEDEY	2.500	67
6	346	ATEDGGDAS	2.250	68
7	360	AAVPLISNK	2.000	69

【表6】

表4 (続き)

8	153	SSDNLRVSS	1.500	70
9	182	VTALHHSVY	1.250	71
10	143	CAQLGFPSY	1.000	72
11	259	CVYDLYLPK	1.000	73
12	369	ICNHRDVYG	1.000	74
13	278	LLDNPAPSH	1.000	75
14	426	CAEVNKPVG	1.000	76
15	32	DADAVAAQI	1.000	77
16	406	VCQERRLWK	1.000	78
17	329	SEENFPDGK	0.900	79
18	303	GNDIALMKL	0.625	80
19	127	KTMCSDDWK	0.500	81
20	440	FLDWIHEQM	0.500	82
HLA A24				
1	433	VYTRVTSFL	280.000	83
2	263	LYLPKSWTI	90.000	84
3	169	EFVSIHLL	42.000	85
4	217	RIVGGNMSL	12.000	62
5	296	KYKPKRLGN	12.000	86
6	16	RSLFGLDDL	12.000	87
7	267	KSWTIQVGL	11.200	88
8	81	RSSFKCIEL	8.800	89
9	375	VYGGIISPS	8.000	90
10	110	RVGGQNAVL	8.000	91
11	189	VYVREGCAS	7.500	92
12	60	LILALAIGL	7.200	48

【表7】

表4 (続き)

13	165	QFREEFVSI	7.200	93
14	271	IQVGLVSL	7.200	57
15	56	GIIALILAL	7.200	60
16	10	EAPFSFRSL	7.200	94
17	307	ALMKLAGPL	7.200	51
18	407	CQERRLWKL	6.600	95
19	356	VLNHAAPVPL	6.000	39
20	381	SPSMLCAGY	6.000	96
HLA B7				
1	375	VYGGIISPS	200.000	97
2	381	SPSMLCAGY	80.000	98
3	362	VPLISNKIC	80.000	99
4	35	AVAAQILSL	60.000	56
5	373	RDVYGGIIS	40.000	100
6	307	ALMKLAGPL	36.000	51
7	283	APSHLVEKI	24.000	101
8	177	LPDDKVTAL	24.000	102
9	47	EVFSQSSSL	20.000	103
10	110	RVGGQNAVL	20.000	91
11	218	IVGGNMSLL	20.000	55
12	36	VAAQILSLL	12.000	104
13	255	TAAHCVYDL	12.000	105
14	10	EAPFSFRSL	12.000	94
15	138	YANVACAQL	12.000	106
16	195	CASGHVVTI	12.000	107
17	215	SSRIVGGNM	10.00	108
18	298	KPKRLGNDI	8.000	109

【表8】

表4 (続き)

19	313	GPLTFNEMI	8.000	110
20	108	CVRVGGQNA	5.000	111
HLA B8				
1	294	HSKYKPKRL	80.000	112
2	373	RDVYGGIIS	16.000	100
3	177	LPDDKVTAL	4.800	102
4	265	LPKSWTIQV	2.400	113
5	88	ELITRCDGV	2.400	114
6	298	KPKRLGNDI	2.000	109
7	81	RSSFKCIEL	2.000	89
8	375	VYGGIISPS	2.000	97
9	79	RCRSSFKCI	2.000	115
10	10	EAPFSFRSL	1.600	94
11	215	SSRIVGGNM	1.000	108
12	36	VAAQILSLL	0.800	104
13	255	TAAHCVYDL	0.800	116
14	381	SPSMLCAGY	0.800	98
15	195	CASGHVVTL	0.800	107
16	362	VPLISNKIC	0.800	99
17	138	YANVACAQL	0.800	106
18	207	ACGHRRGYS	0.400	117
19	154	SDNLRVSSL	0.400	118
20	47	EVFSQSSSL	0.400	103
HLA B2702				
1	300	KRLGNDIAL	180.000	119
2	435	TRVTSFLDW	100.000	120

【表9】

表4 (続き)

3	376	YGGIISPSM	100.000	121
4	410	RRLWKLVGA	60.000	122
5	210	HRRGYSSRI	60.000	123
6	227	SQWPWQASL	30.000	49
7	109	VRVGGQNAV	20.000	124
8	191	VREGCASGH	20.000	125
9	78	YRCRSSFKC	20.000	126
10	113	GQNAVLQVF	20.000	127
11	91	TRCDGVSDC	20.000	128
12	38	AQILSLLPF	20.000	129
13	211	RRGYSSRIV	18.000	130
14	216	SRIVGGNMS	10.000	131
15	118	LQVFTAASW	10.000	132
16	370	CNHRDVYGG	10.000	133
17	393	GVDSCQGDS	10.000	134
18	235	LQFQGYHLC	10.000	135
19	271	IQVGLVSLI	6.000	57
20	408	CQERRLWKL	6.000	95
HLA B4403				
1	427	AEVNKPGVY	90.000	136
2	162	LEGQFREEF	40.000	137
3	9	VEAPFSFRS	24.000	138
4	318	NEMIQPVCL	12.000	139
5	256	AAHCVYDLY	9.000	140
6	98	DCKDGEDEY	9.000	67
7	46	FEVFSQSSS	8.000	141

表4 (続き)

8	38	AQILSLLPF	7.500	129
9	64	LAIGLGIHF	7.500	142
10	192	REGCASGHV	6.000	143
11	330	EENFPDGKV	6.000	144
12	182	VTALHHSVY	6.000	145
13	408	QERRLWKLV	6.000	146
14	206	TACGHRRGY	4.500	147
15	5	DPPAVEAPF	4.500	148
16	261	YDLYLPKSW	4.500	149
17	33	ADAVAAQIL	4.500	150
18	168	EEFVSIDHL	4.000	151
19	304	NDIALMKLA	3.750	152
20	104	DEYRCVRVG	3.600	153

## 結論

本研究において、PCRに基づく方法によって、セリンプロテアーゼを同定した。ノーザンブロットによって、その遺伝子の最も大きな転写物は約2.4 kbであり、その転写物は卵巣腫瘍において高レベルで発現されているが、調べた他の全ての組織では最少レベルでのみ認められることが分かった。新規な細胞表面マルチドメインセリンプロテアーゼをコードする完全長cDNAをクローン化し、TADG-12と命名した。その454アミノ酸タンパク質は、細胞質領域、2型膜貫通領域、LDLR-A領域、SRCR領域およびセリンプロテアーゼ領域を包含する。半定量的PCR分析を用いて、TADG-12が多くの試験した腫瘍において過剰発現していることが分かった。免疫組織化学染色によって、場合によってそのタンパク質が腫瘍細胞の細胞表面に局在することを確認し、このことはTADG-12がいくつかの細胞外タンパク質分解機能を有することを示唆する。興味深いことに、TADG-12は調べた腫瘍の35%において存在する変異スプライシング形態も有する。その変異mRNAは、腫瘍細胞表面上に独特なペプチド配列をもたらす切断タンパク質を生じさせる。

## 【0116】

そのタンパク質は、そのマルチドメイン分子に対して独特な特性を与え得る2つの細胞外領域を包含する。プロテアーゼに関連したLDLR-A機能の正確な役割は不確かであるが、その領域がカルシウムおよび他の正電荷を持つリガンドに結合する能力を有することは確かである[21, 22]。このことは、プロテアーゼの調節またはそれに続くその分子の内在化において重要な役割を果たすであろう。SRCR領域は、当初はマクロファージスカベンジャー受容体内において同定され、かつリポタンパク質に結合することが機能的に説明された。SRCR領域はリポタンパク質に結合し得るのみならず、様々なポリヌクレオチド分子にも結合することができる[23]。より最近の研究において、免疫系の成熟に関連する細胞接着分子に対するプロテアーゼと異なる機能を有するタンパク質において、その領域ファミリーのメンバーが同定された。さらには、TMPRSS2と同様にTADG-12は、そのSRCR領域内に、6つの保存システイン領域の内4つしか持たない。その違いによって、独特なリガンド結合特性を与えるそれら領域の異なる構造特性がもたらされる。現時点では、CD6をコードするSRCRのみがよく証明されている。CD6の場合、SRCR領域は細胞接着分子ALCAMに結合する[23]。その細胞接着の仲介は、新規に同定されたSRCR領域に基づく新規な研究のための有用な出発点であるが、その領域の複数の機能の可能性を見過ごすことはできない。SRCR領域が細胞接着型の相互作用をし得ることは確かであるが、他の型のリガンドに結合する能力も考慮すべきである。

## 【0117】

現時点では、TADG-12の正確な役割は不確かなままである。プロテアーゼ領域に対する基質は同定されておらず、また細胞外LDLR-AおよびSECR領域のリガンドも同定されていない。図8は、本発明において開示された情報と共に、TADG-12の作用モデルを表す。TADG-12または切断TADG-12Vタンパク質の何れかの産生をもたらす2つの転写物が産生される。それらタンパク質の何れかが細胞表面に潜在的に標的化される。TADG-12は活性化セリンプロテアーゼになることができるが、TADG-12Vは細胞表面

にある場合には腫瘍特異的エピトープを表わすことができる切断タンパク質産物となる。

【0118】

今日における卵巣癌の治療における問題は、依然として初期ステージでの疾患の診断ができないことである。腫瘍細胞増殖に必須であるプロテアーゼのような疾患過程において初期に発現される遺伝子を同定すること [ 26 ] は、治療を改善するための重要なステップである。その知識によって、より早期ステージにおいてそのような癌を診断するために、例えばこの中に記載の T A D G - 1 2 プロテアーゼまたは以前記載されたプロテアーゼ等の高発現遺伝子を検出する方法を設計することが可能であろう。また、マーカーのパネルは、予測情報を提供し、さらに個々の患者のための治療計画をもたらすことができる。あるいは、プロテアーゼ等の酵素の阻害は卵巣癌の進行を遅くしかつ患者の生活の質を改善するための効果的な手段と成り得る。T A D G - 1 2 および T A D G - 1 2 V の他の特性も将来の研究に重要であると考えなければならない。細胞外リガンド結合領域は薬剤送達システムのための天然のターゲットである。T A D G - 1 2 V タンパク質に関連する異常なペプチドは、優れたターゲット薬剤の送達または免疫刺激をもたらすことができる。

【0119】

以下の引例がこの中で挙げられている

【表11】

1. Duffy, M.J., *Clin. Exp. Metastasis*, 10: 145-155, 1992.
2. Monsky, W.L., et al., *Cancer Res.*, 53: 3159-3164, 1993.
3. Powell, W.C., et al., *Cancer Res.*, 53: 417-422, 1993.
4. Neurath, H. The Diversity of Proteolytic Enzymes. In: R.J. Beynon and J.S. Bond (eds.), pp. 1- 13; *Proteolytic enzymes*, Oxford: IRL Press, 1989.
5. Liotta, L.A., et al., *Cell*, 64: 327-336, 1991.
6. Tryggvason, K., et al., *Biochem. Biophys. Acta.*, 907: 191-217, 1987.
7. McCormack, R.T., et al., *Urology*, 45:729-744, 1995.
8. Landis, S.H., et al., *CA Cancer J. Clin.*, 48: 6-29, 1998.
9. Tanimoto, H., et al., *Cancer Res.*, 57: 2884-2887, 1997.
10. Tanimoto, H., et al., *Cancer*, 86: 2074-2082, 1999.
11. Underwood, L.J., et al., *Cancer Res.*, 59:4435-4439, 1999.
12. Tanimoto, et al., Increased Expression of Protease M in Ovarian Tumors. *Tumor Biology*, In Press, 2000.
13. Tanimoto, H., et al., *Proc. Of the Amer. Assoc. for Canc. Research* 39:648, 1998.
14. Tanimoto, H., et al., *Tumor Biology*, 20: 88-98, 1999.
15. Maniatis, T., Fritsch, E.F. & Sambrook, J. *Molecular Cloning*, p. 309-361 Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1982.
16. Shigemasa, K., et al., *J. Soc. Gynecol. Invest.*, 4:95-102, 1997.
17. Leytus, S.P., et al., *Biochemistry*, 27: 1067-1074, 1988.
18. Paoloni-Giacobino, A., et al., *Genomics*, 44: 309-320, 1997.
19. Sudhof, T.C.; et al., *Science*, 228: 815-822, 1985.
20. Daly, N., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 6334-6338, 1995.

【表12】

21. Mahley, R.W., *Science* 240: 622-630, 1988.
22. Van Driel, I.R., et al., *J. Biol. Chem.* 262: 17443-17449, 1987.
23. Freeman, M., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 8810-8814, 1990.
24. Aruffo, A., et al., *Immunology Today* 18(10): 498-504, 1997.
25. Rawlings, N.D., and Barrett, A.J., *Methods Enzymology* 244: 19-61, 1994.
26. Torres-Rosado, A., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 7181-7185, 1993.

本明細書に記載の任意の特許または公報は本発明が属する分野の当業者のレベルを示唆する。各公報が参照によって組み込まれることを特異的にかつ個別に指示している場合と同範囲で、それら特許および公報は参照によってこの中に組み込まれる。

#### 【0120】

当業者は、本発明をうまく応用して、その目的を達成しかつ記載のおよび本来の結果ならびに利点を得ることを容易に理解するであろう。この中において方法、手段、処置、分子および特定化合物と共に記載した本実施例は、現在での好ましい実施形態の代表であり、例示であり、本発明の範囲に対する限定として見なされない。当業者はそれらに対する変化および他の用途を考えつき、それらは本請求の範囲によって特定された本発明の精神に含まれる。

#### 【配列表】

## SEQUENCE LISTING

<110> O'Brien, Timothy J.  
 Underwood, Lowell J.  
 <120> Transmembrane Serine Protease Overexpressed  
 in Ovarian Carcinoma and Uses Thereof  
 <130> D6192PCT  
 <141> 2000-03-02  
 <150> 09/261,416  
 <151> 1999-03-03  
 <160> 153  
  
 <210> 1  
 <211> 2413  
 <212> DNA  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <221> CDS  
 <223> entire cDNA sequence of TADG-12 gene  
 <400> 1

```

cgggaaaggg ctgtgtttat gggaaagccag taacactgtg gcctactatc 50
tcttccgtgg tgccatctac atttttggga ctcggaatt atgaggtaga 100
ggtggaggcg gagccggatg tcagagggtcc tgaatatagtc accatggggg 150
aaaatgatcc gcctgctgtt gaagccccct tctcattccg atcgcttttt 200
ggccttgatg atttgaaaat aagtcctgtt gcaccagatg cagatgctgt 250
tgctgcacag atcctgtcac tgctgccatt tgaagttttt tccaatcat 300
cgtcattggg gatcattgca ttgatattag cactggccat tggctctgggc 350
atccacttgc actgctcagg gaagtacaga tgctgctcat cctttaagtg 400
tatcgagctg ataactcgat gtgacggagt ctcgattgc aaagacgggg 450
aggacgagta ccgctgtgtc cgggtgggtg gtcagaatgc cgtgctccag 500
gtgttcacag ctgcttctgt gaagaccatg tgctccgatg actggaaggg 550
tcactacgca aatgttgcct gtgcccaact gggtttccca agctatgtga 600
gttcagataa cctcagagtg agctcgtctg aggggcagtt ccgggaggag 650
tttgtgtcca tcgatcacct cttgccagat gacaaggtga ctgcattaca 700
ccactcagta tatgtgaggg agggatgtgc ctctggccac gtggttacct 750
tgcagtgcac agcctgtggt catagaaggg gctacagctc acgcatcgtg 800
ggtggaaaca tgtccttctc ctctgcagtg ccctggcagg ccagccttca 850
gttccagggc taccacctgt gcgggggctc tgtcatcacg cccctgtgga 900
tcatcactgc tgcacactgt gtttatgact tgtacctccc caagtcattg 950
accatccagg tgggtctagt ttccctgttg gacaatccag ccccatccca 1000
cttgggtggag aagattgtct accacagcaa gtacaagcca aagaggctgg 1050
gcaatgacat cgcccttatg aagctggccg ggccactcac gttcaatgaa 1100
atgateccagc ctgtgtgcct gcccaactct gaagagaact tccccgatgg 1150
aaaagtgtgc tggacgtcag gatggggggc cacagaggat ggaggtgacg 1200
cctccccctgt cctgaaccac cgggccgtcc ctttgatttc caacaagatc 1250
tgcaaccaca gggacgtgta cggtggcatc atctccccct ccatgctctg 1300
cgcgggctac ctgacgggtg gcgtgaacag ctgccagggg gacagcgggg 1350
ggcccctggg gtgtcaagag aggaggctgt ggaagttagt gggagcgacc 1400
agctttggca tcggctgcgc agaggtgaac aagcctgggg tgtacaccgg 1450
tgtcacctcc ttctggact ggatccacga gcagatggag agagacctaa 1500
aaacctgaag aggaagggga caagtagcca cctgagttcc tgaggtgatg 1550
aagacagccc gatcctcccc tggactcccg tntaggaacc tgcacacgag 1600
cagacaccct tggagctctg agttccggca ccagtagcgg gcccgaaaga 1650
ggcacccttc catctgattc cagcacaacc ttcaagctgc tttttgtttt 1700
ttgttttttt gaggtggagt ctctctctgt tgcccaggct ggagtgcagt 1750

```

```

ggcgaataac cctgctcact gcagcctcgg cttccctggt tcaagcgatt 1800
ctcttgccctc agcttcccca gtagctggga ccacaggtgc cgcgccaccac 1850
acccaactaa tttttgtatt ttagtagag acagggtttc accatggttg 1900
ccaggctgct ctcaaaccctc tgacctcaa tgatgtgctt gcttcagcct 1950
cccacagtgc tgggattaca ggcattggcc accacgccta gcctcacgct 2000
cctttctgat cttcactaag aacaaaagaa gcagcaactt gcaaggggcg 2050
cctttccacac tgggtccatct ggttttctct ccagggctct gcaaaattcc 2100
tgacgagata agcagttatg tgacctcacg tgcaaagcca ccaacagcca 2150
ctcagaaaag acgcaccagc ccagaagtgc agaactgcag tcaactgcacg 2200
ttttcatctt tagggaccag aaccaaacc accctttcta cttccaagac 2250
ttattttcac atgtggggag gttaatctag gaatgactcg ttttaaggcct 2300
attttcatga tttctttgta gcatttggtg cttgacgtat tattgtcctt 2350
tgattccaaa taatatgttt cttccctca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2400
aaaaaaaaaa aaa 2413

```

```

<210>      2
<211>      454
<212>      PRT
<213>      Homo sapiens
<220>
<223>      complete amino acid sequence of TADG-12
              protein
<400>      2

```

```

Met Gly Glu Asn Asp Pro Pro Ala Val Glu Ala Pro Phe Ser Phe
      5      10
Arg Ser Leu Phe Gly Leu Asp Asp Leu Lys Ile Ser Pro Val Ala
      20      30
Pro Asp Ala Asp Ala Val Ala Ala Gln Ile Leu Ser Leu Leu Pro
      35      45
Phe Glu Val Phe Ser Gln Ser Ser Ser Leu Gly Ile Ile Ala Leu
      50      60
Ile Leu Ala Leu Ala Ile Gly Leu Gly Ile His Phe Asp Cys Ser
      65      75
Gly Lys Tyr Arg Cys Arg Ser Ser Phe Lys Cys Ile Glu Leu Ile
      80      90
Thr Arg Cys Asp Gly Val Ser Asp Cys Lys Asp Gly Glu Asp Glu
      95     105
Tyr Arg Cys Val Arg Val Gly Gly Gln Asn Ala Val Leu Gln Val
     110     120
Phe Thr Ala Ala Ser Trp Lys Thr Met Cys Ser Asp Asp Trp Lys
     125     135
Gly His Tyr Ala Asn Val Ala Cys Ala Gln Leu Gly Phe Pro Ser
     140     150
Tyr Val Ser Ser Asp Asn Leu Arg Val Ser Ser Leu Glu Gly Gln
     155     165
Phe Arg Glu Glu Phe Val Ser Ile Asp His Leu Leu Pro Asp Asp
     170     180
Lys Val Thr Ala Leu His His Ser Val Tyr Val Arg Glu Gly Cys
     185     195
Ala Ser Gly His Val Val Thr Leu Gln Cys Thr Ala Cys Gly His
     200     210
Arg Arg Gly Tyr Ser Ser Arg Ile Val Gly Gly Asn Met Ser Leu
     215     225
Leu Ser Gln Trp Pro Trp Gln Ala Ser Leu Gln Phe Gln Gly Tyr
     230     240

```

His	Leu	Cys	Gly	Gly	Ser	Val	Ile	Thr	Pro	Leu	Trp	Ile	Ile	Thr
				245					250					255
Ala	Ala	His	Cys	Val	Tyr	Asp	Leu	Tyr	Leu	Pro	Lys	Ser	Trp	Thr
				260					265					270
Ile	Gln	Val	Gly	Leu	Val	Ser	Leu	Leu	Asp	Asn	Pro	Ala	Pro	Ser
				275					280					285
His	Leu	Val	Glu	Lys	Ile	Val	Tyr	His	Ser	Lys	Tyr	Lys	Pro	Lys
				290					295					300
Arg	Leu	Gly	Asn	Asp	Ile	Ala	Leu	Met	Lys	Leu	Ala	Gly	Pro	Leu
				305					310					315
Thr	Phe	Asn	Glu	Met	Ile	Gln	Pro	Val	Cys	Leu	Pro	Asn	Ser	Glu
				320					325					330
Glu	Asn	Phe	Pro	Asp	Gly	Lys	Val	Cys	Trp	Thr	Ser	Gly	Trp	Gly
				335					340					345
Ala	Thr	Glu	Asp	Gly	Gly	Asp	Ala	Ser	Pro	Val	Leu	Asn	His	Ala
				350					355					360
Ala	Val	Pro	Leu	Ile	Ser	Asn	Lys	Ile	Cys	Asn	His	Arg	Asp	Val
				365					370					375
Tyr	Gly	Gly	Ile	Ile	Ser	Pro	Ser	Met	Leu	Cys	Ala	Gly	Tyr	Leu
				380					385					390
Thr	Gly	Gly	Val	Asp	Ser	Cys	Gln	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu
				395					400					405
Val	Cys	Gln	Glu	Arg	Arg	Leu	Trp	Lys	Leu	Val	Gly	Ala	Thr	Ser
				410					415					420
Phe	Gly	Ile	Gly	Cys	Ala	Glu	Val	Asn	Lys	Pro	Gly	Val	Tyr	Thr
				425					430					435
Arg	Val	Thr	Ser	Phe	Leu	Asp	Trp	Ile	His	Glu	Gln	Met	Glu	Arg
				440					445					450
Asp	Leu	Lys	Thr											

<210> 3  
 <211> 2544  
 <212> DNA  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <221> CDS  
 <223> entire cDNA sequence of TADG-12 variant gene  
 <400> 3

```

cgggaaaggg ctgtgtttat gggagccag taacactgtg gcctactatc 50
tcttccgtgg tgccatctac atttttggga ctccgggaatt atgaggtaga 100
ggtggaggcg gagccggatg tcagaggtcc tgaaatagtc accatggggg 150
aaaatgatcc gcctgctggt gaagcccct tctcattccg atcgcttttt 200
ggccttgatg atttgaaaat aagtctgtt gcaccagatg cagatgctgt 250
tgctgcacag atcctgtcac tgetgccatt tgaagttttt tcccaatcat 300
cgtcattggg gatcattgca ttgatattag cactggccat tggctctggg 350
atccacttgc actgctcagg gaagtacaga tgtcgcctcat cctttaagtg 400
tatcgagctg ataactcgat gtgacggagt ctccgattgc aaagacgggg 450
aggacgagta ccgctgtgtc cgggtgggtg gtcagaatgc cgtgctccag 500
gtgttcacag ctgcttcgtg gaagaccatg tgctccgatg actggaaggg 550
tcaactacgca aatgttgccct gtgcccaact gggtttcca agctatgtaa 600
gttcagataa cctcagagtg agctcgctgg aggggcagtt ccgggaggag 650
tttgtgtcca tcgatcacct cttgccagat gacaaggtga ctgcattaca 700
ccactcagta tatgtgaggg agggatgtgc ctctggccac gtggttacct 750
tgcagtgcac agcctgtggt catagaaggg gctacagctc acgcatcgtg 800
  
```

```

gggtgaaaca tgtccttget ctgcagtggt ccctggcagg ccagccttca 850
gttcaggggc taccacctgt gcgggggctc tgtcatcacg cccctgtgga 900
tcatcactgc tgcacactgt gtttatgaga ttgttagctcc tagagaaaagg 950
gcagacagaa gaggaaggaa gctcctgtgc tggaggaaac ccacaaaaat 1000
gaaaggacct agaccttccc atagctaatt ccagtggacc atgttatggc 1050
agatacagggc ttgtacctcc ccaagtcatg gaccatccag gtgggtctag 1100
tttccctggt ggacaatcca gccccatccc acttgggtgga gaagattgtc 1150
taccacagca agtacaagcc aaagaggctg ggcaatgaca tcgcccttat 1200
gaagctggcc gggccactca cgttcaatga aatgatccag cctgtgtgcc 1250
tgcccaactc tgaagagaac tccccgatg gaaaagtgtg ctggacgtca 1300
ggatgggggg ccacagagga tggagggtgac gcctcccctg tcctgaacca 1350
cgcgcccgtc cctttgattt ccaacaagat ctgcaaccac agggacgtgt 1400
acgggtggcat catctcccc tccatgctct gcgcgggcta cctgacgggt 1450
ggcgtggaca gctgccaggg ggacagcggg gggcccctgg tgtgtcaaga 1500
gaggaggctg tggagtttag tgggagcgc cagctttggc atcggctgcg 1550
cagaggtgaa caagcctggg gtgtacacc gtgtcacctc ctctctggac 1600
tggatccacg agcagatgga gagagaccta aaaacctgaa gaggaagggg 1650
acaagtagcc acctgagttc ctgagggtgat gaagacagcc cgatcctccc 1700
ctggactccc gtgtaggaac ctgcacacga gcagacaccc ttggagctct 1750
gagttccggc accagtagcg ggcccgaag aggcaccctt ccatctgatt 1800
ccagcacaac cttcaagctg ctttttgttt tttgttttt tgagggtggag 1850
tctcgctctg ttgccagggc tggagtgcag tggcgaata cctgctcac 1900
tgcagcctcc gcttccctgg ttcaagcgat tctcttgcct cagcttcccc 1950
agttagctggg accacaggtg cccgccacca caccacaacta atttttgtat 2000
ttttagtaga gacagggttt caccatgttg gccaggctgc tctcaaacc 2050
ctgacctcaa atgatgtgcc tgcttcagcc tcccacagtg ctgggattac 2100
aggcatgggc caccacgctt agcctcacgc tcttttctga tcttactaa 2150
gaacaaaaga agcagcaact tgcaagggcg gcctttcca ctggtccatc 2200
tggttttctc tccagggctt tgcaaaattc ctgacgagat aagcagttat 2250
gtgacctcac gtgcaaagcc accaacagcc actcagaaaa gacgcaccag 2300
cccagaagtg cagaactgca gtcactgcac gtttcatct ttagggacca 2350
gaaccaaacc caccctttct acttccaaga cttattttca catgtgggga 2400
ggttaatcta ggaatgactc gtttaaggcc tattttcatg atttctttgt 2450
agcatttggg gcttgacgta ttattgtcct ttgattccaa ataataatgtt 2500
tccttccctc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa 2544

```

```

<210> 4
<211> 294
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> complete amino acid sequence of TADG-12
variant protein
<400> 4

```

```

Met Gly Glu Asn Asp Pro Pro Ala Val Glu Ala Pro Phe Ser Phe
5 10 15
Arg Ser Leu Phe Gly Leu Asp Asp Leu Lys Ile Ser Pro Val Ala
20 25 30
Pro Asp Ala Asp Ala Val Ala Ala Gln Ile Leu Ser Leu Leu Pro
35 40 45
Phe Glu Val Phe Ser Gln Ser Ser Ser Leu Gly Ile Ile Ala Leu
50 55 60
Ile Leu Ala Leu Ala Ile Gly Leu Gly Ile His Phe Asp Cys Ser
65 70 75
Gly Lys Tyr Arg Cys Arg Ser Ser Phe Lys Cys Ile Glu Leu Ile

```

	80		85		90
Thr Arg Cys Asp	Gly Val Ser Asp Cys	Lys Asp Gly Glu Asp	Glu		
	95		100		105
Tyr Arg Cys Val	Arg Val Gly Gly Gln	Asn Ala Val Leu Gln	Val		
	110		115		120
Phe Thr Ala Ala	Ser Trp Lys Thr Met	Cys Ser Asp Asp Trp	Lys		
	125		130		135
Gly His Tyr Ala	Asn Val Ala Cys Ala	Gln Leu Gly Phe Pro	Ser		
	140		145		150
Tyr Val Ser Ser	Asp Asn Leu Arg Val	Ser Ser Leu Glu Gly	Gln		
	155		160		165
Phe Arg Glu Glu	Phe Val Ser Ile Asp	His Leu Leu Pro Asp	Asp		
	170		175		180
Lys Val Thr Ala	Leu His His Ser Val	Tyr Val Arg Glu Gly	Cys		
	185		190		195
Ala Ser Gly His	Val Val Thr Leu Gln	Cys Thr Ala Cys Gly	His		
	200		205		210
Arg Arg Gly Tyr	Ser Ser Arg Ile Val	Gly Gly Asn Met Ser	Leu		
	215		220		225
Leu Ser Gln Trp	Pro Trp Gln Ala Ser	Leu Gln Phe Gln Gly	Tyr		
	230		235		240
His Leu Cys Gly	Gly Ser Val Ile Thr	Pro Leu Trp Ile Ile	Thr		
	245		250		255
Ala Ala His Cys	Val Tyr Glu Ile Val	Ala Pro Arg Glu Arg	Ala		
	260		265		270
Asp Arg Arg Gly	Arg Lys Leu Leu Cys	Trp Arg Lys Pro Thr	Lys		
	275		280		285
Met Lys Gly Pro	Arg Pro Ser His Ser				
	290				

<210> 5  
 <211> 174  
 <212> DNA  
 <213> Artificial sequence  
 <220>  
 <223> nucleotide sequence of the subclone containing  
 the 180 bp band from the PCR product for TADG-12  
 <400> 5

```

tgggtggtga cggcggcgca ctgtgtttat gacttgtacc tcccgaagtc 50
atggaccatc caggtggggtc tagtttccct gttggacaat ccagcccat 100
cccacttggg ggagaagatt gtctaccaca gcaagtacaa gccaaagagg 150
ctgggcaacg acatcgccct ccta 174
  
```

<210> 6  
 <211> 58  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220>  
 <223> deduced amino acid sequence of the 180 bp band  
 from the PCR product for TADG-12  
 <400> 6

Trp Val Val Thr	Ala Ala His Cys Val	Tyr Asp Leu Tyr Leu	Pro
	5	10	15
Lys Ser Trp Thr	Ile Gln Val Gly Leu	Val Ser Leu Leu Asp	Asn

Pro Ala Pro Ser His Leu Val Glu Lys Ile Val Tyr His Ser Lys  
 20 25 30  
 35 40 45  
 Tyr Lys Pro Lys Arg Leu Gly Asn Asp Ile Ala Leu Leu  
 50 55

<210> 7  
 <211> 328  
 <212> DNA  
 <213> Artificial sequence  
 <220>  
 <223> nucleotide sequence of the subclone containing  
 the 300 bp band from the PCR product for  
 TADG-12 variant, which contains an additional  
 insert of 133 bases  
 <400> 7

gggtggtgac ggcggcgcac tgtgtttatg agattgtagc tcctagagaa 50  
 agggcagaca gaagaggaag gaagctcctg tgctggagga aaccacaaa 100  
 aatgaaagga cctagacctt cccatagcta attccagtgg accatgttat 150  
 ggcagataca ggcttgtacc tcccgaagtc atggaccatc caggtggggtc 200  
 tagtttccct gttggacaat ccagcccat cccacttggg ggagaagatt 250  
 gtctaccaca gcaagtacaa gccaaagagg ctgggcaacg acatcgccct 300  
 cctaatacct agtgcggccg cctgcagg 328

<210> 8  
 <211> 42  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220>  
 <223> deduced amino acid sequence of the 300 bp band  
 from the PCR product for TADG-12 variant, which is  
 a truncated form of TADG-12  
 <400> 8

Val Val Thr Ala Ala His Cys Val Tyr Glu Ile Val Ala Pro Arg  
 5 10 15  
 Glu Arg Ala Asp Arg Arg Gly Arg Lys Leu Leu Cys Trp Arg Lys  
 20 25 30  
 Pro Thr Lys Met Lys Gly Pro Arg Pro Ser His Ser  
 35 40

<210> 9  
 <211> 34  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <221> DOMAIN  
 <223> LDLR-A domain of the complement subunit C8  
 (Compc8)  
 <400> 9

Cys Glu Gly Phe Val Cys Ala Gln Thr Gly Arg Cys Val Asn Arg  
 5 10 15  
 Arg Leu Leu Cys Asn Gly Asp Asn Asp Cys Gly Asp Gln Ser Asp  
 20 25 30

Glu Ala Asn Cys

<210> 10  
 <211> 34  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <221> DOMAIN  
 <223> LDLR-A domain of the serine protease  
 matriptase (Matr)  
 <400> 10

Cys Pro Gly Gln Phe Thr Cys Arg Thr Gly Arg Cys Ile Arg Lys  
                   5                  10                  15  
 Glu Leu Arg Cys Asp Gly Trp Ala Asp Cys Thr Asp His Ser Asp  
                   20                  25                  30  
 Glu Leu Asn Cys

<210> 11  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <221> DOMAIN  
 <223> LDLR-A domain of the glycoprotein GP300  
 (Gp300-1)  
 <400> 11

Cys Gln Gln Gly Tyr Phe Lys Cys Gln Ser Glu Gly Gln Cys Ile  
                   5                  10                  15  
 Pro Ser Ser Trp Val Cys Asp Gln Asp Gln Asp Cys Asp Asp Gly  
                   20                  25                  30  
 Ser Asp Glu Arg Gln Asp Cys  
                   35

<210> 12  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <221> DOMAIN  
 <223> LDLR-A domain of the glycoprotein GP300  
 (Gp300-2)  
 <400> 12

Cys Ser Ser His Gln Ile Thr Cys Ser Asn Gly Gln Cys Ile Pro  
                   5                  10                  15  
 Ser Glu Tyr Arg Cys Asp His Val Arg Asp Cys Pro Asp Gly Ala  
                   20                  25                  30  
 Asp Glu Asn Asp Cys  
                   35

<210> 13  
 <211> 35

```

<212>      PRT
<213>      Homo sapiens
<220>
<221>      DOMAIN
<222>      74..108
<223>      LDLR-A domain of TADG-12
<400>      13

Cys Ser Gly Lys Tyr Arg Cys Arg Ser Ser Phe Lys Cys Ile Glu
      5                               10                15
Leu Ile Thr Arg Cys Asp Gly Val Ser Asp Cys Lys Asp Gly Glu
      20                               25                30
Asp Glu Tyr Arg Cys
      35

<210>      14
<211>      36
<212>      PRT
<213>      Homo sapiens
<220>
<221>      DOMAIN
<223>      LDLR-A domain of the serine protease TMPRSS2
      Tmprss2
<400>      14

Cys Ser Asn Ser Gly Ile Glu Cys Asp Ser Ser Gly Thr Cys Ile
      5                               10                15
Asn Pro Ser Asn Trp Cys Asp Gly Val Ser His Cys Pro Gly Gly
      20                               25                30
Glu Asp Glu Asn Arg Cys
      35

<210>      15
<211>      101
<212>      PRT
<213>      Bos taurus
<220>
<221>      DOMAIN
<223>      SRCR domain of bovine enterokinase (BovEntk)
<400>      15

Val Arg Leu Val Gly Gly Ser Gly Pro His Glu Gly Arg Val Glu
      5                               10                15
Ile Phe His Glu Gly Gln Trp Gly Thr Val Cys Asp Asp Arg Trp
      20                               25                30
Glu Leu Arg Gly Gly Leu Val Val Cys Arg Ser Leu Gly Tyr Lys
      35                               40                45
Gly Val Gln Ser Val His Lys Arg Ala Tyr Phe Gly Lys Gly Thr
      50                               55                60
Gly Pro Ile Trp Leu Asn Glu Val Phe Cys Phe Gly Lys Glu Ser
      65                               70                75
Ser Ile Glu Glu Cys Arg Ile Arg Gln Trp Gly Val Arg Ala Cys
      80                               85                90
Ser His Asp Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Thr
      95                               100

```

<210> 16  
 <211> 101  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <221> DOMAIN  
 <223> SRCR domain of human macrophage scavenger  
 receptor (MacSR)  
 <400> 16

Val Arg Leu Val Gly Gly Ser Gly Pro His Glu Gly Arg Val Glu  
 5 10 15  
 Ile Leu His Ser Gly Gln Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Arg Trp  
 20 25 30  
 Glu Val Arg Val Gly Gln Val Val Cys Arg Ser Leu Gly Tyr Pro  
 35 40 45  
 Gly Val Gln Ala Val His Lys Ala Ala His Phe Gly Gln Gly Thr  
 50 55 60  
 Gly Pro Ile Trp Leu Asn Glu Val Phe Cys Phe Gly Arg Glu Ser  
 65 70 75  
 Ser Ile Glu Glu Cys Lys Ile Arg Gln Trp Gly Thr Arg Ala Cys  
 80 85 90  
 Ser His Ser Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Thr  
 95 100

<210> 17  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <221> DOMAIN  
 <222> 109...206  
 <223> SRCR domain of TADG-12 (TADG12)  
 <400> 17

Val Arg Val Gly Gly Gln Asn Ala Val Leu Gln Val Phe Thr Ala  
 5 10 15  
 Ala Ser Trp Lys Thr Met Cys Ser Asp Asp Trp Lys Gly His Tyr  
 20 25 30  
 Ala Asn Val Ala Cys Ala Gln Leu Gly Phe Pro Ser Tyr Val Ser  
 35 40 45  
 Ser Asp Asn Leu Arg Val Ser Ser Leu Glu Gly Gln Phe Arg Glu  
 50 55 60  
 Glu Phe Val Ser Ile Asp His Leu Leu Pro Asp Asp Lys Val Thr  
 65 70 75  
 Ala Leu His His Ser Val Tyr Val Arg Glu Gly Cys Ala Ser Gly  
 80 85 90  
 His Val Val Thr Leu Gln Cys Thr  
 95

<210> 18  
 <211> 94  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <221> DOMAIN

```

<223>      SRCR domain of the serine protease TMPRSS2
            (Tmprss2)
<400>      18

Val Arg Leu Tyr Gly Pro Asn Phe Ile Leu Gln Met Tyr Ser Ser
           5          10
Gln Arg Lys Ser Trp His Pro Val Cys Gln Asp Asp Trp Asn Glu
           20          25
Asn Tyr Gly Arg Ala Ala Cys Arg Asp Met Gly Tyr Lys Asn Asn
           35          40
Phe Tyr Ser Ser Gln Gly Ile Val Asp Asp Ser Gly Ser Thr Ser
           50          55
Phe Met Lys Leu Asn Thr Ser Ala Gly Asn Val Asp Ile Tyr Lys
           65          70
Lys Leu Tyr His Ser Asp Ala Cys Ser Ser Lys Ala Val Val Ser
           80          85
Leu Arg Cys Leu

<210>      19
<211>      90
<212>      PRT
<213>      Homo sapiens
<220>
<221>      DOMAIN
<223>      SRCR domain of human enterokinase (HumEntk)
<400>      19

Val Arg Phe Phe Asn Gly Thr Thr Asn Asn Asn Gly Leu Val Arg
           5          10
Phe Arg Ile Gln Ser Ile Trp His Thr Ala Cys Ala Glu Asn Trp
           20          25
Thr Thr Gln Ile Ser Asn Asp Val Cys Gln Leu Leu Gly Leu Gly
           35          40
Ser Gly Asn Ser Ser Lys Pro Ile Phe Ser Thr Asp Gly Gly Pro
           50          55
Phe Val Lys Leu Asn Thr Ala Pro Asp Gly His Leu Ile Leu Thr
           65          70
Pro Ser Gln Gln Cys Leu Gln Asp Ser Leu Ile Arg Leu Gln Cys
           80          85

<210>      20
<211>      149
<212>      PRT
<213>      Homo sapiens
<220>
<221>      DOMAIN
<223>      protease domain of protease M (ProM)
<400>      20

Leu Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Lys Lys Pro Asn Leu Gln
           5          10
Val Phe Leu Gly Lys His Asn Leu Arg Gln Arg Glu Ser Ser Gln
           20          25
Glu Gln Ser Ser Val Val Arg Ala Val Ile His Pro Asp Tyr Asp
           35          40
Ala Ala Ser His Asp Gln Asp Ile Met Leu Leu Arg Leu Ala Arg

```

```

          50                      55                      60
Pro Ala Lys Leu Ser Glu Leu Ile Gln Pro Leu Pro Leu Glu Arg
          65                      70                      75
Asp Cys Ser Ala Asn Thr Thr Ser Cys His Ile Leu Gly Trp Gly
          80                      85                      90
Lys Thr Ala Asp Gly Asp Phe Pro Asp Thr Ile Gln Cys Ala Tyr
          95                      100                     105
Ile His Leu Val Ser Arg Glu Glu Cys Glu His Ala Tyr Pro Gly
          110                     115                     120
Gln Ile Thr Gln Asn Met Leu Cys Ala Gly Asp Glu Lys Tyr Gly
          125                     130                     135
Lys Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys
          140                     145

```

```

<210>      21
<211>      151
<212>      PRT
<213>      Homo sapiens
<220>
<221>      DOMAIN
<223>      protease domain of trypsinogen I (Try1)
<400>      21

```

```

Gln Trp Val Val Ser Ala Gly His Cys Tyr Lys Ser Arg Ile Gln
          5                      10                      15
Val Arg Leu Gly Glu His Asn Ile Glu Val Leu Glu Gly Asn Glu
          20                      25                      30
Gln Phe Ile Asn Ala Ala Lys Ile Ile Arg His Pro Gln Tyr Asp
          35                      40                      45
Arg Lys Thr Leu Asn Asn Asp Ile Met Leu Ile Lys Leu Ser Ser
          50                      55                      60
Arg Ala Val Ile Asn Ala Arg Val Ser Thr Ile Ser Leu Pro Thr
          65                      70                      75
Ala Pro Pro Ala Thr Gly Thr Lys Cys Leu Ile Ser Gly Trp Gly
          80                      85                      90
Asn Thr Ala Ser Ser Gly Ala Asp Tyr Pro Asp Glu Leu Gln Cys
          95                      100                     105
Leu Asp Ala Pro Val Leu Ser Gln Ala Lys Cys Glu Ala Ser Tyr
          110                     115                     120
Pro Gly Lys Ile Thr Ser Asn Met Phe Cys Val Gly Phe Leu Glu
          125                     130                     135
Gly Gly Lys Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Val Val
          140                     145                     150
Cys

```

```

<210>      22
<211>      158
<212>      PRT
<213>      Homo sapiens
<220>
<221>      DOMAIN
<223>      protease domain of plasma kallikrein (Kal)
<400>      22

```

```

Gln Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Phe Asp Gly Leu Pro Leu

```

Gln Asp Val Trp 5 Arg Ile Tyr Ser Gly 10 Ile Leu Asn Leu Ser Asp 15  
 20  
 Ile Thr Lys Asp Thr Pro Phe Ser Gln Ile Lys Glu Ile Ile Ile 30  
 35  
 His Gln Asn Tyr Lys Val Ser Glu Gly Asn His Asp Ile Ala Leu 45  
 50  
 Ile Lys Leu Gln Ala Pro Leu Asn Tyr Thr Glu Phe Gln Lys Pro 60  
 65  
 Ile Cys Leu Pro Ser Lys Gly Asp Thr Ser Thr Ile Tyr Thr Asn 75  
 80  
 Cys Trp Val Thr Gly Trp Gly Phe Ser Lys Glu Lys Gly Glu Ile 90  
 95  
 Gln Asn Ile Leu Gln Lys Val Asn Ile Pro Leu Val Thr Asn Glu 105  
 110  
 Glu Cys Gln Lys Arg Tyr Gln Asp Tyr Lys Ile Thr Gln Arg Met 120  
 125  
 Val Cys Ala Gly Tyr Lys Glu Gly Gly Lys Asp Ala Cys Lys Gly 135  
 140  
 Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys 145  
 155

<210> 23  
 <211> 157  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <221> DOMAIN  
 <223> protease domain of TADG-12 (TADG12)  
 <400> 23

Leu Trp Ile Ile Thr Ala Ala His Cys Val Tyr Asp Leu Tyr Leu 5  
 10  
 Pro Lys Ser Trp Thr Ile Gln Val Gly Leu Val Ser Leu Leu Asp 20  
 25  
 Asn Pro Ala Pro Ser His Leu Val Glu Lys Ile Val Tyr His Ser 35  
 40  
 Lys Tyr Lys Pro Lys Arg Leu Gly Asn Asp Ile Ala Leu Met Lys 50  
 55  
 Leu Ala Gly Pro Leu Thr Phe Asn Glu Met Ile Gln Pro Val Cys 65  
 70  
 Leu Pro Asn Ser Glu Glu Asn Phe Pro Asp Gly Lys Val Cys Trp 80  
 85  
 Thr Ser Gly Trp Gly Ala Thr Glu Asp Gly Gly Asp Ala Ser Pro 95  
 100  
 Val Leu Asn His Ala Ala Val Pro Leu Ile Ser Asn Lys Ile Cys 110  
 115  
 Asn His Arg Asp Val Tyr Gly Gly Ile Ile Ser Pro Ser Met Leu 125  
 130  
 Cys Ala Gly Tyr Leu Thr Gly Gly Val Asp Ser Cys Gln Gly Asp 140  
 145  
 Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys 155

<210> 24  
 <211> 159

<212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <221> DOMAIN  
 <223> protease domain of TMPRSS2 (Tmprss2)  
 <400> 24

Glu Trp Ile Val Thr Ala Ala His Cys Val Glu Lys Pro Leu Asn  
 5 10 15  
 Asn Pro Trp His Trp Thr Ala Phe Ala Gly Ile Leu Arg Gln Ser  
 20 25 30  
 Phe Met Phe Tyr Gly Ala Gly Tyr Gln Val Gln Lys Val Ile Ser  
 35 40 45  
 His Pro Asn Tyr Asp Ser Lys Thr Lys Asn Asn Asp Ile Ala Leu  
 50 55 60  
 Met Lys Leu Gln Lys Pro Leu Thr Phe Asn Asp Leu Val Lys Pro  
 65 70 75  
 Val Cys Leu Pro Asn Pro Gly Met Met Leu Gln Pro Glu Gln Leu  
 80 85 90  
 Cys Trp Ile Ser Gly Trp Gly Ala Thr Glu Glu Lys Gly Lys Thr  
 95 100 105  
 Ser Glu Val Leu Asn Ala Ala Lys Val Leu Leu Ile Glu Thr Gln  
 110 115 120  
 Arg Cys Asn Ser Arg Tyr Val Tyr Asp Asn Leu Ile Thr Pro Ala  
 125 130 135  
 Met Ile Cys Ala Gly Phe Leu Gln Gly Asn Val Asp Ser Cys Gln  
 140 145 150  
 Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Thr  
 155

<210> 25  
 <211> 164  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <221> DOMAIN  
 <223> protease domain of Hepsin (Heps)  
 <400> 25

Asp Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Phe Pro Glu Arg Asn Arg  
 5 10 15  
 Val Leu Ser Arg Trp Arg Val Phe Ala Gly Ala Val Ala Gln Ala  
 20 25 30  
 Ser Pro His Gly Leu Gln Leu Gly Val Gln Ala Val Val Tyr His  
 35 40 45  
 Gly Gly Tyr Leu Pro Phe Arg Asp Pro Asn Ser Glu Glu Asn Ser  
 50 55 60  
 Asn Asp Ile Ala Leu Val His Leu Ser Ser Pro Leu Pro Leu Thr  
 65 70 75  
 Glu Tyr Ile Gln Pro Val Cys Leu Pro Ala Ala Gly Gln Ala Leu  
 80 85 90  
 Val Asp Gly Lys Ile Cys Thr Val Thr Gly Trp Gly Asn Thr Gln  
 95 100 105  
 Tyr Tyr Gly Gln Gln Ala Gly Val Leu Gln Glu Ala Arg Val Pro  
 110 115 120  
 Ile Ile Ser Asn Asp Val Cys Asn Gly Ala Asp Phe Tyr Gly Asn

Gln Ile Lys Pro	125	130	135
Lys Met Phe Cys Ala Gly Tyr Pro Glu Gly Gly	140	145	150
Ile Asp Ala Cys	155	160	
<210>	26		
<211>	23		
<212>	DNA		
<213>	Artificial sequence		
<220>			
<221>	primer_bind		
<222>	6, 9, 12, 15, 18		
<223>	forward redundant primer for the consensus sequences of amino acids surrounding the catalytic triad for serine proteases, n = inosine		
<400>	26		
tgggtngtna cngcngcnca ytg			23
<210>	27		
<211>	20		
<212>	DNA		
<213>	Artificial sequence		
<220>			
<221>	primer_bind		
<222>	3, 6, 9, 12, 15, 18		
<223>	reverse redundant primer for the consensus sequences of amino acids surrounding the catalytic triad for serine proteases, n = inosine		
<400>	27		
arnarngcna tntcnttncc			20
<210>	28		
<211>	20		
<212>	DNA		
<213>	Artificial sequence		
<220>			
<221>	primer_bind		
<223>	forward oligonucleotide primer for TADG-12 used for quantitative PCR		
<400>	28		
gaaacatgtc cttgctctcg			20
<210>	29		
<211>	20		
<212>	DNA		
<213>	Artificial sequence		
<220>			
<221>	primer_bind		
<223>	reverse oligonucleotide primer for TADG-12 used for quantitative PCR		
<400>	29		

actaacttcc acagcctcct 20

<210> 30  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial sequence  
 <220>  
 <221> primer\_bind  
 <223> forward oligonucleotide primer for TADG-12  
 variant (TADG-12V) used for quantitative PCR  
 <400> 30

tccaggtggg tctagtttcc 20

<210> 31  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial sequence  
 <220>  
 <221> primer\_bind  
 <223> reverse oligonucleotide primer for TADG-12  
 variant (TADG-12V) used for quantitative PCR  
 <400> 31

ctctttggct tgtacttgct 20

<210> 32  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial sequence  
 <220>  
 <221> primer\_bind  
 <223> forward oligonucleotide primer for  $\beta$ -tubulin  
 used as an internal control for quantitative PCR  
 <400> 32

cgcatcaacg tgtactacaa 20

<210> 33  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial sequence  
 <220>  
 <221> primer\_bind  
 <223> reverse oligonucleotide primer for  $\beta$ -tubulin  
 used as an internal control for quantitative PCR  
 <400> 33

tacgagctgg tggactgaga 20

<210> 34  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial sequence  
 <220>  
 <223> a poly-lysine linked multiple antigen peptide

derived from the TADG-12 carboxy-terminal protein  
sequence, present in full length TADG-12, but not  
in TADG-12V

<400> 34

Trp Ile His Glu Gln Met Glu Arg Asp Leu Lys Thr  
5 10

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 40...48

<223> TADG-12 peptide

<400> 35

Ile Leu Ser Leu Leu Pro Phe Glu Val  
5

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 144...152

<223> TADG-12 peptide

<400> 36

Ala Gln Leu Gly Phe Pro Ser Tyr Val  
5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 225...233

<223> TADG-12 peptide

<400> 37

Leu Leu Ser Gln Trp Pro Trp Gln Ala  
5

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 252...260

<223> TADG-12 peptide

<400> 38

Trp Ile Ile Thr Ala Ala His Cys Val  
5

<210> 39  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 356...364  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 39

Val Leu Asn His Ala Ala Val Pro Leu  
5

<210> 40  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 176...184  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 40

Leu Leu Pro Asp Asp Lys Val Thr Ala  
5

<210> 41  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 13...21  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 41

Phe Ser Phe Arg Ser Leu Phe Gly Leu  
5

<210> 42  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 151...159  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 42

Tyr Val Ser Ser Asp Asn Leu Arg Val  
5

<210> 43  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 436...444  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 43

Arg Val Thr Ser Phe Leu Asp Trp Ile  
5

<210> 44  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 234...242  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 44

Ser Leu Gln Phe Gln Gly Tyr His Leu  
5

<210> 45  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 181...189  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 45

Lys Val Thr Ala Leu His His Ser Val  
5

<210> 46  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 183...191  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 46

Thr Ala Leu His His Ser Val Tyr Val  
5

<210> 47  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 411...419  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 47

Arg Leu Trp Lys Leu Val Gly Ala Thr  
5

<210> 48  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
 <222> 60...68  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 48

Leu Ile Leu Ala Leu Ala Ile Gly Leu  
 5

<210> 49  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 227...235  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 49

Ser Gln Trp Pro Trp Gln Ala Ser Leu  
 5

<210> 50  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 301...309  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 50

Arg Leu Gly Asn Asp Ile Ala Leu Met  
 5

<210> 51  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 307...315  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 51

Ala Leu Met Lys Leu Ala Gly Pro Leu  
 5

<210> 52  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 262...270  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 52

Asp Leu Tyr Leu Pro Lys Ser Trp Thr  
 5

<210> 53  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 416...424  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 53

Leu Val Gly Ala Thr Ser Phe Gly Ile  
5

<210> 54  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 54...62  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 54

Ser Leu Gly Ile Ile Ala Leu Ile Leu  
5

<210> 55  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 218...226  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 55

Ile Val Gly Gly Asn Met Ser Leu Leu  
5

<210> 56  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 35...43  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 56

Ala Val Ala Ala Gln Ile Leu Ser Leu  
5

<210> 57  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 271...279  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 57

Ile Gln Val Gly Leu Val Ser Leu Leu  
5

<210> 58  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 397...405  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 58

Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu  
5

<210> 59  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 270...278  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 59

Thr Ile Gln Val Gly Leu Val Ser Leu  
5

<210> 60  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 56...64  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 60

Gly Ile Ile Ala Leu Ile Leu Ala Leu  
5

<210> 61  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 110...118  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 61

Arg Val Gly Gly Gln Asn Ala Val Leu  
5

<210> 62  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
 <222> 217...225  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 62

Arg Ile Val Gly Gly Asn Met Ser Leu  
 5

<210> 63  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 130...138  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 63

Cys Ser Asp Asp Trp Lys Gly His Tyr  
 5

<210> 64  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 8...16  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 64

Ala Val Glu Ala Pro Phe Ser Phe Arg  
 5

<210> 65  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 328...336  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 65

Asn Ser Glu Glu Asn Phe Pro Asp Gly  
 5

<210> 66  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 3...11  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 66

Glu Asn Asp Pro Pro Ala Val Glu Ala  
 5

<210> 67  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 98...106  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 67

Asp Cys Lys Asp Gly Glu Asp Glu Tyr  
5

<210> 68  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 346...354  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 68

Ala Thr Glu Asp Gly Gly Asp Ala Ser  
5

<210> 69  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 360...368  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 69

Ala Ala Val Pro Leu Ile Ser Asn Lys  
5

<210> 70  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 153...161  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 70

Ser Ser Asp Asn Leu Arg Val Ser Ser  
5

<210> 71  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 182...190  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 71

Val Thr Ala Leu His His Ser Val Tyr  
5

<210> 72  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 143...151  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 72

Cys Ala Gln Leu Gly Phe Pro Ser Tyr  
5

<210> 73  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 259...267  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 73

Cys Val Tyr Asp Leu Tyr Leu Pro Lys  
5

<210> 74  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 369...377  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 74

Ile Cys Asn His Arg Asp Val Tyr Gly  
5

<210> 75  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 278...286  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 75

Leu Leu Asp Asn Pro Ala Pro Ser His  
5

<210> 76  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
 <222> 426...434  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 76

Cys Ala Glu Val Asn Lys Pro Gly Val  
 5

<210> 77  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 32...40  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 77

Asp Ala Asp Ala Val Ala Ala Gln Ile  
 5

<210> 78  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 406...414  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 78

Val Cys Gln Glu Arg Arg Leu Trp Lys  
 5

<210> 79  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 329...337  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 79

Ser Glu Glu Asn Phe Pro Asp Gly Lys  
 5

<210> 80  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 303...311  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 80

Gly Asn Asp Ile Ala Leu Met Lys Leu  
 5

<210> 81  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 127...135  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 81

Lys Thr Met Cys Ser Asp Asp Trp Lys  
5

<210> 82  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 440...448  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 82

Phe Leu Asp Trp Ile His Glu Gln Met  
5

<210> 83  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 433...441  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 83

Val Tyr Thr Arg Val Thr Ser Phe Leu  
5

<210> 84  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 263...271  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 84

Leu Tyr Leu Pro Lys Ser Trp Thr Ile  
5

<210> 85  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 169...177  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 85

Glu Phe Val Ser Ile Asp His Leu Leu  
5

<210> 86  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 296...304  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 86

Lys Tyr Lys Pro Lys Arg Leu Gly Asn  
5

<210> 87  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 16...24  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 87

Arg Ser Leu Phe Gly Leu Asp Asp Leu  
5

<210> 88  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 267...275  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 88

Lys Ser Trp Thr Ile Gln Val Gly Leu  
5

<210> 89  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 81...89  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 89

Arg Ser Ser Phe Lys Cys Ile Glu Leu  
5

<210> 90  
<211> 9  
<212> PRT

<213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 375...383  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 90

Val Tyr Gly Gly Ile Ile Ser Pro Ser  
 5

<210> 91  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 110...118  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 91

Arg Val Gly Gly Gln Asn Ala Val Leu  
 5

<210> 92  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 189...197  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 92

Val Tyr Val Arg Glu Gly Cys Ala Ser  
 5

<210> 93  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 165...173  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 93

Gln Phe Arg Glu Glu Phe Val Ser Ile  
 5

<210> 94  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 10...18  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 94

Glu Ala Pro Phe Ser Phe Arg Ser Leu  
 5

<210> 95  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 407...415  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 95

Cys Gln Glu Arg Arg Leu Trp Lys Leu  
5

<210> 96  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 381...389  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 96

Ser Pro Ser Met Leu Cys Ala Gly Tyr  
5

<210> 97  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 375...383  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 97

Val Tyr Gly Gly Ile Ile Ser Pro Ser  
5

<210> 98  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 381...389  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 98

Ser Pro Ser Met Leu Cys Ala Gly Tyr  
5

<210> 99  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 362...370  
 <223> TADG-12 peptide

<400> 99

Val Pro Leu Ile Ser Asn Lys Ile Cys  
5

<210> 100  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 373...381  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 100

Arg Asp Val Tyr Gly Gly Ile Ile Ser  
5

<210> 101  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 283...291  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 101

Ala Pro Ser His Leu Val Glu Lys Ile  
5

<210> 102  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 177...185  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 102

Leu Pro Asp Asp Lys Val Thr Ala Leu  
5

<210> 103  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<220>  
<222> 47...55  
<223> TADG-12 peptide  
<400> 103

Glu Val Phe Ser Gln Ser Ser Ser Leu  
5

<210> 104  
<211> 9  
<212> PRT

<213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 36...44  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 104

Val Ala Ala Gln Ile Leu Ser Leu Leu  
 5

<210> 105  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 255...263  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 105

Thr Ala Ala His Cys Val Tyr Asp Leu  
 5

<210> 106  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 138...146  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 106

Tyr Ala Asn Val Ala Cys Ala Gln Leu  
 5

<210> 107  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 195...203  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 107

Cys Ala Ser Gly His Val Val Thr Leu  
 5

<210> 108  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 215...223  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 108

Ser Ser Arg Ile Val Gly Gly Asn Met  
 5

<210> 109  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 298...306  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 109

Lys Pro Lys Arg Leu Gly Asn Asp Ile  
5

<210> 110  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 313...321  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 110

Gly Pro Leu Thr Phe Asn Glu Met Ile  
5

<210> 111  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 108...116  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 111

Cys Val Arg Val Gly Gly Gln Asn Ala  
5

<210> 112  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 294...302  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 112

His Ser Lys Tyr Lys Pro Lys Arg Leu  
5

<210> 113  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 265...273  
 <223> TADG-12 peptide

<400> 113

Leu Pro Lys Ser Trp Thr Ile Gln Val  
5

<210> 114

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 88...96

<223> TADG-12 peptide

<400> 114

Glu Leu Ile Thr Arg Cys Asp Gly Val  
5

<210> 115

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 79...87

<223> TADG-12 peptide

<400> 115

Arg Cys Arg Ser Ser Phe Lys Cys Ile  
5

<210> 116

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 255...263

<223> TADG-12 peptide

<400> 116

Thr Ala Ala His Cys Val Tyr Asp Leu  
5

<210> 117

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 207...215

<223> TADG-12 peptide

<400> 117

Ala Cys Gly His Arg Arg Gly Tyr Ser  
5

<210> 118

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 154...162  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 118

Ser Asp Asn Leu Arg Val Ser Ser Leu  
 5

<210> 119  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 300...308  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 119

Lys Arg Leu Gly Asn Asp Ile Ala Leu  
 5

<210> 120  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 435...443  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 120

Thr Arg Val Thr Ser Phe Leu Asp Trp  
 5

<210> 121  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 376...384  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 121

Tyr Gly Gly Ile Ile Ser Pro Ser Met  
 5

<210> 122  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 410...418  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 122

Arg Arg Leu Trp Lys Leu Val Gly Ala  
 5

<210> 123  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 210...218  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 123

His Arg Arg Gly Tyr Ser Ser Arg Ile  
5

<210> 124  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 109...117  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 124

Val Arg Val Gly Gly Gln Asn Ala Val  
5

<210> 125  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 191...199  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 125

Val Arg Glu Gly Cys Ala Ser Gly His  
5

<210> 126  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 78...86  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 126

Tyr Arg Cys Arg Ser Ser Phe Lys Cys  
5

<210> 127  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 113...121  
 <223> TADG-12 peptide

<400> 127

Gly Gln Asn Ala Val Leu Gln Val Phe  
5

<210> 128

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 91...99

<223> TADG-12 peptide

<400> 128

Thr Arg Cys Asp Gly Val Ser Asp Cys  
5

<210> 129

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 38...46

<223> TADG-12 peptide

<400> 129

Ala Gln Ile Leu Ser Leu Leu Pro Phe  
5

<210> 130

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 211...219

<223> TADG-12 peptide

<400> 130

Arg Arg Gly Tyr Ser Ser Arg Ile Val  
5

<210> 131

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 216...224

<223> TADG-12 peptide

<400> 131

Ser Arg Ile Val Gly Gly Asn Met Ser  
5

<210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 118...126  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 132

Leu Gln Val Phe Thr Ala Ala Ser Trp  
 5

<210> 133  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 370...378  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 133

Cys Asn His Arg Asp Val Tyr Gly Gly  
 5

<210> 134  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 393...401  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 134

Gly Val Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser  
 5

<210> 135  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 235...243  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 135

Leu Gln Phe Gln Gly Tyr His Leu Cys  
 5

<210> 136  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 427...435  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 136

Ala Glu Val Asn Lys Pro Gly Val Tyr  
 5

<210> 137  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 162...170  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 137

Leu Glu Gly Gln Phe Arg Glu Glu Phe  
5

<210> 138  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 9...17  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 138

Val Glu Ala Pro Phe Ser Phe Arg Ser  
5

<210> 139  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 318...326  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 139

Asn Glu Met Ile Gln Pro Val Cys Leu  
5

<210> 140  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 256...264  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 140

Ala Ala His Cys Val Tyr Asp Leu Tyr  
5

<210> 141  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 46...54  
 <223> TADG-12 peptide

<400> 141

Phe Glu Val Phe Ser Gln Ser Ser Ser  
5

<210> 142

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 64...72

<223> TADG-12 peptide

<400> 142

Leu Ala Ile Gly Leu Gly Ile His Phe  
5

<210> 143

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 192...200

<223> TADG-12 peptide

<400> 143

Arg Glu Gly Cys Ala Ser Gly His Val  
5

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 330...338

<223> TADG-12 peptide

<400> 144

Glu Glu Asn Phe Pro Asp Gly Lys Val  
5

<210> 145

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<222> 182...190

<223> TADG-12 peptide

<400> 145

Val Thr Ala Leu His His Ser Val Tyr  
5

<210> 146

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 408...416  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 146

Gln Glu Arg Arg Leu Trp Lys Leu Val  
 5

<210> 147  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 206...214  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 147

Thr Ala Cys Gly His Arg Arg Gly Tyr  
 5

<210> 148  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 5...13  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 148

Asp Pro Pro Ala Val Glu Ala Pro Phe  
 5

<210> 149  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 261...269  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 149

Tyr Asp Leu Tyr Leu Pro Lys Ser Trp  
 5

<210> 150  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 33...41  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 150

Ala Asp Ala Val Ala Ala Gln Ile Leu  
 5

<210> 151  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 168...176  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 151

Glu Glu Phe Val Ser Ile Asp His Leu  
 5

<210> 152  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 304...312  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 152

Asn Asp Ile Ala Leu Met Lys Leu Ala  
 5

<210> 153  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <222> 104...112  
 <223> TADG-12 peptide  
 <400> 153

Asp Glu Tyr Arg Cys Val Arg Val Gly  
 5

### 【図面の簡単な説明】

#### 【図1A】

図1Aは、重複セリンプロテアーゼプライマーを用いた約180bpの予測されたPCR産物および約300bpの予測外のPCR産物が、正常卵巣cDNAからは増幅されない(レーン1)が、卵巣腫瘍cDNAから異常に増幅される(レーン2)ことを示す

#### 【図1B】

図1Bは、TADG-12が180bpバンドからサブクローン化され、一方、大きな300bpバンドがTADG-12Vを指定することを示す

#### 【図2】

図2は、TADG-12のノーザンプロット分析において、2.4、1.6および0.7kbの3つの転写物が顕示されたことを示す

#### 【図3】

図3は、TADG-12を詳細に調べたRNAドットプロット(CLONTECH)を示す

【図4】

図4は、オープンリーディングフレームの予測454アミノ酸(配列番号2)と共に、TADG-12のcDNA配列(配列番号1)を示す

【図5A】

図5Aは、セリンプロテアーゼTMPRSS2(U75329、配列番号14)からの他のLDLR-Aモチーフ、補体サブユニットC8(P07358、配列番号9)、糖タンパク質GP300の2つのLDLR-A領域(P98164、配列番号11および12)およびセリンプロテアーゼのマトリプターゼ(matriptase)(AF118224、配列番号10)と整列させて、TADG-12の35アミノ酸LDLR-A領域(配列番号13)を示す

【図5B】

図5Bは、ヒトマクロファージスカベンジャー受容体(P21757、配列番号16)、ヒトエンテロキナーゼ(P98073、配列番号19)、ウシエンテロキナーゼ(P21758、配列番号15)およびセリンプロテアーゼTMPRSS2(配列番号18)等の他のドメインファミリーメンバーと整列させて、TADG-12のSRCR領域(配列番号17)を示す

【図5C】

図5Cは、プロテアーゼM(U62801、配列番号20)、トリプシノーゲンI(P07477、配列番号21)、血漿カリクレイン(P03952、配列番号22)、ヘプシン(P05981、配列番号25)およびTMPRSS2(配列番号24)等の他のヒトセリンプロテアーゼと整列させて、TADG-12のプロテアーゼ領域(配列番号23)を示す

【図6】

図6は、TADG-12(上段パネル)およびTADG-12V(下段パネル)について実施した半定量的PCR分析を示す

【図7】

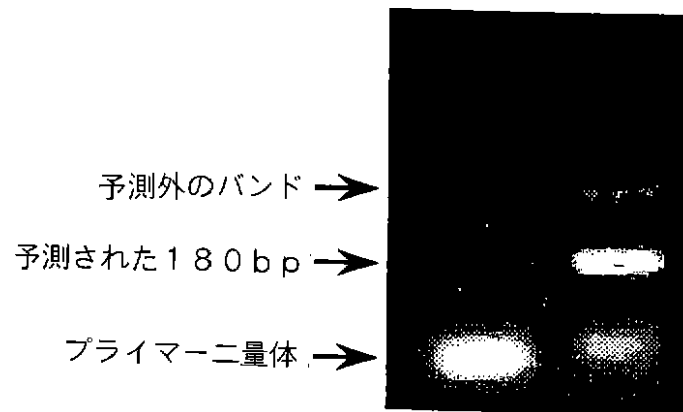
図7は、TADG-12特異的ペプチドに対して作成されたポリクロナールウ

サギ抗体を用いて実施した正常卵巣および卵巣腫瘍の免疫組織化学染色を示す

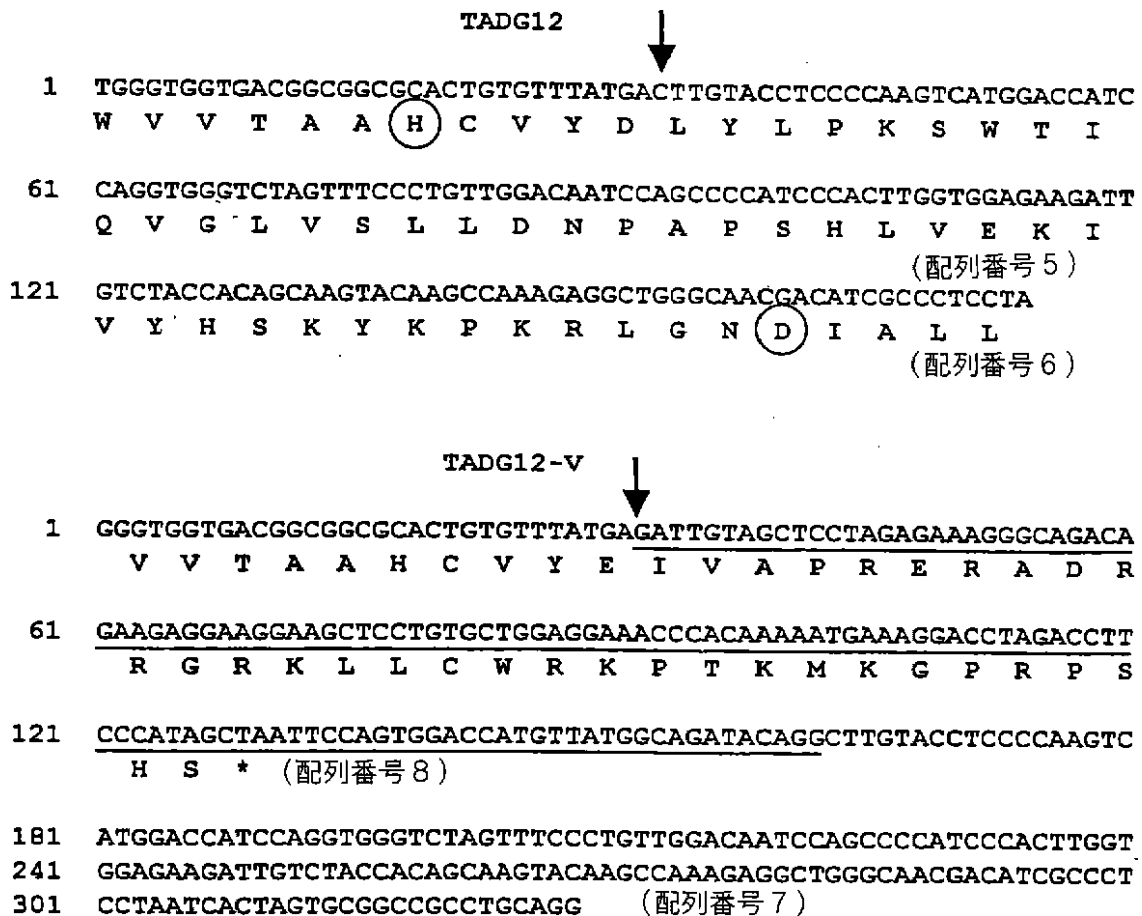
【図8】

図8は、細胞内でのTADG-12の経過を示す

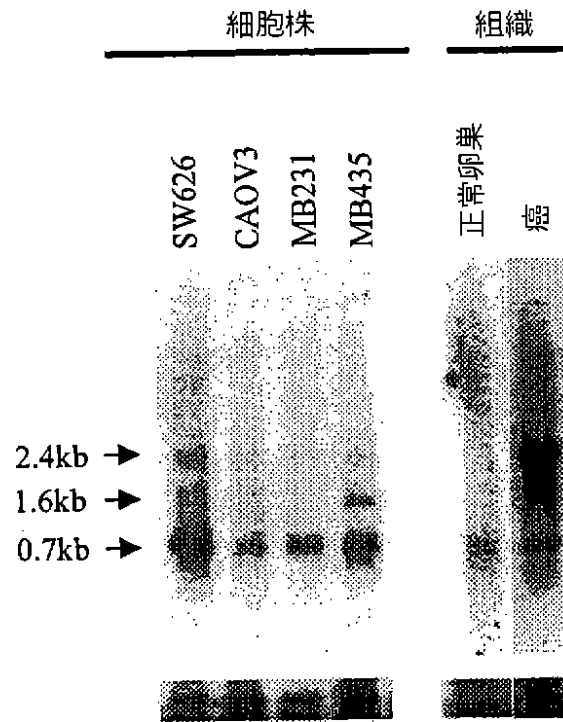
【図1A】



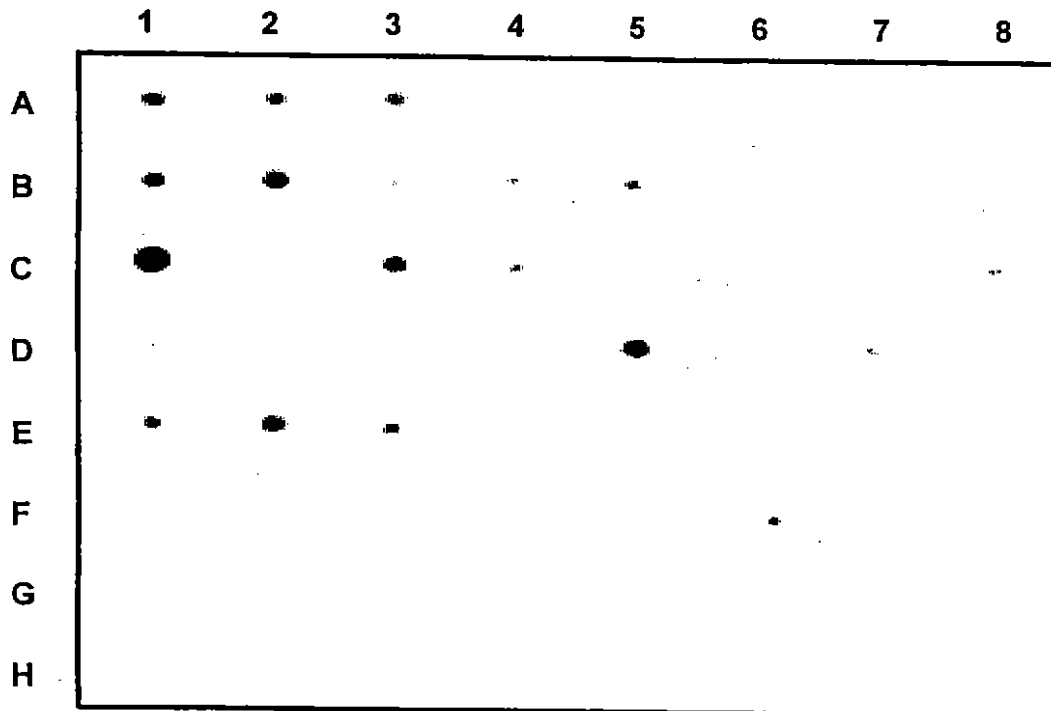
【図1B】



【図2】



【図 3】



A	全脳	扁桃	尾状核	小脳	大脳皮質	前頭葉	海馬	延髄
B	後頭葉	被殻	黒質	側頭葉	視床	視床下核	脊髄	
C	心臓	大動脈	骨格筋	結腸	膀胱	子宮	前立腺	胃
D	精巣	卵巣	膵臓	下垂体	副腎	甲状腺	唾液腺	乳腺
E	腎臓	肝臓	小腸	脾臓	胸腺	末梢白血球	リンパ節	骨髓
F	盲腸	肺	気管	胎盤				
G	胎児脳	胎児心臓	胎児腎臓	胎児肝臓	胎児脾臓	胎児胸腺	胎児肺	
H	酵母全 RNA 100ng	酵母 tRNA 100ng	大腸菌 rRNA 100ng	大腸菌 DNA 100ng	ポリ r(A) 100ng	ヒト C <sub>0</sub> t1 DNA 100ng	ヒト DNA 100ng	ヒト DNA 500ng



## 【図5A】

Compc8	CEG..FVC	AQTGRCVNR	LLCNGDNDCG	DQSDEAN.C	(配列番号9)
Matr	CPG.QFTC	.RTGRCIRKE	LRCDGWADCT	DHSDELN.C	(配列番号10)
Gp300-1	CQQGYFKC	QSEGQCIPSS	WVCDQDQDCD	DGSDERQDC	(配列番号11)
Gp300-2	CSSHQITC	.SNGQCIPSE	YRCDHVRDCP	DGADE.NDC	(配列番号12)
TADG12	CSGK.YRC	RSSFKCIELI	TRCDGVSDCK	DGEDEYR.C	(配列番号13)
Tmprss2	CSNSGIEC	DSSGTCINPS	NWCDGVSHCP	GGEDENR.C	(配列番号14)
Cons	C	C	C	C	DE C

## 【図5B】

BovEntk	VRLVGGSGPH	EGRVEI.FHE	GQWGTVCDDR	WELRGGLVVC	RSLGYKGVQS
MacSR	VRLVGGSGPH	EGRVEI.LHS	GQWGTICDDR	WEVRVGQVVC	RSLGYPGVQA
TADG12	VRVGG...QN	AVLQVFTA..	ASWKTMCSD	WKGHYANVAC	AQLGFP.SYV
Tmprss2	VRLYG...PN	FILQMYSSQR	KSWHPVCQDD	WNIENYGRAAC	RDMGYKNNFY
HumEntk	VRFNGTTNN	NGLVRFRIQ.	SIWHTACAEN	WTTQISNDVC	QLLGLGSG..
Cons	VR		W	C	W C

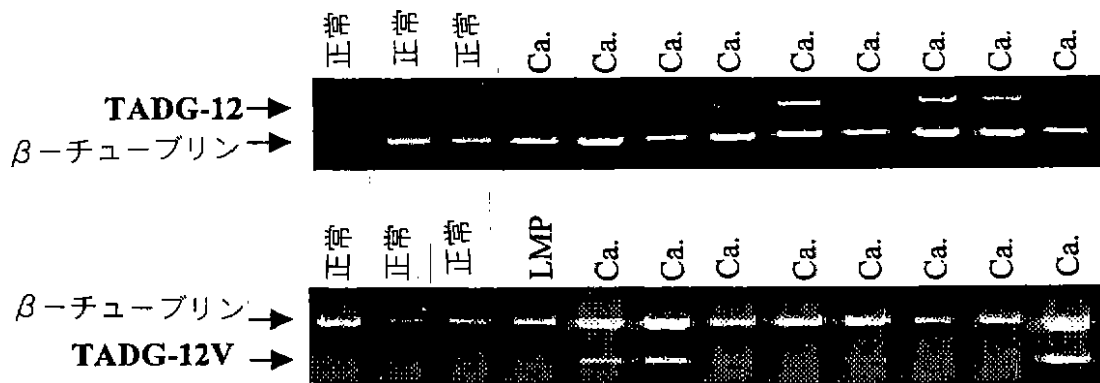
BovEntk	VHKRAYFGKG	TGPIWLNEVF	CFGK..ESSI	EECRIRQWGV	R.ACSHDEDA
MacSR	VHKAHFGQG	TGPIWLNEVF	CFGR..ESSI	EECKIRQWGT	R.ACSHSEDA
TADG12	SSDNLRVSSL	EGQFREEFVS	I.DHLLPDDK	VTALHHSVYV	REGCASGHVV
Tmprss2	SSQIVDDSG	STSEMKLNTS	A.GNV...DI	YKKLYHS...	.DACSSKAVV
HumEntk	NSSKPIFSTD	GGPFVKLNTA	PDGHLILTPS	QQ.....	...CLQDSL
Cons					C

BovEntk	GVTCT	(配列番号15)
MacSR	GVTCT	(配列番号16)
TADG12	TLQCT	(配列番号17)
Tmprss2	SLRCL	(配列番号18)
HumEntk	RLQC.	(配列番号19)
Cons	C	

【図5C】

ProM	LWVLTAAHCK	.....KPNL	QVFLGKHNLR	QRESSQEQQS	VVRAVIHPDY
Try1	QWVVSAGHCY	.....KSRI	QVRLGEHNIE	VLEGNEQFIN	AAKIIRHPQY
Kal	QWVLTAAHCF	D.GLPLQDVW	RIYSGILNLS	DITKDTPFSSQ	IKEIIHQNY
TADG12	LWIITAACHV	.YDLYLPKSW	TIQVGLV..S	LLDNPAPSHL	VEKIVYHSKY
Tmprss2	EWIVTAAHCV	EKPLNPNVHW	TAFAGILRQS	FMFYGA.GYQ	VQKVISHPNY
Heps	DWVLTAAHCF	PERNRVLSRW	RVFAGAVAQA	SPHGLQLG..	VQAVVYHGGY
Cons	W	A HC	G		H Y
ProM	.....DAAS	HDQDIMLLRL	ARPAKLELI	QPLPLERDCS	ANT..TSCHI
Try1	.....DRKT	LNNDIMLIKL	SSRAVINARV	STISLEPTAPP	ATG..TKCLI
Kal	.....KVSE	GNHDIALIKL	QAPLNYTEFQ	KPICLPSKGD	TSTIYTNCWV
TADG12	.....KPKR	LGNDIALMKL	AGPLTFNEMI	QPVCLEPNSEE	NFPDGKVCWT
Tmprss2	.....DSKT	KNNDIALMKL	QKPLTFNDLV	KPVCLEPNPGM	MLQPEQLCWI
Heps	LPFRDPNSEE	NSNDIALVHL	SSPLPLTEYI	QPVCLEPAAGQ	ALVDGKICTV
Cons		DI L L		L	C
ProM	LGWGKTAD..	GDFPDTIQCA	YIHLVSREEC	EHA..YPGQI	TQNMLCAGDE
Try1	SGWGNTASSG	ADYPDELQCL	DAPVLSQAKC	EAS..YPGKI	TSNMFVGVFL
Kal	TGWGFSKEK.	GEIQNILQKV	NIPLVTNEEC	QKR.YQDYKI	TQRMVCAGYK
TADG12	SGWGAT.EDG	GDASPVLNHA	AVPLISNKIC	NHRDVYGGII	SPSMLCAGYL
Tmprss2	SGWGAT.EEK	GKTSEVLNAA	KVLLIETQRC	NSRYVDNLI	TPAMICAGEL
Heps	TGWGNT.QYY	GQQAGVLQEA	RVPIISNDVC	NGADFYGNQI	KPKMFCAGYP
Cons	GWG		C	I	M C G
ProM	KYKGDSCQGD	SGGPLVC	(配列番号20)		
Try1	EGGKDSCQGD	SGGPVVC	(配列番号21)		
Kal	EGGKDACKGD	SGGPLVC	(配列番号22)		
TADG12	TGGVDSCQGD	SGGPLVC	(配列番号23)		
Tmprss2	QGNVDSCQGD	SGGPLVT	(配列番号24)		
Heps	EGGIDACQGD	SGGPVVC	(配列番号25)		
Cons	D C GD	SGGP V			

【図6】



【图7】



7A

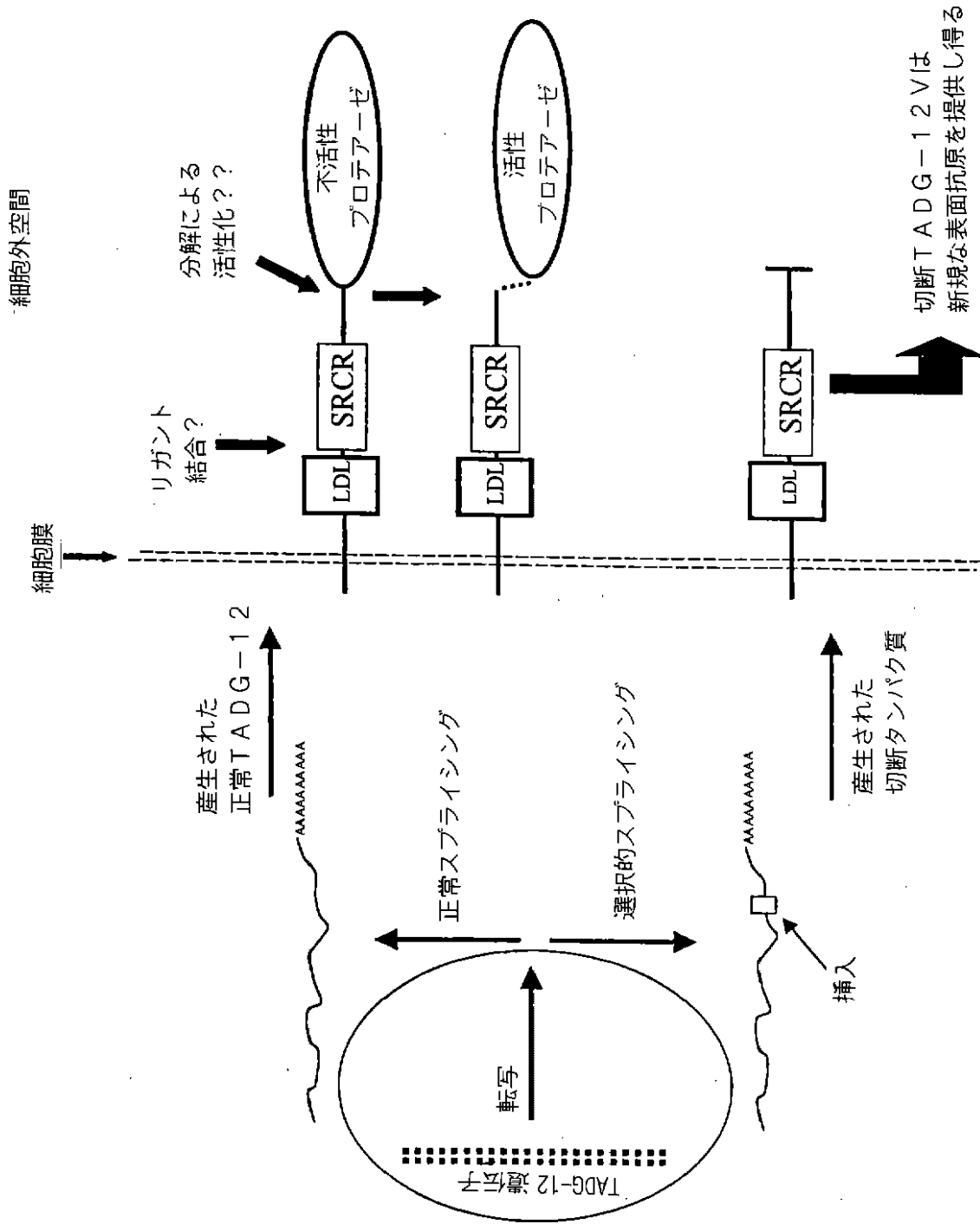


7B




7C

【図8】



## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US00/05612
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(7) : C07K 14/435, 14/705; A61K 38/03, 38/08, 38/17 US CL : 530/350; 514/2 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 530/350; 514/2 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Medline, Biosis, West Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) protein and nucleic acids databases		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TANIMOTO et al. Cloning and expression of TADG-15, a novel serine protease expressed in ovarian cancer. Proceedings of the American Association for Cancer Research. March 1998, Vol. 39, page 648, abstract #4414, see entire abstract.	1, 12, 18-21 23
X	O'BRIEN et al. Cloning and expression TADG-15, a novel serine protease expressed in ovarian cancer. Tumor Biology. 1998, Supplement 2, page 33, abstract 0-42, see entire abstract.	1, 12, 18-21, 23
X	WO 98/41656 A1 (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF ARKANSAS) 24 September 1998, claim 5, page 8.	22
X, P	Database Genecore version 4.5. Accession number AW104113, NCI-CGAP, 'National Cancer Institute, Cancer Genome Anatomy Project (CGAP), Tumor Gene Index,' sequence listing, 20 October 1999, see sequence listing.	1, 2
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family 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 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 *Z* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 04 JUNE 2000		Date of mailing of the international search report 06 JUL 2000
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer KAREN A. CANELLA  Telephone No. (703) 308-1255

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコ-ト' (参考)	
C 0 7 K	16/40	C 1 2 N	1/21	4 C 0 8 5
C 1 2 N	1/21		9/50	4 H 0 4 5
	5/10	C 1 2 Q	1/68	A
	9/50	G 0 1 N	33/53	D
C 1 2 Q	1/68		33/574	A
G 0 1 N	33/53	C 1 2 N	15/00	Z N A A
	33/574		5/00	A
(72)発明者	アンダーウッド, ローウェル ジェイ			
	アメリカ合衆国 アーカンソー州 72205			
	リトル ロック エヌ ジャクソン ス			
	トリート 121 アパートメント ケー			
Fターム(参考)	4B024	AA11 BA14 BA41 CA01 DA01		
		DA02 DA06 FA01 GA11 HA12		
		HA15		
	4B050	CC03 DD11 EE10 LL01 LL03		
	4B063	QA19 QQ02 QQ42 QQ53 QQ79		
		QQ96 QR08 QR32 QR42 QR48		
		QR55 QS03 QS25 QS28 QS33		
		QS34 QS36 QX01		
	4B065	AA01X AA88X AA93Y AB01		
		AC14 BA02 CA25 CA33 CA46		
	4C076	CC27 EE59		
	4C085	AA03 CC22 DD86 EE06		
	4H045	AA11 BA10 CA41 DA76 DA89		
		EA28 EA51 FA74		

专利名称(译)	跨膜丝氨酸蛋白酶在卵巢癌中过表达及其用途		
公开(公告)号	<a href="#">JP2002537791A</a>	公开(公告)日	2002-11-12
申请号	JP2000602268	申请日	2000-03-02
申请(专利权)人(译)	阿肯色州的盐湖城大学董事会		
[标]发明人	オブライアン ティモシー ジェイ アンダーウッド ローエル ジェイ		
发明人	オブライアン, ティモシー ジェイ アンダーウッド, ローエル ジェイ		
IPC分类号	A61K38/00 A61K39/00 A61K48/00 C07K14/47 C07K14/705 C12N9/64 C12N15/12 C12Q1/68 G01N33/574 C12N15/09 A61K39/39 A61K47/48 A61P35/00 C07K16/40 C12N1/21 C12N5/10 C12N9/50 G01N33/53		
CPC分类号	A61K38/00 A61K39/00 A61K48/00 A61P35/00 C07K14/4748 C07K14/705 C12N9/6424 C12N9/6472 C12Q2600/158 G01N33/574		
FI分类号	A61K39/00.H A61K39/39 A61K47/48 A61P35/00 C07K16/40 C12N1/21 C12N9/50 C12Q1/68.A G01N33/53.D G01N33/574.A C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A		
F-TERM分类号	4B024/AA11 4B024/BA14 4B024/BA41 4B024/CA01 4B024/DA01 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/FA01 4B024/GA11 4B024/HA12 4B024/HA15 4B050/CC03 4B050/DD11 4B050/EE10 4B050/LL01 4B050/LL03 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ42 4B063/QQ53 4B063/QQ79 4B063/QQ96 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR42 4B063/QR48 4B063/QR55 4B063/QS03 4B063/QS25 4B063/QS28 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX01 4B065/AA01X 4B065/AA88X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA25 4B065/CA33 4B065/CA46 4C076/CC27 4C076/EE59 4C085/AA03 4C085/CC22 4C085/DD86 4C085/EE06 4H045/AA11 4H045/BA10 4H045/CA41 4H045/DA76 4H045/DA89 4H045/EA28 4H045/EA51 4H045/FA74		
优先权	09/261416 1999-03-03 US		
其他公开文献	JP4558948B2 JP2002537791A5		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明提供了TADG-12蛋白和编码该蛋白的DNA片段。本发明还提供了能够表达DNA的载体/宿主细胞。此外，本发明提供了用于早期检测相关卵巢癌和其他癌症的各种方法以及通过利用其中公开的DNA和/或蛋白质来治疗癌症的各种最新治疗方法。提供。

表1

卵巢癌におけるTADG-12の過剰発現の頻度

組織型	TADG-12 (%)
正常	0/16 (0%)
LMP-漿液性	3/6 (50%)
LMP-粘液性	0/4 (0%)
漿液性癌	23/29 (79%)
粘液性癌	7/12 (58%)
子宮内膜癌	8/8 (100%)
明細胞癌	3/6 (50%)
良性腫瘍	3/4 (75%)

過剰発現=正常卵巢の平均値よりも2標準偏差以上大きい

LMP=低悪性潜在的腫瘍