

(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2003 - 512036

(P2003 - 512036A)

(43)公表日 平成15年4月2日(2003.4.2)

(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 31/7088	2 G 0 4 5
A 6 1 K 31/7088		39/00	H 4 B 0 2 4
38/00		39/39	4 B 0 5 0
39/00		39/395	C 4 B 0 6 3
39/39		45/00	4 B 0 6 5
審査請求 未請求 予備審査請求 (全122数) 最終頁に続く			

(21)出願番号 特願2001 - 531854(P2001 - 531854)

(86)(22)出願日 平成12年10月20日(2000.10.20)

(85)翻訳文提出日 平成14年4月22日(2002.4.22)

(86)国際出願番号 PCT/US00/29095

(87)国際公開番号 W001/029056

(87)国際公開日 平成13年4月26日(2001.4.26)

(31)優先権主張番号 09/421,213

(32)優先日 平成11年10月20日(1999.10.20)

(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

(72)発明者 タニモト, ヒロトシ  
香川県丸亀市中府町1 - 5 - 53 - 401

(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】 T A D G - 1 5 : 癌において過剰発現されている細胞外セリンプロテアーゼ

(57)【要約】

本発明は、T A D G - 1 5 タンパク質をコードする D N A、ならびに T A D G - 1 5 タンパク質を提供する。また、組換え細胞における発現に適合させた、本発明の D N A を発現できるベクター、および細胞における D N A の発現に必要な調節要素を提供する。さらに、本発明は、T A D G - 1 5 の発現および/またはプロテアーゼ活性を阻害する方法、T A D G - 1 5 m R N A および/またはタンパク質を検出する方法、ならびに、T A D G - 1 5 阻害剤をスクリーニングする方法を提供する。さらには、本発明は、T A D G - 1 5 を介した細胞特異的ターゲティング、ならびに個体に T A D G - 1 5 に対するワクチン接種を行う方法を提供する。記載の方法は、癌、特に乳癌および卵巣癌の診断、治療、および予防に有用である。

**【特許請求の範囲】**

【請求項1】 (a) TADG-15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、高ストリンジентな条件下でハイブリダイズし、かつTADG-15タンパク質をコードする単離DNA；ならびに、  
(c) 遺伝暗号の縮重のせいで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-15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る、腫瘍抗原誘導遺伝子15(TADG-15)タンパク質をコードするDNA。

【請求項2】 配列番号1記載の配列を有することを特徴とする請求項1記載のDNA。

【請求項3】 前記TADG-15タンパク質が、配列番号2記載の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。

【請求項4】 請求項1記載のDNAと、細胞における該DNAの発現に必要な調節要素とを含んでなるベクター。

【請求項5】 前記DNAが、配列番号2記載のアミノ酸配列を有するTADG-15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】 TADG-15アンチセンスmRNAが産生されるように、前記DNAが、前記調節要素に対して逆配向で配置されていることを特徴とする請求項4記載のベクター。

【請求項7】 TADG-15タンパク質を発現する請求項4記載のベクターでトランスフェクトされた宿主細胞。

【請求項8】 細菌細胞、哺乳類細胞、植物細胞、および細菌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7記載の宿主細胞。

【請求項9】 大腸菌であることを特徴とする請求項8記載の宿主細胞。

【請求項10】 (a) TADG-15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、高ストリンジентな条件下でハイブリダイズし、かつTADG-15タンパク質をコードする単離DNA；ならびに、

(c) 遺伝暗号の縮重のせいで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TAGG-15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TAGG-15タンパク質。

【請求項11】 配列番号2記載の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TAGG-15タンパク質。

【請求項12】 (a) TAGG-15に特異的なプローブと試料とを接触させ；さらに

(b) 前記試料中におけるTAGG-15 mRNAに対する前記プローブの結合を検出する；各工程を含んでなる、試料中のTAGG-15 mRNAを検出する方法。

【請求項13】 前記試料が生物学的試料であることを特徴とする請求項12記載の方法。

【請求項14】 前記生物学的試料が個体由来であることを特徴とする請求項13記載の方法。

【請求項15】 前記個体が、癌を有する疑いがあることを特徴とする請求項14記載の方法。

【請求項16】 TAGG-15に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを含んでなる、TAGG-15 mRNAを検出するキット。

【請求項17】 前記プローブを標識するための標識；および前記標識を検出する手段；をさらに含んでなる請求項16記載のキット。

【請求項18】 (a) TAGG-15またはその断片に特異的な抗体と試料とを接触させ；さらに、

(b) 前記試料中におけるTAGG-15タンパク質に対する前記抗体の結合を検出する；各工程を含んでなる、試料中のTAGG-15タンパク質を検出する方法。

【請求項19】 前記試料が生物学的試料であることを特徴とする請求項18記載の方法。

【請求項20】 前記生物学的試料が個体由来であることを特徴とする請求

項19記載の方法。

【請求項21】 前記個体が、癌を有する疑いがあることを特徴とする請求項20記載の方法。

【請求項22】 TADG-15タンパク質またはその断片に特異的な抗体を含んでなる、TADG-15タンパク質を検出するキット。

【請求項23】 前記抗体を検出する手段をさらに含んでなる請求項22記載のキット。

【請求項24】 TADG-15タンパク質またはその断片に特異的な抗体。

【請求項25】 (a) TADG-15タンパク質を含む試料と化合物とを接触させ；さらに、

(b) TADG-15プロテアーゼ活性を測定する；各工程を含んでなり、前記化合物の不在下でのTADG-15プロテアーゼ活性と比較して、前記化合物の存在下でのTADG-15プロテアーゼ活性が低いことが、TADG-15を阻害する化合物の指標となることを特徴とする、TADG-15を阻害する化合物をスクリーニングする方法。

【請求項26】 細胞に請求項6記載のベクターを導入する工程を含んでなり、前記ベクターの発現によって前記細胞中にTADG-15アンチセンスmRNAが産生され、前記TADG-15アンチセンスmRNAが内因性TADG-15 mRNAにハイブリダイズし、それによって前記細胞におけるTADG-15の発現が阻害されることを特徴とする、細胞におけるTADG-15の発現を阻害する方法。

【請求項27】 TADG-15タンパク質またはその断片に特異的な抗体を細胞に導入する工程を含んでなり、前記抗体のTADG-15タンパク質への結合によって、TADG-15タンパク質が阻害されることを特徴とする、細胞におけるTADG-15タンパク質を阻害する方法。

【請求項28】 TADG-15に特異的なターゲット部分と、治療部分とを有する化合物を個体に投与する工程を含んでなる、個体にターゲティング療法を施す方法。

【請求項29】 前記ターゲット部分が、TADG-15に特異的な抗体、およびTADG-15に結合するリガンドまたはリガンド結合ドメインより成る群から選択されることを特徴とする請求項28記載の方法。

【請求項30】 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28記載の方法。

【請求項31】 前記個体が、卵巣癌、肺癌、前立腺癌、結腸癌、およびTADG-15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癌に罹っていることを特徴とする請求項28記載の方法。

【請求項32】 (a) 個体から生物学的試料を採取し；さらに、  
(b) 前記試料中におけるTADG-15を検出する；各工程を含んでなり、  
前記試料中にTADG-15が存在すれば前記個体に癌が存在することを示唆し、  
前記試料中にTADG-15が存在しなければ前記個体に癌が存在しないことを示唆する、  
個体における癌を診断する方法。

【請求項33】 前記生物学的試料が、血液、尿、唾液、涙液、間質液、腹水、腫瘍生検組織、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32記載の方法。

【請求項34】 前記TADG-15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サンドイッチ法、ラジオイムノアッセイ、DNAチップ、または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なされることを特徴とする請求項32記載の方法。

【請求項35】 前記癌が、卵巣癌、乳癌、肺癌、結腸癌、前立腺癌、およびTADG-15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32記載の方法。

【請求項36】 TADG-15プロテアーゼ活性を欠くTADG-15タンパク質またはその断片を個体に接種する工程を含んでなり、  
TADG-15タンパク質またはその断片の接種によって、個体において免疫応答が誘導され、それによって、個体にTADG-15に対するワクチン接種が行われることを特徴とする、  
個体にTADG-15に対するワクチン接種を行う方

法。

【請求項37】 前記個体が、癌を有し、癌を有する疑いがあり、あるいは癌に罹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-15断片が、9残基断片から20残基断片までの断片より成る群から選択され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-15断片が、配列番号2、19、20、21、29、39、49、50、59、79、80、81、82、83、84、89、および90に記載の配列より成る群から選択される9残基断片であることを特徴とする、請求項38記載の方法。

【請求項40】 TADG-15プロテアーゼ活性を欠くTADG-15タンパク質またはその断片に、樹状細胞を暴露させる工程を含んでなり、

TADG-15またはその断片への暴露によって樹状細胞が活性化され、それによってTADG-15に特異的な免疫活性化細胞が産生されることを特徴とする、TADG-15に特異的な免疫活性化細胞を産生させる方法。

【請求項41】 前記免疫活性化細胞が、B細胞、T細胞、および樹状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40記載の方法。

【請求項42】 前記TADG-15断片が、9残基断片から20残基断片までの断片より成る群から選択されることを特徴とする請求項40記載の方法。

【請求項43】 前記TADG-15断片が、配列番号2、19、20、21、29、39、49、50、59、79、80、81、82、83、84、89、および90に記載の配列より成る群から選択される9残基断片であることを特徴とする、請求項42記載の方法。

【請求項44】 前記暴露前に個体から樹状細胞を単離し、暴露後、活性化樹状細胞を個体に再導入することを特徴とする、請求項40記載の方法。

【請求項45】 前記個体が、癌を有し、癌を有する疑いがあり、あるいは癌に罹る危険性があることを特徴とする請求項44記載の方法。

【請求項46】 TADG-15タンパク質の免疫原断片と、適切なアジュバントとを含んでなる免疫原組成物。

【請求項47】 前記TADG-15断片が、9残基断片から20残基断片

までの断片より成る群から選択されることを特徴とする請求項46記載の免疫原組成物。

【請求項48】 前記TADG-15断片が、配列番号2、19、20、21、29、39、49、50、59、79、80、81、82、83、84、89、および90に記載の配列より成る群から選択される9残基断片であることを特徴とする、請求項47記載の免疫原組成物。

【請求項49】 請求項1記載のDNAに相補的であるヌクレオチド配列を有するオリゴヌクレオチド。

【請求項50】 請求項49記載のオリゴヌクレオチドと、該オリゴヌクレオチドのための生理学的に許容される担体とを含んでなる組成物。

【請求項51】 有効量の請求項49記載のオリゴヌクレオチドを個体に投与する工程を含んでなる、治療を必要とする個体における新生物性の症状を治療する方法。

【請求項52】 前記新生物性の症状が、卵巣癌、乳癌、肺癌、結腸癌、前立腺癌、およびTADG-15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51記載の方法。

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

本発明は、1998年2月20日出願の米国特許出願第09/027,337号の一部継続出願であり、米国特許法第120条の規定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する。より詳細には、本発明は、癌において過剰発現されている、腫瘍抗原誘導遺伝子 (Tumor antigen-derived gene) 15 (TAG-15) と称される細胞外セリンプロテアーゼに関する。

**【0003】****関連技術**

細胞外プロテアーゼは腫瘍増殖、腫瘍細胞の脱離、および標的臓器への浸潤に直接関連している。限定はされないが、個々のクラスのプロテアーゼは、(a) 腫瘍原発巣の周りのストローマの消化；(b) 腫瘍細胞の解離をもたらす細胞接着分子の消化；(c) 転移性増殖、ならびに腫瘍増殖因子および血管新生促進因子の活性化のための基底膜の浸潤；に関連する。

**【0004】**

癌の進行および浸潤の過程において、プロテアーゼは特定のタンパク質分解を介在し、腫瘍細胞の周りの細胞外マトリックス成分の除去、悪性腫瘍細胞の解離をもたらす細胞間接着分子の消化、および多くの増殖因子および血管新生促進因子の活性化に寄与する<sup>1-3</sup>。触媒ドメインの特性に依存して、プロテアーゼは4つのファミリーに分類される：セリンプロテアーゼ、メタロプロテアーゼ、アスパラギン酸プロテアーゼ、およびシステインプロテアーゼ<sup>3</sup>。それらプロテアーゼの中で、メタロプロテアーゼは、腫瘍増殖および進行に関連して詳細に研究されており、細胞外マトリックスを分解し、それによって悪性腫瘍細胞の浸潤能を高め得ることが知られている<sup>1,4,5</sup>。セリンプロテアーゼに関して、今までの研

究は、腫瘍細胞におけるプラスミノゲン活性化因子の産生の増強、ならびに、プラスミノゲン活性化因子の活性と癌の攻撃性との正の相関を示している<sup>6,7</sup>。前立腺特異的抗原(セリンプロテアーゼ)は異常な前立腺増殖の指標としても広く用いられている<sup>8</sup>。つい最近、いくつかの他のセリンプロテアーゼ、すなわち、卵巣癌において過剰発現され、腫瘍細胞の細胞外溶解活性を高めることによって悪性進行に寄与する、ヘプシンおよび角質層キモトリプシン酵素(SCCE)が報告された<sup>9</sup>。

#### 【0005】

先行技術は、癌において過剰発現されているプロテアーゼを同定するための有効なスクリーニング手段を欠く。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。

#### 【0006】

##### 発明の概要

本発明は、正常組織と比較して、初期の腫瘍および転移性腫瘍における差別的発現を用いて、増幅PCR産物を調べることによって、癌において過剰発現されているプロテアーゼを同定するためのスクリーニングプログラムについて開示する。腫瘍細胞において過剰発現されている候補遺伝子を同定するための試みは、セリンプロテアーゼの触媒ドメインの三つ組アミノ酸残基(His-Asp-Ser)の周囲の高度に保存されたドメインを利用する。本明細書において、今まで文献で報告されていない、卵巣癌において高度に発現されている独自の形態のセリンプロテアーゼに関する証拠を示す。正常組織、悪性度の低い潜在的腫瘍(low malignant potential tumor)、および明らかな癌の、差別的PCR増幅を用いたスクリーニング法によって、癌にのみ存在するPCR産物をサブクローニングおよび配列決定し、さらに、セリンプロテアーゼファミリーと一致する触媒ドメインを有することを見つけた。その転写物の完全クローニングおよび配列決定、ならびに卵巣腫瘍細胞におけるその発現に関する証拠をこの中で報告する。

#### 【0007】

本発明の1つの実施形態において、(a)腫瘍抗原誘導遺伝子(TADG-15)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、高ストリンジントな条件下でハイブリダイズし、かつTADG-15タンパク質をコードする単離DNA；(c) 遺伝暗号の縮重のせいで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-15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る、TADG-15タンパク質をコードするDNAを提供する。本実施形態は、TADG-15 DNAと、細胞において前記DNAを発現させるのに必要な調節要素とを包含するベクターをさらに含む。さらには、TADG-15アンチセンス mRNAが産生されるように、TADG-15 DNAが調節要素に対して逆配向で配置されているベクターを含む。

【0008】

本発明の別の実施形態において、(a) TADG-15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-15タンパク質をコードする単離DNA；(c) 遺伝暗号の縮重のせいで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-15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TADG-15タンパク質を提供する。

【0009】

本発明のさらに別の実施形態において、(a) TADG-15に特異的なプローブと試料とを接触させ；さらに(b) 試料中におけるTADG-15 mRNAに対するプローブの結合を検出する；各工程を含んでなる、TADG-15 mRNAを検出する方法を提供する。本発明のさらに別の実施形態において、TADG-15に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを含んでなるTADG-15 mRNAを検出するキットを提供する。キットにおいて、検出のための標識がさらに具体化されている。

【0010】

さらに、本発明は、(a) TADG-15またはその断片に特異的な抗体と試料とを接触させ；さらに、(b) 試料中におけるTADG-15タンパク質に対する抗体の結合を検出する；各工程を含んでなる、試料中のTADG-15タン

パク質を検出する方法を具体化する。同様に、本発明は、TADG-15またはその断片に特異的な抗体を含んでなる、試料中のTADG-15タンパク質を検出するキットを具体化する。

【0011】

別の実施形態において、本発明は、TADG-15タンパク質またはその断片に特異的な抗体を提供する。

【0012】

さらに別の実施形態において、本発明は、(a) TADG-15タンパク質と化合物とを接触させ；さらに(b) TADG-15プロテアーゼ活性を測定する；各工程を含んでなる、TADG-15を阻害する化合物をスクリーニングする方法を提供する。通常、化合物の不在下でのTADG-15プロテアーゼ活性と比較して、化合物の存在下でのTADG-15プロテアーゼ活性が低いことが、TADG-15を阻害する化合物の指標となる。

【0013】

本発明のさらに別の態様において、細胞にベクターを導入する工程を含んでなり、ベクターの発現によって細胞中にTADG-15アンチセンスmRNAが産生され、TADG-15アンチセンスmRNAが内因性TADG-15 mRNAにハイブリダイズし、それによって細胞におけるTADG-15の発現が阻害されることを特徴とする、細胞におけるTADG-15の発現を阻害する方法を提供する。

【0014】

さらに本発明は、TADG-15タンパク質またはその断片に特異的な抗体を細胞に導入する工程を含んでなり、抗体のTADG-15タンパク質への結合によって、TADG-15タンパク質が阻害されることを特徴とする、細胞におけるTADG-15タンパク質を阻害する方法を提供する。

【0015】

本発明の実施形態において、TADG-15に特異的なターゲット部分と、治療部分とを含む化合物を個体に投与する工程を含んでなる、個体にターゲティング療法を施す方法を提供する。

**【0016】**

本発明の実施形態において、(a) 個体から生物学的試料を採取し；さらに、(b) その試料中におけるTADG-15を検出する；各工程を含んでなり、試料中にTADG-15が存在すれば個体に癌が存在することを示唆し、さらに試料中にTADG-15が存在しなければ個体に癌が存在しないことを示唆する、個体における癌を診断する方法を提供する。

**【0017】**

本発明の別の実施形態において、TADG-15プロテアーゼ活性を欠くTADG-15タンパク質またはその断片を個体に接種する工程を含んでなり、TADG-15タンパク質またはその断片の接種によって、個体において免疫応答が誘導され、それによって個体にTADG-15に対するワクチン接種が行われる、個体にTADG-15に対するワクチン接種を行う方法を提供する。

**【0018】**

本発明の実施形態において、TADG-15プロテアーゼ活性を欠くTADG-15タンパク質またはその断片に、樹状細胞を暴露させる工程を含んでなり、TADG-15またはその断片の暴露によって樹状細胞が活性化され、それによってTADG-15に特異的な免疫活性化細胞が産生されることを特徴とする、TADG-15に特異的な免疫活性化細胞を産生させる方法を提供する。

**【0019】**

本発明の別の態様において、TADG-15タンパク質の免疫原断片と、適切なアジュバントとを含んでなる、免疫原組成物を提供する。

**【0020】**

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。

**【0021】****図面の簡単な説明**

本発明の前記の特徴、利点および目的、ならびに明らかになるであろう他の内容が達成されかつ詳細に理解されるように、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、前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。

#### 【0022】

図1は、ヘプシン(Heps、配列番号3)、SCCE(配列番号4)、トリプシン(Try、配列番号5)、キモトリプシン(Chymb、配列番号6)、7因子(Fac7、配列番号7)、および組織プラスミノゲン活性化因子(Tpa、配列番号8)と、TADG-15のセリンプロテアーゼ触媒ドメインとの比較を示す。星印は、触媒三つ組残基の保存アミノ酸を指示する。

#### 【0023】

図2は、TADG-15 cDNAのヌクレオチド配列、ならびにTADG-15タンパク質のアミノ酸配列を示す。推定開始コドンは、ヌクレオチド23-25に位置する。

#### 【0024】

図3は、機能的部位およびドメインを含む、TADG-15プロテアーゼのアミノ酸配列を示す。潜在的膜貫通配列に下線を引いている。星印はCUBドメインの保存システイン残基を指示する。LDL受容体リガンド結合反復様ドメインのSDE-モチーフを線で囲んでいる。矢印は、活性化に基づき切断されるアルギニン-バリン結合を示す。触媒三つ組残基：ヒスチジン、アスパラギン酸、およびセリン残基：の保存アミノ酸を丸で囲む。

#### 【0025】

図4は、TADG-15タンパク質の図解を示す。1；細胞質ドメイン(aa #1-54)、2；膜貫通ドメイン(aa #55-57)、3；細胞外ドメイン(aa #78-213)、4-5；CUB反復(aa #214-447)、6-9；LDL受容体リガンド結合反復(クラスAモチーフ)様ドメイン(aa #453-602)、10；セリンプロテアーゼ(aa #615-855)。

#### 【0026】

図5は、正常卵巣、卵巣癌、癌細胞株、正常胎児性組織、および正常成体組織における、TADG-15 mRNA発現のノーザンプロット分析を示す。全て

のサブタイプの癌、および2つの卵巣癌細胞株SW626およびCAOV3において、TAG-15の1つの強い転写が観察されたが、一方、正常卵巣または2つの乳癌細胞株では全く可視的なバンドが検出されなかった。正常胎児性組織の中で、胎児性腎臓が増強された転写を示し、さらに、胎児性肺で弱い発現が検出された。正常成体組織では、小腸および前立腺における弱い発現と共に、結腸においてTAG-15が検出された。

#### 【0027】

図6Aは、TAG-15発現の定量的PCR分析を示す。-チューブリンに対するTAG-15の発現レベルは、全てのLMP腫瘍において有意に上昇している。m；粘液性、s；漿液性。

#### 【0028】

図6Bは、正常卵巣、LMP腫瘍、および卵巣癌における、-チューブリンの発現に対するTAG-15発現の比を示す。正常卵巣における発現と比較して、LMP腫瘍(\*； $p<0.001$ )および癌(\*\*； $p<0.0001$ )の両方において、TAG-15 mRNA発現レベルは有意に上昇していた。10の正常卵巣試料の全てが、低レベルのTAG-15発現を示した。

#### 【0029】

図7は、卵巣癌組織および乳癌組織の両方から派生した腫瘍細胞株におけるTAG-15の発現を示す。

#### 【0030】

図8は、他の腫瘍組織におけるTAG-15の過剰発現を示す。

#### 【0031】

図9は、SDS-PAGEによって分離しかつ免疫プロットした、SW626およびCAOV3細胞の溶解物を示す。ライン1および2は、陰性対象として免疫前のウサギ血清を用いて実験した。ライン3および4は、TAG-15タンパク質配列由来のカルボキシル末端ペプチドに対して作成されたウサギポリクロナール抗体を用いて実験した。

#### 【0032】

図10は、TAG-15プロテアーゼペプチドに対するポリクロナール抗体

を用いた正常卵巣上皮の免疫組織化学染色が、ストローマまたは上皮の染色を全く示さないことを示唆する(図10A)。しかしながら、癌の抗体染色において、漿液性の悪性度の低い潜在的腫瘍(図10B)；粘液性の悪性度の低い潜在的腫瘍(図10C)；漿液性癌(図10D)；の細胞質におけるTADG-15発現の存在；ならびに子宮内膜様癌(図10E)の細胞質および細胞表面の両方におけるTADG-15発現の存在を確認した。

#### 【0033】

図11は、ヒトTADG-15タンパク質と、マウスエピチン(epithin)との配列の整列を示し、2つの配列が、843アミノ酸に亘り、84%類似で81%同一であることを示す。2つのタンパク質の間で同一の残基は、“-”で指示され、一方、“\*”はTADG-15翻訳終結部分を示す。それら2つのタンパク質の間の最も重要な差異はカルボキシル末端にあり、エピチンはTADG-15に存在しない47アミノ酸を含む。

#### 【0034】

図12は、TADG-15とヒトSNC-19(GeneBank登録番号#U20428)とのヌクレオチド配列の比較を示す。

#### 【0035】

##### 発明の詳細な説明

プロテアーゼは、腫瘍増殖および浸潤に必要とされる細胞外調節に関係している。卵巣癌の進行に寄与するプロテアーゼを分類する目的で、触媒三つ組残基His、Asp、およびSerの周囲の保存アミノ酸ドメインに対する重複プライマーを利用して、癌において差別的に発現されているセリンプロテアーゼを増幅させた。本方法を用いて、TADG-15(腫瘍抗原誘導遺伝子15)と称されるセリンプロテアーゼが卵巣腫瘍において過剰発現されていることを確認した。TADG-15は膜貫通型マルチドメインセリンプロテアーゼであると考えられる。PCR、ノーザンプロット、および免疫学的局在決定によると、TADG-15は卵巣腫瘍において高度に過剰発現されている。

#### 【0036】

TADG-15 cDNAは、855アミノ酸タンパク質(配列番号2)をコ

ードする3147塩基対長(配列番号1)である。TADG-15遺伝子を利用可能であることは、多くの有用性をもたらす。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または治療ターゲットとしてTADG-15遺伝子を用いることができる。

【0037】

本発明は、(a) TADG-15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、高ストリンジेंटな条件下でハイブリダイズし、かつTADG-15タンパク質をコードする単離DNA；(c) 遺伝暗号の縮重のせいで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-15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る腫瘍抗原誘導遺伝子(TADG-15)タンパク質をコードするDNAに関する。DNAが配列番号1記載の配列を有し、かつTADG-15タンパク質が配列番号2記載のアミノ酸配列を有することが好ましい。

【0038】

本発明は、TADG-15 DNAと、細胞における該DNAの発現に必要な調節要素とを含んでなるベクター、あるいは、TADG-15アンチセンスmRNAが産生されるように、TADG-15 DNAが調節要素に対して逆配向で配置されているベクターに関する。通常、DNAは、配列番号2記載のアミノ酸配列を有するTADG-15タンパク質をコードする。また、本発明は、前記のベクターの何れかでトランスフェクトされた宿主細胞に関する。例示的宿主細胞は、細菌細胞、哺乳類細胞、植物細胞、および昆虫細胞である。好ましくは、細菌細胞は大腸菌(E.coli)である。

【0039】

本発明は、(a) TADG-15タンパク質をコードする単離DNA；(b) 高ストリンジेंटな条件下で前記(a)の単離DNAに対してハイブリダイズし、かつTADG-15タンパク質をコードする単離DNA；(c) 遺伝暗号の縮重のせいで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-15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TADG-15タンパク質

に関する。好ましくは、本タンパク質は配列番号2記載のアミノ酸配列を有する。

【0040】

本発明は、(a) TADG-15 に特異的なプローブと試料とを接触させ；さらに、(b) 試料中における TADG-15 mRNA に対するプローブの結合を検出する；各工程を含んでなる、TADG-15 mRNA を検出する方法に関する。本発明はまた、(a) TADG-15 またはその断片に特異的な抗体と試料とを接触させ；さらに、(b) 試料中における TADG-15 タンパク質に対する抗体の結合を検出する；各工程を含んでなる、試料中の TADG-15 タンパク質を検出する方法に関する。通常、試料は生物学的試料であり；好ましくは、その生物学的試料は個体に由来するものであり；さらに通常、その個体は癌を有する疑いがある個体である。

【0041】

本発明は、TADG-15 に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを含んでなる、TADG-15 mRNA を検出するキットに関する。本キットは：プローブを標識するための標識；および標識を検出する手段；をさらに含んでいて差し支えない。さらに、本発明は、TADG-15 タンパク質またはその断片に特異的な抗体を含んでなる、TADG-15 タンパク質を検出するキットに関する。本キットは、抗体を検出する手段をさらに含んでいて差し支えない。

【0042】

本発明は、TADG-15 タンパク質またはその断片に特異的な抗体に関する。

【0043】

本発明は、(a) TADG-15 タンパク質と化合物とを接触させ；さらに、(b) TADG-15 プロテアーゼ活性を測定する；各工程を含んでなる、TADG-15 を阻害する化合物をスクリーニングする方法に関する。通常、化合物の不在下での TADG-15 プロテアーゼ活性と比較して、化合物の存在下での TADG-15 プロテアーゼ活性が低いことが、TADG-15 を阻害する化合物の指標となる。

## 【0044】

内因性TADG-15 mRNAにハイブリダイズするTADG-15アンチセンスmRNAを発現するベクターを細胞に導入し、それによって細胞におけるTADG-15の発現を阻害する工程を含んでなる、細胞におけるTADG-15の発現を阻害する方法に関する。

## 【0045】

本発明は、TADG-15タンパク質を阻害する、TADG-15タンパク質またはその断片に特異的な抗体を細胞に導入する工程を含んでなる、細胞におけるTADG-15タンパク質を阻害する方法に関する。通常、TADG-15タンパク質の阻害は、癌を治療するためである。

## 【0046】

本発明は、TADG-15に特異的なターゲット部分と、治療部分とを含む化合物を個体に投与する工程を含んでなる、個体にターゲティング療法を施す方法に関する。例示的ターゲット部分は、TADG-15に特異的な抗体、およびTADG-15に結合するリガンドまたはリガンド結合ドメイン（例えば、CUB、LDLR、プロテアーゼ、および細胞外ドメイン）である。同様に、例示的治療部分は、放射性同位体、毒素、化学療法剤、および免疫促進剤である。通常、前記の方法は、個体が、卵巣癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、結腸癌、および子宮頸癌に罹っている場合に有用である。

## 【0047】

本発明は、(a)個体から生物学的試料を採取し；さらに、(b)その試料中におけるTADG-15を検出する；各工程を含んでなる、個体における癌を診断する方法に関する。通常、試料中にTADG-15が存在すれば個体に癌が存在することを示唆し、さらに試料中にTADG-15が存在しなければ個体に癌が存在しないことを示唆する。通常、生物学的試料は、血液、腹水、尿、涙液、唾液、または間質液である。TADG-15を検出する一般的手段は、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、ラジオイムノアッセイ、DNAチップ、または腫瘍細胞標識である。本方法は、卵巣癌、乳癌、ならびに肺癌、前立腺癌および結腸癌のようなTADG-15が過剰発

現されている他の癌において有用であろう。

【0048】

本発明はまた、TADG-15 mRNA配列に相補的なヌクレオチド配列を有するアンチセンスオリゴヌクレオチドに関する。本発明はまた、そのようなアンチセンスヌクレオチド、および該アンチセンスヌクレオチドのための生理的に許容される担体を含んでなる組成物に関する。

【0049】

本発明はまた、有効量のアンチセンスオリゴヌクレオチドを個体に投与する工程を含んでなる、治療を必要とする個体の個々の症候群における、新生物性の症状を治療する方法に関する。好ましくは、新生物性の症状は、卵巣癌、乳癌、肺癌、前立腺癌、結腸癌、ならびにTADG-15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。そのような治療のため、オリゴヌクレオチド単独で、または他の抗新生物薬と組み合わせて、全身投与または局所投与等、種々の投与形態に適応させて製剤化することができる。技術および製剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Paに記載されている。通常、投与形態および剤形に基づき、例えば充填剤、増量剤、結合剤、湿潤剤、崩壊剤、界面活性剤、または滑剤等の希釈剤または賦形剤のような生理的に許容される担体と、オリゴヌクレオチド活性材料とを組み合わせる。一般的な剤形として、錠剤；粉末；懸濁液、エマルジョン、および溶液等の液体製剤；顆粒剤；カプセル；および坐剤；ならびにリポソーム製剤等の注射用液体製剤等が挙げられる。

【0050】

全身投与のため、筋肉内、静脈内、腹腔内、および皮下等の注射が好ましい。注射のため、本発明のオリゴヌクレオチドは、溶液中、好ましくは生理学的に適合するバッファー中に製剤化される。さらに、オリゴヌクレオチドを固形製剤とし、使用直前に再溶解または懸濁させても差し支えない。凍結乾燥形態であっても差し支えない。全身投与に用いられる用量は、好ましくは、約0.01mg/kgから50mg/kgの範囲であり、1日当たり1回または2回投与する。しかしながら、(1) ターゲットDNAの活性を阻害する個々のオリゴヌクレオチドの能力、(2)

病的症状の重篤度または程度、あるいは(3)所定のオリゴヌクレオチドの薬物動力学的挙動に基づいて、様々な用量スケジュールを用いることができる。

#### 【0051】

本発明は、TADG-15プロテアーゼ活性を欠くTADG-15タンパク質またはその断片を個体に接種する工程を含んでなる、TADG-15過剰発現に対して個体にワクチン接種する方法に関する。TADG-15タンパク質またはその断片の接種は、個体における免疫応答を誘導し、それによって個体にTADG-15に対するワクチン接種が行われる。この中に記載のTADG-15のワクチン接種は、癌を有し、癌を有する疑いがあり、あるいは癌に罹る危険性のある個体を対象とする。通常、個体にワクチン接種するのに有用であるTADG-15断片は、配列番号2、19、20、21、29、39、49、50、59、79、80、81、82、83、84、89、および90に記載の好ましい9残基断片を有する、9残基断片から20残基断片である。

#### 【0052】

本発明は、TADG-15プロテアーゼ活性を欠くTADG-15タンパク質またはその断片に樹状細胞を暴露させる工程を含んでなり、TADG-15またはその断片への暴露によって樹状細胞が活性化され、それによってTADG-15に特異的な免疫活性化細胞が産生されることを特徴とする、TADG-15に特異的な免疫活性化細胞を産生させる方法を提供する。例示的免疫活性化細胞は、B細胞、T細胞、および樹状細胞である。通常、TADG-15断片は、配列番号2、19、20、21、29、39、49、50、59、79、80、81、82、83、84、89、および90に記載の好ましい9残基断片を有する、9残基断片から20残基断片である。好ましくは、暴露前に樹状細胞を個体から単離し、暴露後、活性化樹状細胞を個体に再導入する。通常、本方法が適用される個体は、癌を有し、癌を有する疑いがあり、あるいは癌に罹る危険性のある個体である。

#### 【0053】

本発明は、TADG-15タンパク質の免疫原断片と、適切なアジュバントとを含んでなる、免疫原組成物に関する。通常、TADG-15断片は、配列番号2

、19、20、21、29、39、49、50、59、79、80、81、82、83、84、89、および90に記載の好ましい9残基断片を有する、9残基断片から20残基断片である。

【0054】

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。

【0055】

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。

【0056】

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。

【0057】

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。

【0058】

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。

【0059】

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。

#### 【0060】

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ル末端に存在するフリーのカルボキシル基を称する。標準的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。

#### 【0061】

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ル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。

#### 【0062】

「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。

#### 【0063】

「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。

#### 【0064】

「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、線状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。

#### 【0065】

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。適切な転写および翻訳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、遺伝子とその転写制御配列とが「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として、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。通常、発現ベクターは、挿入されたDNA断片の効率的な転写を促進させる、宿主と関連して用いられるプロモーター配列を含む。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。

#### 【0066】

「複製起点」は、DNA合成を開始するDNA配列を称する。

#### 【0067】

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、コード配列の境界が特定される。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。ポリアデニル酸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。

#### 【0068】

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、ポリアデニル酸シグナル、ターミネーター等のDNA調節配列である。

#### 【0069】

「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。

#### 【0070】

「発現制御配列」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制御配列の「制御下」にある。

#### 【0071】

「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。シグナル配列は、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させる、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、シグナルペプチドは、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と関連して見出される。

【0072】

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、特定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。

【0073】

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）組み込まれても組み込ま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が染色体に組み込まれて、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。

【0074】

DNA配列の特定された長さに亘り、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ストリンジェントな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, su

pra; Nucleic Acid Hybridization, supraを参照。

【0075】

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。

【0076】

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ブルーおよびルシファーイエロー(Lucifer Yellow)が挙げられる。特定の検出物質は、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。

【0077】

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。

【0078】

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可能である。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。代替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。

#### 【0079】

本技術分野において開発されかつ利用される特定の測定系は、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、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。本方法において、物質間の親和性の違いを確かめることができる。

#### 【0080】

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、得られた複合体が応答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計測によって測定し、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。

#### 【0081】

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-15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、当業者に周知である任意の技術を利用して、宿主を形質転換させることができる。原核生物を形質転換させる目的において、本発明のヒトTADG-15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(*E. coli*)、サルモネラ・タイフィムリウム(*S. typhimurium*) (ネズミチフス菌)、セラシア・マルセッ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(*Pichia 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。

#### 【0082】

本発明は、実質的に純粋なTADG-15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記載の配列の少なくとも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、高ストリンジェントな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、図3および4に挙げられたアミノ酸(配列番号2)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2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。本発明はまた、図2に示されたヌクレオチド(配列番号1)の1から3147までのヌクレオチドの領域の少なくとも15(好ましくは20、より好ましくは30、さらに好ましくは50、最も好ましくは全て)の連続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。

#### 【0083】

「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、そのDNAが自然に生じた環境の一部ではなくなった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、あるい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、TADG-15の選択的スプライシング変異体（TADG-15V）をコードする、図2に挙げられているヌクレオチド（配列番号1）の一部を包含する組換えDNAを含む。

#### 【0084】

「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-15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-15タンパク質を得ることができる。TADG-15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のようなカラム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。天然の状態において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、他の原核生物、あるいはそれらタンパク質が自然には生じない任意の他の生物体において合成された原核生物タンパク質を含む。

#### 【0085】

この中で用いられている「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。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であるかあるいは合成されたものであるかにかかわらず、適切な条件下、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、特定核酸に相補的な鎖の合成を開始させることができ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させ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、プライマーの配列および/または相同性、ならびに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。

#### 【0086】

この中のプライマーは、特定ターゲットDNA配列に対して「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、非相補的ヌクレオチド断片（すなわち、制限酵素部位を有する）は、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'末端に結合することができる。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。

#### 【0087】

本発明のDNAがハイブリダイズするプローブは、好ましくは、図2に挙げられたヌクレオチド（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TAG-15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；各工程を含んでなる方法によって、細胞におけるTAG-15の発現を検出するのに有用である。

#### 【0088】

「高ストリンジェント」とは、例えば約 $0.1 \times \text{SSC}$ 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：約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 $2 \times \text{SSC}$ による約65での1回目の洗浄；続く約 $0.1 \times \text{SSC}$ による約65での2回目の洗浄；が挙げられる。

#### 【0089】

DNAは、図2に挙げられているヌクレオチド(配列番号1)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、マッチング数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つの配列の両方における特定位置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2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(GCG), 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。

## 【0090】

本発明は、ヒトTADG-15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、宿主において複製でき、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)TADG-15タンパク質をコードするDNA配列：を包含する。好ましくは、本発明のベクターは、配列番号1記載のDNA配列の一部を包含する。「ベクター」は、TADG-15タンパク質またはその断片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用いられる。

## 【0091】

実質的に完全長のタンパク質に加えて、本発明は、TADG-15タンパク質（配列番号2）の断片（例えば抗原性断片）も含む。この中で用いられている、ポリペプチドに適用される「断片」は、一般的に6残基以上、より一般的に9-12残基以上、さらに好ましくは13-20残基以上の長さであるが、完全な無傷の配列よりは短い。あるいは、断片は、配列番号2からの20-120残基の個々のドメインであっても差し支えない。例えば、天然のまたは組換えのTADG-15タンパク質の酵素消化によって、またはTADG-15の特定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-15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-15の特性（例えばTADG-15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的プロトコルによって、精製TADG-15またはTADG-15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。例えばウサギにおいて免疫原としてTADG-15またはTADG-15の断片を用いることによっ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的プロトコルを用いる。組換えTADG-15 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-15 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。

【0092】

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2記載の配列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-15タンパク質、あるいはTADG-15の配列の一部が欠失しているTADG-15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、TADG-15ポリペプチドの断片または完全TADG-15ポリペプチドを共有結合させて差し支えない。

【0093】

また、本発明は、TADG-15に特異的に結合するポリクロナール抗体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。

【0094】

1つの実施形態において、抗体またはその断片を、毒素、あるいは放射性標識、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。

【0095】

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。磁気共鳴画像法において有用である元素について多くの例がある。インビボでの核磁気共鳴画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。

#### 【0096】

当業者は、本発明に基づいて用いることができ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。

#### 【0097】

生物学的試料中のTADG-15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、例えば放射能でタグ付けしたTADG-15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。免疫測定において、TADG-15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-15タンパク質発現レベルの上昇を検出することができる。ノーザンプロット法

および分析を用いてそれら同じ用途を達成できる。

#### 【0098】

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-15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-15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、生物学的試料中のTADG-15タンパク質を検出する方法において有用である。本方法は、癌を有する疑いがある患者から生物学的試料（例えば細胞、血液、血漿、組織等）を採取し、さらにELISAのような標準的免疫測定技術を用いてTADG-15タンパク質を検出する各工程を含んでなる。生物学的試料に対する抗体結合は、その試料がTADG-15内のエピトープを有する成分を含むことを示唆する。

#### 【0099】

同様に、標準的な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、癌であることが疑わしい細胞または組織中におけるTADG-15 mRNAの相対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（図2）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）の前記DNA配列の断片の何れかを包含する放射性標識TADG-15 cDNAのようなハイブリダイゼーションプローブを用いる。当業者に周知の様々な方法によって、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。

#### 【0100】

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。

#### 【0101】

##### 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切除の際に、試料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、その試料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。

#### 【0102】

時々、ヒト組織ネットワーク協会 (CHTN) から追加の試料を得た。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、それら試料 (例えば、血液 (血清)、尿、唾液、涙液、および間質液) を実験記録に記入して、-80 で保存した。腫瘍組織の提供において、ヒト組織ネットワーク協会 (CHTN) の以下の部門の参加が承認されている: 西部部門、ウェスタンリザーブ大学 (クリーブランド、オハイオ州); 中西部部門、オハイオ州立大学 (コロンバス、オハイオ州); 東部部門、NDRI (フィラデルフィア、ペンシルベニア州); 小児科部門、子供病院 (コロンバス、オハイオ州); 南部部門、バーミンガムのアラバマ大学 (バーミンガム、アラバマ州)。

#### 【0103】

### 実施例2

#### mRNAの単離およびcDNA合成

41の卵巣腫瘍 (10の悪性度の低い潜在的腫瘍、および31の癌)、ならびに10の正常卵巣を外科的試料から得て、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、ならびに、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改良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。

#### 【0104】

Becton Dickinsonから購入したMini RiboSep™ Ultra mRNA 単離キットを用いて、その取扱説明書に基づいて、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<sup>+</sup>mRNAを直接単離した。回収されたmRNAの量は、UV分光測光法によって定量化された。

#### 【0105】

CLONTECH(Palo Alto, CA)から購入した第一鎖合成キットを利用して、製品のプロトコルに基づき、5.0 µg mRNA、ならびにランダムヘキサマーまたはオリゴ(dT)プライマーの何れかを用いて、第一鎖相補的DNA(cDNA)を合成した。p53遺伝子に特異的なプライマーを用いたPCRによって、cDNAの純度を評価した。ゲノムDNAが混入したcDNAから純粋なcDNAを区別できるように、プライマーはイントロンに架かる。

#### 【0106】

##### 実施例3

重複プライマーを用いたPCR、TADG-15 cDNAのクローニング、T-ベクターライゲーションおよび形質転換、ならびにDNA配列決定

セリンプロテアーゼの触媒三つ組残基の周囲のアミノ酸に対応する重複プライマーとして、前進の5' - TGGGTIGTIACIGCIGCICA(C/T)TG - 3' (配列番号11)、および反対の5' - A(A/G)IGGICCI CCI(C/G)(T/A)(A/G)TCICC - 3' (配列番号12)を用いて、正常および癌のcDNAからのPCR産物を比較した。

#### 【0107】

製品取扱説明書に基づいて、プロメガT-ベクタープラスミド中に精製PCR産物を連結し、さらに、その連結産物を用いて、JM109コンピテント細胞(Promega)を形質転換した。増幅のために陽性コロニーを培養し、さらに、Wizard<sup>TM</sup> Miniprep DNA精製システム(Promega)によってプラスミドDNAを単離し、その後、ApaIおよびSacI制限酵素でプラスミドを消化し、挿入物のサイズを特定した。以前に記載のPCR産物ゲル電気泳動によって可視化されたサイズの挿入物を有するプラスミドを配列決定した。

#### 【0108】

個々のクローンを培養し、Wizard Miniprep DNA精製システム(Promega)を用いてプラスミドDNAを単離した。直接的cDNA配列決定のために、Applie

d Biosystemsモデル373A DNAシーケンスシステムを用いた。クローニング部位近傍のプラスミド特異的プライマーを利用して、製品の取扱説明書に基づき、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。Centri-sep™スピンカラム(Princeton Separation)を用いて、完了した配列決定反応から染色ターミネーターを除去した。特定された配列に基づき、関心遺伝子を特異的に増幅させるプライマーを設計および合成した。

#### 【0109】

初代のTAG-15サブクローン(436bp)を無作為に標識して、標準的ハイブリダイゼーション技術<sup>13</sup>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、8ZAP中に構築された。3147ヌクレオチドに架かる3つの重複するクローンを得た。

#### 【0110】

##### 実施例4

##### ノーザンブロット分析

0.02M MOPS、0.05M酢酸ナトリウム(pH7.0)、および0.001M EDTA中の1%ホルムアルデヒド-アガロースゲルを用いた電気泳動によって、mRNA(10 µg)をサイズ分離した。次に、20×SSPE中での毛管現象によって、Hybond-N+ナイロン膜(Amersham)上にmRNAをブロットした。80℃で2時間加熱乾燥することによって、RNAを膜に固定した。Prime-a-Gene標識システム(Promega)によって、<sup>32</sup>P標識cDNAプローブを作成した。前記と同じプライマーによって増幅させたPCR産物をプローブに用いた。ブロットを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)中において、<sup>32</sup>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。

#### 【0111】

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性組織；脳、肺、肝臓および腎臓(Human Multiple Tissue Northern Blot; CLONTECH)も評価した。CLONTECHから購入した別途の多様組織ノーザン(MTN)プロットは、ヒトMTNプロット、ヒトMTN IIプロット、ヒト胎児性MTN IIプロット、およびヒト脳MTN IIIプロットを含む。

#### 【0112】

### 実施例5

#### ウェスタンブロット分析

TADG-15タンパク質配列「LFRDWIKENTGV」(配列番号13)由来の、ポリリジン結合複合Agペプチドで免疫することによって、ウサギボリクロナール抗体を作成した。約20 µgの細胞溶解物を15%SDS-PAGEゲルで分離し、4、100Vで40分間、PVDFに電気ブロッティングした。50%MeOH中において10分間インキュベートすることによってタンパク質を膜に固定した。0.2%脱脂乳を含有するTBS(pH7.8)中において、膜を1晩ブロッキングした。0.2%乳/TBSで1:100に希釈した一次抗体を膜に添加し、室温で2時間インキュベートした。ブロットを洗浄し、1:3000に希釈したアルカリホスファターゼ結合ヤギ抗ウサギIgG(BioRad)と共に室温で1時間インキュベートした。ブロットを洗浄し、化学発光性基質と共にインキュベートした後、可視化のためにX線フィルムを10秒間感光させた。

#### 【0113】

### 実施例6

#### 定量的PCR

定量的PCRを用いて、TADG-15のmRNA過剰発現を特定した。以前報告された方法<sup>11, 12</sup>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-15のために、前進の5'-ATGACAGAGGATTCAGGTAC-3'(配列番号14)、および反対の5'-GAAAGGTGAAGTCATTGAAGA-3'(配列番号15)；および-チューブリンのために、前進の5'-CGCATCAACGTGTACTACAA-

3' (配列番号16)、反対の5' - T A C G A G C T G G T G G A C T G A G A - 3' (配列番号17)を用いた。 - チューブリンは内部対照として用いられた。

#### 【0114】

PCR反応混合物は、最終容積25 µl中に、反応バッファー(Promega)と共に、mRNA (50 ng) から誘導されたcDNA、TADG-15遺伝子および - 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 (5 pmol)、dNTPs (200 µmol)、<sup>-32</sup>P dCTP (5 µCi)、ならびにTaq DNAポリメラーゼ (0.25 unit) を含む。 - 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させた。サーマルサイクラー(Thermal Cycler)(Perkin Elmer Gene Amp 2400; 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 °Cでの30秒間の変性、60 °Cでの30秒間のアニーリング、および72 °Cでの30秒間の伸長を含む。アニーリング温度は、PCR反応に用いられるプライマーによって変化する。縮重プライマーを含む反応のため、48 °Cのアニーリング温度を用いた。TADG-15特異的プライマーおよび - チューブリン特異的プライマーのための適切なアニーリング温度は62 °Cである。

#### 【0115】

2%アガロースゲル上でPCR産物の一部を分離し、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。本研究では、発現比(TADG-15 / - チューブリン)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。

#### 【0116】

### 実施例7

#### 免疫組織化学分析

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切片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によって処理した。湿気のあるチャンバー中において30分間、正常ヤギ血清と共にその切片をインキュベートした。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、その切片をABC試薬(Vector)と共に30分間インキュベートした。ABC基質系(DAKO)を用いて最終生成物を可視化し、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。

#### 【0117】

#### 実施例8

##### アンチセンスTADG-15

アンチセンスRNA分子(配列番号18)が産生されるように、逆配向でTADG-15をクローン化および発現させた。例えば、アンチセンスRNAを用いて、細胞中の相補的RNAにハイブリダイズさせ、それによってTADG-15 RNAのタンパク質への翻訳を阻害する。

#### 【0118】

#### 実施例9

##### 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-15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.dcr.t.nih.gov/molbio/hlabind/>>において、その分析に用いられるコンピュータープログラムを見つけることができる。表1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-15ペプチドは推定上の免疫原であり、かつ個体にTADG-15に対するワクチン接種を行うために用いられる。

#### 【0119】

#### 【表1】

表1

## TADG-15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	68	VLLGIGFLV	2537.396	19
2	126	LLYSGVPFL	1470.075	20
3	644	SLISPNWLV	521.640	21
4	379	KVSFKFFYL	396.525	22
5	386	YLLEPGVPA	346.677	23
6	257	SLTFRSFDL	123.902	24
7	762	ILQKGEIRV	118.238	25
8	841	RLPLFRDWI	106.842	26
9	64	GLLLVLLGI	88,783	27
10	57	VLA AVLIGL	83.527	28
HLA A0205				
1	67	LVLLGIGFL	142.800	29
2	379	KVSFKFFYL	100.800	30
3	126	LLYSGVPFL	71.400	31
4	88	KVFNGYMRI	36.000	32
5	670	TQWTAFLGL	33.600	33
6	119	KVKDALKLL	25.200	34
7	60	AVLIGLLL	24.000	35
8	62	LIGLLVLL	23.800	36
9	57	VLA AVLIGL	23.800	37
10	61	VLIGLLVL	23.800	38
HLA A1				
1	146	FSEGSVIAY	337.500	39
2	658	YIDDRGFRY	125.000	40
3	449	SSDPCPGQF	75.000	41

【表2】

4	401	YVEINGEKY	45.000	42
5	387	LLEPGVPAG	18.000	43
6	553	GSDEASCPK	15.000	44
7	97	TNENFVDAY	11.250	45
8	110	STEFVSLAS	11.250	46
9	811	SVEADGRIF	9.000	47
10	666	YSDPTQWTA	7.500	48
HLA A24				
1	709	DYDIALLEL	220.000	49
2	408	KYCGERSQF	200.000	50
3	754	QYGGTGALI	50.000	51
4	153	AYYWSEFSI	50.000	52
5	722	EYSSMVRPI	50.000	53
6	326	GFEATFFQL	36.000	54
7	304	TFHSSQNVL	24.000	55
8	707	TFDYDIALL	20.000	56
9	21	KYNSRHEKV	16.500	57
10	665	RYSDPTQWT	14.400	58
HLA B7				
1	686	APGVQERRL	240.000	59
2	12	GPKDFGAGL	80.000	60
3	668	DPTQWTAFL	80.000	61
4	461	TGRCIRKEL	60.000	62
5	59	AAVLIGLLL	36.000	63
6	379	KVSFKFFYL	20.000	64
7	119	KVKDALKLL	20.000	65
8	780	LPQQITPRM	20.000	66
9	67	LVLLGIGFL	20.000	67
10	283	SPMEPHALV	18.000	68
HLA B8				
1	12	GPKDFGAGL	24.000	69
2	257	SLTFRSFDL	8.000	70

【表3】

3	180	MLPPRARSL	8.000	71
4	217	GLHARGVEL	8.000	72
5	173	MAEERVVML	4.800	73
6	267	SCDERGSDL	4.800	74
7	567	CTKHTYRCL	4.000	75
8	724	SSMVRPICL	4.000	76
9	409	YCGERSQFV	3.600	77
10	495	TCKNKFCCKP	3.200	78
HLA B2702				
1	427	VRFHSDQSY	1000.000	79
2	695	KRIISHPPF	600.000	80
3	664	FRYSDPTQW	500.000	81
4	220	ARGVELMRF	200.000	82
5	492	HQFTCKNKF	100.000	83
6	53	GRWVVLAAV	100.000	84
7	248	LRGDADSVL	60.000	85
8	572	YRCLNGLCL	60.000	86
9	692	RRLKRIISH	60.000	87
10	24	SRHEKVNGL	60.000	88
HLA B4403				
1	147	SEGSVIAYY	360.000	89
2	715	LELEKPAEY	360.000	90
3	105	YENSNSTEF	60.000	91
4	14	KDFGAGLKY	50.625	92
5	129	SGVPFLGPY	36.000	93
6	436	TDTGFLAEY	33.750	94
7	766	GEIRVINQT	30.000	95
8	402	VEINGEKYC	30.000	96
9	482	DELNCSCDA	24.000	97
10	82	RDVRVQKVF	22.500	98

### 実施例 10

#### TADG - 15 cDNA

正常組織と比較して腫瘍において特異的に増幅される RT-PCR 産物を調べ

ることによる、ヒト癌において過剰発現されているプロテアーゼを同定するためのスクリーニング戦略を開発した。本試みの間、触媒ドメインのNH<sub>3</sub>末端にある保存されたヒスチジンドメインに対する重複センスプライマー、および下流の保存されたセリンドメインに対するアンチセンスプライマーを用いて、候補遺伝子を同定した。プロテアーゼをコードする遺伝子を同定するため、そのようなPCR反応において増幅された適切な480塩基対のバンドをサブクローニングおよび配列決定した。増幅された触媒ドメインの中で、TADG-15(腫瘍抗原誘導遺伝子15)と称される新規なセリンプロテアーゼ遺伝子を同定した。その新規に同定されたTADG-15タンパク質の触媒ドメインは、他のセリンプロテアーゼのものと類似しており、具体的には、チロシン様セリンプロテアーゼファミリーの触媒ドメインに適した保存アミノ酸を包含している。

#### 【0120】

TADG-15プロテアーゼドメインに相同であるアミノ酸配列に関する、FASTAプログラム(Wisconsin Package Version 9.1, GCG, Madison, Wisconsin)を用いたGenEMBLデータベースのコンピューター検索は、他の公知のヒトプロテアーゼとの相同性が55%を越えないことを示した。図1は、他のヒトセリンプロテアーゼと比較して、TADG-15のプロテアーゼドメインを整列させたものを示す。GCGを介して利用可能なBESTFITプログラムを用いた結果、TADG-15と、チロシン、キモトリプシン、および組織プラスミノゲン活性化因子との間の類似性は、それぞれ、51%、46%、および52%であった。

#### 【0121】

TADG-15触媒ドメイン由来の配列から、特異的プライマーを合成して、ライブラリーのスクリーニングのためTADG-15特異的プローブを増幅させた。卵巣癌ライブラリーをスクリーニングした後、TADG-15転写物の3'末端を含む1つの1785bpクローンを得た。その新規に検出されたクローンの5'末端を用いてさらにスクリーニングすることによって、TADG-15転写物の5'末端を含む、別の1362bpのcDNAを提供する、追加のクローンを同定した。配列決定されたcDNAの全長は、約3.15kbであった。得られた全ヌクレオチド配列は、予測された855アミノ酸部分をコードする単一

のオープンリーディングフレームの前にあるコザックのコンセンサス配列を含む(図2)。

#### 【0122】

TADG-15ヌクレオチド配列によってコードされた予測オープンリーディングフレーム(図2、3、および4)は、以下のようないくつかの別個のドメインを含む: アミノ末端細胞質テイル(アミノ酸(aa) #1-54); 潜在的膜貫通ドメイン(aa #55-57); 細胞外膜ドメイン(aa #78-213); 2つの補体サブコンポーネントClr/Clis、Uegf、および骨形成タンパク質1(CUB)反復(aa #214-447); 4つの低密度リポタンパク質(LDL)受容体様ドメインのリガンド結合反復(aa #453-602); ならびにセリンプロテアーゼドメイン(aa #615-855)。TADG-15タンパク質はまた、2つの潜在的N-結合グリコシル化部位(aa #109および302)、ならびに本タンパク質のカルボキシル末端においてプロテアーゼを遊離および/または活性化させることができる、プロテアーゼドメインの上流にある潜在的タンパク質分解性切断部位(aa #614)を含む。さらには、TADG-15は、細胞-細胞接着に関連するタンパク質において共通に見出されている、RGDモチーフ(aa #249-251)を含む。

#### 【0123】

##### 実施例11

##### TADG-15発現

TADG-15の転写物のサイズ、および様々な組織における発現パターンを調べるため、代表的な組織タイプの癌、一連の細胞株、胎児性組織、および正常生体組織について、ノーザンプロットハイブリダイゼーションを実施した(図5)。TADG-15メッセージの転写物サイズは約3.2kbとして特定され、1つの強い転写物が、調べた癌の全てに存在することが観察されたが、正常卵巣では全く可視バンドが検出されなかった(図5)。その転写物サイズは、配列データから予測した転写物サイズ3.15kbともよく一致している。卵巣腫瘍細胞株SW626およびCAOV3も多量の転写物を示したが、乳癌細胞株MDA-MB-231およびMDA-MB-4355では殆どまたは全く転写物が検出されなかった。正常ヒト胎児性組織の中で、胎児性腎臓が多量のTADG-15転写物

を示し、さらに胎児性肺においても低い発現が検出された。正常生体組織では、小腸および前立腺における低レベルでの発現と共に、結腸においてTADG-15が検出された(図5)。

#### 【0124】

卵巣腫瘍および正常卵巣におけるTADG-15のmRNA転写物発現を評価するため、半定量的PCRを実施した(図6)。予備実験において、本測定法<sup>11</sup>・<sup>12</sup>の直線性を確認しており、その結果はノーザンブロットおよび免疫組織化学分析と相関した。ホスホイメジャーを用いてデータを定量化し、発現比(TADG-15 /  $\beta$ -チューブリン)として比較した。結果は、TADG-15転写物発現が、調べた腫瘍の全てにおいて、カットオフ値(正常卵巣の平均値 $\pm$ 2SD)を越える高いレベルで検出されるが、正常卵巣では検出されないかまたは低レベルで検出されることを示唆した(図6AおよびB)。疾患の初期および末期を含む卵巣癌サブタイプの分析は、調べた全ての癌におけるTADG-15の過剰発現を確認した(表2)。5症例のステージIおよび3症例のステージIIの癌を含む、調べた癌の全てが、TADG-15遺伝子の過剰発現を示した。

#### 【0125】

腫瘍の病期および組織学的サブタイプに関してそれらデータを調べた結果、全ての病期および全ての組織学的サブタイプの癌がTADG-15を過剰発現していることが示唆された。発現比(平均値 $\pm$ SD)は、正常卵巣群が $0.182 \pm 0.024$ 、LMP腫瘍群が $0.847 \pm 0.419$ 、癌群が $0.771 \pm 0.380$ であった(表2)。正常卵巣群と腫瘍群との比較は、LMP癌群と癌群の両方において、TADG-15遺伝子の過剰発現が統計的に有意であることを示した(LMP腫瘍： $p < 0.001$ 、癌： $p < 0.0001$ )。

#### 【0126】

図6に示すように、TADG-15転写物は、全ての卵巣癌において認められたが、以下の組織の何れにおいても、検出可能なレベルでは存在しなかった：a) 正常卵巣、b) 胎児性の肝臓および脳、c) 生体の脾臓、胸腺、精巣、卵巣、および末梢血白血球、d) 骨格筋、肝臓、脳、または心臓。本評価を約40腫瘍からなる標準的パネルに広げた。TADG-15特異的プライマーを用いて、図

7に示すような卵巣癌組織および乳癌組織由来の腫瘍細胞株、ならびに図8に示すような他の腫瘍組織においても発現を調べた。TADG-15の発現は、乳癌、結腸癌、前立腺癌、および肺癌でも観察された。

#### 【0127】

プロテアーゼドメインのカルボキシル末端の合成ペプチド(12マー)に対して作成されたポリクロナール抗体を用いて、正常卵巣および卵巣腫瘍におけるウェスタンブロットおよび免疫学的局在決定によって、細胞株におけるTADG-15発現を調べた。抗体および免疫前血清の両方を用いて、SW626およびCAOV3細胞由来の細胞抽出物のウェスタンブロットを調べた(図9)。約100,000ダルトン、約60,000ダルトン、および32,000ダルトンのバンドを含む、いくつかのバンドが、抗体を用いて検出された。完全TADG-15分子の予想分子サイズは、約100,000ダルトンと推定され、さらに、aa #614でタンパク質分解性切断によって遊離されるであろうプロテアーゼドメインは約32,000ダルトンと推定された。いくつかの中間のタンパク質分解産物が60,000ダルトンのバンドに該当するであろう。

#### 【0128】

腫瘍細胞の抗体染色は、一連のLMP腫瘍、粘液性LMP腫瘍、および漿液性癌の細胞質にTADG-15プロテアーゼが存在することを支持する(それぞれ、図10B、C、およびD)。その広汎性染色パターンは、TADG-15が詰め込まれて細胞表面に輸送されている時の細胞内のTADG-15の検出のせいであろう。子宮内膜様癌において、抗原は癌細胞表面にはっきりと検出された(図10E)正常卵巣の上皮細胞およびストローマ細胞では全く染色が検出されなかった(図10A)。27の一連の腫瘍の免疫組織化学染色は、悪性度の低い潜在的腫瘍群を含む、調べた全ての癌のサブタイプに、TADG-15タンパク質が存在することを示唆した。9例の悪性度の低い潜在的腫瘍の内7例、および18の癌のうち13例において、強い染色が観察された(表3)。

#### 【0129】

#### 【表4】

表2

正常卵巣および卵巣腫瘍におけるTADG-15を過剰発現している症例の数

	N	TADG-15の過剰発現	発現比 <sup>a</sup>
正常	10	0 (0%)	0.182±0.024
LMP	10	10 (100%)	0.847±0.419
漿液性	6	6 (100%)	0.862±0.419
粘液性	4	4 (100%)	0.825±0.483
癌	31	31 (100%)	0.771±0.380
漿液性	18	18 (100%)	0.779±0.332
粘液性	7	7 (100%)	0.907±0.584
子宮内膜様	3	3 (100%)	0.502±0.083
明細胞	3	3 (100%)	0.672±0.077

<sup>a</sup>β-チューブリンに対するTADG-15の発現レベルの比 (平均±SD)

【表5】

表3

## TADG-15を用いた組織化学染色

実験番号	組織学	TADG-15
	卵巣の表面上皮組織	
H-3194	漿液性 (LMP)	-
H-162	漿液性 (LMP)	++
H-1182	漿液性 (LMP)	++
H-4818	漿液性 (LMP)	++
H-4881	漿液性 (LMP)	++
H-675	粘液性 (LMP)	+
H-2446	粘液性 (LMP)	+
H-0707	粘液性 (LMP)	++
H-2042	粘液性 (LMP)	++
H-2555	漿液性癌	++
H-1858	漿液性癌	++
H-5266	漿液性癌	++
H-5316	漿液性癌	+
H-2597	漿液性癌	+
H-4931	粘液性癌	++
H-1867	粘液性癌	++
H-5998	粘液性癌	++
H-2679	子宮内膜様癌	+
H-5718	子宮内膜様癌	++
H-3993	子宮内膜様癌	+
H-2991	子宮内膜様癌	++
H-2489	子宮内膜様癌	++
H-5994	明細胞癌	++
H-6718	明細胞癌	++
H-1661	明細胞癌	++
H-6201	明細胞癌	++
H-5640	明細胞癌	+

-陰性； +弱陽性； ++強陽性（50%を越える細胞が染色されている）

## 実施例12

## TADG-15の相同性

最近、エピチン（GenBank 登録番号AF042822）と称されるマウスタンパク質が報告されている<sup>14</sup>。エピチンは、細胞質ドメイン、膜貫通ドメイン、2つのCUBドメイン、4つのLDLR様ドメイン、およびカルボキシル末端セリンプロテ

アーゼドメインを有する点においてTADG-15に類似する構造を有する、902アミノ酸タンパク質である。TADG-15とエピチンは、843アミノ酸に亘り84%類似しており、2つのタンパク質がオーソログスな関係にある(orthologous)ことを示唆する(図11)。エピチンの正確な役割はまだ明らかにされていない。

#### 【0130】

以前同定された類似配列に関するGenBankの調査は、TADG-15遺伝子の一部に相対的に高い相同性を有する1つの配列をもたらした。#182から3139ヌクレオチドまでのTADG-15の一部とSNC-19(GenBank登録番号#U20428)との類似性は、約97%である(図12)。しかしながら、SNC-19とTADG-15の間には顕著な違いがある。例えば、TADG-15は855アミノ酸のオープンリーディングフレームを有するが、SNC-19の最も長いオープンリーディングフレームは173アミノ酸である。さらに、SNC-19は翻訳開始のための適切な開始部位を含まないばかりか、TADG-15によってコードされているタンパク質のアミノ末端部分も含まない。さらには、SNC-19は、機能的であるために必要である触媒三つ組残基のHis、Asp、およびSer残基が異なるリーディングフレーム中にコードされているため、機能的セリンプロテアーゼのためのオープンリーディングフレームを含まない。

#### 【0131】

##### 考察

TADG-15タンパク質の全体の構造は、トロイド(tolloid)/BMP-1ファミリーのメンバー、および補体サブコンポーネントClr/Clsに相対的に類似している。それらタンパク質は、CUBおよびプロテアーゼドメインの両方を含み、リガンド結合ドメインを介した複合体形成がその機能に必須である。ClrおよびClsのセリンプロテアーゼドメインの活性化は、それぞれ、Arg-GlyおよびArg-Ile結合のタンパク質分解性切断を必要とする<sup>15</sup>。同様に、TADG-15タンパク質が、他のセリンプロテアーゼチモーゲンの活性化機構に類似する、Arg<sup>614</sup>とVal<sup>615</sup>との間の切断によって活性化されるチモーゲンとして合成されることが予測される。培養細胞の溶解物のウェスタンブロット分析は、推定されるチモー

ゲン（完全分子）およびTADG-15の切断プロテアーゼ産物に対応する100kDaおよび32kDaペプチドの両方を確認した（図9）。それらデータは、類似のII型セリンプロテアーゼにおいて生じるような、TADG-15のタンパク質分解性遊離および/または活性化のモデルを支持する。

#### 【0132】

CUBドメインは、補体サブクローンClr/Cls<sup>16-18</sup>において初めて発見され、例えば骨形成タンパク質-1（BMP-1）およびトロイド遺伝子産物<sup>18-20</sup>のような、発生上調節されるタンパク質において広範囲に存在するモジュールであることが分かっている。それら反復の役割はまだ分かっていない。しかしながら、いくつかのモデルは、CUBドメインがタンパク質-タンパク質相互作用に関連していることを示唆する。ClrおよびClsのCUBドメインは、タンパク質-タンパク質相互作用ドメインを提供することによって、補体の古典経路の活性化におけるCls-Clr-Clr-Cls四量複合体の集合に参加する<sup>15</sup>。ショウジョウバエのデカペンタプレグック(decapentaplegic)タンパク質（DPP）は、胚の背部-腹部の指定に必須であり、さらにショウジョウバエのトロイド（TLD）は、その活性を調節するためにDPPと複合体を形成する<sup>19,20</sup>。トロイドタンパク質のCUBドメインにおけるミスセンス変異は、DPP複合体とのタンパク質相互作用を許さない発現型をもたらす<sup>19</sup>。

#### 【0133】

TADG-15タンパク質は、214アミノ酸残基と447アミノ酸残基との間に、CUB様ドメインの2つのタンデム反復を含む。それら反復のそれぞれは、約110アミノ酸長であり、それぞれ、他のCUBの特性を示している4つの保存システイン残基を有する（アミノ酸214、244、268、294、340、366、397、410）。類推によると、TADG-15タンパク質のCUB反復は、多重結合複合体の形成を促進し、さらにターゲットタンパク質またはTADG-15自身の活性を調節することができる、インターラクティブなドメインを形成するであろう。

#### 【0134】

また、TADG-15タンパク質は、4つの隣接したシステインに富む反復が

ら成る、LDL受容体リガンド結合反復(クラスAモチーフ)様ドメイン(アミノ酸残基453-602)を含む。システインに富む反復のそれぞれは、約40アミノ酸長であり、6つのシステイン残基と共に、保存された負に荷電した配列(Ser-Asp-Glu)を含む。LDL受容体タンパク質において、その反復は、リポタンパク質中に存在するリジンおよびアルギニン残基と相互作用するタンパク質結合ドメインとして機能すると考えられている<sup>21,22</sup>。さらには、LDL受容体の最初の反復は、Ca<sup>2+</sup>に結合し、リポタンパク質には結合しないと考えられる<sup>23</sup>。類推によると、TAG-15におけるLDL受容体様反復は、他のタンパク質の正に荷電した領域と相互作用する同様の態様でおよび/またはCa<sup>2+</sup>結合部位として、作用する可能性がある。リガンド結合および受容体-リガンド複合体の形成の結果として、LDL受容体はクラスリン被覆小孔を介して内側に取り込まれる<sup>2,4</sup>。TAG-15は、サイトゾル領域中にそのモチーフを含まず、さらには、TAG-15の細胞質ドメインにおいて、他の公知タンパク質の配列との類似性が全く認められなかった。そのような所見は、TAG-15が、細胞外マトリックス中に類似のリガンド結合反復を有するが、エンドサイトーシス受容体(例えばLDL受容体)とは異なる態様で機能することを示唆する。

#### 【0135】

TAG-15の正確な役割は分かっていないが、本遺伝子は卵巣腫瘍において明らかに過剰発現されている。例えばIV型コラゲナーゼおよびプラスミノゲン活性化因子のような様々なプロテアーゼは、腫瘍浸潤の過程に関連し、悪性進行におけるプロテアーゼカスケードの構成要素であると考えられている。TAG-15は、そのような活性を構成し、さらに腫瘍の周囲の細胞外マトリックス成分を直接消化し、あるいは、不活性前駆体の切断によって他のプロテアーゼを活性化して、腫瘍の増殖および浸潤を間接的に増強させるであろう。TAG-15が、他の増殖因子または情報伝達タンパク質と複合体を形成してそれらの活性を調節することによって、トロイド/BMP-1ファミリーのメンバーと同様に機能することもあり得る。

#### 【0136】

それらデータは、TAG-15遺伝子およびその翻訳タンパク質が、細胞外

マトリックスおよび最終的に循環へのプロテアーゼドメインの遊離を介して、卵巣癌の早期検出のための有用なマーカーとなる可能性を高める。また、それらデータは、CUB/LDLRリガンド結合ドメインを狙った送達システムによる、治療的介入のためのターゲットとしてTADG-15を用いることができる可能性を示唆する。

【0137】

以下の引例がこの中で挙げられている：

【表6】

1. Liotta, L.A., et al. *Cell*, 64: 327-336, 1991.
2. Duffy, M.J. *Clin. Exp. Metastasis*, 10: 145-155, 1992.
3. Tryggvason, K., et al. *Biochem. Biophys. Acta.*, 907: 191-217, 1987.
4. Levy, A.T., et al. *Cancer Res.*, 51: 439-444, 1991.
5. Monsky, W.L. et al. *Cancer Res.*, 53: 3159-3164, 1993.
6. Duffy, M.J. et al. *Cancer*, 62: 531-533, 1988.
7. Häckel, C., et al. *Cancer*, 79: 53-58, 1997.
8. Watt, et al. *Proc.Natl. Acad. Sci.U.S.A.*, 83:3166-3170, 1986.
9. Tanimoto, H. et al. *Cancer Res.*, 57: 2884-2887, 1997.
11. Shigemasa, K. et al. *J. Soc. Gynecol. Invest.*, 4: 95-102, 1997.
12. Tanimoto, H. et al. *Gynecol. Oncol.*, 66: 308-312, 1997.
13. Maniatis, T., Fritsch, E.F. & Sambrook, J. *Molecular Cloning*, p. 309-361 Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1982.
14. Kim, M.G., et al. *Immunogenetics*, 49(5): 420-428, 1999.
15. Arlaud et al. *Method in Enzymology*, 223: 61-82, 1993.
16. Journet, A. & Tosi, M. *Biochem. J.*, 240: 783-787, 1986.
17. Mackinnon, et al. *Eur. J. Biochem.*, 169: 547-553, 1987.
18. Bork, P. & Beckmann, G. *J. Mol. Biol.*, 231: 539-545, 1993.
19. Childs, & O'Connor, M.B. *Dev. Biol.*, 162: 209-220, 1994.
20. Blader, PL, et al. *Science*, 278: 1937-1940, 1997.
21. Yamamoto, T. et al. *Cell*, 39: 27-38, 1984.
22. Daly, N.L., et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 92: 6334-6338, 1995.
23. van Driel, I.R., et al. *J. Biol. Chem.*, 262: 17443-17449, 1987.
24. Lodish, H. et al. Sorting of membrane proteins internalized from the cell surface. *In: Molecular Cell Biology*, 3rd ed., p.722-733 Scientific American Books, Inc., New York, 1995.
25. Parker, KC et al. *J. Immunol.* 152:163, 1994.

本明細書中に記載された任意の特許または刊行物は、本発明が属する分野の当

業者のレベルを示す。それら特許および刊行物は、個々の刊行物が具体的におよび個別的に参照によって組み込まれることが示唆されたのと同様に、参照によってこの中に組み込まれる。

【0138】

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.  
Tanimoto, Hirotooshi

<120> TADG-15: An Extracellular Serine Protease  
Overexpressed in Carcinomas

<130> D6064CIPPCT

<141> 10-20-2000

<150> US 09/421,213  
<151> 10-20-1999

<160> 98

<210> 1  
<211> 3147  
<212> DNA  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> TADG-15

<400> 1

tcaagagcgg	cctcggggta	ccatggggag	cgatcgggcc	cgcaagggcg	50
gagggggccc	gaaggacttc	ggcgcgggac	tcaagtacaa	ctcccggcac	100
gagaaaagtga	atggccttga	ggaaggcgtg	gagttcctgc	cagtcaacaa	150
cgtaagaag	gtggaaaagc	atggcccggg	gcgctgggtg	gtgctggcag	200
ccgtgctgat	cggcctcctc	ttggctctgc	tggggatcgg	cttcctggtg	250
tggcatttgc	agtaccggga	cgtgcgtgtc	cagaaggtct	tcaatggcta	300
catgaggatc	acaaatgaga	atthttgtgga	tgcctacgag	aactccaact	350
ccactgagtt	tgtaagcctg	gccagcaagg	tgaaggacgc	gctgaagctg	400
ctgtacagcg	gagtcccatt	cctgggcccc	taccacaagg	agtccgctgt	450
gacggccttc	agcgagggca	gcgtcatcgc	ctactactgg	tctgagttca	500
gcatcccgca	gcacctgggtg	gaggaggccg	agcgcgtcat	ggccgaggag	550
cgcgtagtca	tgetgcccc	gcgggcgcgc	tcctgaagt	cctttgtggt	600
cacctcagtg	gtggctttcc	ccacggactc	caaacagta	cagaggaccc	650
aggacaacag	ctgcagcttt	ggcctgcacg	cccgcgggtg	ggagctgatg	700
cgcttcacca	cgcccggctt	ccctgacagc	ccctaccccg	ctcatgcccg	750
ctgccagtgg	gcccctgccc	gggacgccga	ctcagtgctg	agcctcacct	800
tcgcagctt	tgaccttgcg	tcctgcgacg	agcgcggcag	cgacctgggtg	850
acggtgtaca	acaccctgag	ccccatggag	ccccacgcc	tgggtgcagtt	900

```

gtgtggcacc taccctccct cctacaacct gacettccac tcctcccaga 950
acgtcctgct catcacactg ataaccaaca ctgagcggcg gcatcccggc 1000
tttgaggcca ccttcttcca gctgcctagg atgagcagct gtggaggccg 1050
cttacgtaaa gccaggggga cattcaacag ccctactac ccaggccact 1100
accaccccaa cattgactgc acatggaaca ttgaggtgcc caacaaccag 1150
catgtgaagg tgagcttcaa attcttctac ctgctggagc ccggcgtgcc 1200
tgcgggcacc tgccccaagg actacgtgga gatcaatggg gagaaatact 1250
gcgagagag gtcccagttc gtcgtcacca gcaacagcaa caagatcaca 1300
gttcgcttcc actcagatca gtcctacacc gacaccggct tcttagctga 1350
atacctctcc tacgactcca gtgacccatg cccggggcag ttcacgtgcc 1400
gcacggggcg gtgtatccgg aaggagctgc gctgtgatgg ctgggcccag 1450
tgcaccgacc acagegatga gctcaactgc agttgcgacg ccggccacca 1500
gttcacgtgc aagaacaagt tctgcaagcc cctcttctgg gtctgcgaca 1550
gtgtgaacga ctgaggagac aacagcgacg agcaggggtg cagttgtccg 1600
gccagacct tcaggtgttc caatgggaag tgccctctga aaagccagca 1650
gtgcaatggg aaggacgact gtggggacgg gtccgacgag gctcctgcc 1700
ccaaggtgaa cgtcgtcact tgtacaaac acacctaccg ctgcctcaat 1750
gggctctgct tgagcaaggg caaccctgag tgtgacggga aggaggactg 1800
tagcgaccgc tcagatgaga aggactgcca ctgtgggctg cgtcattca 1850
cgagacaggc tcgtgttgtt gggggcacgg atgaggatga gggcgagtgg 1900
ccctggcagg taagcctgca tgctctgggc cagggccaca tctgcggtgc 1950
ttcctcctcc tctcccaact ggctggctct tgccgcacac tgctacatcg 2000
atgacagagg attcaggtac tcagacccca cgcagtggac ggcttctctg 2050
ggcttgccag accagagcca cccagcgcgc cctgggggtg aggagcgcag 2100
gctcaagcgc atcatctccc acccttctt caatgacttc acctcgact 2150
atgacatcgc gctgctggag ctggagaaac cggcagagta cagctccatg 2200
gtgcgggcca tctgcctgcc ggacgcctcc catgtcttcc ctgccgcaa 2250
ggcactctgg gtcacgggct ggggacacac ccagtatgga ggactggcg 2300
cgtgatcctc gcaaaagggt gagatccgcg tcatcaacca gaccacctgc 2350
gagaacctcc tgccgcagca gatcacgccg cgcctgatgt cgtgggctt 2400
cctcagcggc ggcgtggact cctgccaggg tgattccggg ggaccctgt 2450
ccagcgtgga ggcggatggg cggatcttcc aggccgggtg ggtgagctgg 2500
ggagacggct gcgctcagag gaacaagcca ggcgtgtaca caaggctccc 2550
tctgtttcgg gactggatca aagagaacac tggggtatag gggccggggc 2600
caccctaatg tgtacacctg cggggccacc catcgtccac ccagtgctgc 2650
acgcctgcag gctggagact ggaccgctga ctgcaccagc gccccagaa 2700
catacactgt gaactcaatc tccagggctc caaatctgcc tagaaaacct 2750
ctcgttctct cagcctccaa agtggagctg ggaggtagaa ggggaggaca 2800
ctgggtggtc tactgaccca actgggggca aaggtttgaa gacacagcct 2850
ccccgccag ccccaagctg ggccgaggcg cgtttgtgta tatctgcctc 2900
cctgtctctg aaggagcagc gggaacggag cttcggagcc tcctcagtga 2950
aggtggggg gctgccggat ctgggctgtg gggcccttgg gccacgctct 3000
tgaggaagcc caggctcgga ggaccctgga aaacagacgg gtctgagact 3050
gaaattgttt taccagctcc cagggtggac ttcagtgtgt gtatttgtgt 3100
aaatgggtaa aacaatttat ttctttttaa aaaaaaaaa aaaaaaa 3147

```

<210> 2

<211> 855

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> TADG-15

&lt;400&gt; 2

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

Gly	Val	Pro	Ala	Gly	Thr	Cys	Pro	Lys	Asp	Tyr	Val	Glu	Ile	Asn
				395					400					405
Gly	Glu	Lys	Tyr	Cys	Gly	Glu	Arg	Ser	Gln	Phe	Val	Val	Thr	Ser
				410					415					420
Asn	Ser	Asn	Lys	Ile	Thr	Val	Arg	Phe	His	Ser	Asp	Gln	Ser	Tyr
				425					430					435
Thr	Asp	Thr	Gly	Phe	Leu	Ala	Glu	Tyr	Leu	Ser	Tyr	Asp	Ser	Ser
				440					445					450
Asp	Pro	Cys	Pro	Gly	Gln	Phe	Thr	Cys	Arg	Thr	Gly	Arg	Cys	Ile
				455					460					465
Arg	Lys	Glu	Leu	Arg	Cys	Asp	Gly	Trp	Ala	Asp	Cys	Thr	Asp	His
				470					475					480
Ser	Asp	Glu	Leu	Asn	Cys	Ser	Cys	Asp	Ala	Gly	His	Gln	Phe	Thr
				485					490					495
Cys	Lys	Asn	Lys	Phe	Cys	Lys	Pro	Leu	Phe	Trp	Val	Cys	Asp	Ser
				500					505					510
Val	Asn	Asp	Cys	Gly	Asp	Asn	Ser	Asp	Glu	Gln	Gly	Cys	Ser	Cys
				515					520					525
Pro	Ala	Gln	Thr	Phe	Arg	Cys	Ser	Asn	Gly	Lys	Cys	Leu	Ser	Lys
				530					535					540
Ser	Gln	Gln	Cys	Asn	Gly	Lys	Asp	Asp	Cys	Gly	Asp	Gly	Ser	Asp
				545					550					555
Glu	Ala	Ser	Cys	Pro	Lys	Val	Asn	Val	Val	Thr	Cys	Thr	Lys	His
				560					565					570
Thr	Tyr	Arg	Cys	Leu	Asn	Gly	Leu	Cys	Leu	Ser	Lys	Gly	Asn	Pro
				575					580					585
Glu	Cys	Asp	Gly	Lys	Glu	Asp	Cys	Ser	Asp	Gly	Ser	Asp	Glu	Lys
				590					595					600
Asp	Cys	Asp	Cys	Gly	Leu	Arg	Ser	Phe	Thr	Arg	Gln	Ala	Arg	Val
				605					610					615
Val	Gly	Gly	Thr	Asp	Ala	Asp	Glu	Gly	Glu	Trp	Pro	Trp	Gln	Val
				620					625					630
Ser	Leu	His	Ala	Leu	Gly	Gln	Gly	His	Ile	Cys	Gly	Ala	Ser	Leu
				635					640					645
Ile	Ser	Pro	Asn	Trp	Leu	Val	Ser	Ala	Ala	His	Cys	Tyr	Ile	Asp
				650					655					660
Asp	Arg	Gly	Phe	Arg	Tyr	Ser	Asp	Pro	Thr	Gln	Trp	Thr	Ala	Phe
				665					670					675
Leu	Gly	Leu	His	Asp	Gln	Ser	Gln	Arg	Ser	Ala	Pro	Gly	Val	Gln
				680					685					690
Glu	Arg	Arg	Leu	Lys	Arg	Ile	Ile	Ser	His	Pro	Phe	Phe	Asn	Asp
				695					700					705
Phe	Thr	Phe	Asp	Tyr	Asp	Ile	Ala	Leu	Leu	Glu	Leu	Glu	Lys	Pro
				710					715					720
Ala	Glu	Tyr	Ser	Ser	Met	Val	Arg	Pro	Ile	Cys	Leu	Pro	Asp	Ala
				725					730					735
Ser	His	Val	Phe	Pro	Ala	Gly	Lys	Ala	Ile	Trp	Val	Thr	Gly	Trp
				740					745					750
Gly	His	Thr	Gln	Tyr	Gly	Gly	Thr	Gly	Ala	Leu	Ile	Leu	Gln	Lys
				755					760					765
Gly	Glu	Ile	Arg	Val	Ile	Asn	Gln	Thr	Thr	Cys	Glu	Asn	Leu	Leu
				770					775					780
Pro	Gln	Gln	Ile	Thr	Pro	Arg	Met	Met	Cys	Val	Gly	Phe	Leu	Ser
				785					790					795
Gly	Gly	Val	Asp	Ser	Cys	Gln	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu	Ser
				800					805					810

Ser	Val	Glu	Ala	Asp	Gly	Arg	Ile	Phe	Gln	Ala	Gly	Val	Val	Ser
				815					820					825
Trp	Gly	Asp	Gly	Cys	Ala	Gln	Arg	Asn	Lys	Pro	Gly	Val	Tyr	Thr
				830					835					840
Arg	Leu	Pro	Leu	Phe	Arg	Asp	Trp	Ile	Lys	Glu	Asn	Thr	Gly	Val
				845					850					855

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 256

&lt;212&gt; PRT

<213> *Homo sapiens*

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Hepsin

&lt;400&gt; 3

Arg	Ile	Val	Gly	Gly	Arg	Asp	Thr	Ser	Leu	Gly	Arg	Trp	Pro	Trp
				5					10					15
Gln	Val	Ser	Leu	Arg	Tyr	Asp	Gly	Ala	His	Leu	Cys	Gly	Gly	Ser
				20					25					30
Leu	Leu	Ser	Gly	Asp	Trp	Val	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Cys	Phe	Pro
				35					40					45
Glu	Arg	Asn	Arg	Val	Leu	Ser	Arg	Trp	Arg	Val	Phe	Ala	Gly	Ala
				50					55					60
Val	Ala	Gln	Ala	Ser	Pro	His	Gly	Leu	Gln	Leu	Gly	Val	Gln	Ala
				65					70					75
Val	Val	Tyr	His	Gly	Gly	Tyr	Leu	Pro	Phe	Arg	Asp	Pro	Asn	Ser
				80					85					90
Glu	Glu	Asn	Ser	Asn	Asp	Ile	Ala	Leu	Val	His	Leu	Ser	Ser	Pro
				95					100					105
Leu	Pro	Leu	Thr	Glu	Tyr	Ile	Gln	Pro	Val	Cys	Leu	Pro	Ala	Ala
				110					115					120
Gly	Gln	Ala	Leu	Val	Asp	Gly	Lys	Ile	Cys	Thr	Val	Thr	Gly	Trp
				125					130					135
Gly	Asn	Thr	Gln	Tyr	Tyr	Gly	Gln	Gln	Ala	Gly	Val	Leu	Gln	Glu
				140					145					150
Ala	Arg	Val	Pro	Ile	Ile	Ser	Asn	Asp	Val	Cys	Asn	Gly	Ala	Asp
				155					160					165
Phe	Tyr	Gly	Asn	Gln	Ile	Lys	Pro	Lys	Met	Phe	Cys	Ala	Gly	Tyr
				170					175					180
Pro	Glu	Gly	Gly	Ile	Asp	Ala	Cys	Gln	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Pro
				185					190					195
Phe	Val	Cys	Glu	Asp	Ser	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Arg	Trp	Arg	Leu
				200					205					210
Cys	Gly	Ile	Val	Ser	Trp	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Leu	Ala	Gln	Lys
				215					220					225
Pro	Gly	Val	Tyr	Thr	Lys	Val	Ser	Asp	Phe	Arg	Glu	Trp	Ile	Phe
				230					235					240
Gln	Ala	Ile	Lys	Thr	His	Ser	Glu	Ala	Ser	Gly	Met	Val	Thr	Gln
				245					250					255

Leu

<210> 4  
 <211> 225  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<220>  
 <223> SCCE

<400> 4

Lys	Ile	Ile	Asp	Gly	Ala	Pro	Cys	Ala	Arg	Gly	Ser	His	Pro	Trp
				5					10					15
Gln	Val	Ala	Leu	Leu	Ser	Gly	Asn	Gln	Leu	His	Cys	Gly	Gly	Val
				20					25					30
Leu	Val	Asn	Glu	Arg	Trp	Val	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Cys	Lys	Met
				35					40					45
Asn	Glu	Tyr	Thr	Val	His	Leu	Gly	Ser	Asp	Thr	Leu	Gly	Asp	Arg
				50					55					60
Arg	Ala	Gln	Arg	Ile	Lys	Ala	Ser	Lys	Ser	Phe	Arg	His	Pro	Gly
				65					70					75
Tyr	Ser	Thr	Gln	Thr	His	Val	Asn	Asp	Leu	Met	Leu	Val	Lys	Leu
				80					85					90
Asn	Ser	Gln	Ala	Arg	Leu	Ser	Ser	Met	Val	Lys	Lys	Val	Arg	Leu
				95					100					105
Pro	Ser	Arg	Cys	Glu	Pro	Pro	Gly	Thr	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly
				110					115					120
Trp	Gly	Thr	Thr	Thr	Ser	Pro	Asp	Val	Thr	Phe	Pro	Ser	Asp	Leu
				125					130					135
Met	Cys	Val	Asp	Val	Lys	Leu	Ile	Ser	Pro	Gln	Asp	Cys	Thr	Lys
				140					145					150
Val	Tyr	Lys	Asp	Leu	Leu	Glu	Asn	Ser	Met	Leu	Cys	Ala	Gly	Ile
				155					160					165
Pro	Asp	Ser	Lys	Lys	Asn	Ala	Cys	Asn	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Pro
				170					175					180
Leu	Val	Cys	Arg	Gly	Thr	Leu	Gln	Gly	Leu	Val	Ser	Trp	Gly	Thr
				185					190					195
Phe	Pro	Cys	Gly	Gln	Pro	Asn	Asp	Pro	Gly	Val	Tyr	Thr	Gln	Val
				200					205					210
Cys	Lys	Phe	Thr	Lys	Trp	Ile	Asn	Asp	Thr	Met	Lys	Lys	His	Arg
				215					220					225

<210> 5  
 <211> 225  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<220>  
 <223> Trypsin

&lt;400&gt; 5

Lys	Ile	Val	Gly	Gly	Tyr	Asn	Cys	Glu	Glu	Asn	Ser	Val	Pro	Tyr
				5					10					15
Gln	Val	Ser	Leu	Asn	Ser	Gly	Tyr	His	Phe	Cys	Gly	Gly	Ser	Leu
				20					25					30
Ile	Asn	Glu	Gln	Trp	Val	Val	Ser	Ala	Gly	His	Cys	Tyr	Lys	Ser
				35					40					45
Arg	Ile	Gln	Val	Arg	Leu	Gly	Glu	His	Asn	Ile	Glu	Val	Leu	Glu
				50					55					60
Gly	Asn	Glu	Gln	Phe	Ile	Asn	Ala	Ala	Lys	Ile	Ile	Arg	His	Pro
				65					70					75
Gln	Tyr	Asp	Arg	Lys	Thr	Leu	Asn	Asn	Asp	Ile	Met	Leu	Ile	Lys
				80					85					90
Leu	Ser	Ser	Arg	Ala	Val	Ile	Asn	Ala	Arg	Val	Ser	Thr	Ile	Ser
				95					100					105
Leu	Pro	Thr	Ala	Pro	Pro	Ala	Thr	Gly	Thr	Lys	Cys	Leu	Ile	Ser
				110					115					120
Gly	Trp	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Ser	Gly	Ala	Asp	Tyr	Pro	Asp	Glu
				125					130					135
Leu	Gln	Cys	Leu	Asp	Ala	Pro	Val	Leu	Ser	Gln	Ala	Lys	Cys	Glu
				140					145					150
Ala	Ser	Tyr	Pro	Gly	Lys	Ile	Thr	Ser	Asn	Met	Phe	Cys	Val	Gly
				155					160					165
Phe	Leu	Glu	Gly	Gly	Lys	Asp	Ser	Cys	Gln	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly
				170					175					180
Pro	Val	Val	Cys	Asn	Gly	Gln	Leu	Gln	Gly	Val	Val	Ser	Trp	Gly
				185					190					195
Asp	Gly	Cys	Ala	Gln	Lys	Asn	Lys	Pro	Gly	Val	Tyr	Thr	Lys	Val
				200					205					210
Tyr	Asn	Tyr	Val	Lys	Trp	Ile	Lys	Asn	Thr	Ile	Ala	Ala	Asn	Ser
				215					220					225

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 231

&lt;212&gt; PRT

<213> *Homo sapiens*

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Chymotrypsin

&lt;400&gt; 6

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

Ser Asp Glu Glu Asn Ile Gln Val Leu Lys Ile Ala Lys Val Phe  
 65 70 75  
 Lys Asn Pro Lys Phe Ser Ile Leu Thr Val Asn Asn Asp Ile Thr  
 80 85 90  
 Leu Leu Lys Leu Ala Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gln Thr Val Ser  
 95 100 105  
 Ala Val Cys Leu Pro Ser Ala Asp Asp Phe Pro Ala Gly Thr  
 110 115 120  
 Leu Cys Ala Thr Thr Gly Trp Gly Lys Thr Lys Tyr Asn Ala Asn  
 125 130 135  
 Lys Thr Pro Asp Lys Leu Gln Gln Ala Ala Leu Pro Leu Leu Ser  
 140 145 150  
 Asn Ala Glu Cys Lys Lys Ser Trp Gly Arg Arg Ile Thr Asp Val  
 155 160 165  
 Met Ile Cys Ala Gly Ala Ser Gly Val Ser Ser Cys Met Gly Asp  
 170 175 180  
 Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Gln Lys Asp Gly Ala Trp Thr Leu  
 185 190 195  
 Val Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Asp Thr Cys Ser Thr Ser Ser  
 200 205 210  
 Pro Gly Val Tyr Ala Arg Val Thr Lys Leu Ile Pro Trp Val Gln  
 215 220 225  
 Lys Ile Leu Ala Ala Asn  
 230

<210> 7

<211> 255

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Factor 7

<400> 7

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

Thr	Leu	Ala	Phe	Val	Arg	Phe	Ser	Leu	Val	Ser	Gly	Trp	Gly	Gln
				125					130					135
Leu	Leu	Asp	Arg	Gly	Ala	Thr	Ala	Leu	Glu	Leu	Met	Val	Leu	Asn
				140					145					150
Val	Pro	Arg	Leu	Met	Thr	Gln	Asp	Cys	Leu	Gln	Gln	Ser	Arg	Lys
				155					160					165
Val	Gly	Asp	Ser	Pro	Asn	Ile	Thr	Glu	Tyr	Met	Phe	Cys	Ala	Gly
				170					175					180
Tyr	Ser	Asp	Gly	Ser	Lys	Asp	Ser	Cys	Lys	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly
				185					190					195
Pro	His	Ala	Thr	His	Tyr	Arg	Gly	Thr	Trp	Tyr	Leu	Thr	Gly	Ile
				200					205					210
Val	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Cys	Ala	Thr	Val	Gly	His	Phe	Gly	Val
				215					220					225
Tyr	Thr	Arg	Val	Ser	Gln	Tyr	Ile	Glu	Trp	Leu	Gln	Lys	Leu	Met
				230					235					240
Arg	Ser	Glu	Pro	Arg	Pro	Gly	Val	Leu	Leu	Arg	Ala	Pro	Phe	Pro
				245					250					255

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 253

&lt;212&gt; PRT

<213> *Homo sapiens*

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tissue plasminogen activator

&lt;400&gt; 8

Arg	Ile	Lys	Gly	Gly	Leu	Phe	Ala	Asp	Ile	Ala	Ser	His	Pro	Trp
				5					10					15
Gln	Ala	Ala	Ile	Phe	Ala	Lys	His	Arg	Arg	Ser	Pro	Gly	Glu	Arg
				20					25					30
Phe	Leu	Cys	Gly	Gly	Ile	Leu	Ile	Ser	Ser	Cys	Trp	Ile	Leu	Ser
				35					40					45
Ala	Ala	His	Cys	Phe	Gln	Glu	Arg	Phe	Pro	Pro	His	His	Leu	Thr
				50					55					60
Val	Ile	Leu	Gly	Arg	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Pro	Gly	Glu	Glu	Glu
				65					70					75
Gln	Lys	Phe	Glu	Val	Glu	Lys	Tyr	Ile	Val	His	Lys	Glu	Phe	Asp
				80					85					90
Asp	Asp	Thr	Tyr	Asp	Asn	Asp	Ile	Ala	Leu	Leu	Gln	Leu	Lys	Ser
				95					100					105
Asp	Ser	Ser	Arg	Cys	Ala	Gln	Glu	Ser	Ser	Val	Val	Arg	Thr	Val
				110					115					120
Cys	Leu	Pro	Pro	Ala	Asp	Leu	Gln	Leu	Pro	Asp	Trp	Thr	Glu	Cys
				125					130					135
Glu	Leu	Ser	Gly	Tyr	Gly	Lys	His	Glu	Ala	Leu	Ser	Pro	Phe	Tyr
				140					145					150
Ser	Glu	Arg	Leu	Lys	Glu	Ala	His	Val	Arg	Leu	Tyr	Pro	Ser	Ser
				155					160					165

Arg	Cys	Thr	Ser	Gln	His	Leu	Leu	Asn	Arg	Thr	Val	Thr	Asp	Asn
				170					175					180
Met	Leu	Cys	Ala	Gly	Asp	Thr	Arg	Ser	Gly	Gly	Pro	Gln	Ala	Asn
				185					190					195
Leu	His	Asp	Ala	Cys	Gln	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu	Val	Cys
				200					205					210
Leu	Asn	Asp	Gly	Arg	Met	Thr	Leu	Val	Gly	Ile	Ile	Ser	Trp	Gly
				215					220					225
Leu	Gly	Cys	Gly	Gln	Lys	Asp	Val	Pro	Gly	Val	Tyr	Thr	Lys	Val
				230					235					240
Thr	Asn	Tyr	Leu	Asp	Trp	Ile	Arg	Asp	Asn	Met	Arg	Pro		
				245					250					

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 2900

&lt;212&gt; DNA

<213> *Homo sapiens*

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SNC-19; GeneBank Accession No. #U20428

&lt;400&gt; 9

```

cgctgggtgg tgctggcagc cgtgctgac gccctcctct tggttttgct 50
ggggatcggc ttcttgggtg gccatttgca gtaccgggac gtgcgtgtcc 100
agaaggtcct caatggctac atgaggatca caaatgagaa ttttgtggat 150
gcctacgaga actccaactc cactgagttt gtaagcctgg ccagcaaggt 200
gaaggacgcg ctgaagctgc tgtacagcgg agtcccattc ctgggcccct 250
accacaagga gtcggctgtg acggccttca gcgagggcag cgtcacgcc 300
tactactggt ctgagttcag catcccgcag cacctggttg aggaggccga 350
gcgcgtcatg gccaggagcg cgtagtcatg ctgccccgc gggcgcgctc 400
cctgaagtcc tttgtggtca cctcagtggg ggctttccc acggactcca 450
aaacagtaca gaggaccag gacaacagct gcagctttgg cctgcacgcc 500
gcggtgtgga gctgatgcgc ttcaccacgc cggcttcctt gacagcccct 550
accccgtcca tgcccgtgc cagtgggctg cggggacgcg acgcagtgt 600
gagctactcg agctgactcg cagcttgact gcgcctcgac gagcgcggca 650
gggacctggt gacgtgtaca acaccctgag cccatggag ccccacgct 700
ggtgagtgtg tggcacctac cctcccctct acaacctgac cttccactcc 750
ctcccacgaa cgtcctgctc atcacactga taaccaacac tgacgcggca 800
tcccggcttt gaggccacct tcttcagct gcctaggatg agcagctgtg 850
gaggccgctt acgtaaagcc caggggacat tcaacagccc ctactacca 900
ggccactacc cacccaacat tgactgcaca tggaaaattg aggtgcccaa 950
caaccagcat gtgaaggtgc gttcaaatt cttctacctg ctggagcccg 1000
gcgtgcctgc gggcacctgc cccaaggact acgtggagat caatggggag 1050
aaatactgcg gagagaggtc ccagttcgtc gtcaccagca acagcaacaa 1100
gatcacagtt cgcttccact cagatcagtc ctacaccgac accggcttct 1150
tagctgaata cctctctac gactccagtg acccatgccc ggggcagttc 1200
acgtgccgca cggggcggtg tatccggaag gagctgcgct gtgatggctg 1250
ggcgactgca ccgaccacag cgatgagctc aactgcagtt gcgacgccgg 1300
ccaccagttc acgtgcaaga gcaagttctg caagctcttc tgggtctgog 1350
acagtgtgaa cgagtgcgga gacaacagcg acgagcaggg ttgcatttgt 1400
ccggaccagc accttcaggt gttccaatgg gaagtgcctc tcgaaaagcc 1450

```

```

agcagtgcaa tgggaaggac gactgtgggg acgggtccga cgaggcctcc 1500
tgccccaagg tgaacgtcgt cacttgfacc aaacacacct accgctgcc 1550
caatgggctc tgcttgagca agggcaaccc tgagtgtgac gggaggagg 1600
actgtagcga cggtcagat gagaaggact gcgactgtgg gctgcggta 1650
ttcacgagac aggtcgtgt tgttgggggc acggatgcgg atgagggcga 1700
gtggccctgg caggtaagcc tgcatgctct gggccagggc cacatctgcg 1750
gtgcttccct catctctccc aactggctgg tctctgccgc aactgctac 1800
atcgatgaca gaggattcag gtactcagac cccacgcagg acggccttc 1850
tgggcttgca cgaccagagc cagcgcaggc cctgggggtg aggagcgag 1900
gctcaagcgc atcatctccc accccttctt caatgacttc accttcgact 1950
atgacatcgc gctgctggag ctggagaaac cggcagagta cagctccatg 2000
gtgoggcca tctgctgcc ggacgcctgc catgtcttcc ctgccggca 2050
ggccatctgg gtcacgggct ggggacacac ccagtatgga ggcactggcg 2100
cgctgatcct gcaaaaagggt gagatccgcg tcatcaacca gaccacctgc 2150
gagaacctcc tgccgcagca gatcacgcgc cgcattgatgt gcgtgggctt 2200
cctcagcggc ggcgtggact cctgccaggg tgattccggg ggaccctgt 2250
ccagcgtgga ggcggatggg cggatcttcc aggcgggtgt ggtgagctgg 2300
ggagacgctg cgctcagagg aacaagccag gcgtgtacac aaggctcct 2350
ctgtttcggg aatggatcaa agagaacact ggggtatagg ggccggggc 2400
accctaatgt gtacacctgc ggggccacc atcgtccacc ccagtgtgca 2450
cgctgcagg ctggagactc gcgcaccgtg acctgcacca gcgccccaga 2500
acatacactg tgaactcatc tccaggctca aatctgctag aaaacctctc 2550
gcttctcag cctccaaagt ggagctggga gggtagaagg ggaggaacac 2600
tggtggttct actgacccaa ctggggcaag gtttgaagca cagctccggc 2650
agcccaagtg ggcgaggacg cgtttgtgca tactgccctg ctctatacac 2700
ggaagacctg gatctctagt gagtgtgact gccggatctg gctgtggtcc 2750
ttggccacgc ttcttgagga agcccaggct cggaggacc tggaaaacag 2800
acgggtctga gactgaaaat ggtttaccag ctcccagggt acttcagtg 2850
gtgtattgtg taaatgagta aaacatttta tttcttttta aaaaaaaaa 2900

```

<210> 10

<211> 902

<212> PRT

<213> *Mus musculus*

<220>

<223> Epithin

<400> 10

```

Met Gly Ser Asn Arg Gly Arg Lys Ala Gly Gly Gly Ser Gln Asp
      5      10
Phe Gly Ala Gly Leu Lys Tyr Asp Ser Arg Leu Glu Asn Met Asn
      20      25
Gly Phe Glu Glu Gly Val Glu Phe Leu Pro Ala Asn Asn Ala Lys
      35      40
Lys Val Glu Lys Arg Gly Pro Arg Arg Trp Val Val Leu Val Ala
      50      55
Val Leu Phe Ser Phe Leu Leu Leu Ser Leu Met Ala Gly Leu Leu
      65      70      75

```

Val	Trp	His	Phe	His	Tyr	Arg	Asn	Val	Arg	Val	Gln	Lys	Val	Phe
				80					85					90
Asn	Gly	His	Leu	Arg	Ile	Thr	Asn	Glu	Ile	Phe	Leu	Asp	Ala	Tyr
				95					100					105
Glu	Asn	Ser	Thr	Ser	Thr	Glu	Phe	Ile	Ser	Leu	Ala	Ser	Gln	Val
				110					115					120
Lys	Glu	Ala	Leu	Lys	Leu	Leu	Tyr	Asn	Glu	Val	Pro	Val	Leu	Gly
				125					130					135
Pro	Tyr	His	Lys	Lys	Ser	Ala	Val	Thr	Ala	Phe	Ser	Glu	Gly	Ser
				140					145					150
Val	Ile	Ala	Tyr	Tyr	Trp	Ser	Glu	Phe	Ser	Ile	Pro	Pro	His	Leu
				155					160					165
Ala	Glu	Glu	Val	Asp	Arg	Ala	Met	Ala	Val	Glu	Arg	Val	Val	Thr
				170					175					180
Leu	Pro	Pro	Arg	Ala	Arg	Ala	Leu	Lys	Ser	Phe	Val	Leu	Thr	Ser
				185					190					195
Val	Val	Ala	Phe	Pro	Ile	Asp	Pro	Arg	Met	Leu	Gln	Arg	Thr	Gln
				200					205					210
Asp	Asn	Ser	Cys	Ser	Phe	Ala	Leu	His	Ala	His	Gly	Ala	Ala	Val
				215					220					225
Thr	Arg	Phe	Thr	Thr	Pro	Gly	Phe	Pro	Asn	Ser	Pro	Tyr	Pro	Ala
				230					235					240
His	Ala	Arg	Cys	Gln	Trp	Val	Leu	Arg	Gly	Asp	Ala	Asp	Ser	Val
				245					250					255
Leu	Ser	Leu	Thr	Phe	Arg	Ser	Phe	Asp	Val	Ala	Pro	Cys	Asp	Glu
				260					265					270
His	Gly	Ser	Asp	Leu	Val	Thr	Val	Tyr	Asp	Ser	Leu	Ser	Pro	Met
				275					280					285
Glu	Pro	His	Ala	Val	Val	Arg	Leu	Cys	Gly	Thr	Phe	Ser	Pro	Ser
				290					295					300
Tyr	Asn	Leu	Thr	Phe	Leu	Ser	Ser	Gln	Asn	Val	Phe	Leu	Val	Thr
				305					310					315
Leu	Ile	Thr	Asn	Thr	Gly	Arg	Arg	His	Leu	Gly	Phe	Glu	Ala	Thr
				320					325					330
Phe	Phe	Gln	Leu	Pro	Lys	Met	Ser	Ser	Cys	Gly	Gly	Val	Leu	Ser
				335					340					345
Asp	Thr	Gln	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Pro	Tyr	Tyr	Pro	Gly	His	Tyr
				350					355					360
Pro	Pro	Asn	Ile	Asn	Cys	Thr	Trp	Asn	Ile	Lys	Val	Pro	Asn	Asn
				365					370					375
Arg	Asn	Val	Lys	Val	Arg	Phe	Lys	Leu	Phe	Tyr	Leu	Val	Asp	Pro
				380					385					390
Asn	Val	Pro	Val	Gly	Ser	Cys	Thr	Lys	Asp	Tyr	Val	Glu	Ile	Asn
				395					400					405
Gly	Glu	Lys	Gly	Ser	Gly	Glu	Arg	Ser	Gln	Phe	Val	Val	Ser	Ser
				410					415					420
Asn	Ser	Ser	Lys	Ile	Thr	Val	His	Phe	His	Ser	Asp	His	Ser	Tyr
				425					430					435
Thr	Asp	Thr	Gly	Phe	Leu	Ala	Glu	Tyr	Leu	Ser	Tyr	Asp	Ser	Asn
				440					445					450
Asp	Pro	Cys	Pro	Gly	Met	Phe	Met	Cys	Lys	Thr	Gly	Arg	Cys	Ile
				455					460					465
Arg	Lys	Glu	Leu	Arg	Cys	Asp	Gly	Trp	Ala	Asp	Cys	Pro	Asp	Tyr
				470					475					480
Ser	Asp	Glu	Arg	Tyr	Cys	Arg	Cys	Asn	Ala	Thr	His	Gln	Phe	Thr
				485					490					495



<210> 11  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Artificial sequence

<220>  
 <221> n=Inosine  
 <222> 6, 9, 12, 15, 18  
 <223> Degenerate oligonucleotide primer

<400> 11  
 tgggtngtna cngcngcnca ytg 23

<210> 12  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial sequence

<220>  
 <221> n=Inosine  
 <222> 3, 6, 9, 12, 18  
 <223> Degenerate oligonucleotide primer

<400> 12  
 arnggnccnc cnswrtncc 20

<210> 13  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<220>  
 <223> Fragment of TADG-15

<400> 13  
 Leu Phe Arg Asp Trp Ile Lys Glu Asn Thr Gly Val

<210> 14  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial sequence

<220>  
<223> TADG-15 forward oligonucleotide primer

<400> 14  
atgacagagg attcaggtac 20

<210> 15  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial sequence

<220>  
<223> TADG-15 reverse oligonucleotide primer

<400> 15  
gaaggtgaag tcattgaaga 20

<210> 16  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial sequence

<220>  
<223>  $\beta$ -tubulin forward oligonucleotide primer

<400> 16  
cgcatcaacg tgtactacaa 20

<210> 17  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> Artificial sequence

&lt;220&gt;

<223>  $\beta$ -tubulin reverse oligonucleotide primer

&lt;400&gt; 17

tacgagctgg tggactgaga

20

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 3147

&lt;212&gt; RNA

&lt;213&gt; Artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense of TADG-15

&lt;400&gt; 18

uuuuuuuuuu	uuuuuuuuua	aaaagaaaua	aauguuuuuu	cccauuuaca	50
caaaauacac	cacugaaguc	caccucggga	gcugguaaaa	cauuuucagu	100
cucagaccgg	ucuguuuucc	aggguccucc	gagccugggc	uuccucaaga	150
gugugggcca	agggccccc	agcccagauc	cggcagcccc	accaccuuca	200
cugaggaggg	uccgaagcuc	cguucccgcu	gcuccuuaca	gacagggggag	250
gcagauauac	acaaaacgcg	cucggcccag	cuuggggcug	gcggggggagg	300
cugugucuuu	aaaccuuuug	ccccaguugg	gucaguagaa	ccaccagugug	350
ccuccccuuc	uaccucccag	cuccacuug	gaggcugagg	aagcgagagg	400
uuuucuaagg	agauuuggag	cccuggagau	ugaguucaca	guguauuguuc	450
uggggggcgcu	ggugcaguca	gcccguccagu	cuccagccug	caggcgugca	500
cacugggggug	gacgaugggu	ggccccgcag	guguacacau	uugggguggcc	550
ccggccccua	uaccccagug	uucucuuga	uccagucccg	aaacagaggg	600
agccuuugugu	acacgccugg	cuuguuccuc	ugagcgcagc	cgucucccca	650
gcucaccaca	ccggccugga	agauccgccc	aucggccucc	acgcuggaca	700
gggguccccc	ggaucacccc	uggcaggagu	ccacgccgcc	gcugaggaag	750
cccacgcaca	ucaugcgcgg	cgugaucugc	ugcggcagga	gguucucgca	800
gguggucugg	uugaugagcg	ggauucaccc	cuuuugcagg	aucagcgcgc	850
cagugccucc	auacugggug	ugucccccagc	ccgugaccca	gauggccuug	900
ccggcaggga	agacauggga	ggcguccggc	aggcagaugg	gccgcaccau	950
ggagcugua	ucugccgguu	ucuccagcuc	cagcagcgcg	augucauagu	1000
cgaaggugaa	gucuuugaag	aagggguggg	agaugaugcg	cuugagccug	1050
cgcuccugca	ccccaggggc	gcugcgcugg	cucuggucgu	gcaagcccag	1100
gaaggccguc	cacugcgggg	ggucugagua	ccugaauccu	cugucaucga	1150
uguagcagug	ugcggcagag	accagccagu	ugggagagau	gagggagca	1200
ccgcagaugu	ggcccuggcc	cagagcaugc	aggcuuaccu	gccagggcca	1250
cucgcccua	uccgcauccg	ugcccccaac	aacacgagcc	ugucucguga	1300
augaccgcag	cccacagucg	caguccuucu	caucugagcc	gucgcuacag	1350
uccuccuucc	cgucacacuc	agggguugccc	uugcucaagc	agagcccuuu	1400
gaggcagcgg	uagguguguu	ugguacaagu	gacgacguuc	accuuggggc	1450
aggaggccuc	gucggacccc	uccccacagu	cguccuuccc	auugcacugc	1500
uggcuuuucg	agaggcacuu	cccuuuggaa	caccugaagg	ucugggcccgg	1550
acaacugcac	ccugcucgu	cgcuguuguc	uccgcagucg	uucacacugu	1600

cgagaccca	gaagaggggc	uugcagaacu	uguucuugca	cgugaacugg	1650
uggccggcgu	cgcaacugca	guugagcuca	ucgcuguggu	cggugcaguc	1700
ggcccagcca	ucacagcgca	gcuccuuccg	gauacaccgc	cccugcggc	1750
acgugaacug	ccccgggcau	gggucacugg	agucguagga	gagguauuca	1800
gcuaagaagc	cggugucggu	guaggacuga	ucugagugga	agcgaacugu	1850
gaucuuguug	cuguugcugg	ugacgacgaa	cugggaccuc	ucuccgcagu	1900
auuucucucc	auugaucucc	acguaguucc	uggggcaggu	gcccgcaggc	1950
acgccgggcu	ccagcaggua	gaagaauuug	aagcucaccu	ucacaugcug	2000
guuguugggc	accucaaugu	uccaugugca	gucaauguug	gguggguagu	2050
ggccugggua	guaggggcug	uugaaugucc	ccugggcuuu	acguaagcgg	2100
ccuccacagc	ugcucauccu	aggcagcugg	aagaaggugg	ccucaaagcc	2150
gggaugccgc	cgcucagugu	ugguuaucag	ugugaugagc	aggacguucu	2200
gggaggagug	gaaggucagg	uuguaggagg	gaggguaaggu	gccacacaac	2250
ugcaccaggg	cguggggcuc	cauggggcuc	aggggugug	acaccgucac	2300
caggucgcug	ccgcgcucgu	cgcaggacgc	aaggucaaag	cugcggaagg	2350
ugagggcucag	cacugagucg	gcguccccc	gcaggggcca	cuggcagcgg	2400
gcaugagcgg	gguaagggcu	gucaggggaag	ccgggcgugg	ugaagcgcau	2450
cagcuccaca	ccgcggggcu	gcaggcctaaa	gcugcagcug	uuguccuggg	2500
uccucuguac	uguuuuggag	uccgugggga	aagccaccac	ugaggugacc	2550
acaaaggacu	ucagggagcg	cgcccgcggg	ggcagcauga	cuaccgucuc	2600
cucggccaug	acgcgcucgg	ccuccuccac	caggugcugc	gggaugcuga	2650
acucagacca	guaguaggcg	augacgcugc	ccucgcugaa	ggccgucaca	2700
gccgacuccu	ugugguaggg	gcccaggaau	gggacuccgc	uguacagcag	2750
cuucagcgcg	uccuucaccu	ugcuggccag	gcuuacaaac	ucaguggagu	2800
uggaguucuc	guaggcaucc	acaaaauucu	cauuugugau	ccucauguag	2850
ccauugaaga	ccuucuggac	acgcacgucc	cgguacugca	aaugccacac	2900
caggaagccg	auccccagca	agaccaagag	gaggccgauc	agcacggcug	2950
ccagcaccac	ccagcgcccc	gggccaugcu	uuuccaccuu	cuugacguug	3000
uugacuggga	ggaacuccac	gccuuccucc	aagccauuca	cuuucucgug	3050
ccgggaguug	uacuugaguc	ccgcgccgaa	guccuucggg	ccccuccgc	3100
ccuugcgggc	ccgaucgcuc	cccaugguac	cccgaggccg	cucuuga	3147

<210> 19

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 68-76 of the TADG-15 protein

<400> 19

Val Leu Leu Gly Ile Gly Phe Leu Val

5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 126-134 of the TADG-15 protein

<400> 20

Leu Leu Tyr Ser Gly Val Pro Phe Leu

5

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 644-652 of the TADG-15 protein

<400> 21

Ser Leu Ile Ser Pro Asn Trp Leu Val

5

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 379-387 of the TADG-15 protein

<400> 22

Lys Val Ser Phe Lys Phe Phe Tyr Leu

5

<210> 23

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 386-394 of the TADG-15 protein

<400> 23

Tyr Leu Leu Glu Pro Gly Val Pro Ala

5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 257-265 of the TADG-15 protein

<400> 24

Ser Leu Thr Phe Arg Ser Phe Asp Leu

5

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 762-770 of the TADG-15 protein

<400> 25

Ile Leu Gln Lys Gly Glu Ile Arg Val

5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 841-849 of the TADG-15 protein

<400> 26  
Arg Leu Pro Leu Phe Arg Asp Trp Ile  
5

<210> 27  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 64-72 of the TADG-15 protein

<400> 27  
Gly Leu Leu Leu Val Leu Leu Gly Ile  
5

<210> 28  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 57-65 of the TADG-15 protein

<400> 28  
Val Leu Ala Ala Val Leu Ile Gly Leu  
5

<210> 29  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 67-75 of the TADG-15 protein

<400> 29

Leu Val Leu Leu Gly Ile Gly Phe Leu  
5

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 379-387 of the TADG-15 protein

<400> 30

Lys Val Ser Phe Lys Phe Phe Tyr Leu  
5

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 126-134 of the TADG-15 protein

<400> 31

Leu Leu Tyr Ser Gly Val Pro Phe Leu  
5

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 88-96 of the TADG-15 protein

<400> 32

Lys Val Phe Asn Gly Tyr Met Arg Ile  
5

<210> 33  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 670-678 of the TADG-15 protein

<400> 33  
Thr Gln Trp Thr Ala Phe Leu Gly Leu  
5

<210> 34  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 119-127 of the TADG-15 protein

<400> 34  
Lys Val Lys Asp Ala Leu Lys Leu Leu  
5

<210> 35  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 60-68 of the TADG-15 protein

<400> 35  
Ala Val Leu Ile Gly Leu Leu Leu Val  
5

<210> 36  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 62-70 of the TADG-15 protein

<400> 36  
Leu Ile Gly Leu Leu Leu Val Leu Leu  
5

<210> 37  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 57-65 of the TADG-15 protein

<400> 37  
Val Leu Ala Ala Val Leu Ile Gly Leu  
5

<210> 38  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 61-69 of the TADG-15 protein

<400> 38  
Val Leu Ile Gly Leu Leu Leu Val Leu  
5

<210> 39  
<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 146-154 of the TADG-15 protein

<400> 39

Phe Ser Glu Gly Ser Val Ile Ala Tyr

5

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 658-666 of the TADG-15 protein

<400> 40

Tyr Ile Asp Asp Arg Gly Phe Arg Tyr

5

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 449-457 of the TADG-15 protein

<400> 41

Ser Ser Asp Pro Cys Pro Gly Gln Phe

5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 401-409 of the TADG-15 protein

<400> 42  
Tyr Val Glu Ile Asn Gly Glu Lys Tyr  
5

<210> 43  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 387-395 of the TADG-15 protein

<400> 43  
Leu Leu Glu Pro Gly Val Pro Ala Gly  
5

<210> 44  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 553-561 of the TADG-15 protein

<400> 44  
Gly Ser Asp Glu Ala Ser Cys Pro Lys  
5

<210> 45  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 97-105 of the TADG-15 protein

<400> 45

Thr Asn Glu Asn Phe Val Asp Ala Tyr

5

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 110-118 of the TADG-15 protein

<400> 46

Ser Thr Glu Phe Val Ser Leu Ala Ser

5

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 811-819 of the TADG-15 protein

<400> 47

Ser Val Glu Ala Asp Gly Arg Ile Phe

5

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 666-674 of the TADG-15 protein

<400> 48

Tyr Ser Asp Pro Thr Gln Trp Thr Ala  
5

<210> 49  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 709-717 of the TADG-15 protein

<400> 49  
Asp Tyr Asp Ile Ala Leu Leu Glu Leu  
5

<210> 50  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 408-416 of the TADG-15 protein

<400> 50  
Lys Tyr Cys Gly Glu Arg Ser Gln Phe  
5

<210> 51  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 754-762 of the TADG-15 protein

<400> 51  
Gln Tyr Gly Gly Thr Gly Ala Leu Ile  
5

<210> 52  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 153-161 of the TADG-15 protein

<400> 52  
Ala Tyr Tyr Trp Ser Glu Phe Ser Ile  
5

<210> 53  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 722-730 of the TADG-15 protein

<400> 53  
Glu Tyr Ser Ser Met Val Arg Pro Ile  
5

<210> 54  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 326-334 of the TADG-15 protein

<400> 54  
Gly Phe Glu Ala Thr Phe Phe Gln Leu  
5

<210> 55  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 304-312 of the TADG-15 protein

<400> 55  
Thr Phe His Ser Ser Gln Asn Val Leu  
5

<210> 56  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 707-715 of the TADG-15 protein

<400> 56  
Thr Phe Asp Tyr Asp Ile Ala Leu Leu  
5

<210> 57  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 21-29 of the TADG-15 protein

<400> 57  
Lys Tyr Asn Ser Arg His Glu Lys Val  
5

<210> 58  
<211> 9

<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 665-673 of the TADG-15 protein

<400> 58  
Arg Tyr Ser Asp Pro Thr Gln Trp Thr  
5

<210> 59  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 686-694 of the TADG-15 protein

<400> 59  
Ala Pro Gly Val Gln Glu Arg Arg Leu  
5

<210> 60  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 12-20 of the TADG-15 protein

<400> 60  
Gly Pro Lys Asp Phe Gly Ala Gly Leu  
5

<210> 61  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 668-676 of the TADG-15 protein

<400> 61

Asp Pro Thr Gln Trp Thr Ala Phe Leu

5

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 461-469 of the TADG-15 protein

<400> 62

Thr Gly Arg Cys Ile Arg Lys Glu Leu

5

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 59-67 of the TADG-15 protein

<400> 63

Ala Ala Val Leu Ile Gly Leu Leu Leu

5

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 379-387 of the TADG-15 protein

<400> 64

Lys Val Ser Phe Lys Phe Phe Tyr Leu

5

<210> 65

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 119-127 of the TADG-15 protein

<400> 65

Lys Val Lys Asp Ala Leu Lys Leu Leu

5

<210> 66

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 780-788 of the TADG-15 protein

<400> 66

Leu Pro Gln Gln Ile Thr Pro Arg Met

5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 67-75 of the TADG-15 protein

<400> 67

Leu Val Leu Leu Gly Ile Gly Phe Leu

5

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 283-291 of the TADG-15 protein

<400> 68

Ser Pro Met Glu Pro His Ala Leu Val

5

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 12-20 of the TADG-15 protein

<400> 69

Gly Pro Lys Asp Phe Gly Ala Gly Leu

5

<210> 70

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 257-265 of the TADG-15 protein

<400> 70

Ser Leu Thr Phe Arg Ser Phe Asp Leu  
5

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 180-188 of the TADG-15 protein

<400> 71

Met Leu Pro Pro Arg Ala Arg Ser Leu  
5

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 217-225 of the TADG-15 protein

<400> 72

Gly Leu His Ala Arg Gly Val Glu Leu  
5

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 173-181 of the TADG-15 protein

<400> 73

Met Ala Glu Glu Arg Val Val Met Leu  
5

<210> 74  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 267-275 of the TADG-15 protein

<400> 74  
Ser Cys Asp Glu Arg Gly Ser Asp Leu  
5

<210> 75  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 567-575 of the TADG-15 protein

<400> 75  
Cys Thr Lys His Thr Tyr Arg Cys Leu  
5

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

<220>  
<223> Residues 724-732 of the TADG-15 protein

<400> 76  
Ser Ser Met Val Arg Pro Ile Cys Leu  
5

<210> 77  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 409-417 of the TADG-15 protein

<400> 77  
Tyr Cys Gly Glu Arg Ser Gln Phe Val  
5

<210> 78  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 495-503 of the TADG-15 protein

<400> 78  
Thr Cys Lys Asn Lys Phe Cys Lys Pro  
5

<210> 79  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 427-435 of the TADG-15 protein

<400> 79  
Val Arg Phe His Ser Asp Gln Ser Tyr  
5

<210> 80  
<211> 9

<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 695-703 of the TADG-15 protein

<400> 80  
Lys Arg Ile Ile Ser His Pro Phe Phe  
5

<210> 81  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 664-672 of the TADG-15 protein

<400> 81  
Phe Arg Tyr Ser Asp Pro Thr Gln Trp  
5

<210> 82  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 220-228 of the TADG-15 protein

<400> 82  
Ala Arg Gly Val Glu Leu Met Arg Phe  
5

<210> 83  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 492-500 of the TADG-15 protein

<400> 83

His Gln Phe Thr Cys Lys Asn Lys Phe

5

<210> 84

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 53-61 of the TADG-15 protein

<400> 84

Gly Arg Trp Val Val Leu Ala Ala Val

5

<210> 85

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 248-256 of the TADG-15 protein

<400> 85

Leu Arg Gly Asp Ala Asp Ser Val Leu

5

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 572-580 of the TADG-15 protein

<400> 86

Tyr Arg Cys Leu Asn Gly Leu Cys Leu

5

<210> 87

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 692-700 of the TADG-15 protein

<400> 87

Arg Arg Leu Lys Arg Ile Ile Ser His

5

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 24-32 of the TADG-15 protein

<400> 88

Ser Arg His Glu Lys Val Asn Gly Leu

5

<210> 89

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 147-155 of the TADG-15 protein

<400> 89

Ser Glu Gly Ser Val Ile Ala Tyr Tyr

5

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 715-723 of the TADG-15 protein

<400> 90

Leu Glu Leu Glu Lys Pro Ala Glu Tyr

5

<210> 91

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 105-113 of the TADG-15 protein

<400> 91

Tyr Glu Asn Ser Asn Ser Thr Glu Phe

5

<210> 92

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<223> Residues 14-22 of the TADG-15 protein

<400> 92

Lys Asp Phe Gly Ala Gly Leu Lys Tyr  
5

<210> 93  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 129-137 of the TADG-15 protein

<400> 93  
Ser Gly Val Pro Phe Leu Gly Pro Tyr  
5

<210> 94  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 436-444 of the TADG-15 protein

<400> 94  
Thr Asp Thr Gly Phe Leu Ala Glu Tyr  
5

<210> 95  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<223> Residues 766-774 of the TADG-15 protein

<400> 95  
Gly Glu Ile Arg Val Ile Asn Gln Thr  
5



## 【図2A】

図2Aは、TADG-15 cDNAのヌクレオチド配列、ならびにTADG-15タンパク質のアミノ酸配列を示す

## 【図2B】

図2Bは、図2Aの続きである

## 【図2C】

図2Cは、図2Bの続きである

## 【図3】

図3は、機能的部位およびドメインを含む、TADG-15プロテアーゼのアミノ酸配列を示す

## 【図4】

図4は、TADG-15タンパク質の図解を示す

## 【図5】

図5は、正常卵巣、卵巣癌、癌細胞株、正常胎児性組織、および正常成体組織における、TADG-15 mRNA発現のノーザンブロット分析を示す

## 【図6A】

図6Aは、TADG-15発現の定量的PCR分析を示す

【図6B】 図6Bは、正常卵巣、LMP腫瘍、および卵巣癌における、  
-チューブリンの発現に対するTADG-15発現の比を示す

【図7】 図7は、卵巣癌組織および乳癌組織の両方から派生した腫瘍細胞株におけるTADG-15の発現を示す

【図8】 図8は、他の腫瘍組織におけるTADG-15の過剰発現を示す。  
。

【図9】 図9は、SDS-PAGEによって分離し、さらに免疫ブロットした、SW626およびCAOV3の細胞溶解物を示す

## 【図10】

図10は、TADG-15プロテアーゼペプチドに対するポリクロナール抗体を用いた正常卵巣上皮の免疫組織化学染色が、ストローマまたは上皮の染色を全く示さないことを示唆する

## 【図11A】

図11Aは、ヒトTADG - 15タンパク質と、マウスエピチン(epithin)との配列の整列を示す

## 【図11B】

図11Bは、図11Aの続きである

## 【図12A】

図12Aは、TADG - 15と、ヒトSNC - 19 (GeneBank 登録番号#U20428)とのヌクレオチド配列の比較を示す

## 【図12B】

図12Bは、図12Aの続きである

## 【図12C】

図12Cは、図12Bの続きである

## 【図12D】

図12Dは、図12Cの続きである

【 図 1 】

RIVGGRDTSL GRWPQVSL. . . . .RYDG.A HLCGGSLLSG DWLTAAHCF PE. . . . .RNRV LSRWRVFAGA VAQASPHGLQ  
RVVGGTDADE GEWPQVSL. . . . .HALQG HICGASLISP NNLVSAHCY IDDRGFRYS PTQWTAFLGL HDQSORSAPG  
KIIDGAPCAR GSHPWQVAL. . . . .LSGNQL H.CGGVLVNE RWLTAHC. . . . .K MNEYTVHLGS DTLG. . .DR.R  
KIVGGYNCEE NSVPYQVSL. . . . .NSGYHE .CGGSLINE QWVSAGHC. . . . .Y KSRIQVRLGE HNIIEVLEG.N  
RIVNGEDAVP GSWPWQVSL. . . . .QDKTGF HFCGGSLISE DWVTAHC. . . . .GV RTSDDVVVAGE FDQGSDEE.N  
RIVGGKVCPK GECPWQVLL. . . . .LVNG.A QLCGGTLINT IWVSAHCF DKIKNWRNLI . . . . .AVLGE HDLSEHDGDE  
RIKGGLFADI ASHPWQAAIF AKHRRSPGER FLCGGILISS CWILSAHCF QERFPHHL. . . . .TVILGR .TYRVVVPGEE

\*

LGVAVVYHG GYLFFRDPNS EENSNDIALV HLSS.PLPLT EYIQPVCLPA . . . . .AGQALVD GKICTVTGWG NTQYYGQQ.A  
VQERRLKRII SHPEFNDFTE D. . . . .YDIALL ELEK.PAEYS SMVRPICLPD . . . . .ASHVFA GKAIWVTGWG HTQYGGTG.A  
AQRIKASKSF RHPGYSTQT. . . . .HVNDLMLV KLSN.QARLS SMVKKVRLPS . . . . .RCE. . .PP GTTCTVSGWG TTTSPPDVTFP  
EQFINAAKII RHPQYDRKT. . . . .LNNDIMLI KLSS.RAVIN ARVSTISLPT . . . . .APP. . .AT GTKCLISGWG NTASSGADYP  
IQVLKIAKVF KNPKFSILT. . . . .VNNIDITLL KLAT.PARFS QTVSAVCLPS . . . . .ADDDFA GTLCATTGWG KTKYNANKTP  
QSRRAQVII P. . . . .STYVP GTTNHDIALL RLHQ.PVULT DHVPLCLPE RTFSERTLAF VRFSLVSGWG QLDRGATAL  
EQKFEVEKII VHKEFFDDTY D. . . . .NDIALL QLKSDSSRCA QESSVVRTVC LPPADLQLPD WTECELSGYG KHEALSPFYS

\*

GVLQEARVPI ISNDVNGAD FYGN. .QIKP KMFCAGYPEG G. . . . .IDA CQDSSGGPFV CEDSISRTPR WRLCGIVSWG  
LILQKGEIRV INQTTCE. .N LLPQ. .QITP RMMCVGELSG G. . . . .VDS CQDSSGGPL. . .SSVEADGR IFQAGVVSWG  
SDLMCVDVKL ISPDCTKV. .YKD. .LLEN SMLCAGIPDS K. . . . .KNA CNGDSSGGPLV C. . . . .R. . . . .GTLQGLVSWG  
DELQCLDAPV LSQAKCEAS. .YPG. :KITS NMFCVGFLEG G. . . . .KDS CQDSSGGPVV C. . . . .N. . . . .GQLQGVVSWG  
DKLQQAALPL LSNAECKKS. .WGR. .RITD VMICAG. .AS G. . . . .VSS CMGDSGGPLV C. . . . .QKDGA WTLVGVVSWG  
ELMVLNVPRL MTQDCLQQR KVGDSPNITE YMFCAGYSDG S. . . . .KDS CKGDSGGP. . .HATHYRGT WYLTGIVSWG  
ERLKEAHVRL YPSSRCTSQH LLNRT. .VTD NMLCAGDTRS GGPQANLHDA CQDSSGGPLV CLN. . . . .DGR MTLVGIISWG

\*

T.GCALAQKP GYITKVSDEF EWIFQAIKTH SEASGMVTQL ~ (配列番号3)  
D.GCAQRNKP GYITRLPLFR DWIKENTGV ~ (配列番号14)  
TFPCGQNDP GYITQVCKFT KWIINDTMKKH R ~ (配列番号4)  
D.GCAQKNKP GYITKVYNYV KWIKNITIAAN S ~ (配列番号5)  
SDTCS.TSSP GVIYARVTKLI PWVQKILAAAN ~ (配列番号6)  
Q.GCATVGHF GYITRVSQYI EWLQKLMRSE PRPGVLLRAP EP (配列番号7)  
.LCGGQKDVP GYITKVNTNYL DWIRDNMRP ~ (配列番号8)

Heps  
Tadg 15  
Scce  
Tiy  
Chymb  
Fac 7  
Tpa

【 2 A 】

1 TCAAGAGCGGCCCTCGGGGTACCATGGGAGCGGATCGGGCCCGCAAGGGCGGAGGGGCCCGAAGGACTTCGGCCGGGACTC  
M G S D R A R K G G G P K D F G A G L

83 AAGTACAAC TCCCGCACGAGAAAGTGAATGGCTTGGAGGAAGCGTGGAGTTCCTGCCAGTCAACAACGTC AAGAAGGTG  
K Y N S R H E K V N G L E E G V E F L P V N N V K K V

164 GAAAAGCATGGCCCGGGCGCTGGTGGTGGTGGCAGCCGTGCTGATCGGCCCTCCTCTTGGTCTTGGTGGGATCGGCTTC  
E K H G P G R W V V L A A V L I G L L L V L L G I G F

245 CTGGTGTGGCAATTCAGTACCGGGACGTGCTCCAGAAAGGTCTTCAATGGCTACATGAGGATCACA AATGAGATTTT  
L V W H L Q Y R D V R V Q K V F N G Y M R I T N E N F

326 GTGGATGCC TACGAGAACTCCAAC TCCACTGAGTTTGTAAAGCTGGCCAGCAAGGTGAAGGACCGGCTGAAGCTGCTGTAC  
V D A Y E N S N S T E F V S L A S K V K D A L K L L Y

407 AGCGAGTCCCATTCCTGGGCCCTTACCACAAGGAGTGGCTGTGACGGCCTTCAGCGAGGGCAGCGTCA TCGCCCTACTAC  
S G V P F L G P Y H K E S A V T A F S E G S V I A Y Y

488 TGGTCTGAGTTCAGCATCCCGCAGCACCTGGTGGAGGAGCCGAGCGCTCATGGCCGAGGAGCGGTAGTCATGCTGCC  
W S E F S I P Q H L V E E A E R V M A E E R V V M L P

569 CCGGGCGCGCTCCCTGAAGTCCCTTGTGGTCACTCAGTGGTGGCTTCCCCACGGACTCCAAAACAGTACAGAGGACC  
P R A R S L K S F V V T S V V A F P T D S K T V Q R T

650 CAGGACAACAGCTGCAGCTTGGCCCTGCACGCCCGGCTGTGGAGCTGATGCGCTTCAACCACGCCCGGCTCCCTGACAGC  
Q D N S C S F G L H A R G V E L M R F T T P G F P D S

731 CCCTACCCCGCTCATGCCCGCTGCCAGTGGGCCCTGGGGGGACCGCGACTCAGTGTGAGCCTCACCTTC CGCAGCTTT  
P Y P A H A R C Q W A L R G D A D S V L S L T F R S F

812 GACCTTGGCTCGGACGAGCGGCGGACCTGGTGAACCGGTGTACAACACCTGAGCCCAATGGAGCCCAACGCCCTG  
D L A S C D E R G S D L V T V Y N T L S P M E P H A L

893 GTGCAGTTGTGGCACCTACCTCCCTCCTACAACCTGACCTTCCACTCCTCCAGAACGTCCTGTCA TCAACACTGATA  
V Q L C G T Y P P S Y N L T F H S S Q N V L L I T L I

【 2 B 】

974 ACCAACACTGAGCGGGCCATCCCGGCTTTGAGGCCACCTTCTCCAGTGCCTAGGATGAGCAGCTGTGGAGGCCGCTTA  
T N T E R R H P G F E A T F F Q L P R M S S C G G R L

1055 CGTAAAGCCAGGGACATTC AACAGCCCTACTACCAGGCCACTACCCACCAACATTTGACTGCACATGGAACATTTGAG  
R K A Q G T F N S P Y Y P G H Y P P N I D C T W N I E

1136 GTGCCCAACAACCAGCATGTGAAGGTGAGCTTCAAATTTCTTACTGTGGAGCCCGGCGTGCCTGCGGGCACCTTGCCCC  
V P N N Q H V K V S F K F Y L L E P G V P A G T C P

1217 AAGGACTACGTGGAGATCAATGGGAGAAATACTCGGAGAGAGGTCCCAGTTCTGTCACCAGCAACAGCAACAAGATC  
K D Y V E I N G E K Y C G E R S Q F V V T S N S N K I

1298 ACAGTTCCGCTTCCACTCAGATCAGTCCACACCGACACCGGCTTCTTAGCTGAATACCTCTCCACGACTCCAGTGACCCCA  
T V R F H S D Q S Y T D T G F L A E Y L S Y D S S D P

1379 TGCCCGGGCAGTTCAAGTGCACCGACCGGGCGGTGTATCCGGAAGGAGCTGCGCTGTGATGGCTGGCCGACTGCACCCGAC  
C P G Q F T C R T G R C I R K E L R C D G W A D C T D

1460 CACAGCGATGAGCTCAACTGCAGTTGGACCGCCGCCACCAGTTCCACGTGCAAGAACAAGTTCTGCAAGCCCCCTCTTCTGG  
H S D E L N C S C D A G H Q F T C K N K F C K P L F W

1541 GTCTGCGACAGTGTGAACGACTGCGGAGACACAGCCGACGAGGGGTGCAGTTGTCCGGCCCCAGACCCTTCAGGTGTCC  
V C D S V N D C G D N S D E Q G C S C P A Q T F R C S

1622 AATGGGAAGTGCCTCTCGAAAAGCCAGGAGTGCAATGGGAAGGACGACTGTGGGGACGGGTCCGACGAGGCCCTCCCTGCCCC  
N G K C L S K S Q Q C N G K D D C G D G S D E A S C P

1703 AAGGTGAACGTGTCACTTGTACCAACACACACCTACCCTGCCTCAATGGGCTCTGCTTGAGCAAGGCAACCCTGAGTGT  
K V N V V T C T K H T Y R C L N G L C L S K G N P E C

1784 GACGGGAAGGAGGACTGTAGCCGCGCTCAGATGAGAAGGACTGCGACTGTGGGCTCGGGTCAATTCACGAGACAGGCTCGT  
D G K E D C S D G S D E K D C D C G L R S F T R Q A R

1865 GTTGTGGGGCACGGATGCGGATGAGGGCGAGTGGCCCTGGCAGGTAAGCCCTGCATGCTCTGGCCAGGCCACATCTGC  
V V G G T D A D E G E W P W Q V S L H A L G Q G H I C

1946 GGTGCTTCCCTCATCTCCCAACTGGCTGGTCTCTGCCCCACACTGTACATCGATGACAGAGGATTCAGGTACTCAGAC  
G A S L I S P N W L V S A A (H) C Y I D D R G F R Y S D

【 図 2 C 】

2027 CCCACGCAGTGGACGGCCCTTCCTGGGCTTGCACGACCCAGAGCCAGCGCCCTGGGGTGCAGGAGCCAGGCTCAAG  
 P T Q W T A F L G L H D Q S Q R S A P G V Q E R R L K

2108 CGCATCATCTCCACCCCTTCTTCAATGACTTCACCTTCGACTATGACATCGCGCTGGAGCTGGAGAAAACCGGCAGAG  
 R I I S H P F F N D F T F D Y **(D)** I A L L E L E K P A E

2189 TACAGCTCCATGGTGGGCCCATCTGCCCTGCCGAGCCCTCCCATGTCTTCCCTGCCGCAAGGCCATCTGGGTACCGGGC  
 Y S S M V R P I C L P D A S H V F P A G K A I W V T G

2270 TGGGACACACCCAGTATGGAGGCACCTGGCGCGCTGATCTGCAAAAGGGTGAATCCGCGTCAATCAACAGACCCTGC  
 W G H T Q Y G G T G A L I L Q K G E I R V I N Q T T C

2351 GAGAACCTCCTGCCGACAGATCACGCCGCGCATGATGTGGCTTCCCTCAGCGCGCGGTGGACTCCTGCCAGGGT  
 E N L L P Q Q I T P R M C V G F L S G G V D S C Q G

2432 GATTCCGGGGACCCCTGTCCAGCGTGGAGCGGATGGCGGATCTCCAGGCCGGTGTGGTGGAGTGGGGAGACGGCTGC  
 D **(S)** G G P L S S V E A D G R I F Q A G V V S W G D G C

2513 GCTCAGAGGAACAAGCCAGCGGTGTACACAAGGCTCCCTCTGTTTCGGGACTGGATCAAGAGAAACAATGGGGTATAGGGG  
 A Q R N K P G V Y T R L P L F R D W I K E N T G V  
 (配列番号2)

2594 CCGGGCCACCCAAATGTGTACACCTGGGGGCCACCCATCGTCCACCCAGTGTGCACGCCCTGCAGGCTGGAGACTGGAC  
 2675 CGCTGACTGCACAGCGCCCCAGAAACATACACTGTGAAC TCAATCCAGGGCTCCAATCTGCCCTAGAAAACCTCTCGC  
 2756 TTCCCTCAGCCTCCAAAGTGGAGCTGGGAGGTAGAAGGGAGGACACTGGTGGTCTACTGACCCAACTGGGGGCAAGGTT  
 2837 TGAAGACACAGCCTCCCGCCAGCCCAAGCTGGGCCGAGGGCGTGTGTGTATATCTGCCCTCCCTGTCTGTAAGGAGC  
 2918 AGCGGAAACGGAGCTTCGGAGCCTCTCAGTGAAGTGTGGGCTGCCGATCTGGCTGTGGGGCCCTTGGGCCACCGCT  
 2999 CTTGAGGAAGCCAGGCTCGGAGACCCCTGGAAAACAGACGGGCTCAGACTGAAATTTGTTTTACCAGCTCCCAGGGTTGA  
 3080 CTTCAGTGTGTATTTGTGTAATGGGTAAAACAATTTATTTCTTTTAAAAAATAAAAAAAAAAAAAA (配列番号1)

□ : コザックのコンセンサス配列  
 □ : 膜貫通ドメイン  
 ○ : 触媒三つ組残基 H、D、Sの保存アミノ酸

【図3】

1	MGSDRARKGG	GGPKDFGAGL	KYNSRHEKVN	GLEEGVEFLP	VNNVKKVEKH	1			
51	GPGR	WVVLAA	VLIGLLLVLL	GIGFLVWHLO	YRDVRVQKVF	NGYMRITNEN	2		
101	FVDAYENS	NS	TEFVSLASKV	KDALKLLYSG	VPFLGPHYKE	SAVTAFFSEGS			
151	VIAYYWSEFS	IPQHLVEEAE	RVMAEERVVM	LPPRARSLKS	FVVTSVVAFP				
201	TDSKTVQRTQ	DN	SCSFGFLHA	RGVELMRFTT	PGFPDSPYPA	HARCQWALRG			
251	DADSVLSLTF	RSFDLAS	CDE	RGSDLVTVYN	TLSPMEPHAL	VQLCGTYPPS			
301	YNLT	FHSSQN	VLLITLITNT	ERRHPGFEAT	FFQLPRMSSC	GGRLRKAQGT	3		
351	FNSPYYPGHY	PPNID	CTWNI	EVPNNQHVKV	SFKFFYLLEP	GVPAGT	CPKD		
401	YVEINGEKYC	GERSQFVVTS	NSNKITVRFH	SDQSYTDTGF	LAEYLSY	DSS			
451	DPCPGQFTCR	TGRCIRKELR	CDGWADCTDH	SDE	LNCSCDA	GHQFTCKNKF			
501	CKPLFWCDS	VNDCGDN	SDE	QGCSCPAQTF	RCSNGKCLSK	SQCCNGKDDC	4		
551	GDC	SDE	ASCP	KVNVVTCTKH	TYRCLNGLCL	SKGNPECDGK	EDCSDC	SDE	K
601	DCDCGLRSFT	RQAR	VVGTD	ADEGEWPQV	SLHALGQGHI	CGASLISPW			
651	LVSAA	H	CYID	DRGFYSDPT	QWTAFLGLHD	QSQRSAPGVQ	ERRLKRIISH		
701	PFNDFTFDY	D	IALLELEKP	AEYSSMVRPI	CLPDASHVFP	AGKAIWVTGW	5		
751	GHTQYGGTGA	LILQKGEIRV	INQTTENLL	PQQITPRMMC	VGFLSGGVDS				
801	COGD	S	GGPLS	SVEADGRIFQ	AGVVSWDGDC	AQRNKPGVYT	RLPLFRDWIK		
851	ENTGV	(配列番号2)							

\* : 保存システイン残基

NXT : 潜在的N-結合グリコシル化部位

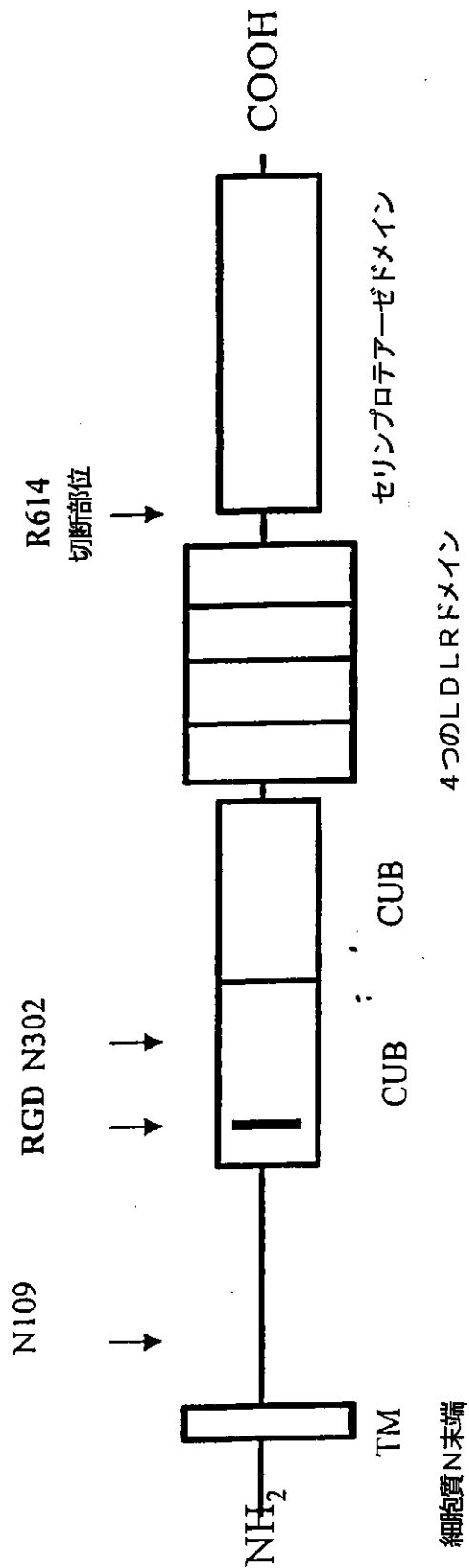
SDE : 保存SDEモチーフ

▼ : 潜在的切断部位

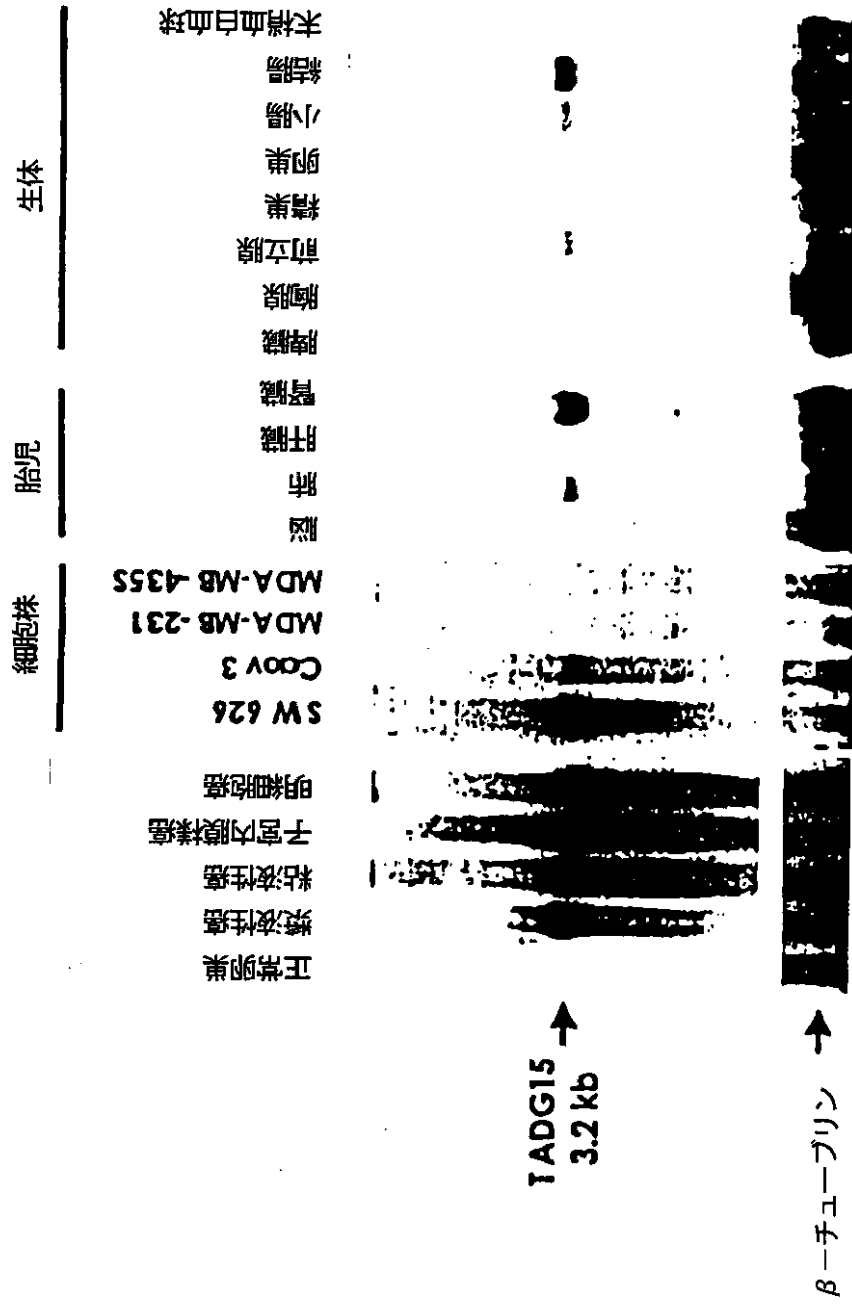
○ : 触媒三つ組残基 H、D、Sの保存アミノ酸

1. 細胞質ドメイン
2. 膜貫通ドメイン
3. CUB反復
4. LDL受容体様ドメインのリガンド結合反復  
(クラスAモチーフ)
5. セリンプロテアーゼ

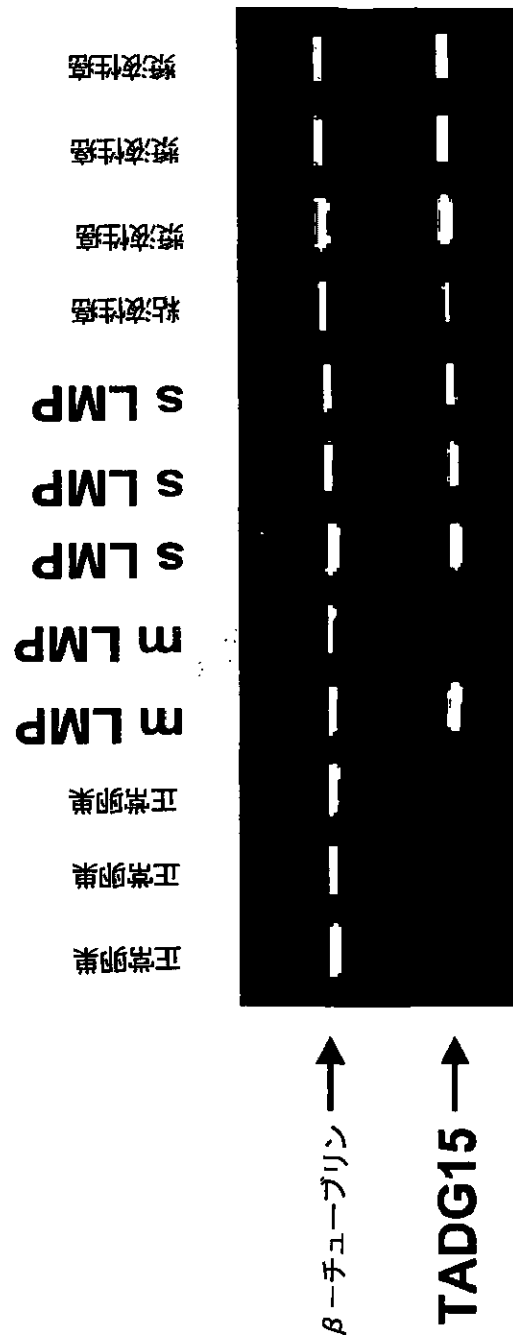
【図4】



【図5】

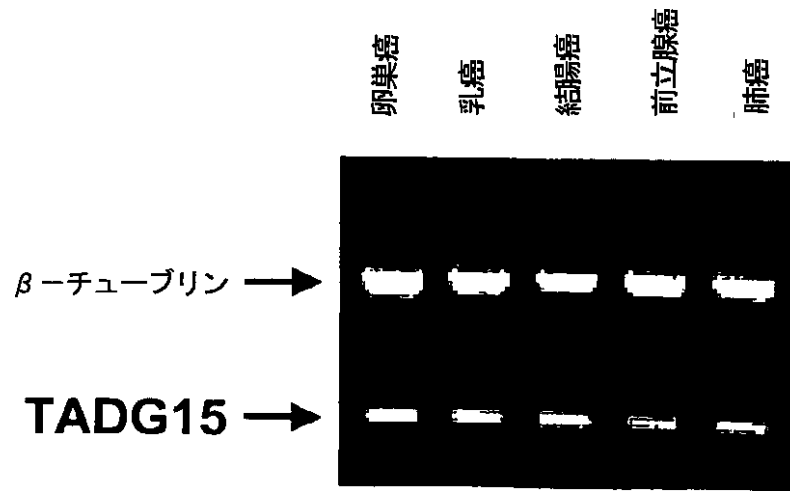


【図6A】

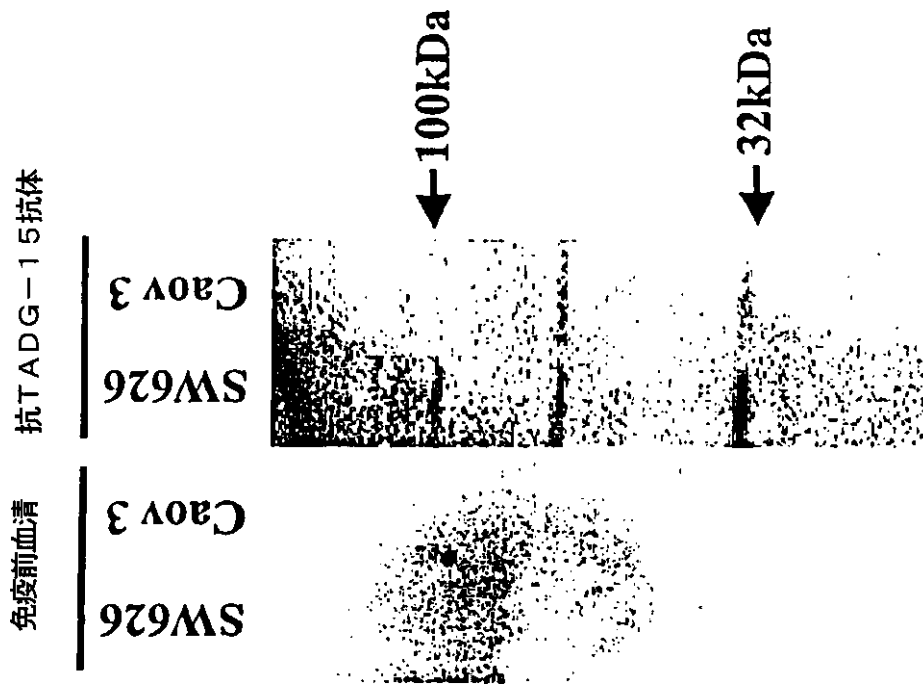




【図8】



【図9】



【図10A】



FIG. 10A



【 10 B】



FIG. 10B

【 10 C】

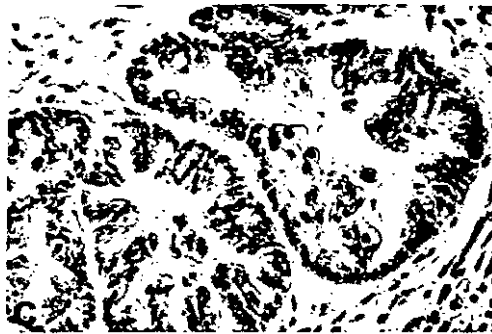


FIG. 10C


【 10 D】



FIG. 10D

【図10E】



FIG. 10E

【図11A】

hTADG15 MGSDRARKGG GPKDFGAGL KYNRREKVN GLEEGVEFLP VNNVKKVERH 50  
 マウスエピチン ---N-G--A--SQ----- --D--L-NM-- -F----- A--A-----R  
  
 hTADG15 GPGRWVLA A VLIIGLLLVLL GIGFLVWHLQ YRDVVRVQKVF NGYMRITNEN 100  
 マウスエピチン --R-----V- --FSF--LS- MA-L-----FH --N----- --HL-----I  
  
 hTADG15 FVDAYENSNS TEFVSLASKV KDALKLLYSG VPFLGPHYHKE SAVTAFSEGS 150  
 マウスエピチン -L-----T- ---I-----Q- -E-----NE --V-----K -----  
  
 hTADG15 VIAYYWSEFS IPQHLVEEAE RVMAEERVVM LPPRARSLKS FVVTSVVAFP 200  
 マウスエピチン -----P--A--VD -A--V-----T -----A-----L-----  
  
 hTADG15 TDSKTVQRTQ DNSCSFGLHA RGVELMRFTT PGFPDSPYPA HARCQWALRG 250  
 マウスエピチン I-PRML----- --A----- H-AAVT----- --N-----V-----  
  
 hTADG15 DADSVLSLTF RSEFDLASCDE RGSDLVTVYN TLPMPHAL VQLCGTYPPS 300  
 マウスエピチン -----V-P--- H-----D S-----V -R-----FS---  
  
 hTADG15 YNLTFHSSQN VLLITLITNT ERRHPGFEAT FFQLPRMSSC GGRLLRKAQGT 350  
 マウスエピチン -----L---- -F-V----- G---L-----K----- --V-SDT----  
  
 hTADG15 FNSPYYPGHY PPNIDCTWNI EVENNQHVKV SEKFFYLLEP GVPAGTCPKD 400  
 マウスエピチン -S----- --N----- K-----RN--- R--L-----VD- N--V-S-T--  
  
 hTADG15 YVEINGEKYC GERSQFVTS NSNKITVRFH SDQSYTDIGF LAEYLSYDSS 450  
 マウスエピチン -----GS -----S- ---S---H--- --H-----N-----

【 図 1 1 B 】

hTADG15 DPCPGQFTCR TGRGIRKELR CDGWADCTDH SDELNCSCDA GHQFTCKNKF 500  
 マウスエイピチン -----M-M-K -----P-Y ---RY-R-N- T-----Q-

hTADG15 CKPLFWVCD S VDCGDN SDE QGCSCPAQTF RCSNGKCLSK SQQCNGKDDC 550  
 マウスエイピチン -----G--- E-----GS- K-----PQ --K-----N-

hTADG15 GDGSEALSCP KVNVTCTKH TYRCLNGLCL SKGNPECDGK EDCSDGSDEK 600  
 マウスエイピチン -----D S-----S---Y ----Q----- T-----

hTADG15 DCDCGLRSET RQARVVGITD ADEGEWPQV SLHALGQCHI CGASLISFNW 650  
 マウスエイピチン N-----K-----N -----L -----D-

hTADG15 LVSAAHCYID DRGERYSPT QWTAFLGLHD QSORSAPGVQ ERRLKRIISH 700  
 マウスエイピチン -----FQ- -KN-K---Y- M-----L- --K---S--- -LK-----T-

hTADG15 PFFNDFTEFY DIALLELEKP AEYSSMVRPI CLPDASHVEP AGKAIWVTGW 750  
 マウスエイピチン -S-----S V---TV-----T-----

hTADG15 GHTQYGGTGA LILQKGEIRV INQITCENLL PQQITPRMMC VGFLSGGVDS 800  
 マウスエイピチン ---KE-----D-M -----

hTADG15 CQDGGGPLS SVEADGRIFQ AGVSWGDGC AQRNKPQVYT RLPLEFRDWIK 850  
 マウスエイピチン -----A-K---M---E----- ---CSSGLDQ

hTADG15 ENTGV\* 900  
 マウスエイピチン RAHWGIAAWT DSRPQFTTGM PDMHTWIQER NTDDIYAVAS PPOHNPDCCEL

hTADG15 HP 902  
 マウスエイピチン 配列番号2  
 配列番号10

【 1 2 A 】

TADG15: TCAAGAGCGCCCTCGGGGTACCATGGGGAGCGGATCGGGCCCGCAAGGGGGAGGGGGCCGAAGGACTTCGGCGCGGGACT 81

SNC19: .....

82 CAAGTACAACCTCCCGGCACGAGAAAGTGAATGGCTTGGAGGAAGCGGTGGAGTTCCTGCCAGTCAACAACGTCAGAAGGTGGAAGAAGCATGGCCCGGGG 181

.....

182 CGCTGGGTGGTGGCAGCCGGTGTGATCGGCCCTCCTCTTGGTCTTGTCTGGGATCGGCTTCCTGGTGTGGCATTTCAGTACCAGGACGGTGCCTGTC 281

|||||

1 CGCTGGGTGGTGGCAGCCGGTGTGATCGGCCCTCCTCTTGGTCTTGTCTGGGATCGGCTTCCTGGTGTGGCATTTCAGTACCAGGACGGTGCCTGTC 100

|||||

282 AGAAGGTCTTCAATGGCTACATGAGGATCACAATGAGAAATTTGTGGATGCCTACGAGAACTCCAATCCACTGAGTTTGTAAAGCTGGCCAGCAAGT 381

|||||

101 AGAAGGTCTTCAATGGCTACATGAGGATCACAATGAGAAATTTGTGGATGCCTACGAGAACTCCAATCCACTGAGTTTGTAAAGCTGGCCAGCAAGT 200

|||||

382 GAAGGACGGCTGAACTGCTGTACAGCGGAGTCCCATTCTCTGGGCCCTACCACAAAGGAGTCGGCTGTACGGCCTTCAGCCAGGGCAGCGTCAATCGCC 481

|||||

201 GAAGGACGGCTGAACTGCTGTACAGCGGAGTCCCATTCTCTGGGCCCTACCACAAAGGAGTCGGCTGTACGGCCTTCAGCCAGGGCAGCGTCAATCGCC 300

|||||

482 TACTACTGGTCTGAGTTCAGCATCCCAGCACCCTGGTGGAGGAGCCGAGCCGCTCATGGCCGAGGAGCGGTAGTCAATGCTGCCCCCGGGCGCGCT 581

|||||

301 TACTACTGGTCTGAGTTCAGCATCCCAGCACCCTGGTGGAGGAGCCGAGCCGCTCATGGCC.AGGAGGCGGTAGTCAATGCTGCCCCCGGGCGCGCT 399

|||||

582 CCTTGAAGTCCCTTGTGGTCACTCAGTGGTGGCTTCCCCACGGACTCCAACAACAGTACAGAGGACCCAGGACCAACAGCTGCAGCTTGGCCCTGCACGC 681

|||||

400 CCTTGAAGTCCCTTGTGGTCACTCAGTGGTGGCTTCCCCACGGACTCCAACAACAGTACAGAGGACCCAGGACCAACAGCTGCAGCTTGGCCCTGCACGC. 498

|||||

682 CCGCGGTGTGGAGCTGATGCGCTTACCCACGSCCGGCTTCCCTGACAGCCCTTACCCTCGCTCATGCCCGCTGCCAGTGGGCCCTGCAGGCGGACCGCCGAC 781

|||||

499 CCGCGGTGTGGAGCTGATGCGCTTACCCACG.CCGGCTTCCCTGACAGCCCTTACCCTCGCTCATGCCCGCTGCCAGTGGGC...TGCAGGAGCG.CGAC 592







## 【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US00/29085
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
IPC(T) : C07H 21/04, 21/04; C12Q 1/68; C12P 21/06; C12N 15/00, 15/09 US CL : 530/1, 25.1, 25.5; 430/501, 503; 530/350; 435/8, 69.1, 320.1 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. : 530/1, 25.1, 25.5; 430/501, 503; 530/350; 435/8, 69.1, 320.1		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Antibio acid databases and Nucleic acid databases		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
<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,P — Y,P	US 5,972,616 A (O'BRIEN et al.) 26 October 1999 (26.10.99), see entire document and attached MPsrch sequence listing.	1-5, 7-15, 18-21, 24, 32-35, 49  6, 16, 17, 22, 23, 36-39, 46-48, 50
<input checked="" 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		'X' 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
'E' earlier document published on or after the international filing date		'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
'L' document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		'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
'O' document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		'A' document member of the same patent family
'P' document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 21 DECEMBER 2000	Date of mailing of the international search report 07 FEB 2001	
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 505-8230	Authorized officer <i>Jane Bridges</i> ALANA M. HARRIS, PH.D. Telephone No. (703) 508-0106	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/US00/29095
---

C (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- Y	JP 09149790 A (SUNTORY LTD.) 10 June 1997 (10.06.97) original document, translated copy and attached MParch sequence listing T79128.	1-4, 7-11, 18-21, 25, 26, 49 ----- 6, 12-17, 22-24, 27, 46-48, 50

## 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)
A 6 1 K 39/395		A 6 1 K 47/48	4 C 0 5 7
45/00		48/00	4 C 0 7 6
47/48		A 6 1 P 1/00	4 C 0 8 4
48/00		11/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 1/00		13/08	4 C 0 8 6
11/00		15/00	4 H 0 4 5
13/08		35/00	
15/00		43/00	1 1 1
35/00		C 0 7 H 21/04	B
43/00	1 1 1	C 0 7 K 16/40	
C 0 7 H 21/04		C 1 2 N 1/21	
C 0 7 K 16/40		9/64	Z
C 1 2 N 1/21		C 1 2 Q 1/37	
5/06		1/68	A
9/64		G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 Q 1/37		33/50	Z
1/68		33/53	D
G 0 1 N 33/15			M
33/50		33/566	
33/53		33/574	A
		C 1 2 R 1:91	
33/566		C 1 2 N 15/00	Z N A A
33/574		A 6 1 K 37/02	
/(C 1 2 N 5/06		C 1 2 N 5/00	E
C 1 2 R 1:91)			

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW

Fターム(参考) 2G045 AA26 AA40 DA12 DA13 DA14  
DA36 DA78 FB02 FB03  
4B024 AA01 AA12 BA14 CA04 DA06  
EA04 GA11 HA01  
4B050 CC03 DD11 LL03  
4B063 QA01 QA19 QQ43 QQ44 QR16  
QR32 QR55 QS34  
4B065 AA26X AA90X AA99Y AB01  
AC14 BA02 BA16 CA33 CA44  
CA46  
4C057 BB05 DD01 MM04 MM09  
4C076 AA95 CC41 EE59 FF68  
4C084 AA02 AA07 AA13 AA19 BA44  
CA18 DC50 MA05 NA10 NA13  
ZB092 ZB312 ZC022  
4C085 AA03 AA13 AA35 AA38 FF24  
4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01  
MA04 MA05 NA10 NA13 ZA59  
ZA66 ZA81 ZB26  
4H045 AA11 CA41 DA75 EA51 FA74

专利名称(译)	TADG-15 : 在癌症中过度表达的细胞外丝氨酸蛋白酶		
公开(公告)号	<a href="#">JP2003512036A</a>	公开(公告)日	2003-04-02
申请号	JP2001531854	申请日	2000-10-20
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 タニモトヒロトシ		
发明人	オブライアン,ティモシー ジェイ タニモト,ヒロトシ		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/7088 A61K38/00 A61K39/00 A61K39/39 A61K39/395 A61K45/00 A61K47/48 A61K48/00 A61P1/00 A61P11/00 A61P13/08 A61P15/00 A61P35/00 A61P43/00 C07H21/04 C07K16 /40 C12N1/21 C12N5/06 C12N9/64 C12N15/09 C12Q1/37 C12Q1/68 C12R1/91 G01N33/15 G01N33 /53 G01N33/566 G01N33/574		
CPC分类号	A61K39/00 A61P1/00 A61P11/00 A61P13/08 A61P15/00 C12N9/6424 C12Q1/6851 C12Q1/6886 C12Q2600/136		
FI分类号	A61K31/7088 A61K39/00.H A61K39/39 A61K39/395.C A61K45/00 A61K47/48 A61K48/00 A61P1/00 A61P11/00 A61P13/08 A61P15/00 A61P35/00 A61P43/00.111 C07H21/04.B C07K16/40 C12N1/21 C12N9/64.Z C12Q1/37 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33 /566 G01N33/574.A C12R1/91 C12N15/00.ZNA.A A61K37/02 C12N5/00.E		
F-TERM分类号	2G045/AA26 2G045/AA40 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/DA78 2G045 /FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA12 4B024/BA14 4B024/CA04 4B024/DA06 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA01 4B050/CC03 4B050/DD11 4B050/LL03 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063 /QQ43 4B063/QQ44 4B063/QR16 4B063/QR32 4B063/QR55 4B063/QS34 4B065/AA26X 4B065 /AA90X 4B065/AA99Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/BA16 4B065/CA33 4B065/CA44 4B065/CA46 4C057/BB05 4C057/DD01 4C057/MM04 4C057/MM09 4C076/AA95 4C076/CC41 4C076 /EE59 4C076/FF68 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA19 4C084/BA44 4C084/CA18 4C084/DC50 4C084/MA05 4C084/NA10 4C084/NA13 4C084/ZB092 4C084/ZB312 4C084/ZC022 4C085/AA03 4C085/AA13 4C085/AA35 4C085/AA38 4C085/FF24 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086 /AA03 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/MA05 4C086/NA10 4C086/NA13 4C086/ZA59 4C086/ZA66 4C086/ZA81 4C086/ZB26 4H045/AA11 4H045/CA41 4H045/DA75 4H045/EA51 4H045 /FA74		
优先权	09/421213 1999-10-20 US		
其他公开文献	JP2003512036A5		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

本发明提供了编码TADG-15蛋白以及TADG-15蛋白的DNA。还提供了能够表达适于在重组细胞中表达的本发明DNA的载体，以及在细胞中表达DNA所需的调控元件。此外，本发明提供了抑制TADG-15表达和/或蛋白酶活性的方法，检测TADG-15 mRNA和/或蛋白质的方法以及筛选TADG-15抑制剂的方法。此外，本发明提供了通过TADG-15的细胞特异性靶向，以及针对TADG-15接种个体的方法。所描述的方法可用于诊断，治疗和预防癌症，特别是乳腺癌和卵巢癌。

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	68	VLLGIGFLV	2537.396	19
2	126	LLYSGVPFL	1470.075	20
3	644	SLISFNWLV	521.640	21
4	379	KVSEKFFYL	396.525	22
5	386	YLLERGVFA	346.677	23
6	257	SLTRSFIDL	123.902	24
7	762	ILQKGERIV	118.238	25
8	841	RLPLFRDWI	106.842	26
9	64	GLLVLLGI	88.783	27
10	57	VLA AVLIGL	83.527	28
HLA A0205				
1	67	LVLIGIFL	142.800	29
2	379	KVSEKFFYL	100.800	30
3	126	LLYSGVPFL	71.400	31
4	88	KVFNQVMRI	36.000	32
5	670	TQWTAFLGL	33.600	33
6	119	KVKDALKLL	25.200	34
7	60	AVLIGLLV	24.000	35
8	62	LIGLLVLL	23.800	36
9	57	VLA AVLIGL	23.800	37
10	61	VLIGLLVL	23.800	38
HLA A1				
1	146	FSEGSVIAY	337.500	39
2	658	YIDDRGPRY	125.000	40
3	449	SSDPCPGQF	75.000	41

表 2 ]