(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2005-508631
(P2005-508631A)
(43)公表日　平成17年4月7日(2005.4.7)

(51)Int.Cl.[7]	F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	C12N	15/00	ZNAA	2G045
A61K 38/00	A61K	45/00		4B024
A61K 45/00	A61K	49/00	Z	4B029
A61K 49/00	A61P	1/00		4B063
A61P 1/00	A61P	3/00		4B064

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 143 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2003-530800 (P2003-530800)
(86)(22)出願日　平成14年7月16日 (2002.7.16)
(85)翻訳文提出日　平成16年1月16日 (2004.1.16)
(86)国際出願番号　PCT/US2002/022833
(87)国際公開番号　WO2003/027228
(87)国際公開日　平成15年4月3日 (2003.4.3)
(31)優先権主張番号　60/306,020
(32)優先日　平成13年7月17日 (2001.7.17)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/308,179
(32)優先日　平成13年7月27日 (2001.7.27)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/309,702
(32)優先日　平成13年8月2日 (2001.8.2)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　301005050
インサイト・ゲノミックス・インコーポレイテッド
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４３０４・パロアルト・ポータードライブ　３１６０
(74)代理人　100089266
弁理士　大島　陽一
(72)発明者　ラル、プリーティ・ジー
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５０５６・サンタクララ・ピーオーボックス　５１４２

最終頁に続く

(54)【発明の名称】受容体および膜結合タンパク質

(57)【要約】
本発明は様々な実施例によって、ヒト受容体および膜結合タンパク質(REMAP)およびREMAPを同定し、コードするポリヌクレオチドを提供する。本発明の実施例はまた、発現ベクター、宿主細胞、抗体、アゴニストおよびアンタゴニストをも提供する。他の実施例はREMAPの異常発現に関連する疾患を診断、治療または予防する方法をも提供する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
以下の（ａ）乃至（ｇ）からなる群から選択した単離されたポリペプチド。
（ａ） SEQ ID NO:1-23（配列番号１乃至10）からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド
（ｂ） SEQ ID NO:1-4、 SEQ ID NO:6-10、 SEQ ID NO:12-14、SEQ ID NO:17およびSEQ ID NO:19-23からなる群から選択した或るアミノ酸配列と少なくとも９０％が同一であるような天然アミノ酸配列を含むポリペプチド
（ｃ） SEQ ID NO:18のアミノ酸配列と少なくとも91%が同一であるような天然のアミノ酸配列を有するポリペプチド
（ｄ） SEQ ID NO:11のアミノ酸配列に対して少なくとも９２％が同一であるような天然アミノ酸配列を持つポリペプチド
（ｅ） SEQ ID NO:5のアミノ酸配列と少なくとも94%が同一であるような天然のアミノ酸配列を有するポリペプチド
（ｆ） SEQ ID NO:16のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％が同一であるような天然アミノ酸配列を持つポリペプチド
（ｇ） SEQ ID NO:15のアミノ酸配列に対して少なくとも99%が同一であるような天然アミノ酸配列を含むポリペプチド
（ｈ） SEQ ID NO：1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、および
（ｉ） SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片
【請求項２】
SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を含む、請求項１に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項３】
請求項1に記載のポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチド。
【請求項４】
請求項2に記載のポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチド。
【請求項５】
SEQ ID NO:24-46からなる群から選択したポリヌクレオチド配列を含む、請求項４に記載の単離されたポリヌクレオチド。
【請求項６】
請求項３に記載のポリヌクレオチドに機能的に連結したプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチド。
【請求項７】
請求項６に記載の組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞。
【請求項８】
請求項６に記載の組換えポリヌクレオチドを含む遺伝形質転換体。
【請求項９】
請求項１のポリペプチドを生産する方法であって、
（ａ） 前記ポリペプチドの発現に好適な条件下で、請求項１のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに機能的に連結したプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドで形質転換される細胞を培養する過程と、
（ｂ） そのように発現した前記ポリペプチドを回収する過程とからなる方法。
【請求項１０】
前記ポリペプチドが、SEQ ID NO:1-23からなる群から選択した或るアミノ酸配列を含むことを特徴とする、請求項９に記載の方法。
【請求項１１】
請求項１に記載のポリペプチドと特異的に結合する単離された抗体。

【請求項１２】
以下の（ａ）乃至（ｇ）からなる群から選択した単離されたポリヌクレオチド。
（ａ） SEQ ID NO:24-46からなる群から選択したポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド
（ｂ） SEQ ID NO:24-46からなる群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも９０％が同一であるような天然のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド
（ｃ） （ａ）のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド
（ｄ） （ｂ）のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド
（ｅ） （ａ）～（ｄ）のRNA等価物
【請求項１３】
請求項12に記載のポリヌクレオチドの少なくとも６０の連続したヌクレオチドを含む単離されたポリヌクレオチド。
【請求項１４】
請求項12に記載のポリヌクレオチドの配列を有する標的ポリヌクレオチドをサンプル中から検出する方法であって、
（ａ） 前記サンプル中の前記標的ポリヌクレオチドに相補的な配列を持つ少なくとも２０の連続したヌクレオチドを持つプローブを用いて前記サンプルをハイブリダイズする過程と、
（ｂ） 前記ハイブリダイゼーション複合体の有無を検出し、該複合体が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程とを含む方法。
【請求項１５】
前記プローブが少なくとも６０の連続したヌクレオチドを含むことを特徴とする請求項14に記載の方法。
【請求項１６】
請求項12に記載のポリヌクレオチドの配列を有する標的ポリヌクレオチドをサンプル中から検出する方法であって、
（ａ） ポリメラーゼ連鎖反応増幅を用いて前記標的ポリヌクレオチドまたはその断片を増幅する過程と、
（ｂ） 前記の増幅した標的ポリヌクレオチドまたはその断片の有無を検出し、該標的ポリヌクレオチドまたはその断片が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程を含むことを特徴とする方法。
【請求項１７】
請求項１に記載のポリペプチドと、薬剤として許容できる賦形剤とを含む組成物。
【請求項１８】
前記ポリペプチドが、SEQ ID NO:1-23からなる群から選択されたアミノ酸配列を持つことを特徴とする、請求項１７の組成物。
【請求項１９】
機能性REMAPの発現低下に関連する疾患又は病状を治療する方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して請求項17に記載の組成物を投与する過程を含むことを特徴とする方法。
【請求項２０】
請求項１のポリペプチドのアゴニストとしての有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法であって、
（ａ） 請求項１のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝すステップと、
（ｂ） 前記サンプルにおいてアゴニスト活性を検出する過程を含むことを特徴とする方法。
【請求項２１】
請求項20に記載の方法によって同定したアゴニスト化合物と、薬剤として許容できる賦形剤とを含むことを特徴とする組成物。
【請求項２２】

機能的REMAPの発現の低下に関連する疾患や病態の治療方法であって、そのような治療が必要な患者に請求項２１の組成物を投与する過程を含むことを特徴とする治療方法。
【請求項２３】
請求項１に記載のポリペプチドのアンタゴニストとして有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法であって、
（ａ） 請求項１のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝すステップと、
（ｂ） 前記サンプルにおいてアンタゴニスト活性を検出する過程とを含むことを特徴とする方法。
【請求項２４】
請求項23に記載の方法によって同定したアンタゴニスト化合物と、薬剤として許容できる賦形剤とを含む組成物。
【請求項２５】
機能性REMAPの過剰発現に関連する疾患又は病状の治療方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して請求項24に記載の組成物を投与する過程を含むことを特徴とする方法。
【請求項２６】
請求項１のポリペプチドに特異結合する化合物をスクリーニングする方法であって、
（ａ） 請求項１のポリペプチドを適切な条件下で少なくとも１つの試験化合物と混合する過程と、
（ｂ） 請求項１のポリペプチドの試験化合物との結合を検出し、それによって請求項１のポリペプチドに特異結合する化合物を同定する過程を含む方法。
【請求項２７】
請求項１に記載のポリペプチドの活性を調節する化合物をスクリーニングする方法であって、
（ａ） 請求項１のポリペプチドの活性が許容される条件下で、請求項１のポリペプチドを少なくとも１つの試験化合物と混合する過程と、
（ｂ） 請求項１に記載のポリペプチドの活性を試験化合物の存在下で算定する過程と、
（ｃ） 試験化合物の存在下での請求項１に記載のポリペプチドの活性を、試験化合物の不存在下での請求項１に記載のポリペプチドの活性と比較する過程を含み、試験化合物の存在下での請求項１に記載のポリペプチドの活性の変化が、請求項１に記載のポリペプチドの活性を調節する化合物を標示することを特徴とする方法。
【請求項２８】
請求項５の配列を持つ標的ポリヌクレオチドの発現を改変するのに効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、
（ａ） 前記標的ポリヌクレオチドの発現に好適な条件下で、該標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝露する過程と、
（ｂ） 前記標的ポリヌクレオチドの発現改変を検出する過程と、
（ｃ） 可変量の前記化合物の存在下と前記化合物の不存在下で、前記標的ポリヌクレオチドの発現を比較する過程とを含むことを特徴とする方法。
【請求項２９】
試験化合物の毒性を算定する方法であって、
（ａ） 核酸を含む生物学的サンプルを前記試験化合物で処理する過程と、
（ｂ） 処理した前記生物学的サンプルの核酸と、請求項12のポリヌクレオチドの少なくとも２０の連続するヌクレオチドを持つプローブをハイブリダイズさせる過程であって、このハイブリダイゼーションゼーションが、前記プローブと前記生物学的サンプル中の標的ポリヌクレオチドとの間で特異的なハイブリダイゼーション複合体が形成される条件下で行われ、前記標的ポリヌクレオチドが、請求項12のポリヌクレオチドまたはその断片のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドである、前記過程と、
（ｃ） ハイブリダイゼーション複合体の収量を定量する過程と、

（ｄ） 前記処理された生物学的サンプル中のハイブリタイゼーション複合体の量を、処理されていない生物学的サンプル中のハイブリタイゼーション複合体の量と比較する過程とを含み、前記処理された生物学的サンプル中のハイブリタイゼーション複合体の量の差が、前記試験化合物の毒性を標示するような方法。

【請求項３０】

生体サンプル中のREMAPの発現に関連する症状または疾患に対する診断試験法であって、

（ａ） 前記生物学的サンプルと請求項11の抗体との混合を、前記抗体が前記ポリペプチドに結合し、抗体とポリペプチドとの複合体を形成するのに適した条件下で行う過程と、

（ｂ） 前記複合体を検出する過程とを含み、前記複合体の存在が、前記生物学的サンプル中の前記ポリペプチドの存在と相関することを特徴とする方法。

【請求項３１】

請求項11に記載の抗体であって、

（ａ） キメラ抗体

（ｂ） 単鎖抗体

（ｃ） Fab断片

（ｄ） $F(ab')_2$ 断片

（ｅ） ヒト化抗体のいずれかである抗体。

【請求項３２】

請求項11に記載の抗体と、許容できる賦形剤とを含む組成物。

【請求項３３】

被検者のREMAP の発現に関連する病状又は疾患の診断方法であって、請求項32に記載の組成物の有効量を前記被検者に投与する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項３４】

前記抗体が標識されることを特徴とする請求項32に記載の組成物。

【請求項３５】

被検者のREMAP の発現に関連する病状又は疾患の診断方法であって、請求項34に記載の組成物の有効量を前記被検者に投与する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項３６】

請求項11に記載の抗体の特異性を有するポリクローナル抗体を調製する方法であって、

（ａ） 抗体反応を誘発する条件下で、SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列またはその免疫原性断片を含むポリペプチドを用いて動物を免疫化する過程と、

（ｂ） 前記動物から抗体を単離する過程と、

（ｃ） 前記単離された抗体を前記ポリペプチドでスクリーニングし、それによって、SEQ ID NO：1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチドに特異結合するポリクローナル抗体を同定する過程とを含むような方法。

【請求項３７】

請求項36の方法で産生したポリクローナル抗体。

【請求項３８】

請求項３７のポリクローナル抗体と好適なキャリアとを有する組成物。

【請求項３９】

請求項１１に記載の抗体の特異性を有するモノクローナル抗体を作製する方法であって、

（ａ） 抗体反応を誘発する条件下で、SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列またはその免疫原性断片を含むポリペプチドを用いて動物を免疫化する過程と、

（ｂ） 前記動物から抗体産出細胞を単離する過程と、

（ｃ） 前記抗体産出細胞と不死化した細胞とを融合して、モノクローナル抗体を産出するハイブリドーマ細胞を形成する過程と、

（ｄ） 前記ハイブリドーマ細胞を培養する過程と、

（ｅ） SEQ ID NO：1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチドに特異結合するようなモノクローナル抗体を前記培養物から単離する過程とを含むことを特

徴とする方法。
【請求項４０】
請求項39に記載の方法で産出したモノクローナル抗体。
【請求項４１】
請求項４０に記載のモノクローナル抗体と適切なキャリアとを含む組成物。
【請求項４２】
Fab発現ライブラリをスクリーニングすることにより産出されることを特徴とする請求項１１に記載の抗体。
【請求項４３】
組換え免疫グロブリンライブラリのスクリーニングにより前記抗体を産出することを特徴とする請求項11に記載の抗体。
【請求項４４】
SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチドを検出する方法であって、
（ａ） 請求項１１に記載の抗体と前記ポリペプチドとの特異結合を許容する条件下で、前記抗体と１サンプルとをインキュベートする過程と、
（ｂ） 特異結合を検出する過程とを含み、該特異結合が、SEQ ID NO：1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドがサンプル中に存在することを標示することを特徴とする方法。
【請求項４５】
SEQ ID NO:1-23 からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドを精製する方法であって、
（ａ） 請求項１１に記載の抗体と前記ポリペプチドとの特異結合を許容する条件下で、前記抗体と１サンプルとをインキュベートする過程と、
（ｂ） 前記サンプルから前記抗体を分離し、SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を含む精製ポリペプチドを得る過程とを含むことを特徴とする方法。
【請求項４６】
マイクロアレイの少なくとも１つのエレメントが請求項１３に記載のポリヌクレオチドであることを特徴とするマイクロアレイ。
【請求項４７】
ポリヌクレオチドを含むサンプルの発現プロファイルを作製する方法であって、
（ａ） サンプル中のポリヌクレオチドを標識化する過程
（ｂ） ハイブリダイゼーション複合体が形成されるのに適した条件下で請求項46のマイクロアレイのエレメントとサンプル中の標識化ポリヌクレオチドとを接触させる過程と、
（ｃ） サンプル中のポリヌクレオチドの発現を定量する過程を含む方法
【請求項４８】
或る固体基板上の固有の物理的位置に付着された種々のヌクレオチド分子を有するアレイであって、少なくとも１つの前記ヌクレオチド分子が、或る標的ポリヌクレオチドの少なくとも30の連続したヌクレオチド群と特異的にハイブリダイズ可能な最初のオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチド配列を有し、前記の標的ポリヌクレオチドが請求項１２に記載のポリヌクレオチドであることを特徴とするアレイ。
【請求項４９】
請求項４８に記載のアレイで、前記の最初のオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの配列が前記の標的ポリヌクレオチドの少なくとも30の連続したヌクレオチドに完全に相補的であることを特徴とするアレイ。
【請求項５０】
請求項４８に記載のアレイで、前記の最初のオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの配列が前記の標的ポリヌクレオチドの少なくとも60の連続したヌクレオチドに完全に相補的であることを特徴とするアレイ。

【請求項５１】
請求項４８に記載のアレイで、前記のオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの最初の配列が前記の標的ポリヌクレオチドに完全に相補的であることを特徴とするアレイ。
【請求項５２】
請求項48に記載のアレイで、マイクロアレイであることを特徴とするアレイ。
【請求項５３】
請求項４８に記載のアレイで、前記のオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの最初の配列を有する或るヌクレオチド分子にハイブリダイズした前記の標的ポリヌクレオチドを更に有することを特徴とするアレイ。
【請求項５４】
請求項４８に記載のアレイで、或るリンカーが前記のヌクレオチド分子の少なくとも１つと前記の固体基板とを連結していることを特徴とするアレイ。
【請求項５５】
請求項４８に記載のアレイで、該基板上の固有の物理的位置の各々が複数のヌクレオチド分子を含み、任意の単一の固有の物理的位置でのその複数のヌクレオチド分子は同一の配列を有し、該基板上の固有の物理的位置の各々は、該基板上の別の固有の物理的位置でのヌクレオチド分子群の配列とは異なる或る配列を有するヌクレオチド分子群を含むことを特徴とするアレイ。
【請求項５６】
SEQ ID NO:1のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項５７】
SEQ ID NO:2のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項５８】
SEQ ID NO:3のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項５９】
SEQ ID NO:4のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項６０】
SEQ ID NO:5のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項６１】
SEQ ID NO:6のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項６２】
SEQ ID NO:7のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項６３】
SEQ ID NO:8のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項６４】
SEQ ID NO:9のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項６５】
SEQ ID NO:10のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項６６】
SEQ ID NO:11のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項６７】
SEQ ID NO:12のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項６８】
SEQ ID NO:13のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項６９】
SEQ ID NO:14のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項７０】
SEQ ID NO:15のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項７１】
SEQ ID NO:16のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。

【請求項７２】
SEQ ID NO:17のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項７３】
SEQ ID NO:18のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項７４】
SEQ ID NO:19のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項７５】
SEQ ID NO:20のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項７６】
SEQ ID NO:21のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項７７】
SEQ ID NO:22のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項７８】
SEQ ID NO:23のアミノ酸配列を含む請求項１に記載のポリペプチド。
【請求項７９】
SEQ ID NO:24のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項８０】
SEQ ID NO:25のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項８１】
SEQ ID NO:26のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項８２】
SEQ ID NO:27のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項８３】
SEQ ID NO:28のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項８４】
SEQ ID NO:29のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項８５】
SEQ ID NO:30のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項８６】
SEQ ID NO:31のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項８７】
SEQ ID NO:32のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項８８】
SEQ ID NO:33のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項８９】
SEQ ID NO:34のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項９０】
SEQ ID NO:35のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項９１】
SEQ ID NO:36のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項９２】
SEQ ID NO:37のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項９３】
SEQ ID NO:38のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項９４】
SEQ ID NO:39のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項９５】
SEQ ID NO:40のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項９６】
SEQ ID NO:41のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。

【請求項９７】
SEQ ID NO:42のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項９８】
SEQ ID NO:43のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項９９】
SEQ ID NO:44のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項１００】
SEQ ID NO:45のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【請求項１０１】
SEQ ID NO:46のポリヌクレオチド配列を含む請求項12に記載のポリヌクレオチド。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、新規の核酸群、これらの核酸群がコードする受容体および膜結合タンパク質群に関し、また、これらの核酸とタンパク質とを利用した細胞増殖異常、自己免疫／炎症性疾患、腎疾患、神経疾患、心血管障害、代謝障害、発達障害、内分泌疾患、筋疾患、胃腸疾患、脂質代謝異常および輸送障害およびウイルス感染症の、診断、治療、および予防に関する。本発明はまた、核酸と、受容体および膜結合タンパク質の発現における外因性化合物の作用の評価に関する。
【背景技術】
【０００２】
シグナル伝達は、それによって細胞が細胞外シグナルに応答する、一般的プロセスである。形質膜を越えてのシグナル伝達は、ホルモン、神経伝達物質または成長因子など、シグナル分子が、細胞膜受容体に結合することから開始する。そのようにして活性化された受容体は細胞内の生化学的カスケードを誘発し、このカスケードは、転写因子など細胞内標的分子の活性化で終了する。シグナル伝達のこのプロセスは、細胞増殖、分化及び遺伝子転写を含む、全てのタイプの細胞機能を制御する。
【０００３】
生体膜が、オルガネラと小胞と、細胞自体とを囲む。生体膜は、脂質の２重層シートから成る高度に選択的な透過性障壁であって、２重層シートの構成素材は、ホスホグリセリド、脂肪酸、コレステロール、リン脂質、糖脂質、プロテオグリカン、およびタンパク質である。これらの膜にはイオンポンプや、イオンチャネル、および特異的受容体類があり、受容体は外部刺激を受け、生化学的シグナルを膜の内側に伝達する。これらの膜にはまた、セカンドメッセンジャータンパク質類があって、これらのポンプやチャネルや受容体と相互作用し、これらのシグナルの伝達を増幅し調節する。
【０００４】
形質膜タンパク質
原形質膜タンパク質（MP）は２群に分けられ、その分類基準は膜からのタンパク質の抽出方法である。膜の外にあるタンパク質すなわち膜表在性タンパク質の放出させるには、極端なイオン強度またはpHを用いるか、尿素などの、タンパク質相互作用の撹乱物質を用いる。膜の内側にあるタンパク質すなわち膜内在性タンパク質を放出させる唯一の方法は、膜の脂質２重層を界面活性剤で溶解することである。
【０００５】
膜内在性タンパク質
既知の膜内在性タンパク質の大部分は膜貫通タンパク質(TM)であり、細胞外、膜貫通および細胞内ドメインを特徴とする。ＴＭドメイン群は通常、１５～２５の疎水性アミノ酸からなり、これらのアミノ酸は１つのα螺旋構造をとると予測される。TMタンパク質はバイトピック（bitopic）(タイプ１およびタイプ２)タンパク質と、ポリトピック（polytopic）(タイプ３およびタイプ４）に分類される（Singer, S.J. (1990) Annu. Rev. Cell Biol.6:247-96)。ポリトピックタンパク質は多数回膜貫通セグメントを含んでいるが、バ

イトピックのタンパク質は膜を1回貫通する。シグナル伝達に関わる細胞表面受容体タンパク質として作用するTMタンパク質には、成長因子受容体と分化因子受容体が、またショウジョウバエのpecanexタンパク質とfrizzledタンパク質、LIV-1 タンパク質、NF2 タンパク質、GNS1/SUR4真核生物膜内在性タンパク質などの受容体と相互作用するタンパク質が含まれる。TMタンパク質はまた、イオンまたは代謝産物のトランスポータ（例えばギャップ結合チャネル（コネキシン類）とイオンチャネル類）として作用し、また、細胞接着タンパク質（例えばレクチン類とインテグリン類とフィブロネクチン類）として作用する。TMタンパク質は、小胞とオルガネラとを形成する分子（例えばカルベオリン（calveolin）類）として機能するか、あるいは、細胞認識分子（例えば分化クラスター（CD）抗原、糖タンパク質、およびムチン類）として機能する。

【０００６】

多くの膜タンパク質（MP）には、これらのタンパク質に特定の各細胞内部位を標的とさせる、アミノ酸配列モチーフ群がある。これらのモチーフの例に、PDZドメイン群や、KDEL、RGD、NGR、およびGSL配列モチーフ群や、フォンウィルブランド因子A（vWFA）ドメイン群や、EGF様ドメイン群がある。RGD、NGR、およびGSLモチーフ含有ペプチド類は、腫瘍血管系を標的とする癌治療における薬物送達剤として用いられている（Arap, W. 他 (1998) Science, 279:377-380)。

【０００７】

さらに、MP類はまた、アミノ酸配列モチーフ、例えば、細胞外分子または細胞内分子との相互作用を媒介するC型レクチンドメインとしても知られている糖質認識ドメイン(CRD)などを含み得る。

【０００８】

アミノ酸残基側鎖の化学修飾により、MP類が他の分子（例えば膜リン脂質）と相互作用する方法が変わる。このような化学修飾の例に、グリコサミノグリカン類や、少糖類、リン脂質類、アセチル部分およびパルミトイル部分、ADPリボース、リン酸、および硫酸基との、共有結合の形成がある。

【０００９】

膜タンパク質をコードするRNAは選択的スプライス部位を持つことがあり、これらの部位により、同一遺伝子がコードするタンパク質群が、異なるメッセンジャーRNAとアミノ酸配列とを持ち得る。スプライス変異体膜タンパク質類は、他のリガンドやタンパク質のアイソフォームと相互作用し得る。

【００１０】

膜タンパク質はまた、膜脂質の性質と相互作用し、これを調節する。タイプIIの原形質膜タンパク質であるリン脂質スクランブラーゼは、膜小葉間の、リン脂質(PL)のカルシウム依存性の移動を媒介する。原形質膜PLのカルシウム誘発性再構築は血小板抗凝固活性の発現、および損傷した細胞またはアポトーシス細胞の除去に重要な役割を果たしている(Zhou Q.他(1997) J. Biol. Chem. 272:18240-18244)。出血疾患であるScott症候群は原形質膜PLのスクランブラーゼ機能における遺伝性欠損によって生じる(Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) *262890 Platelet Receptor for Factor X, Deficiency of)。

【００１１】

腫瘍抗原は細胞表面分子であり、腫瘍細胞では正常細胞と異なる発現をする。腫瘍抗原は、腫瘍細胞を免疫的に正常細胞と区別し、ヒトの癌に関して診断と治療との標的を提供する（Takagi, S. 他 (1995) Int. J. Cancer 61: 706-715; Liu, E. 他(1992) Oncogene 7: 1027-1032)。このようなタンパク質に、腫瘍随伴性神経細胞疾患（paraneoplastic neuronal disorders）のマーカーである神経および精巣に特異的なタンパク質Malがある（Dalmau, J. 他(1999) Brain 122:27-39)。

【００１２】

細胞表面抗原の他のタイプとしては、免疫系の白血球細胞上で同定される細胞表面抗原がある。これらの抗原を同定するには、系統的な、モノクローナル抗体（mAb）ベースの「ショットガン（shot gun）」技術が利用される。これらの技術によって、数百種のmAb

が、未知の細胞表面白血球抗原類に対して産生されている。それらの抗原は「分化のクラスター群」へとグループ分けされている。分類は、多様な分化白血球細胞型と未分化白血球細胞型とで共通の、免疫細胞化学的な局在パターンに基づく。或るクラスター内の抗原群は或る単一の細胞表面タンパク質を同定すると仮定され、「CD（cluster of differentiation）」名、すなわち、「分化クラスター」が指定されている。CD抗原類が同定するタンパク質類をコードするいくつかの遺伝子が、標準的な分子生物学技術によってクローン化され、確証されている。CD抗原類の特徴は、膜貫通タンパク質であることと、細胞表面タンパク質であって、脂肪酸含有糖脂質、例えば、次に述べるグリコシルホスファチジルイノシトール（GPI）への共有結合性の付着を介して原形質膜に固着されていることである（Barclay, A. N.他(1995) The Leucocyte Antigen Facts Book, Academic Press, San Diego, CA, 17-20ページの概説を参照）。

【００１３】

TM細胞表面糖タンパク質CD69はTリンパ球の初期の活性化抗原である。C69は、C型レクチンドメインを持つタイプIIの膜内在性タンパク質のスーパ遺伝子ファミリのメンバーに相同である。C69抗原の正確な機能はわかっていないが、文献証拠によってこれらのタンパク質は原形質膜を通過する分裂促進シグナルを伝達し、リンパ球の活性化に応答して上方制御されることが示唆される(Hamann, J. 他(1993) J. Immunol. 150:4920-4927)。

【００１４】

マクロファージは老化細胞またはアポトーシス細胞の除去、サイトカイン産生、造血、骨再吸収、抗原の輸送および神経内分泌調節などの機能に関与している。これらの多様な役割りは特定化されたマクロファージ原形質膜タンパク質によって影響される。マウスのマクロファージに限られるC型レクチンは、マクロファージにのみ発現されるタイプIIの膜内在性タンパク質である。骨髄でこのタンパク質が強く発現されることは造血機能を示唆しており、他方、レクチンドメインは細胞と細胞との間の認識に関与し得ることを示唆する(Balch, S. G. 他(1998) J. Biol. Chem. 273:18656-18664)。

【００１５】

膜表在性タンパク質およびアンカー型膜タンパク質

いくつかの膜タンパク質は膜貫通しておらず、膜アンカーまたは膜内在性タンパク質との相互作用を介して原形質膜に固着している。膜アンカーは、翻訳後に共有結合的にタンパク質へ加えられる。アンカーとしては、プレニル基、ミリスチル基、およびグリコシルホスファチジルイノシトール（GPI）基などの成分を含む。膜表在性タンパク質およびアンカー型タンパク質の膜局在化は受容体媒介シグナル伝達などのプロセスにおける機能にとって重要である。例えばRasのプレニル化は形質膜へのRasの局在に必要であり、シグナル伝達におけるその正常な機能と癌原性機能とにも必要である。

【００１６】

pancortinは四つの糖タンパク質の一群であり、これらは成体げっ歯類の大脳皮質に主に発現される。免疫学的局在化によって、pancortinは小胞体アンカー型タンパク質であることを示す。pancortinはそれらの構造の中心に共通の配列を共有しているが、示差的プロ-モータ用法と選択的スプライシングによって両端に代替的配列を有する。各々のpancortinは脳において差次的に発現され、異なった機能を果たし得る(Nagano, T. 他(1998) Mol. Brain Res. 53:13-23)。

【００１７】

受容体

用語「受容体」とは、他の分子を特異的に認識するタンパク質を指す。受容体のカテゴリーは幅広く、その中には種々の機能を持つタンパク質を含む。大部分の受容体は細胞表面タンパク質であり、細胞外リガンドと結合し、また、成長、分化、エンドサイトーシス、及び免疫応答の分野で細胞応答を生み出す。他の受容体は、小胞体からのタンパク質の選択的な輸送を促進し、細胞内の特定の位置に酵素を局在化させる。用語「受容体」はまた、既知または未知の化学組成を持つリガンドのための受容体として作用しまた他の細胞成分と相互作用するタンパク質にも適用される。例えばステロイドホルモン受容体は、DN

Aに結合し、その転写を調節する。

【００１８】

細胞表面受容体は一般に原形質膜内在性タンパク質である。これらの受容体はホルモン類（カテコールアミン、ペプチドホルモン、成長因子、分化因子、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン、ガラニン、ソマトスタチン、およびタキキニン等）、および循環系で運ばれるシグナル伝達分子を認識する。　免疫系細胞上の細胞表面受容体は、抗原、抗体、および主要組織適合性複合体（MHC）結合ペプチドを認識する。他の細胞表面受容体はリガンド類に結合し、それらのリガンドはその細胞によって取り込まれる。この受容体介在性エンドサイトーシスは、低密度リポタンパク質（LDL）、トランスフェリン、グルコース末端糖タンパク質、マンノース末端糖タンパク質、ガラクトース末端糖タンパク質、免疫グロブリン、ホスホビテロゲニン（phosphovitellogenin）類、フィブリン、プロテイナーゼ-阻害剤複合体、プラスミノーゲン活性化因子、およびトロンボスポンジンの取り込み時に機能する(Lodish, H. 他 (1995) Molecular Cell Biology, Scientific American Books, New York NY, 723ページ; Mikhailenko, I. 他(1997) J. Biol. Chem. 272:6784-6791)。

【００１９】

受容体プロテインキナーゼ

多くの成長因子受容体(上皮性成長因子、血小板由来成長因子、線維芽細胞成長因子、および成長修飾因子αトロンビン)には内因性プロテインキナーゼ活性がある。成長因子が受容体に結合すると、受容体のセリン、トレオニン、またはチロシン残基の自己リン酸化が誘発される。これらのリン酸化部位は他の細胞質シグナル伝達タンパク質結合の認識部位となる。これらのタンパク質は、細胞表面での最初の受容体の活性化を最終的に特異的細胞内標的分子の活性化に結びつけるシグナル伝達経路に関与する。チロシン残基自己リン酸化の場合、これらのシグナル伝達タンパク質にはSrc 相同性(SH)ドメインと呼ばれる共通ドメインが含まれている。SH2ドメインおよびSH３ドメインはホスホリパーゼCγ、PI-3-K p85 調節サブユニット、Ras-GTPアーゼ活性化タンパク質およびpp60^{csrc} に存在する(Lowenstein, E.J. 他 (1992) Cell 70:431442)。サイトカインファミリの受容体は異なった共通結合ドメインを共有しており、成長ホルモン(GH)、インターロイキン、エリスロポエチンおよびプロラクチンが含まれる。

【００２０】

他の受容体およびセカンドメッセンジャー結合タンパク質は内在性セリン/トレオニンプロテインキナーゼ活性を有する。これらにはアクチビン/TGF-β/BMP-スーパファミリ受容体、カルシウムおよびジアシルグリセロール活性化/リン脂質依存性プロテインキナーゼ(PK-C)およびRNA依存性プロテインキナーゼ(PK-P)が含まれる。さらに、線虫Twitchinを含む他のセリン/トレオニンプロテインキナーゼはフィブロネクチン様、免疫グロブリンC２様ドメインを有する。

【００２１】

Ｇタンパク質共役受容体

今までに同定されている遺伝子の最も大きいファミリーの１つによってコードされるＧタンパク質共役受容体（GPCR）は、原形質膜での細胞外シグナルの伝達において中心的役割を果たす。GPCRは、治療標的としての成功の、実証された歴史を持つ。

【００２２】

GPCRは、７つの疎水性膜貫通ドメインを有することを特徴とする膜内在性タンパク質であり、それらのドメインがまとまって逆平行アルファ（α）螺旋の束を形成するようになる。GPCRのサイズは、４００以下から１０００以上のアミノ酸に及ぶ（Strosberg, A.D. (1991) Eur. J. Biochem. 196:1-10、Coughlin, S.R. (1994) Curr. Opin. Cell Biol. 6:191-197）。 The amino-terminus of a GPCR is extracellular, is of variable length, and is often glycosylated.カルボキシ末端は細胞質内にあり、通常はリン酸化されている。細胞外ループ群が、細胞内ループ群と交互に現れ、膜貫通ドメイン群を連結している。第２及び第３の細胞外ループを結びつけるシステインジスルフィド架橋は、アゴニ

スト及びアンタゴニストと相互に作用し得る。GPCRの最も保存されたドメインは、膜貫通ドメイン群及び、最初の２つの細胞質ループである。膜貫通ドメインによって、受容体の構造的及び機能的特徴がある程度決まる。大抵の場合、αヘリックスの束が、１つのリガンド結合ポケットを形成する。細胞外Ｎ末端セグメント、または３つの細胞外ループの内の１つ以上のループも、リガンド結合に関与し得る。リガンド結合によって、受容体の細胞内部分に構造的変化が誘発されて受容体が活性化される。次に、この活性化された受容体の大きな第３の細胞内ループが、ヘテロ三量体であるグアニンヌクレオチド結合（Ｇ）タンパク質複合体と相互作用し、この複合体は、サイクリックAMP（cAMP）やホスホリパーゼＣやイノシトール三リン酸など、セカンドメッセンジャーの活性化を含む細胞内シグナル伝達作用と、活性化されたGPCRとイオンチャネルタンパク質類との相互作用とを更に仲介する(Watson, S. および S. Arkinstall (1994) The G-protein Linked Receptor Facts Book, Academic Press, San Diego CA, 2-6ページ; Bolander, F.F. (1994) Molecular Endocrinology, Academic Press, San Diego CA, 162-176ページ; Baldwin, J.M. (1994) Curr. Opin. Cell Biol. 6:180190等参照)。

【００２３】

GPCRには、受容体類があり、それらは感覚性シグナルメディエータ（例えば光及び嗅覚刺激性分子）、アデノシン、γアミノ酪酸（GABA）、肝細胞成長因子、メラノコルチン、ニューロペプチドY、オピオイドペプチド、オプシン、ソマトスタチン、タキキニン、血管作用性腸管ポリペプチドファミリー及びバソプレシン、生体アミン（例えばドーパミン、エピネフリン及びノルエピネフリン、ヒスタミン、グルタミン酸（代謝調節作用）、アセチルコリン（ムスカリン様作用）及びセロトニン）、ケモカイン、炎症の脂質メディエータ（例えばプロスタグランジン及びプロスタノイド、血小板活性化因子及びロイコトリエン）及びペプチドホルモン（例えばボンベシン、ブラジキニン、カルシトニン、C5aアナフィラトキシン、エンドセリン、卵胞刺激ホルモン（FSH）、ゴナドトロピン放出ホルモン（GnRH）、ニューロキニン及び甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン（TRH）及びオキシトシン）に対する受容体である。まだ同定されていない刺激の受容体として作用するGPCRは、オーファン受容体として知られている。

【００２４】

GPCRファミリーの多様性は、選択的スプライシングによって更に増加する。多くのGPCR遺伝子はイントロンを持ち、スプライス変異体が同定されている受容体は現在30を超えている。変異の数が最も多いのは、このタンパク質のＣ末端においてである。Ｎ末端及び細胞質内ループの変異体もまた高頻度であるのに対して、細胞外ループまたは膜貫通ドメインでの変異体は頻度が低い。変異が発生し得るような部位を２ヶ所以上有する、幾つかの受容体もある。スプライシング変異体は、分布、シグナル伝達、結合、制御及びリガンド結合プロフィールに観察される差異に基づき、機能的に異なる外観を呈する（Kilpatrick, G.J. 他 (1999) Trends Pharmacol. Sci. 20:294-301)。

【００２５】

GPCRは、３つの主要なサブファミリー即ちロドプシン様、セクレチン様及び代謝調節型グルタミン酸受容体サブファミリーに分けることができる。GPCRサブファミリー群のメンバーは、同様の機能と、特徴的な膜７回貫通構造とを共有するが、アミノ酸配列は互いに異なる。最大のファミリーを構成するロドプシン様GPCRは、ホルモン、神経伝達物質、及び光など、多様な細胞外シグナルを伝送する。ロドプシンは、動物の網膜内に見られる感光性GPCRである。脊椎動物では、ロドプシン分子は、光受容体（杆体）細胞に見られる膜の積層(membranous stacks)に包埋されている。各ロドプシン分子は、cGMPレベルの低下を誘発し、これにより原形質膜ナトリウムチャネルが閉鎖することにより１光子の光に反応する。この方法で、視覚シグナルが神経インパルスへ変換される。別のロドプシン様GPCRは、神経伝達物質への反応に直接関与する。このようなGPCRとしては、アドレナリンに対する受容体（アドレナリン受容体）、アセチルコリンに対する受容体（ムスカリン性受容体）、アデノシンに対する受容体、ガラニンに対する受容体、及びグルタミン酸に対する受容体（N-メチル-D-アスパラギン酸／NMDA受容体）がある(概説はWatson, S. および

S. Arkinstall (1994) The G-protein Linked Receptor Facts Book, Academic Press, San Diego CA,7-9, 19-22, 32-35, 130-131, 214-216, 221-222ページ; Habert-Ortoli, E. 他(1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:9780-9783参照)。

【００２６】

ガラニン受容体は、神経内分泌ペプチドガラニンの活性を仲介する。ガラニンはインスリン、アセチルコリン、セロトニン及びノルアドレナリンの分泌を阻害し、プロラクチン及び成長ホルモンの放出を刺激する。ガラニン受容体は、疾患、痛覚、抑うつ、及びアルツハイマー病のフィードに関与している（Kask, K. 他(1997) Life Sci.60:1523-1533)。その他の神経系ロドプシン様GPCRとしては、発達及び神経病理において役割を有するようにみえるリゾホスファチジン酸その他のリゾリン脂質に対する受容体の、増大する１ファミリーを含む（Chun, J.他(1999) Cell Biochem. Biophys. 30:213-242)。

【００２７】

GPCRの最大のサブファミリーである嗅覚受容体もまた、ロドプシン様GPCRファミリーのメンバーである。嗅覚受容体は、匂い物質シグナルを伝達することによって機能する。異なる臭気を区別するためには、多くの異なる嗅覚受容体が必要である。各嗅覚ニューロンは１種類の嗅覚受容体しか発現せず、別々の受容体を発現するニューロン群が、鼻の経路中の異なる位置を占める。例えば、ラット脳ライブラリから単離したRA1c受容体は、脳の非常に特有の領域及び嗅覚上皮の特定の区域だけに発現に限定されていることを示していた（Raining, K. 他 (1998) Receptors Channels 6:141-151)。しかしながら、嗅覚様受容体の発現は嗅覚組織に限定されない。例えば、典型的なGPCR特性を有する嗅覚様受容体をコードする３種のラット遺伝子は、味覚及び嗅覚組織のみならず、男性生殖組織においても発現パターンを示した（Thomas, M.B. 他(1996) Gene 178:1-5)。

【００２８】

セクレチン様GPCRサブファミリーのメンバーは、セクレチン、カルシトニン、グルカゴン、成長ホルモン放出ホルモン、副甲状腺ホルモン、及び血管作用性小腸ペプチドなどのペプチドホルモンをリガンドとして有する。例えば、セクレチン受容体は、膵臓及び小腸で酵素及び鉄の分泌を刺激するペプチドホルモンであるセクレチンに対応する（前出のWatson, 278-283ページ）。セクレチン受容体は、長さが約４５０アミノ酸であり、胃腸細胞の原形質膜に見られる。セクレチンがその受容体に結合することにより、cAMPの産出が刺激される。

【００２９】

炎症及び免疫応答に結びつけられるセクレチン様GPCRの例には、EGFのモジュールを含んだムチン様ホルモン受容体（Emrl）及びCD97受容体タンパク質がある。これらのGPCRは、最近特徴付けられたEGF-TM7受容体サブファミリーのメンバーである。これら膜７回貫通ホルモン受容体は、in vivoでヘテロ二量体として存在し、３から７の潜在的カルシウム結合EGF様モチーフ群を持つ。CD97は、主に白血球で発現し、活性化されたB及びT細胞上で顕著に上方制御される（McKnight, A.J.及びS. Gordon (1998) J. Leukoc. Biol. 63:271-280）。

【００３０】

第３GPCRサブファミリーは、代謝調節型グルタミン酸受容体ファミリーである。グルタミン酸は、中枢神経系の主要な興奮性神経伝達物質である。代謝調節型グルタミン酸受容体は、細胞内エフェクターの活性を調節し、長期の増強作用に関与する（前出のWatson, 130ページ）。Ca^{2+}感知受容体は、カルシウムイオンの細胞外濃度の変化を感知するものであり、カルシウム結合に関与し得る酸性アミノ酸のクラスター群を含む大きな細胞外ドメインを有する。代謝調節型グルタミン酸受容体ファミリーには、フェロモン受容体、$GABA_B$受容体及び味覚受容体もある。

【００３１】

その他のGPCRのサブファミリーには、線虫（Caenorhabditis elegans及びCaenorhabditis briggsae）に見られる化学受容体遺伝子の２つの群があり、これらは哺乳動物の嗅覚受容体遺伝子に遠く関係している。細胞膜上の接合因子への応答に関与する酵母フェロモ

ン受容体STE2及びSTE3は、独自の膜７回貫通シグネチャを有する。細胞性粘菌（Dictyostelium discoideum）において、個々の細胞の凝集を調整し、多数の発生的に調節される遺伝子群の発現を制御すると考えられているcAMP受容体も、独自シグネチャを同様に有する。

【００３２】

GPCR突然変異は、機能または構造的活性化の減少を招き得るものであり、多数のヒト疾患に関係してきた（前出のCoughlin）。例えば網膜色素変性症（色素性網膜炎）は、ロドプシン遺伝子の突然変異から発生し得る。更に、甲状腺刺激ホルモン受容体の体細胞活性化突然変異は、機能亢進甲状腺腫の原因となることが報告されており、構成的活性化に感受性が高い数種のGPCRが、癌原遺伝子のように振舞い得ることを示唆している（Parma, J. 他(1993) Nature 365:649-651）。以下のリガンドに対するGPCR受容体にも、ヒトの疾患に関連する突然変異がある。即ち、黄体形成ホルモン（思春期早発症）、バソプレシンV_2（X連鎖の腎性尿崩症）、グルカゴン（糖尿病及び高血圧）、カルシウム（副甲状腺機能亢進症、低カルシウム尿症(hypocalcuria)、高カルシウム血症）、副甲状腺ホルモン（四肢短縮型小人症）、β_3-アドレナリン受容体（肥満症、インスリン非依存型糖尿病）、成長ホルモン放出ホルモン（小人症）、及び副腎皮質刺激ホルモン（糖質コルチコイド欠乏症）に対するGCREC受容体である（Wilson, S. 他(1998) Br. J. Pharmocol. 125:1387-1392; Stadel, J.M. 他(1997) Trends Pharmacol. Sci. 18:430-437)。GPCRは、抑うつ症、分裂病、不眠症、高血圧、不安、ストレス、腎不全その他幾つかの心血管障害にも関与している（Horn, F. および G. Vriend (1998) J. Mol. Med. 76:464-468）。

【００３３】

更に、GPCRの活性化及び阻害に直接作用する数百の新薬が過去２０年のうちに認知されてきた。これらの薬の治療標的は、癌、骨粗鬆症、子宮内膜症のみならず、心血管障害、胃腸障害、中枢神経系疾患を含めた、幅広い疾病および障害に及ぶ（前出のWilson他、同Stadel他）。例えばドーパミンアゴニストのＬドーパはパーキンソン病の治療に用いられ、或るドーパミンアンタゴニストは精神分裂病及び初期段階のハンチントン病の治療に用いられる。アドレナリン受容体のアゴニスト及びアンタゴニストは、喘息、高血圧その他の心血管障害、及び不安の治療に用いられてきた。ムスカリン性アゴニストは緑内障及び頻脈の治療に用いられ、セロトニン5HT1Dアンタゴニストは片頭痛に対して用いられ、ヒスタミンH1アンタゴニストはアレルギー性及びアナフィラキシー性反応、枯草熱、痒み、及び動揺病に対して用いられる（前出Horn他）。

【００３４】

最近の研究では、糖尿病、肥満症及び骨粗鬆症を含む代謝障害の治療においてGPCRを将来的に使用できる可能性を示唆している。例えば、腎原発性糖尿病の原因となる突然変異体V2バソプレシン受容体は、突然変異を含む領域に及ぶＣ末端V2受容体ペプチドの同時発現によりin vitroで機能的にレスキューされ得る。この結果は、疾病治療の新規なストラテジーを示唆する（Schoneberg, T. 他(1996) EMBO J. 15:1283-1291)。メラノコルチン4受容体（MC4R）における突然変異は、ヒトの体重調節及び肥満症に関与している。バソプレシンV2受容体の突然変異体により、これらMC4Rの突然変異体は原形質膜への輸送に欠陥があるので（Ho, G及び R.G. MacKenzie (1999) J. Biol. Chem. 274:35816-35822）、従って同様のストラテジーで治療し得る。副甲状腺ホルモン（PTH）のための１型受容体は、血流中のカルシウムホメオスタシスのPTH依存型制御を仲介するGPCRである。PTH／受容体の相互作用の研究は、骨粗鬆症の治療のための新規なPTH受容体リガンドの開発を可能にし得る（Mannstadt, M. 他(1999) Am. J. Physiol. 277:F665-F675)。

【００３５】

GPCRのケモカイン受容体グループは、炎症及び感染症の治療に役立つ可能性を持つ（概説は、Locati, M.およびP.M. Murphy (1999) Annu. Rev. Med. 50:425-440を参照）。ケモカインは、白血球輸送、造血、及び血管形成の制御において、細胞内シグナルとして作用する小ポリペプチドである。マウスにおける種々のケモカイン受容体の標的化された破壊は、これらの受容体が、病理的炎症において、及び多発性硬化症などの自己免疫異常に

おいて、役割を果たしていることを示す。ヘルペスウイルス及びヒト免疫不全症ウイルス（HIV-1）などの感染体も、感染を促進するために、ケモカイン受容体を利用する。ケモカイン受容体CCR5は、HIV-1によるT細胞の感染に対する補助受容体として作用するものであり、一部が切断されたCCR5はAIDSに対する抵抗力を生じさせた。この結果は、CCR5のアンタゴニストがAIDSの発症の予防に有用たり得ることを示唆する。

【００３６】

核内受容体：

核内受容体はホルモンまたは二次メッセンジャーのような小分子に結合し、特定の染色体DNA要素への受容体の結合親和性を増加させる。さらに、その他の核内タンパク質の親和性もまた、変えられ得る。このような結合およびタンパク質間相互作用は遺伝子発現を制御し、変調し得る。このような受容体の例に、ステロイドホルモン受容体ファミリ、レチノイン酸受容体ファミリ、および甲状腺ホルモン受容体ファミリがある。

【００３７】

リガンド依存性受容体イオンチャネル

リガンド依存性受容体イオンチャネルは二つのカテゴリーに分類される。第1のカテゴリーである細胞外リガンド依存性受容体イオンチャネル(ELG：extracellular ligand-gated receptor ion channel)は、迅速なシナプス神経伝達のように神経伝達物質結合を電気シグナルに迅速に変える。ELG機能は翻訳後修飾によって制御される。第二のカテゴリーである細胞内リガンド依存性受容体イオンチャネル(ILG：intracellular ligand-gated receptor ion channel)は多くの細胞内セカンドメッセンジャーによって活性化され、チャネル開放応答を実行するのに、翻訳後修飾を必要としない。

【００３８】

ELGは興奮性細胞を活動電位発生の閾値まで脱分極させる。非興奮性細胞において、ELGはアゴニストが存在する間、制限されたカルシウムイオン流入を可能にする。ELGにはアセチルコリン、L-グルタミン酸、グリシン、ATP、セロトニン、GABA,およびヒスタミンのような神経伝達物質に直接依存するチャネルが含まれる。ELG遺伝子は強い構造的、機能的類似性を有するタンパク質をコードする。ILGは異なった、関連性のない遺伝子ファミリによってコードされ、これには、cAMP、cGMP、カルシウムイオン、ATP、およびアラキドン酸の代謝産物にの受容体が含まれる。

【００３９】

リガンド依存性チャネルがポアを開くのは、細胞外または細胞内のメディエータがチャネルに結合する時である。神経伝達物質依存性チャネルは、神経伝達物質が細胞外ドメインに結合すると開くチャネルである。これらのチャネルは、神経または筋肉細胞のシナプス後膜に存在する。神経伝達物質依存性チャネルには、２つの型がある。ナトリウムチャネルは、アセチルコリン、グルタミン酸及びセロトニンなどの興奮性神経伝達物質に応じて開く。こうして開くことによって、Na^+ の流入を引き起こし、電位依存性チャネルを活性化して活動電位を開始する最初の局在脱分極を提供する。クロライドチャネルは、γアミノ酪酸（GABA）及びグリシンなどの抑制神経伝達物質に応じて開き、膜の過分極及びそれに続く活動電位の発生を引き起こす。神経伝達物質依存性イオンチャネルは、４つの膜貫通ドメインを有し、おそらく五量体として機能する（前出のJentsch）。第２膜貫通ドメインのアミノ酸は、チャネル浸透及び選択性の決定において重要であるように見える（Sather, W. A. 他 (1994) Curr. Opin. Neurobiol. 4:313-323)。

【００４０】

リガンド依存性チャネルは、細胞内のセカンドメッセンジャーによって制御され得る。例えば、カルシウム活性化K^+チャネルは、内部カルシウムイオンによってゲーティングされる。神経細胞では、脱分極中のカルシウムの流入によってK^+ チャネルが開き、活動電位の大きさが調節される（前出のIshii 他）。大コンダクタンス（BK）チャネルは、脳から精製され、そのサブユニット組成が決定された。BKチャネルのαサブユニットは、電位依存性K^+ チャネルとは対照的に６つよりもむしろ７つの膜貫通ドメインを有する。付加的な膜貫通ドメインは、サブユニットN末端に位置する。サブユニットのC末端領域（「カ

ルシウムボウル(calcium bowl)」領域）の28個のアミノ酸ストレッチは、負に荷電した残基を多数含み、カルシウム結合に関与する領域であると考えられる。βサブユニットは、グリコシル化細胞外ループによって結合された２つの膜貫通ドメインを含み、細胞内にN末端及びC末端を有する（前出のKaczorowski、Vergara, C. 他 (1998) Curr. Opin. Neurobiol. 8 : 321-329）。

【００４１】

マクロファージスカベンジャー受容体

マクロファージスカベンジャー受容体類は広いリガンド特異性を持っており、低密度リポタンパク質（LDL）や外来抗原との結合に関与し得る。スカベンジャー受容体タイプ１および２は三量体膜タンパク質であり、各サブユニットには、小さいN末端細胞内ドメインと、１つの膜貫通ドメインと、１つの大きな細胞外ドメインと、１つのC末端システインリッチドメインとがある。細胞外ドメインには１つの短いスペーサードメインと、１つのα螺旋コイルドコイルドメインと、１つの３重螺旋コラーゲン性ドメインとがある。これらの受容体は或る範囲のリガンド群と結合することが示され、リガンドの例には、化学修飾されたリポタンパク質およびアルブミンと、ポリリボヌクレオチドと、ポリサッカライドと、リン脂質と、アスベストとがある（Matsumoto, A. 他(1990) Proc. Natl. Acad. Sci. 87:9133-9137; および Elomaa, O. 他(1995) Cell 80:603-609)。スカベンジャー受容体が主要な役割を果たすと思われるのはアテローム発生においてであり、これは、動脈壁内で、修飾されたLDLの取り込みを媒介して働き、また宿主防御の中では、細菌性エンドトキシンと、細菌と、原虫とに結合して働く。

【００４２】

T細胞受容体

T細胞は免疫系において作動体および調節因子としての二つの役割を果たしており、感染細胞で細胞死を誘発し、他の免疫細胞の増殖を刺激するシグナルの伝達と抗原認識を連関する。T細胞の集団は広範囲の異なった抗原を認識できるが、個々のT細胞は一つの抗原のみを、抗原提示細胞表面上の主要組織適合分子(MHC)との複合型ペプチドとしてT細胞受容体(TCR)に提示された場合のみに認識できる。大部分のT細胞上のTCRは免疫グロブリン様膜内在性糖タンパク質からなる。この免疫グロブリン様膜内在性糖タンパク質は、似た分子量のαとβの二つのポリペプチドサブユニットを含む。両方のTCRサブユニットは、可変領域と定常領域の両方を有する細胞外ドメイン、膜を1回貫通する膜貫通ドメイン、および短い細胞内ドメインを有する(Saito, H. 他 (1984) Nature 309:757-762)。TCRサブユニットの遺伝子は、異なった遺伝子区分の体細胞性再構成によって作成される。適切なMHC状況（MHC context）における抗原とTCRとの相互作用によって、免疫系の細胞要素の増殖、成熟および機能を誘発するシグナルカスケードが開始される(Weiss, A. (1991) Annu. Rev. Genet. 25: 487-510)。リンパ腫、白血病、自己免疫疾患および免疫不全疾患においてTCR遺伝子の再編成とTCR発現の変化が注目されている(Aisenberg, A.C. 他 (1985) N. Engl. J. Med. 313:529-533; Weiss, 前出).

ネトリン受容体

ネトリンは、拡散性誘引物質および忌避物質として働いて、発達中の神経系内で遊走している細胞や軸索をその標的に誘導する分子のファミリである。このネトリンの受容体には線虫タンパク質UNC-5および最近脊椎動物中に同定された相同体が含まれる(Leonardo, E.D. 他 (1997) Nature 386:833-838)。これらの受容体は免疫グロブリンスーパファミリのメンバーであり、またZU5 ドメインと呼ばれる特徴的ドメインも含んでいる。ネトリン受容体ファミリーのマウスメンバーにおける突然変異であるRcm(吻側小脳形成異常)では、明らかに神経細胞異常遊走の結果である欠損を小脳および中脳に生じている(Ackerman, S.L.. 他(1997) Nature 386:838-842)。

【００４３】

インターロイキン受容体

インターロイキン（IL）は免疫細胞と炎症細胞の間の相互作用を仲介する。いくつかのインターロイキンが記述されていて、その各々が独自の生物学的活性および他のものと重

複する生物学的活性を持っている。マクロファージはIL-1とIL-6を産生するが、T細胞はIL-2、IL-3、IL-4、IL-5およびIL-6を産生し、骨髄の間質細胞はIL-7を産生する。IL１とIL６は免疫細胞機能において重要な役割を果たすのみでなく、ある範囲の炎症性細胞タイプを刺激する。好酸球の成長や分化はIL5によって著しく増強される。IL2はT細胞、ナチュラルキラー細胞、およびリンホカイン活性化キラー細胞のための強力な増殖性シグナルである。IL 1, IL 3, IL 4および IL 7はさまざまな造血前駆体の発達を推進する。IL 4～IL 6はまた、B細胞の増殖と抗体の産生の推進に役割を果たす(Mizel, S.B. (1989) FASEB J. 3:23792388)。

【００４４】

メラトニン受容体

メラトニンはヒドロキシルラジカル(-OH)、ペルオキシ亜硝酸アニオン(ONOO)および次亜塩素酸(HOCl)を含むフリーラジカルを除去し、核因子κB(NFkappa B) が核に移動してDNAに結合するのを防ぎ、それによりインターロイキンおよび腫瘍神経症因子αなどの炎症誘発性サイトカインの上方調節を低減する。メラトニンは組織の損傷を招く経内皮移動および浮腫を弱める(Reiter, R.J. 他 (2000) Ann. N.Y. Acad. Sci. 917:376386)。メラトニン受容体の活性化により、ガンマインターフェロンやインターロイキン-2(IL-2)のようなTヘルパー細胞サイトカインの遊離を増強し、また、インターロイキン-4とダイノルフィンBの両方に免疫学的に交差反応するオピオイドサイトカインの活性化を亢進する。造血は骨髄マクロファージ上に存在するκ1-オピオイド受容体に作用するメラトニン誘発性オピオイドによって影響される(Maestroni, G.J. (1999) Adv. Exp. Med. Biol. 467:217226)。

【００４５】

VPS10 ドメイン含有受容体

VPS10含有受容体ファミリのメンバーはすべて、酵母の液胞ソーティング・タンパク質10 (VPS10) 受容体に相同性を持つドメインを含んでいる。このファミリーには、マウス胚性および出生後早期の神経系発達時に発現するSorCS、モザイク受容体SorLA、およびニューロテンシン受容体sortilinが含まれる(Hermey, G. 他 (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 266:347-351; Hermey, G. 他 (2001) Neuroreport 12:29-32)。

【００４６】

ニューロテンシンは脳および胃腸ペプチドであり、特定の受容体とのその相互作用によって多くの機能を果たす。ニューロテンシン受容体のサブタイプには、2つのGタンパク質共役受容体と、一つの1回膜貫通ドメインを持つ100キロダルトンのタンパク質である神経ペプチド受容体のsortilinがある(Vincent, J.P. 他(1999) Trends Pharmacol Sci 20:302309)。酵母受容体Vps10pに相同性を持つ多リガンド型１受容体のsortilinは合成経路および細胞膜上においてリガンドの選別をする受容体である。sortilinは、酵母カルボキペプチダーゼYのVps10pに媒介された仕分けを調整する細胞ゾル仕分けタンパク質のGGAファミリによって標的とされる哺乳動物受容体である(Nielsen, M.S.他 (2001) EMBO J. 20:21802190)。SorCS、SorLA およびニューロテンシン受容体のsortilinは共通のVPS10 ドメインを共有する。SorCS のN末端において、転換酵素furinの2つの推定切断部位はVPS10ドメインの開始点であり、次に不完全なロイシンリッチリピートのモジュールと膜貫通ドメインが続く。短い細胞内C末端には迅速な内部移行のためのコンセンサスシグナルが含まれる。SorCS は主に脳に発現されるが、心臓、肝臓および腎臓にも発現される(Hermey G. 他 (1999) Biochem. Biophys. Res Commun. 266:347351)。SorCS2 は発達中のマウスと成熟マウスの中枢神経系に高度に発現される。その発現の主要部位は底板であり、ドーパミン性脳核および視床背側核を含む脳領域においても一過性に高度に検出される(Rezgaoui, M. (2001) Mech. Dev. 100:335-338).。

【００４７】

Munc13タンパク質

Munc13 タンパク質は線虫（Caenorhabditis elegans）のunc13pに相同性を有する分子群(Munc131、Munc132、Munc 13-3およびMunc 134) の一つのファミリを構成する。Munc13

タンパク質は一つのホルボールエステル結合C1ドメインと二つのC2ドメインを含み、また、後者のドメインはCa^{2+} /リン脂質結合ドメインである。遍在的に発現されるMunc132スプライス変異体と、主に肺に特異的なMunc 13-4 アイソフォームタンパク質を除いて、Munc13タンパク質は特に脳に発現され、ここで、M13タンパク質は興奮性あるいはグルタミン酸作動性ニューロンの神経伝達物質特異的シナプス小胞プライミングにおいて中心的な役割りを果たす。例えば、シナプス前性活性帯域を標的とするMunc131は、シナプス小胞融合装置の構成成分であるシンタキシンに結合し、神経伝達物質分泌のホルボールエステル依存性エンハンサーとして作用する。欠失突然変異マウスにおけるMunc131 の喪失は、シナプス小胞のプライミング段階における海馬の神経細胞のシナプス小胞サイクルの停止を生じ、その結果、シナプスの機能的停止を起こす(Augustin, I. 他 (1999) Nature 400:457461; Koch, H. 他 (2000) Biochem. J. 349:247253)。特異的に脳に発現されるMunc133がMunc131 と同じようにシナプス小胞サイクルの類似的段階で作用することが、最近提示されている(Augustin, I. 他(2001) J. Neurosci 21:1017)。

【００４８】

膜結合タンパク質

テトラスパンファミリータンパク質

膜４回貫通型スーパーファミリー(TM4SF)、別名テトラスパンファミリーは多重遺伝子族であり、タイプIII膜内在性タンパク質をコードする（Wright, M.D. および Tomlinson, M.G. (1994) Immunol. Today 15:588-594）。このTM4SFは、細胞膜を４回貫通する膜タンパク質からなる。TM4SFのメンバーの例は、血小板および内皮細胞の膜タンパク質と、黒色腫関連抗原、白血球表面糖タンパク質、結腸癌腫抗原、腫瘍関連抗原、および住血吸虫表面タンパク質がある（Jankowski, S.A. (1994) Oncogene 9:1205-1211）。TM4SFの各メンバーは、約25～30％のアミノ酸配列同一性を互いに共有する。　多数のTM4SFメンバーが関与すると示唆されている作用は、シグナル伝達、細胞接着の制御、細胞の成長と増殖との調節（例えば発生および発癌）、並びに細胞運動性（例えば腫瘍細胞転移）である。TM4SFタンパク質の発現は多様な腫瘍に関連し、発現のレベルは、細胞が成長する際や活性化する際に改変され得る。

【００４９】

腫瘍抗原

腫瘍抗原は表面分子であり、腫瘍細胞では正常細胞と異なる発現をする。腫瘍抗原は、腫瘍細胞を免疫的に正常細胞と区別し、ヒトの癌に関して診断と治療との標的を提供する（Takagi, S. 他(1995) Int. J. Cancer 61:706-715; Liu, E. 他(1992) Oncogene 7: 1027-1032)。

【００５０】

イオンチャネル

イオンチャネルは、事実上、身体のあらゆる細胞の原形質膜内に見られる。例えば、塩素イオンチャネルは多様な細胞機能を媒介し、その機能の例には、膜電位の調節と、上皮膜を通ってのイオンの吸収と分泌とがある。塩素イオンチャネルが、ゴルジ体とエンドサイトーシス小胞の細胞内の膜にある場合、オルガネラのpHをも調節する（例えばGreger, R. (1988) Annu. Rev. Physiol. 50:111-122を参照）。塩素イオンチャネル類の電気生理的および薬学的特性（例えばイオンコンダクタンス、電流-膜電位関係および、モジュレーター類への感受性）は、筋肉、神経細胞、線維芽細胞、上皮細胞、およびリンパ球に、別々の塩素イオンチャネルが在ることを示唆する。多くのチャネルは、１個以上のプロテインキナーゼによるリン酸化部位を有する。そのようなプロテインキナーゼには、プロテインキナーゼA、プロテインキナーゼC、チロシンキナーゼ及びカゼインキナーゼIIがあり、これらはすべて細胞のイオンチャネル活性を調節する。細胞内におけるタンパク質の不適切なリン酸化は、細胞周期の進行および細胞分化における変化に関連する。細胞周期における変化は、アポトーシスの誘発や癌の誘発に関連することが示されている。細胞分化における変化は、生殖系、免疫系、および骨格筋の、疾患や障害に関連することが示されている。

【００５１】
細胞の電位は、原形質膜を通過するイオンの動きを制御することにより起こり、かつ維持される。イオンが動くためには、膜内にイオン選択性ポアを形成するようなイオンチャネルを必要とする。イオンチャネルには２つの基本型があり、それはイオン輸送体とゲート型イオンチャネルである。イオン輸送体は、ATP加水分解から得られるエネルギーを利用して、イオンの濃度勾配に逆らってイオンを能動的に輸送する。ゲート型イオンチャネルは、制限された条件下でイオンの電気化学勾配に従ってイオンの受動的流動を起こさせる。これらのタイプのイオンチャネルは共に、１）神経細胞の軸索に沿った電気インパルス伝導、２）濃度勾配に逆らった細胞内への分子の輸送、３）筋収縮の開始、及び４）内分泌細胞の分泌に用いられるような電気化学勾配を、発生させ、維持し、利用する。

【００５２】
イオン輸送体は、細胞の静止電位を発生させ及び維持する。ATP加水分解に由来するエネルギーを利用して、イオン輸送体は、イオンの濃度勾配に逆らってイオンを輸送する。これらの膜貫通ATPアーゼは、３つのファミリーに区分される。リン酸化（P）クラスイオン輸送体には、Na^+/K^+ATPアーゼ、Ca^{2+}ATPアーゼ及びH^+ATPアーゼがあり、リン酸化イベントによって活性化される。Pクラスイオン輸送体は、Na^+及びCa^{2+}のサイトゾル内濃度が低く、K^+のサイトゾル内濃度が高くなるように静止電位での分布を維持するのに関与している。液胞（V）クラスのイオン輸送体には、リソソーム及びゴルジなどの細胞内オルガネラ上のH^+ポンプがある。オルガネラの内腔内では低いｐHが、その機能に必要であり、Vクラスイオン輸送体は、その低ｐHを発生させるのに関与している。共役因子（F）クラスは、ミトコンドリアのH^+ポンプから構成される。Fクラスイオン輸送体は、プロトン勾配を利用してADP及び無機リン酸（Pi）からATPを生成する。

【００５３】
P-ATP分解酵素は、イオン結合で役割を果たし得るような、10個の膜貫通ドメイン及び幾つかの大きな細胞質内領域を有する100kD サブユニットの六量体である（Scarborough, G. A. (1999) Curr. Opin. Cell Biol. 11:517-522）。11:517-522).V-ATPアーゼは、２つの機能的ドメインから構成される。V_1ドメインは、ATPアーゼに関与する周辺複合体であり、V_0ドメインは、プロトンの膜通過移動に関与する、膜内在性の複合体である。F-ATPアーゼは、構造的及び進化的にV-ATPアーゼに関連する。F-ATPアーゼのF_0ドメインは、１２個のコピーのcサブユニットを含んでおり、各サブユニットは高度に疎水性のタンパク質で、２つの膜貫通ドメインから成り、プロトン輸送に不可欠なTM2に1つの埋没されたカルボキシル基を含む。V-ATPアーゼのV_0ドメインは、TM4またはTM3に４つまたは５つの膜貫通ドメイン及び必須カルボキシル基を有する３つの型の相同cサブユニットを含む。複合体の両型は、活性のpH依存性の制御に関与している可能性のある単一サブユニットも含む（Forgac, M. (1999) J. Biol. Chem. 274:12951-12954）。

【００５４】
細胞の静止電位は、キャリアタンパク質及びゲート型イオンチャネルに関連する多くのプロセスに利用される。キャリアタンパク質は、静止電位を利用して分子を細胞内外に輸送する。多くの細胞へのアミノ酸及びグルコースの輸送は、ナトリウムイオン共輸送（シンポート）にカップルされ、Na^+の電気化学勾配に従った動きが他の分子を濃度勾配に逆らって輸送させる。同様にして、心筋は、細胞からのCa^{2+}の移動を細胞内へのNa^+の輸送にカップルさせる（アンチポート）。

【００５５】
イオンチャネルは、ポアの開閉を調節することによってイオンの流れを制御する。種々のゲーティング機構によってイオン流速を制御する能力は、ニューロン及び内分泌シグナル伝達、筋収縮、受精並びに、イオン及びpHバランスの調整などの多様なシグナル伝達及び恒常性機能をイオンチャネルに媒介させ得る。イオンチャネルは、開口機能の制御方法に応じて区分される。機械依存性チャネルは、機械的応力に応じてポアを開け、電位依存性チャネル（例えばNa^+、K^+、Ca^{2+} 及びCl^- チャネル）は膜電位に応じてポアを開け、リガンド依存性チャネル（例えばアセチルコリン依存性、セロトニン依存性、及びグルタミ

ン依存性カチオンチャネル、並びにGABA依存性及びグリシン依存性クロライドチャネル）は、特定のイオン、ヌクレオチドまたは神経伝達物質の存在下でポアを開ける。特定のイオンチャネルの開口特性（即ち開閉に対するその閾値及び持続時間）は、補助チャネルタンパク質及び／またはリン酸化などの翻訳後修飾と関連して時折調節される。

【００５６】

機械依存性または機械刺激イオンチャネルは、触覚、聴覚及び平衡感覚のトランスデューサとして作用し、細胞容積調整、平滑筋収縮及び心リズム生成においても重要な役割を果たす。機械受容不活性化チャネル（SIC）は、最近ラットの腎臓からクローニングされた。SICチャネルは、細胞膜への圧力またはストレスによって活性化され、Ca^{2+}及びNa^{+}を共に伝導するようなあるグループのチャネルに属している（Suzuki, M. 他 (1999) J. Biol. Chem. 274:6330-6335)。

【００５７】

電位依存性カチオンチャネルのポア形成サブユニットは、イオンチャネルタンパク質のスーパーファミリーを形成する。チャネルタンパク質の特徴的なドメインには、６つの膜貫通ドメイン（S1～S6）、S5とS6との間に配置されたポア形成領域（P）及び、細胞内にあるアミノ末端及びカルボキシ末端がある。Na^{+} 及びCa^{2+} サブファミリーでは、このドメインは４回繰り返され、K^{+} チャネルサブファミリーでは、各チャネルは、同一または非類似のいずれかであるサブユニットの四量体から形成される。P領域は、チャネルに対するイオン選択性を特定する情報を含む。K^{+}チャネルの場合、GYGトリペプチドがこの選択性に関与する（Ｉｓｈｉｉ，T. M. 他 (1997) (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:11651-11656)。

【００５８】

電位依存性Na^{+} 及びK^{+} チャネルは、神経及び筋肉細胞などの電気的興奮性細胞の機能に必要である。活動電位は、神経伝達物質放出及び筋収縮の原因となるものであるが、Na^{+}及びK^{+} イオンへの膜の浸透性における大きな一過的変化から生じる。閾値レベルを超えた膜の脱分極によって、電位依存性Na^{+} チャネルが開く。ナトリウムイオンは、細胞内に流れ、更に膜を脱分極してより多く電位依存性Na^{+}チャネルを開き、このようにして脱分極が細胞に沿って伝わっていく。脱分極はまた、電位依存性カリウムチャネルを開く。結果として、カリウムイオンは外向きに流れ、それによって膜の再分極が生じる。電位依存性チャネルは、第４膜貫通セグメント（S4）において荷電した残基を利用して電圧変化を検出する。開状態は、約１ミリ秒しか持続せず、その約１ミリ秒後に、チャンネルは膜電位と無関係に開き得ない不活性化状態に自発的に変換する。不活性化は、ポアを閉じるプラグとして作用するようなチャネルのN末端によって媒介される。不活性化状態から閉状態へ遷移するには、静止電位に戻すことが必要である。

【００５９】

電位依存性Na^{+} チャネルは、２つの更に小さな補助サブユニットβ１及びβ２に会合する260 kDaのポア形成αサブユニットから構成されるようなヘテロ三量体の複合体である。β２サブユニットは、１つの細胞外Igドメインを含む膜内在性糖タンパク質であり、そのα及びβ１サブユニットとの会合は、チャネルの機能的発現の増加（チャネルのゲーティング特性の変化）、及び膜表面面積の増加に起因する全細胞キャパシタンスの増加と関連がある（Isom, L. L. 他 (1995) Cell 83:433-442)。

【００６０】

非電位依存性Na^{+} チャネルには、アミロライド感受性Na^{+} チャネル／degenerin（NaC/DEG）ファミリーのメンバーが含まれる。このファミリーのチャネルサブユニットは、アミノ末端及びカルボキシル末端が細胞内にあり、長い細胞外ループに隣接する２つの膜貫通ドメインを含むと考えられる。NaC/DEGファミリーには、気道、遠位結腸、腎臓の皮質集合管及び外分泌有導管腺(exocrine duct glands)を含む上皮におけるNa^{+} 再吸収に関与する上皮性Na^{+} チャネル（EnaC）がある。EnaCにおける突然変異は、１型偽性低アルドステロン症及びリドル症候群（偽性高アルドステロン症）を引き起こす。NaC/DEGファミリーには、最近特徴付けられたH^{+} 依存性カチオンチャネルまたは酸感受性イオンチャネル（A

SIC）もある。ASICサブユニットは、脳で発現し、ヘテロ多量体のNa^+ 透過性チャネルを形成する。これらのチャネルは、活性化のために酸性pH変動を必要とする。ASICサブユニットは、元々は線虫から単離された機械刺激依存性チャネルのファミリーであるdegenerinとの相同性を示す。degenerinでの突然変異は、神経変性を引き起こす。組織アシドーシスが痛みを発生させるものであるので、ASICサブユニットは、神経機能または痛みの知覚においても役割を有し得る（Waldmann, R.およびM. Lazdunski (1998) Curr. Opin. Neurobiol. 8 : 418-424、Eglen, R. M. 他 (1999) Trends Pharmacol. Sci. 20:337-342)。

【００６１】

K^+ チャネルはすべての細胞種に存在し、電圧、ATP濃度、またはCa^{2+} 及びcAMPなどのセカンドメッセンジャーによって制御され得る。非興奮性組織では、K^+ チャネルが、タンパク質合成、内分泌性分泌の制御、及び、膜内外の浸透平衡の維持に関与している。ニューロン及びその他の興奮性細胞では、活動電位の調整及び膜の再分極に加えて、K^+ チャネルが静止膜電位の設定に関与する。サイトゾルは、非拡散性アニオンを含み、この負の電荷総ての平衡を保持するために、細胞にはNa^+、K^+ 及びCl^- の再分布を提供するNa^+/K^+ ポンプ及びイオンチャネルが含まれる。ポンプは、能動的にNa^+ を細胞外へ輸送し、K^+ を細胞内に輸送され、そのNa^+：K^+ の割合は３：２である。原形質膜のイオンチャネルは、K^+ 及びCl^- が受動的な拡散により流出入することを許容する。サイトゾル内の電荷が高度に負であるので、Cl^- は細胞外に流出する。K^+ の流れは、K^+ を細胞内に引き込む起電力及びK^+ を細胞外に押し出すK^+濃度勾配によって均衡が保たれる。従って、静止膜電位は、主としてK^+ の流れによって調整される（Salkoff, L. および T. Jegla (1995) Neuron 15:489-492）。

【００６２】

電位依存性Ca^{2+} チャネルは、電気生理学的特性及び薬理学的特性に基づき、幾つかのサブタイプに区分分けされてきた。L型Ca^{2+} チャネルは、心筋及び骨格筋に主に発現し、興奮収縮連関において不可欠な役割を果たす。T型チャネルは、心臓ペースメーカー活動に重要であり、N型及びP/Q型チャネルは、中枢神経系及び抹消神経系における神経伝達物質放出の制御に関与している。L型及びN型電位依存性Ca^{2+} チャネルは精製されており、両チャネルは機能が非常に異なるが、類似のサブユニット組成を有する。両チャネルは、３つのサブユニットを含む。 α_1 サブユニットは膜の細孔および電位センサーを形成し、他方、$\alpha_2\delta$ サブユニットとβサブユニットは電位依存、ゲート開閉特質およびチャネルの電流振幅を変調する。これらのサブユニットは少なくとも６つのα_1 、１つの$\alpha_2\delta$ 、および４つのβ遺伝子群によってコードされる。４番目のサブユニットのγは骨格筋において同定されている(Walker, D. 他(1998) J. Biol. Chem. 273:2361-2367; McCleskey, E.W. (1994) Curr. Opin. Neurobiol. 4:304-312)。

【００６３】

カルシウムイオンチャネルの過渡的な受容体ファミリ(Trp：transient receptor family)は容量性カルシウム流入(CCE)を媒介すると考えられている。CCEは、イノシトール三リン酸(IP3)や多くのホルモンや成長因子に応答する他の物質の作用によって消耗されるCa^{2+}貯蔵を再供給するためのCa^{2+}の細胞内への流入である。TrpとTrp様はまず、ショウジョバエ（Drosophila）からクローンされており、S3領域からS6領域まで電圧依存性Ca^{2+}チャネルに類似性を有する。これはTrpおよび／または関連タンパク質が哺乳動物CCCエントリチャネルを形成することを示唆する(Zhu, X. 他 (1996) Cell 85:661-671; Boulay, G. 他(1997) J. Biol. Chem. 272:29672-29680)。メラスタチン(melastatin)はマウスおよびヒトの両方において単離された遺伝子であり、黒色腫細胞におけるその発現は、生体内における黒色腫の侵襲性と逆比例している。このヒトcDNA転写物は、Trpファミリのメンバーに相同体を有する1533基のアミノ酸をもつタンパク質に相当する。メラスタチンmRNA発現状態と腫瘍の厚さを組み合わせて利用すると、転移性疾患の発症に対するリスクの低いグループと高いグループに患者のグループ分けを決定できる可能性が提示されている（Duncan, L.M. 他(2001) J. Clin. Oncol. 19:568-576）。

【００６４】

クロライドチャネルは、内分泌性分泌及びサイトゾルオルガネラのpH 調整に必要である。分泌性上皮細胞では、Cl^- は$Na^+/K^+/Cl^-$ 共輸送体によって側底膜を通過して細胞に入り、電気化学的平衡濃度以上で細胞内に蓄積する。ホルモンの刺激に応じて、頂側膜表面からのCl^- を分泌することにより、Na^+ 及び水が分泌性ルーメンに流入する。嚢胞性線維症膜通過伝導制御因子（CFTR）は、ヒトによく見られる致命的な遺伝病である嚢胞性繊維症のための遺伝子によってコードされるクロライドチャネルである。CFTRはABC輸送体ファミリーのメンバーであり、６つの膜貫通ドメインを各々有するような２つのドメインとその後に続くヌクレオチド結合部位から構成される。CFTR機能の損失は、経上皮水分泌を減少させ、結果的に、呼吸樹、膵管及び腸を被膜する粘液の層は、脱水されて、取り除くのが困難になる。結果的にこれらの部位が閉塞することにより、膵不全、「胎便性イレウス」及び悲惨な「慢性閉塞性肺疾患」を生じさせる（Al-Awqati, Q. 他 (1992) J. Exp. Biol. 172 : 245-266）。

【００６５】

電位依存性クロライドチャネル（CLC）は、CBSドメインとして知られる２つの小球形ドメインの他に１０～１２個の膜貫通ドメインによって特徴付けられる。CLCサブユニットは、おそらくホモ四量体として機能する。CLCタンパク質は、細胞容積、膜電位安定化、シグナル伝達及び経上皮輸送の調整に関与している。骨格筋で主に発現されるようなCLC-1の突然変異は、常染色体劣性全身性ミオトニー及び常染色体優性先天性ミオトニーの原因であり、腎臓チャネルCLC-5における突然変異は、腎臓結石を引き起こす（Jentsch, T. J. (1996) Curr. Opin. Neurobiol. 6 : 303-310）。

【００６６】

サイクリックヌクレオチド依存性（CNG）チャネルは、サイトゾルのサイクリックヌクレオチドによってゲーティングされる。最も良い例は、嗅覚に関与するcAMP依存性Na^+ チャネルと、視覚に関与するcGMP依存性カチオンチャネルである。両システムは、Gタンパク質共役受容体のリガンド媒介活性化に関与し、Gタンパク質共役受容体は次に細胞内でのサイクリックヌクレオチドのレベルを変化させる。CNGチャネルはまた、Ca^{2+}がニューロンに入る主要経路を示し、ニューロンの発達及び可塑性において役割を果たす。CNGチャネルは、少なくとも２つのタイプのサブユニット（機能的ホモマーチャネルを形成し得るαサブユニットとチャネル特性を調節するβサブユニット）を含む四量体である。すべてのCNGサブユニットは、電位依存性K^+ チャネルに類似して、６つの膜貫通ドメインと第５及び第６膜貫通ドメインの間にポア形成領域を有する。大きなC末端ドメインにはサイクリックヌクレオチド結合ドメインが含まれ、N末端ドメインはチャネルサブタイプ間に変異をもたらす（Zufall, F. 他 (1997) Curr. Opin. Neurobiol. 4:404-412)。

【００６７】

別のタイプのイオンチャネルタンパク質の活性は、種々の細胞内シグナル伝達タンパク質によっても調節され得る。多くのチャネルは、１個以上のプロテインキナーゼによるリン酸化部位を有する。そのようなプロテインキナーゼには、プロテインキナーゼA、プロテインキナーゼC、チロシンキナーゼ及びカゼインキナーゼIIがあり、これらはすべて細胞のイオンチャネル活性を調節する。Kirチャネルは、ヘテロ三量体のGタンパク質のGβγサブユニットの結合により活性化される（Reimann, F. および F. M. Ashcroft (1999) Curr. Opin. Cell. Biol. 11 : 503-508）。別のタンパク質は、細胞膜の特定部位へのイオンチャネルの局在化に関与している。このようなタンパク質にはPDZドメインタンパク質があり、これはニューロンのシナプスでイオンチャネルのクラスター形成を調整するMAGUK（膜関連グアニル酸キナーゼ）として知られている（Craven, S. E. および D. S. Bredt (1998) Cell 93:495-498）。　小脳顆粒神経細胞は非不活化カリウム電流を持ち、これは神経伝達物質からの受容体刺激による発火頻度を調節し、また、静止膜電位を制御する。非不活化電流を示すカリウムチャネル類の例に、ether a go-go (EAG) チャネルがある。KCR1と名付けられた膜タンパク質は、ラットEAGと特異的にそのC末端領域で結合し、小脳非不活化カリウム電流を調節する。KCR1は、１２の膜貫通ドメイン群と、細胞内にアミノ酸末端およびカルボキシル末端を含むと予測される。これらの膜貫通領域の構造的

特徴はトランスポータスーパーファミリーの領域に類似しているように見えるが、KCR1と既知のトランスポータとの間に相同性は見られないことから、KCR1は新規クラスのトランスポータに属すことが示唆される。KCR1は、非不活化カリウムチャネルの調節成分と考えられる (Hoshi, N. 他 (1998) J. Biol. Chem. 273:23080-23085)。

【００６８】

プロトンATPアーゼは大きなクラスの膜タンパク質であり、ATP加水分解エネルギーを用いて電気化学的プロトン勾配を膜の内外に発生させる。この発生した勾配は、他のイオン（Na^+、K^+、または Cl^-）の膜を通しての輸送、または、オルガネラpHの維持のために使用し得る。プロトンATPアーゼ類は更に、ミトコンドリアF-ATPアーゼ、原形質膜ATPアーゼ、および液胞ATPアーゼに分類される。液胞ATPアーゼは、エンドサイトーシスとエキソサイトーシスとの各過程に関与する多様な小胞における、酸性pHを確立し維持する（Mellman, I. 他(1986) Ann. Rev. Biochem. 55:663-700)。

【００６９】

プロトンと共役する、膜12回貫通ドメイントランスポータ、例えばPEPT 1およびPEPT 2はペプチド類の、胃腸での吸収と、腎臓での再吸収とに関与し、これには電気化学的プロトン勾配を駆動力として用いる。別のタイプのペプチドトランスポータであるTAPトランスポータは、TAP 1とTAP 2から成るヘテロ二量体であり、抗原のプロセシングに関わる。ペプチド抗原はTAPによって小胞体の膜を通して輸送され、その結果、ペプチド抗原は、細胞表面においてMHC分子と会合して発現し得る。各TAPタンパク質は複数の疎水性膜貫通セグメントと、１つの高度に保存されたATP結合カセットから構成される（Boll, M. 他(1996) Proc. Natl. Acad. Sci. 93:284-289）。病原微生物、例えば単純ヘルペスウイルスは、TAPが媒介するペプチド輸送の阻害因子をコードする可能性があり、その目的は、免疫の監視を逃れることである（Marusina, K. および Manaco, J.J. (1996) Curr. Opin. Hematol. 3:19-26）。

【００７０】

セマフォリンおよびニューロピリン

セマフォリン（semaphorin）類は軸索誘導分子の１大グループで少なくとも30種のメンバーがあり、脊椎動物、無脊椎動物、更には数種のウイルスでも発見されている。セマフォリンは分泌糖タンパク質と膜貫通糖タンパク質の両方からなるファミリを構成しており、およそ500のアミノ酸のよく保存された細胞外ドメインを有する。このファミリの名称が意味するように、セマフォリンの機能は成長円錐のガイダンスである。少なくとも、二つの分泌セマフォリン、Sema II と Sema IIIは成長円錐を拒絶する(すなわち、崩壊させる)ことによって作用する。Sema III は神経細胞成長円錐を崩壊させる。ニューロピリンは本来、軸索糖タンパク質として同定された。最近のデータは、ニューロピリンがSemaIIIに特異的な高親和性セマフォリン受容体であることを示唆している。ニューロピリンの細胞外領域はCUB、ジスコイジン（discoidin）、およびMAMドメインの３種のドメインからなる。ニューロピリンのCUBモチーフおよびMAMモチーフはタンパク質間相互作用において幾つかの役割を果たすことが示唆されており、またセマドメインおよびＣ末端ドメインを介してセマフォリン類の結合に関与すると考えられる（Raper, J.A.（2000）Curr. Opin. Neurobiol. 10:88-94の概説を参照）。結合にはCUB(補体結合)ドメイン、凝固因子ドメインおよびMAMドメイン(メタロエンドペプチダーゼ、受容体タンパク質キナーゼおよびマクロファージ特異的スカベンジャー受容体にも見られる)が関与すると思われる(Kolodkin, A.L, 他 (1997) Cell 90:753762; 及び本文献中の参考文献)。

【００７１】

細胞間伝達に関連する膜タンパク質

細胞間伝達は、多細胞生物の発生と生存とに必須である。細胞は、タンパク質シグナル伝達分子の分泌と取り込みとによって互いに通信する。細胞内へのタンパク質の取り込みを達成する手段であるエンドサイトーシスでは、シグナル伝達分子と形質膜表面との相互作用が、しばしば特異的受容体への結合を通じて行われる結果、形質膜由来小胞を形成し、これらの小胞が分子を取り囲み、細胞質内に運ぶ。細胞からのタンパク質の分泌を達成

する手段であるエキソサイトーシスでは、細胞内の分子が、トランスゴルジ網に由来する、膜に囲まれた輸送小胞内に詰められる。これらの小胞は形質膜と融合し、小胞の内容物を周囲の細胞外空間に放出する。エンドサイトーシスとエキソサイトーシスとの結果、形質膜成分の除去と追加とが起こり、また、これらの成分のリサイクルは、形質膜と、膜に囲まれた内部区画との双方の、完全性、同一性、および機能性の維持に必須である。

【００７２】

Nogoは、中枢神経系（CNS）ミエリンの成分として同定されている。Nogoは、成体脊椎動物における軸索再生を妨げる。Nogo-66 受容体その他のグリコホスファチジルイノシトール結合タンパク質（glycophosphatidylinositol-linked proteins）を軸索表面から切断すると、ニューロンをNogo-66に対して非感受性にし、CNS損傷からの潜在的回復を促進する（Fournier, A.E. 他(2001) Nature 409:341-346)。

【００７３】

slit蛋白質は細胞外マトリクス蛋白質であり、発現は神経系の腹側正中線にある細胞群によってなされる。slit蛋白質は、抑制性ガイド受容体（repulsive guidance receptor）であるRoundabout（ロボ)のリガンドであるので、抑制的な軸索ガイダンス(repulsive axon guidance)において役割を果たす(Brose, K. 他(1999) Cell 96:795-806)。

【００７４】

リソソーム類は、自己貪食時の細胞内物質の分解の部位であり、また、エンドサイトーシス後の細胞外分子の分解の場でもある。リソソーム酵素は、トランスゴルジ網から出芽する小胞内に詰められる。これらの小胞はエンドソームと融合して成熟リソソームを形成し、成熟リソソーム内では、エンドサイトーシスによって取り込まれた物質の加水分解性消化が起こる。リソソームは自己貪食小胞と融合し、独特な区画を形成し得る。この区画の中では、オルガネラや他の細胞内成分の分解が起こる。

【００７５】

輸送小胞（例えばエンドソーム）によるタンパク質選別は、多様な生理的過程にとって重要な結果をもたらす。このような過程の例に、細胞表面成長、特有の細胞内オルガネラ群の生合成、エンドサイトーシス、および、ホルモンと神経伝達物質との制御された分泌がある（Rothman, J.E. および F.T.Wieland (1996) Science 272:227-234）。特に、神経変性疾患、およびその他の神経病理には、エンドソームのタンパク質選別時、または、エンドソーム生合成の際の、生化学的欠陥が関連する（Mayer R.J. 他(1996) Adv. Exp. Med. Biol. 389:261-269)。

【００７６】

ペルオキシソーム類は、分泌経路とは独立したオルガネラである。これらは、細胞内の、過酸化物を産生する多くの酸化反応の場である。ペルオキシソームは、真核細胞のオルガネラの内でサイズや数が独特であり、また、酵素内容は、生物と細胞タイプと代謝の需要によって異なる（Waterham, H.R. およびJ.M Cregg (1997) BioEssays 19:57-66）。ペルオキシソームタンパク質に遺伝子欠損があるとペルオキシソーム欠損症を生じ、この欠損が関連付けられる多数のヒト病理の例に、ツェルヴェーガー症候群、班状軟骨異形成不全症（rhizomelic chondrodysplasia punctata）、X染色体連鎖副腎白質ジストロフィー、アシルCoAオキシダーゼ欠損症、二頭酵素欠損症、古典的Refsum病、DHAPアルキルトランスフェラーゼ欠損症、および無カタラーゼ血症がある（Moser, H.W. および Moser, A. B. (1996) Ann.NY Acad. Sci. 804:427-441)。また、Gartner, J. 他(1991; Pediatr. Res. 29:141-146) は、ツェルヴェーガー症候群の患者における低密度ペルオキシソーム様細胞内分画に関連する或る22 kDaの膜内在性タンパク質を発見した。

【００７７】

ポリシスチン-1は多発性嚢胞腎-1 (PKD1) 遺伝子のタンパク質産物である。PKD1 および PKD2 の突然変異が殆どすべての常染色体優性多発性嚢胞腎の症例に関与している(Sandford, R. 他(1999) Cell Mol. Life Sci. 56:567-579)。ポリシスチン-1はマトリックス受容体として働いて、接着班タンパク質類を介して細胞外マトリックスをアクチン細胞骨格に結合させる。ポリシスチン-1は後腎の早期発達時に尿管芽上皮の基底膜に高度に発現

される。ポリシスチン-1は正常ヒト胎児の集合尿細管においてα2β1-インテグリン、タリン、ビンキュリン(vinculin)、パキシリン(paxillin)、 p130cas、接着班キナーゼ および csrc と 多タンパク質複合体を形成する。正常成人の腎臓において、ポリシスチン-1は下方制御されており、細胞間のアドヘレンスジャンクションタンパク質のEカドヘリンおよびβ-カテニン、γ-カテニンおよびα-カテニン と複合体を形成する(Wilson, P.D. (2001) J. Am. Soc. Nephrol.12:83445)。

【００７８】

正常な胚発生と、生殖細胞成熟の制御とを変調する、多数の分泌タンパク質は、それぞれの膜結合受容体と相互作用する。胚発生時の細胞運命は、アクチビン（activin）／TGF-βスーパーファミリーのメンバー、カドヘリン、IGF-2、および他のモルフォゲンによって決定される。また、生殖細胞と生殖組織との増殖、成熟、および再分化は、例えばIGF-2、インヒビン、アクチビン、およびフォリスタチン（follistatins）によって調節される（Petraglia, F. (1997) Placenta 18:3-8; Mather, J.P. 他(1997) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 215:209-222)。トランスフォーミング成長因子ベータ(TGFβ)シグナル伝達は、2種の受容体のSer/Thrキナーゼが連続作用して仲介される。この受容体とはタイプ２TGFβ受容体(TbetaRII)および、リン酸化しているタイプ１ TGFベータ受容体(TbetaRI)である。TbetaRI関連タンパク質1 (TRECAP1)はタイプ１トランスフォーミング成長因子ベータ受容体の静止状態型と活性化した型とを識別し、これはTGFbetaシグナル伝達と関連付けられている(Charng, M.J 他(1998) J. Biol. Chem. 273:9365-9368)。

【００７９】

レチノイン酸受容体α（RARα）は、レチノイン酸が誘発する成熟を仲介し、これは骨髄系の発生に関わるとみられている。顆粒球分化時にレチノイン酸によって誘導される遺伝子としてはＥ３を含む。Ｅ３は造血性特異的遺伝子であり、骨髄造血の際の活性化したRARαにとって直接の標的である(Scott, L.M. 他(1996) Blood 88:2517-2530)。

【００８０】

μオピオイド受容体(MOR) はモルフィン、コデイン、メサドン、およびフェンタニルやヘロインなどの鎮痛解熱剤の作用を媒介する。MORは、Ｇタンパク質で活性化したカリウムチャネルに機能的に共役する(Mestek A. 他 (1995) J. Neurosci. 15:2396-2406)。種々のMORサブタイプが在る。選択的スプライシングは、MOR-1で観察されており、多数のGタンパク質共役受容体でも観察されている。この共役受容体としては、ソマトスタチン２、ドーパミンD2、プロスタグランジンEP3、並びにセロトニン受容体サブタイプ（5-hydroxytryptamine4 および5-hydroxytryptamine7）を含む(Pan, Y.X. 他）(1999) Mol. Pharm. 56:396-403)。

【００８１】

膜表在性タンパク質およびアンカー型膜タンパク質

いくつかの膜タンパク質は膜貫通しておらず、膜アンカーまたは膜内在性タンパク質との相互作用を介して原形質膜に固着している。膜アンカーは、あるタンパク質に翻訳後に共役的に結合し、プレニル基、ミリスチル基およびグリコシルホスファチジルイノシトール基のような部分が含まれる。膜表在性タンパク質およびアンカー型タンパク質の膜局在化は受容体媒介シグナル伝達などのプロセスにおける機能にとって重要である。例えばRasのプレニル化は形質膜へのRasの局在に必要であり、シグナル伝達におけるその正常な機能と癌原性機能とにも必要である。

【００８２】

T細胞の活性化

ヒトのT細胞はブドウ球菌の外毒素によって特異的に活性化され、この結果サイトカインの産生と細胞増殖が起こり、敗血ショックに至ることがある(Muraille, E. 他 (1999) Int. Immunol. 11:1403-1410)。ブドウ球菌の外毒素によってT細胞を活性化するには、外毒素分子をT細胞に提示して、最適なT細胞活性化に必要な共刺激シグナルを伝える、抗体提示細胞(APC)の存在を要する。ブドウ球菌の外毒素はAPCによってT細胞に提示される必要があるが、これらの分子はAPCによるプロセシングを必要としない。その代わりに、ブ

ドウ球菌の外毒素はヒトの主要組織適合性複合体（MHC）クラスII分子の非多型性部分に直接結合し、これによりMHCクラスII分子の多型性抗原溝へのペプチドの結合および切断、捕捉の必要性を回避する。

【００８３】

小胞体膜タンパク質

正常に機能する真核細胞に必要な条件は、新規に合成された全てのタンパク質が正しく折りたたまれ、修飾され、特定の細胞内部位および細胞外部位に送達されることである。新規合成された膜タンパク質および分泌タンパク質は、細胞の選別・分配ネットワークに入る。これは合成時または合成直後に起こり、その後、タンパク質は細胞内外の特定の位置に送られる。この過程の最初の区画である小胞体（ER）においてタンパク質が受ける修飾の例に、グリコシル化、ジスルフィド結合形成、およびオリゴマー形成がある。修飾されたタンパク質は次に、一連の、膜に囲まれた区画を通って輸送される。この区画の例にゴルジ体の多様な層板があり、この区画では更なる糖質修飾が起こる。区画間の輸送を生じる手段は、小胞の出芽と融合とである。一旦、分泌経路に入るとタンパク質は、細胞表面に達するのに膜を横断する必要は無い。

【００８４】

過半数のタンパク質はER内でプロセシングされオルガネラから運び出されるが、幾つかは保持される。ER内に保持されるためのシグナルは、哺乳動物細胞では、テトラペプチド配列であるKDELからなり、その位置は、常在ER膜タンパク質のカルボキシル末端である（Munro, S. (1986) Cell 46:291-300）。KDEL配列を持つタンパク質はERを出るが、すぐに初期ゴルジ層板から回収され、ERに戻る。一方、このシグナルを欠くタンパク質は、分泌経路を進む。

【００８５】

細胞の分泌経路の妨害は、幾つかのヒト疾患に関与することが示唆されている。家族性高コレステロール血症では、低密度リポタンパク質受容体がER内に残り、細胞表面に移動しない（Pathak, R.K. (1988) J. Cell Biol. 106:1831-1841）。βアミロイド前駆体タンパク質（βAPP）の輸送とプロセシングとの変異は、推定上の小胞輸送タンパク質であるプレセニリン（presenilin）と関与しており、また、早期発症アルツハイマー病に関与し得る（Levy-Lahad, E. 他 (1995) Science 269:973-977）。ERに由来するカルシウム恒常性の変化に伴う疾患の例に、心筋症、心臓肥大、筋緊張性ジストロフィー、Brody病、Smith-McCort異形成、および糖尿病がある。

【００８６】

ミトコンドリア膜タンパク質

ミトコンドリア電子伝達系（すなわち呼吸鎖）は、一連の３種の酵素複合体であってミトコンドリア膜内にあり、NADHから酸素への電子伝達と、この酸化作用をATPの合成に共役させる過程（酸化的リン酸化）とに関わる。ATPはその後、主要なエネルギー源を提供することにより、細胞の、エネルギーを必要とする多くの反応を駆動する。

【００８７】

ミトコンドリア呼吸鎖の殆どのタンパク質成分は、核がコードする遺伝子の産物であり、これらはミトコンドリア内に移入されるが、他のタンパク質はミトコンドリア遺伝子の産物である。この呼吸鎖における酵素の欠損や改変された発現に関連して多様な病態がヒトにおいて見られ、その例に、神経変性疾患、ミオパシー（筋疾患）、および癌がある。

【００８８】

リンパ球および白血球膜タンパク質

抗原へのB細胞の応答は、正常な免疫系の必須要素である。成熟B細胞は、B細胞受容体（BCR）によってが外来抗原を認識し、これらの受容体は膜結合性の特異的抗体であって、外来抗原と結合する。この抗原／受容体複合体は細胞内に取り込まれ、抗原はタンパク質分解処理を受ける。複雑な抗原に対し有効な応答を発生するには、BCRと、BCRに会合するタンパク質と、T細胞応答との、全てが必要である。抗原のタンパク質分解断片は、B細胞の表面の主要組織適合複合体II(MHC II)分子と複合体を形成する。B細胞の表面でこの

複合体をT細胞が認識し得る。一方、マクロファージ他のリンパ様細胞は、MHC I分子に会合する抗原を、T細胞に提示する。T細胞はMHC I-抗原複合体を認識し、それによって活性化されるが、この作用は、T細胞受容体／CD3複合体との相互作用による。後者の複合体はT細胞表面多量体タンパク質で、原形質膜にある。抗原提示によって活性化したT細胞は多様なリンホカインを分泌する。リンホカインはB細胞の成熟とT細胞の増殖とを誘導し、また標的細胞を殺すマクロファージを活性化する。

【００８９】

白血球は炎症応答と免疫応答とにおいて基本的な役割を持ち、白血球の例としては単球／マクロファージ、肥満細胞、多形核白血球、ナチュラルキラー細胞、好中球、好酸球、好塩基球、および骨髄系前駆体がある。白血球膜タンパク質の例に、CD抗原のメンバー、N-CAM、I-CAM、ヒト白血球抗原（HLA）クラスIおよびHLAクラスIIの遺伝子産物、免疫グロブリン、免疫グロブリン受容体、補体、補体受容体、インターフェロン、インターフェロン受容体、インターロイキン受容体、およびケモカイン受容体がある。

【００９０】

異常なリンパ球と白血球との活性に伴う急性障害の例には、AIDS、免疫過敏、白血病、白血球減少症、全身性ループス、肉芽腫症、および好酸球増加症がある。

【００９１】

アポトーシス関連膜タンパク質

多様なリガンド、受容体、酵素、腫瘍抑制因子、ウイルス性遺伝子産物、薬物、および無機イオンは、アポトーシスの細胞破壊の調節と実行において、重要な正または負の役割を持つ。アポトーシス経路の幾つかの特定成分はすでに同定され特徴付けられているが、関与するタンパク質間の多くの相互作用は不明確であり、この経路の主要な諸相は未知のままである。

【００９２】

DNA切断と、Fasが媒介する細胞死とにおけるカルシウムレベルの関与を示す過去の研究は、アポトーシスにおいてカルシウムが必要であることを示唆した（Hewish, D.R. および L.A. Burgoyne (1973) Biochem. Biophys. Res. Comm. 52:504-510; Vignaux, F. 他(1995) J. Exp. Med. 181:781-786; Oshimi, Y. および S. Miyazaki (1995) J. Immunol. 154:599-609)。別の諸研究によると、細胞内カルシウム濃度の上昇が、胸腺細胞において、T細胞受容体架橋または糖質コルチコイドによってアポトーシスが引き起こされた際に見られ、また、細胞死を、この上昇をブロックすることにより防げる（McConkey, D.J. 他(1989) J. Immunol. 143:1801-1806; McConkey, D.J. 他(1989) Arch. Biochem. Biophys. 269:365-370)。したがって、膜タンパク質（例えばカルシウムチャネルおよびFas受容体）は、アポトーシス応答にとって重要である。

【００９３】

輸送体結合タンパク質

疎水性脂質二重層膜は大部分の極性分子に対して高度に不透過性であり、オルガネラを機能的に異なった実体に細分する。細胞及びオルガネラは、必須栄養素及び、K^+、NH_4^+、Pi、SO_4^{2-}を含む金属イオン、糖、ビタミン及び種々の代謝廃棄物を移出入するための輸送タンパク質を必要とする。輸送タンパク質は、抗生物質抵抗性、毒素分泌、イオンバランス、シナプス神経伝達、腎機能、腸管吸収、腫瘍成長及びその他の多様な細胞機能においても役割を果たす（Griffith, J.及びC. Sansom (1998) The Transporter Facts Book. Academic Press, San Diego CA, 3-29ページ）。 輸送は、受動的な濃度依存メカニズムによって起こるか、或いはATP加水分解またはイオン勾配などのエネルギー源に関連し得る。輸送で機能するタンパク質には、キャリアータンパク質及びチャネルタンパク質がある。キャリアータンパク質は、特定の溶質に結合して、あるコンフォメーションの変化を起こし、その変化によって結合した溶質が膜を通過できるようにする。チャネルタンパク質は、特定の溶質が電気化学的溶質勾配に従って膜を通過して拡散することができるような疎水性ポアを形成する。

【００９４】

膜の一方の側から他方の側へ単一溶質を輸送するキャリアタンパク質をユニポーターと呼ぶ。対照的に、共役輸送体は、１つの溶質の移動を第２溶質の移動に連結させ、その移動は同時または順次に起こるかのいずれかであり、移動の方向は同一方向（シンポート）または逆方向（アンチポート）のいずれかである。例えば、腸管及び腎臓の上皮は、原形質膜内外のナトリウム勾配によって駆動される種々のシンポーター系を含む。ナトリウムは、電気化学勾配に従って細胞内に移動し、その移動と共に溶質を細胞内に運ぶ。溶質を取り込むための駆動力を供給するナトリウム勾配は、遍在性のNa^+/K^+ ATP分解酵素系によって維持される。ナトリウム共役輸送体には、哺乳動物グルコース輸送体（SGLT1）、ヨウ化物輸送体（NIS）及びマルチビタミン輸送体（SMVT）がある。３つの輸送体はすべて、１２個の推定上の膜貫通セグメント、細胞外グリコシル化部位、並びに細胞質内側にあるN末端及びC末端を有する。NISは、放射性ヨウ素甲状腺イメージング技術及び甲状腺への放射性同位元素の特異的ターゲッティングの分子的基礎であるため、種々の甲状腺病理の評価、診断及び治療において重大な役割を果たす（Levy, O. 他 (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:5568-5573)。SMVTは、腸管粘膜、腎臓及び胎盤において発現され、ビオチンやパントテン酸などの水溶性ビタミンの輸送に関与していると考えられる（Prasad, P. D. 他 (1998) J. Biol. Chem. 273:7501-7506)。

【００９５】

MFS（major facilitator superfamily）は、輸送体の最大ファミリーの１つであり、ユニポーター－シンポーター－アンチポーターファミリーとも呼ばれる。MFS輸送体は、イオン勾配に応じて小溶質を輸送する、単一ポリペプチドキャリアである。MFSのメンバーは、すべてのクラスの生物に見られ、糖、オリゴ糖、リン酸、硝酸、ヌクレオシド、モノカルボン酸及び薬剤のための輸送体を含む。真核生物に見られるMFS輸送体はすべて12個の膜貫通セグメントを含む構成となっている（Pao, S. S. 他 (1998) Microbiol. Molec. Biol. Rev. 62:1-34）。MFS輸送体の最大のファミリーは糖輸送体ファミリーであり、ヒトに見られるような、グルコース及びその他の六炭糖の輸送に必要な７つのグルコース輸送体（GLUT1～GLUT7）を含む。これらのグルコース輸送タンパク質は、独自の組織分布及び生理学的機能を有する。GLUT1は、基底板でのグルコース要求を有する多くの細胞型に提供して、上皮及び内皮の障壁組織を通ってグルコースを輸送し、GLUT2はグルコースの取り込みまたは肝臓からの流出を促進し、GLUT3はニューロンへのグルコースの供給を調整し、GLUT4はインシュリンによって調整されるグルコース分解に関与し、GLUT5は骨格筋へのフルクトースの取り込みを調節する。グルコース輸送体の欠陥は、最近同定された神経症候群であって、グリコーゲン貯蔵病、ファンコーニ－ビッケル症候群、及び非インスリン依存糖尿病のみならず、乳幼児けいれん及び発達遅滞の原因となるような神経症候群に関与している（Mueckler, M. (1994) Eur. J. Biochem. 219:713-725、Longo, N. および L. J. Elsas (1998) Adv. Pediatr. 45:293-313）。

【００９６】

Synipはインスリンに制御される新規なシンタキシン4結合タンパク質であり、これはt-SNAREタンパク質であるシンタキシン4と相互作用する。インスリンに刺激されるグルコース輸送およびGLUT4 の移行にはvSNARE、VAMP2およびシンタキシン4である tSNAREとの間の相互作用の制御が必要とされる。データによると、インスリンによって、Synipのシンタキシン4への結合親和性の減少が誘発されるため、Synip:シンタキシン 4 複合体が解離することが示唆されている。反対に、Synipのカルボキシ末端ドメインはインスリンの刺激に応答してシンタキシン4から解離されず、むしろグルコース輸送およびGLUT4の移行を阻害する(Min, J.他(1999) Mol. Cell 3:751760)。

【００９７】

モノカルボン酸アニオン輸送体は、L-乳酸、ピルビン酸及びケトン体アセテート、アセトアセテート及びβヒドロキシ酪酸を含む広範な基質特異性を有するプロトン共役シンポーターである。これまでに少なくとも７つのアイソフォームが同定されている。アイソフォームは、TM6とTM7との間に大きな細胞内ループを有する１２個の膜貫通（TM）らせん状ドメインを有し、解糖中に乳酸と共に化学量論的に生成されるプロトンを除去することに

より、細胞内pHを維持する際に重要な役割を果たすと推定されている。最も良く特徴付けられたH^+ モノカルボン酸輸送体は、L-乳酸及び広範囲の他の脂肪族モノカルボン酸を輸送する赤血球膜の輸送体である。その他の細胞は、異なる基質及び抑制因子選択性を有するH^+共役モノカルボン酸輸送体を含む。特に心筋及び腫瘍細胞は、或る基質に対するKm値（D-乳酸よりL-乳酸を選択する立体化学的選択性を含む）及び抑制因子に対する感受性が異なる輸送体を有する。腸管及び肝臓上皮の管腔表面にNa^+ モノカルボン酸共輸送体があり、それによってこれらの組織における乳酸、ピルビン酸及びケトン体の取り込みが可能になる。更に、肝臓、腸及び肺を含む器官に、有機カチオン及び有機アニオンのための特異的且つ選択的な輸送体がある。有機アニオン輸送体は、電子求引性側鎖を有する疎水性、荷電分子に選択的である。アンモニウム輸送体などの有機カチオン輸送体は、種々の薬剤及び内因性代謝の分泌を媒介し、細胞内pHの維持に寄与する（Poole, R. C. 及び A. P. Halestrap (1993) Am. J. Physiol. 264 : C761-C782、Price, N. T. 他 (1998) Biochem. J. 329 : 321-328、Martinelle, K. 及び I. Haggstrom (1993) J. Biotechnol. 30 : 339-350）。

【００９８】

ATP結合カセット（ABC）輸送体、別名「輸送ATPアーゼ」は膜タンパク質のスーパーファミリーであり、原核生物と真核生物とにおける輸送機能とチャネル機能とを媒介する（Higgins, C.F. (1992) Annu. Rev. Cell Biol. 8:67-113）。ABCタンパク質類は、類似した全体構造と、顕著な配列相同性とを共有する。全てのABCタンパク質には或る保存されたドメインがあり、このドメインは約２００アミノ酸残基であり、１つ以上のヌクレオチド結合ドメインがある。ABC輸送体遺伝子群における突然変異は、高ビリルビン血症II／Dubin-Johnson症候群、劣性スタルガルト病、X染色体連鎖副腎白質ジストロフィー、多剤耐性、小児脂肪便症、および嚢胞性線維症など、様々な疾患に関与する。ATP結合カセット（ABC）輸送体は、イオン、糖、アミノ酸、ペプチド、リン脂質のような小分子からリポペプチド、大タンパク質、及び複合体疎水性薬剤までに及ぶ基質を輸送するような、膜タンパク質のスーパーファミリーのメンバーである。ABC輸送体は、４つのモジュール即ち２つのヌクレオチド結合ドメイン（NBD）及び２つの膜貫通ドメイン（MSD）を含む。NBDは、ATPを加水分解して輸送に必要なエネルギーを供給し、各MSDは、推定上の６つの膜貫通セグメントを含む。これら４つのモジュールは、単一の遺伝子または別々の遺伝子によりコードし得る。 単一の遺伝子によりコードし得るのは、嚢胞性繊維症膜貫通伝導調節因子（CFTR）に対する場合などである。別々の遺伝子にコードされる場合には、各遺伝子産物には１つのNBD及び１つのMSDが含まれる。これらの「半分子」は、小胞体での主要組織適合複合体（MHC）ペプチド輸送系であるTap1及びTap2などのホモ及びヘテロ二量体を形成する。幾つかの遺伝病は、ABC輸送体の欠陥に起因する。疾患及びそれに対応するタンパク質の例としては、嚢胞性繊維症（CFTR、イオンチャネル）、副腎白質ジストロフィー（副腎白質ジストロフィータンパク質、ALDP）、ツェルヴェーガー症候群（ペルオキシソームの膜タンパク質-70、PMP70）及び高インシュリン性低血糖症（スルホニル尿素受容体、SUR）がある。別のABC輸送体である多剤耐性（MDR）タンパク質がヒトの癌細胞において過剰発現すると、化学療法に用いられる種々の細胞毒性薬剤に対して細胞が耐性を有する（Taglicht, D. および S. Michaelis (1998) Meth. Enzymol. 292 : 130-162）。

【００９９】

鉄、亜鉛、銅、コバルト、マンガン、モリブデン、セレン、ニッケル、クロムなどの多数の金属イオンは、多数の酵素に対する補助因子として重要である。例えば銅は、スーパーオキシドジスムターゼ、フェロキシダーゼ(セルロプラスミン)およびリジルオキシダーゼ等の酸化還元酵素の補因子として作用することによって、ヘモグロビン合成、結合組織の代謝および骨の発達に関与している。銅およびその他の金属イオンは食餌で摂取する必要があり、胃腸管の輸送体によって吸収される。血漿タンパク質は、金属イオンを肝臓及びその他の標的器官へ輸送し、ここで特異輸送体が必要に応じてイオンを細胞及び細胞のオルガネラに移動させる。金属イオンでの代謝の不均衡は、多数の疾患状態に関連付けされている（Danks, D. M. (1986) J. Med. Genet. 23 : 99-106）。

【０１００】
原形質膜を通過する脂肪酸の輸送は、高容量で低親和性プロセスである拡散により起こる。しかしながら、通常の生理学的条件下では、脂肪酸輸送の内の有意の割合が高親和性、低容量のタンパク質媒介輸送プロセスによって起こっているように見える。脂肪酸輸送タンパク質（FATP）は、４つの膜貫通セグメントを有する膜内在性タンパク質であり、筋肉、心臓及び脂肪などの、高レベルの原形質膜脂肪酸流入を示す組織において発現される。FATPの発現は、脂肪変換中に3T3-L1細胞において上方制御され、COS7線維芽細胞における発現は、長鎖脂肪酸の取り込みを増加させる（Hui, T. Y. 他 (1998) J. Biol. Chem. 273:27420-27429)。

【０１０１】
ミトコンドリアキャリアタンパク質は、サイトゾル及びミトコンドリア基質の間でイオン及び荷電代謝産物を輸送する膜貫通タンパク質である。例として、ADPキャリアタンパク質、ATPキャリアタンパク質、2-オキソグルタル酸／リンゴ酸キャリア、リン酸キャリアタンパク質、ピルビン酸キャリア、ジカルボン酸キャリア（リンゴ酸、コハク酸、フマル酸及びリン酸を輸送する）、トリカルボン酸キャリア（クエン酸及びリンゴ酸を輸送する）、及びグレーブス病キャリアタンパク質（甲状腺機能亢進症の原因となる自己免疫異常である活性グレーブス病を患った患者のIgGにより認識されたタンパク質）がある。このファミリーのタンパク質は、約１００アミノ酸ドメインの３つのタンデムリピートからなり、各タンデムリピートは２つの膜貫通領域を有する（Stryer, L. (1995) Biochemistrv, W. H. Freeman and Company, New York NY, 551ページ、PROSITE PDOC00189 Mitochondrial energy transfer proteins signature、Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) *275000 Graves Disease）。

【０１０２】
このクラスの輸送体には、またミトコンドリア脱共役タンパク質も含まれる。この脱共役タンパク質はミトコンドリア内膜でプロトンリークを起こさせ、酸化的リン酸化をATP合成から脱共役させる。結果として、熱の形態でのエネルギー散逸が起こる。ミトコンドリア脱共役タンパク質は、温度調節及び代謝率のモジュレーターと関連するとされており、肥満症などの代謝疾患に対する薬剤の可能性のある標的として提案されてきた（Ricquier, D. 他 (1999) J. Int. Med. 245 : 637-642）。

【０１０３】
疾患との相関関係
多くのヒトの疾患及び障害の原因は、膜を通過する分子輸送における欠陥に帰しし得る。膜結合輸送体及びイオンチャネルの輸送における欠陥は、嚢胞性繊維症、グルコース－ガラクトース吸収不良症候群、高コレステロール血症、フォンギールケ病及び或る種の真性糖尿病など幾つかの疾患に関連している。膜を通過して小分子を輸送できないことに起因する単一の遺伝子欠陥疾患には、例えばシスチン尿症、イミノグリシン尿症、Hartup病及びファンコーニ病がある（van't Hoff, W. G. (1996) Exp. Nephrol. 4 : 253-262、Talente, G. M. 他 (1994) Ann. Intern. Med. 120:218-226; and Chillon, M. et al.(1994) Ann. Intern. Med. 120 : 218-226、Chillon, M. 他 (1995) New Engl. J. Med. 332:1475-1480)。

【０１０４】
イオンチャネル遺伝子における突然変異に起因するヒト疾患には、骨格筋、心筋及び中枢神経系の疾患がある。ナトリウムチャネル及びクロライドチャネルのポア形成サブユニットにおける突然変異は、ミオトニーを引き起こす。ミオトニーは、随意収縮後の弛緩が遅れる筋肉障害である。ナトリウムチャネルミオトニーは、チャネル遮断薬で治療されてきた。筋肉のナトリウム及びカルシウムチャネルにおける突然変異は、数種の周期性麻痺を引き起こし、筋形質カルシウム放出チャネル、T管カルシウムチャネル及び筋肉ナトリウムチャネルにおける突然変異は、悪性高熱症を引き起こす。QT延長症候群及び特発性心室細動などの心不整脈疾患は、カリウム及びナトリウムチャネルにおける突然変異に起因する（Cooper, E. C. および L. Y. Jan (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96:4759-4

766）。既知のヒト特発性てんかん遺伝子は、４つがすべてイオンチャネルタンパク質をコードする（Berkovic, S. F. および I. E. Scheffer (1999) Curr. Opin. Neurology 12:177182）。その他の神経疾患、例えば運動失調、片麻痺性片頭痛及び遺伝性難聴などもまた、イオンチャネル遺伝子における突然変異に起因し得る（Jen, J. (1999) Curr. Opin. Neurobiol. 9:274-280、前出のCooper）。

【０１０５】

イオンチャネルは、多くの薬物治療法に対する標的となっている。神経伝達物質依存性チャネルは、不眠症、不安、抑うつ症及び精神分裂病(統合失調症)の治療において標的とされて来た。電位依存性チャネルは、不整脈、虚血性発作、頭部外傷及び神経変性疾患の治療法において標的にされてきた（Taylor, C. P. および L. S. Narasimhan (1997) Adv. Pharmacol. 39:47-98）。種々のクラスのイオンチャネルは、痛みの知覚においても重要な役割を果たすので、新たな鎮痛薬の標的となり得る。このようなイオンチャネルにはバニロイド（vanilloid）依存性イオンチャネルがあり、これは侵害熱によってのみならずバニロイドであるカプサイシンによっても活性化される。電位依存性Na^+ チャネルを遮断するリドカインやメキシレチンなどの局部麻酔薬は、神経障害性の痛みの治療において有用である（前出のEglen）。

【０１０６】

免疫調節のための標的として、最近では免疫系におけるイオンチャネルが示唆されている。T細胞活性化は、カルシウムシグナル伝達に依存し、多様なT細胞特異的イオンチャネルは、このシグナル伝達過程に影響することが特徴付けられている。チャネル遮断薬は、リンホカインの分泌、細胞増殖、及び標的細胞の死滅を阻害することができる。T細胞カリウムチャネルKv1.3のペプチドアンタゴニストは、ブタにおける遅延型過敏症及び異質遺伝子型反応を抑制し、安全で効果的な免疫抑制薬としてのチャネル遮断薬の使用のアイデアを実証している（Calahan, M. D.及びK. G. Chandy (1997) Curr. Opin. Biotechnol. 8 : 749-756）。

【０１０７】

疾患分子の検出と治療

推定によれば、哺乳類DNAの２％のみがタンパク質をコードしており、どの時点でも、タンパク質をコードする遺伝子群の僅かな部分のみが特定細胞内で実際に発現される。多細胞生物における種々のタイプの細胞は構造も機能も劇的に異なっており、特定細胞の個性を授けるものは、その独自パターンの遺伝子発現である。また、異なる細胞タイプは、オーバーラップするが特有のセットの遺伝子群を、発生期を通じて発現する。生物の発達と生存とに寄与する、細胞成長、細胞増殖、細胞分化、免疫応答、アポトーシス及び他のプロセスは、遺伝子発現の調節によって支配される。適切な遺伝子調節はまた、細胞を効率よく機能させる。これを確実にするため、その機能が要求される遺伝子群のみが所定の時期に発現される。遺伝子発現に影響を与える因子の例には、細胞間伝達を仲介し、様々な細胞型の作用を協調させる細胞外シグナルを含む。遺伝子発現は、DNAとRNAとの転写レベル、および、mRNA翻訳のレベルにおいて調節される。

【０１０８】

遺伝子と遺伝子産物とに異常な発現または突然変異があると、種々のヒト疾患（例えば癌その他の細胞増殖異常など）を起こしたり、またはそれらに対する感受性を増加させることがある。これらの遺伝子と遺伝子産物の同定は、疾患の早期検出用マーカーと、疾患の予防と治療との為の標的とを見出すために進展している努力の基礎となる。例えば癌は、身体のほぼ全ての組織に影響する細胞増殖異常の或るタイプを言う。癌の発生すなわち発癌は、しばしば、異常発現または突然変異を通じた、正常遺伝子の、癌を起こす遺伝子すなわち癌遺伝子への転換と相関する。腫瘍性タンパク質（癌遺伝子の産物）の例には、細胞増殖に影響する種々の分子を含む。このような分子とは例えば成長因子、成長因子受容体、細胞内シグナル伝達因子、核内転写因子、および、細胞周期制御タンパク質である。一方、腫瘍抑制遺伝子は、細胞増殖抑制に関係する。腫瘍抑制遺伝子の機能を低減または抑止する突然変異の結果、異常な細胞増殖と癌とが起こる。このように、多種多様な遺

伝子と遺伝子産物とが細胞増殖異常（癌など）に関連することが見出されているが、まだ発見されていない多くの遺伝子と遺伝子産物が存在する可能性がある。

【０１０９】

DNAベースのアレイは、遺伝子発現と遺伝的変異性とを試験する、効率的で高処理の方法を提供できる。例えばSNP（すなわち一塩基多型）は、最も多いタイプのヒト遺伝的変異である。DNAベースのアレイは、数百、数千もの遺伝子群におけるSNPの発見を劇的に加速できる。同様に、このようなアレイを用いて、SNP遺伝子型解析（SNP genotyping）をなしうる。この解析では、個体群または集団群からのDNAサンプルのアッセイを、選択したSNPの存在について行う。これらのアプローチは、ヒトゲノムにおける全ての遺伝的変異の体系的同定や、特定の遺伝的変異と、疾患感受性、薬物治療応答性その他の医学的関連情報との相関の体系的同定を最終的にもたらすだろう(例えばWang, D.G.他(1998) Science 280:1077-1082を参照）。

【０１１０】

DNAベースのアレイ技術は、全体的な遺伝子発現パターンの迅速な分析に特に重要である。例えば遺伝子的疾病素質、疾患、または治療処置は、直接または間接に、或る組織における多数の遺伝子の発現に影響することがある。この場合、発現される全ての遺伝子と、それらの遺伝子がその特定組織において発現されるレベルとのプロファイルすなわち転写イメージ(transcript image)を作製することは有用である。或る疾患を患う、または特定の治療を受けている個体または集団から作製されたプロファイルは、対照の個体または集団から作製されたプロファイルと比較し得る。このような分析には、遺伝子機能の知識を必要としない。理由は、発現プロファイルを数学的に分析でき、この分析では各遺伝子を単にマーカーとして扱うからである。更に遺伝子発現プロファイルは、例えば或る発生段階や特定組織において、または疾患や処置に応答して発現される、全ての遺伝子を同定することによって、生物学的経路の詳細な分析を補助しうる(例えばLander, E.S.他(1996) Science 274:536-539を参照）。

【０１１１】

数種の遺伝子は疾患と関連することが染色体上の位置から知られている。その例に、マウスとヒトとの筋強直性ジストロフィー（DM）領域にある遺伝子群がある。DMの根底にある突然変異はDMキナーゼ蛋白をコードする或る遺伝子に限局されているが、別の活性遺伝子であるDMR-N9は、このDMキナーゼ遺伝子に非常に近接した位置にある(Jansen, G.他(1992) Nat. Genet. 1:261-266)。DMR-N9がコードする650アミノ酸タンパク質が持つWDリピートは、細胞シグナル伝達タンパクに見られるモチーフである。DMR-N9は全ての神経組織と睾丸とに発現されるので、重篤例のDMにおける精神症状と睾丸症状との出現でのDMR-N9の役割を示唆する(Jansen, G.他(1995) Hum. Mol. Genet. 4:843-852)。

【０１１２】

他の遺伝子群の同定が、その発現パターンに、または疾病症候群との関連に基づいて成される。例えば細胞内オルガネラに対する自己抗体は、全身性リウマチ性疾患の患者に見られる。最近同定されたタンパク質であるgolgin-67はゴルジ自己抗原の或るファミリーに属しており、αヘリックスのコイルドコイルドメインを持つ(Eystathioy, T.他(2000) J. Autoimmun. 14:179-187)。Stac遺伝子は脳に特異的で、発達に応じて調節される遺伝子として同定された。Stac蛋白質はSH3ドメインを持つ。また、ニューロン特異的シグナル伝達に関わると思われる(Suzuki, H.他(1996) Biochem. Biophys. Res. Commun. 229:902-909）。

【０１１３】

卵巣癌は婦人科癌による死の主な原因である。卵巣癌の主のものは上皮細胞から由来しており、上皮性卵巣癌の患者の70%が後期疾患である。その結果、この疾患を有する人々の長期的生存率は極めて低い。卵巣癌の早期マーカーの同定は生存率をかなり増加させるであろう。卵巣癌を生じる分子的イベントはあまり理解されていない。既知の異常のいくつかにはP53の突然変異およびミクロサテライトの不安定性がある。正常卵巣を卵巣腫瘍と比較すると遺伝子発現パターンが異なっていると考えられるため、これらの組織におけ

る遺伝子発現の試験によって、卵巣癌のマーカーの可能性があるものを同定することができる。

【０１１４】

新規の受容体および膜結合タンパク質、またそれらをコードするポリヌクレオチドの発見により、新規の組成物を提供することで当分野の要望に応えることができる。 この新規の組成物は、細胞増殖異常、自己免疫／炎症性の疾患、腎疾患、神経疾患、心臓疾患、代謝異常、発達障害、内分泌疾患、筋疾患、胃腸疾患、脂質代謝異常、輸送障害、およびウィルス感染の診断・治療・予防において有用であり、また、受容体および膜結合タンパク質の核酸配列及びアミノ酸配列の発現における外来性化合物の影響についての評価にも有用である。

【０１１５】

発現プロファイル作成

マイクロアレイは、生体分析で用いられる分析ツールである。マイクロアレイは複数の分子をを有し、それらは或る固体支持体の表面で空間的に分布し、その表面と安定して結合している。ポリペプチド、ポリヌクレオチド、そして/あるいは抗体のマイクロアレイが開発されており、その種々の用途には遺伝子シークエンシング、遺伝子発現のモニタリング、遺伝子マッピング、細菌同定、薬剤発見、コンビナトリアルケミストリがある。

【０１１６】

特にマイクロアレイの使用として見出された1つの分野は、遺伝子発現分析である。アレイ技術は、単一の多型遺伝子の発現や、多数の関連遺伝子または無関係の遺伝子の発現プロファイルを探求する、簡単な方法を提供し得る。単一遺伝子の発現を試験するときは、アレイを用いて、或る特定遺伝子又はその変異体の発現を検出する。発現プロファイルを試験するときは、アレイは次のような遺伝子を同定するプラットフォームを提供する。即ちどの遺伝子が組織特異的か、毒性アッセイにおいてテストされる物質に影響されるか、シグナル伝達カスケードの一部であるか、ハウスキーピング機能を実行するか、又は、特定の遺伝的素因や、条件、疾患、又は障害に、特異的に関連する遺伝子であるかの同定である。例えば、肺癌患者に由来する組織に発現されるレベルと配列との双方を、正常組織に発現されるレベルおよび配列と比較し得る。

遺伝子発現プロファイル作成の潜在的応用は特に、肺癌のような癌の診断、予後診断、および治療の向上に関わる。

【０１１７】

肺癌

肺癌は米国における癌死亡の主要原因であり、毎年10万人以上の男性および5万人以上の女性がこの影響を受けている。肺癌と診断された患者の殆ど90%が喫煙者である。タバコの煙には暴露された気管支上皮において発癌物質代謝酵素および共有結合性DNA付加体形成を誘発する有害物質がたくさん含まれている。肺癌と診断された患者のほとんど80%においてすでに転移が生じている。大部分の肺癌は胸膜、脳、骨、心膜、および肝臓に移転する。手術、放射線療法、あるいは化学療法を行うかの決定は、腫瘍組織学、成長因子またはホルモン応答および阻害剤または薬物への感受性に基づいてなされる。現在の治療では大部分の患者が診断の一年以内に死亡する。肺癌の早期診断、および同定、病期および治療に対する系統的アプローチは患者への結果をポジティブなものにし得る。

【０１１８】

肺癌は、過形成から侵襲性癌への一連の形態学的に固有の段階を通して進行する。悪性の肺癌は四つの組織病理学的なクラスからなる２つのグループに分かれる。Non Small Cell Lung Carcinoma (NSCLC) (非小細胞肺癌)群は扁平上皮細胞癌、腺癌および大細胞癌を含み、すべての肺癌症例の約70%を占める。腺癌は通常、末梢気道に生じ、ムチン分泌腺を形成する。扁平上皮細胞癌は一般に、近位気道に発症する。扁平上皮細胞癌の組織形成は慢性炎症と、気管支上皮の損傷に関連し、扁平〔上皮〕化生につながる。肺小細胞癌（Small Cell Lung Carcinoma ：SCLC) 群は肺癌症例の約20%を占める。SCLCは一般的に近位の気道に発症し、副腎皮質刺激ホルモンおよび抗利尿ホルモンの不適切な産生などの多

くの腫瘍随伴症候群を示す。

【０１１９】

肺癌細胞は多くの遺伝的病変を蓄積し、その多くは、細胞学的に明らかな染色体異常を伴う。肺癌に随伴する染色体欠失の頻度が高いことはこの疾患の病因において複数の癌抑制遺伝子座の関与を示し得る。３番染色体の短腕の欠失は症例の90%以上に見られ、肺癌につながる最も早期の遺伝子病変の一つを示す。染色体の９pおよび17pの短腕における欠失もまた一般的である。　その他のしばしば見られる遺伝的病変にはテロメラーゼの過剰発現、Kras やcmycなどの発癌遺伝子の活性化、またRB、 p53 および CDKN2のような癌抑制遺伝子の不活性化がある。

【０１２０】

肺癌において差次的に制御される遺伝子が種々の方法によって同定されている。mRNAディファレンシャルディスプレイ技術を用いて、Manda 他 (1999; Genomics 51:5-14) は正常気管支上皮細胞に比べて肺癌細胞系で差次的に発現される５つの遺伝子を同定した。既知の遺伝子の内で、肺界面活性物質のアポプロテインAおよびアルファ２マクログロブリンは下方制御され、他方、nm23H1は上方制御される。Petersen 他(2000; Int J. Cancer, 86:512-517) はサプレッションサブトラクティブハイブリダイゼーション（suppression subtractive hybridization）を用いて、肺腫瘍由来細胞系に差次的に発現された552のクローンを同定した。その中の205は既知の遺伝子を示した。既知の遺伝子の間で、トロンボスポンジン1、フィブロネクチン、細胞間接着分子1およびサイトケラチン6と18は肺癌において差次的に発現されることが以前に観察されていた。Wang 他(2000; Oncogene 19:1519-1528) はマイクロアレイ解析とサブトラクティブハイブリダイゼーションを併用して正常肺上皮と比べて扁平細胞癌に差次的に過剰発現された17の遺伝子を同定した。彼らが同定した既知の遺伝子の中には、ケラチンアイソフォーム6、KOC、SPRC、IGFb2, コネキシン 26、 plakofillin 1 およびサイトケラチン 13があった。

【０１２１】

当分野には、細胞増殖異常、自己免疫／炎症疾患、腎疾患、神経疾患、心臓疾患、代謝障害、発生・発達障害、内分泌疾患、筋疾患、、胃腸障害、脂質代謝障害、輸送障害およびウイルス感染の診断、予防、および治療のための、核酸およびタンパク質を含む新規組成の要望がある。

【発明の開示】

【発明の効果】

【０１２２】

本発明の様々な実施例において、総称して「REMAP」、個別にはそれぞれ「REMAP-1」、「REMAP-2」、「REMAP-3」、「REMAP-4」、「REMAP-5」、「REMAP-6」、「REMAP-7」、「REMAP-8」、「REMAP-9」、「REMAP-10」、「REMAP-11」、「REMAP-12」、「REMAP-13」、「REMAP-14」、「REMAP-15」、「REMAP-16」、「REMAP-17」、「REMAP-18」、「REMAP-19」、「REMAP-20」、「REMAP-21」、「REMAP-22」および「REMAP-23」と呼ぶ受容体および膜結合タンパク質である、精製されたポリペプチドを提供し、これらのタンパク質およびこれらのコードするポリヌクレオチドを、疾患および医学上の状態の検出、診断および治療に利用する方法を提供する。実施例はまた、効力、用量、毒性および薬理の決定などの薬物開発過程に利用するために、精製された受容体および膜結合タンパク質および/またはそれらのコードするポリヌクレオチドを利用する方法をも提供する。関連する実施例によって、疾患および医療上状態の調査および病原性を調べるために精製された受容体および膜結合タンパク質またはそれらのコードするポリヌクレオチドを利用する方法を提供する。

【０１２３】

或る実施様態は、(a)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択されたアミノ酸配列を含むポリペプチドと、(b)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択されたアミノ酸配列と90%以上同一であるあるいは少なくとも約90%同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチドと、(c)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択されたアミノ酸配列を有するポリペプチドの生

物学的活性断片と、（ｄ）SEQ ID NO:1-23とからなる群から選択されたアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片とで構成される群から選択された単離したポリペプチドを提供する。別の実施様態は、SEQ ID NO:1-23のアミノ酸配列を含む単離したポリペプチドを提供する。

【０１２４】

また別の実施態様は(ａ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択した或るアミノ酸配列を持つポリペプチド、(ｂ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択した或るアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を持つ或る天然アミノ酸配列を有するポリペプチド、(ｃ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択した或るアミノ酸配列を持つポリペプチドの生物学的活性断片、または(ｄ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択した或るアミノ酸配列を持つポリヌクレオチドの免疫原性断片、からなる群から選択した或るポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチドを提供する。一実施態様では、該ポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:1-23からなる群から選択した或るポリペプチドをコードする。別の実施態様では、ポリヌクレオチドはSEQ ID NO:24-46からなる群から選択される。

【０１２５】

更に別の実施様態は、(a)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90％同一であるあるいは少なくとも約90％同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、または（ｄ）SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群から選択されたポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと機能的に連結したプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドを提供する。別の実施態様では、本発明は組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞を提供する。しかし別の実施様態は、組換えポリヌクレオチドを含む遺伝形質転換生物体を提供する。

【０１２６】

別の実施様態は、(a)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90％同一であるあるいは少なくとも約90％同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、または（ｄ）SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群から選択したポリペプチドを製造する方法を提供する。製造方法は、(a)組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養する過程と、(b)そのように発現したポリペプチドを受容する過程とを有し、組換えポリヌクレオチドはポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに機能的に結合したプロモーター配列を有する。

【０１２７】

更に別の実施様態は、(a)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90％同一であるあるいは少なくとも約90％同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、または(ｄ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、から構成される群から選択されたポリペプチドに特異結合するような単離された抗体を提供する。

【０１２８】

また更に別の実施態様は、(ａ)SEQ ID NO:24-46からなる群から選択したポリヌクレオチド配列を持つポリヌクレオチド、(ｂ)SEQ ID NO:24-46からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列との少なくとも９０％の同一性を有する或る天然ポリヌクレオチド配列を持つポリヌクレオチド、(ｃ)(ａ)に相補的なポリヌクレオチド、(ｄ)(ｂ)に相補的なポリヌクレオチド、および(ｅ)(ａ)～(ｄ)のRNA等価物、からなる群から選択した、単離

されたポリヌクレオチドを提供する。別の実施様態では、ポリヌクレオチドは少なくとも20、30、40、60、80、あるいは100の連続したヌクレオチドを含むことができる。

【０１２９】

また別の実施様態は、サンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出する方法を提供する。ここで標的ポリヌクレオチドは、(ａ)SEQ ID NO：24-46からなる群から選択したポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(ｂ)SEQ ID NO：24-46からなる群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも90％同一であるあるいは少なくとも約90％同一である天然のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(ｃ)(ａ)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、(ｄ)(ｂ)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、および(ｅ)(ａ)～(ｄ)のRNA等価物、からなる群から選択される。検出方法は、(a)サンプル中の上記標的ポリヌクレオチドに相補的な或る配列からなる少なくとも20の連続したヌクレオチド群からなる或るプローブを用いて該サンプルをハイブリダイズする過程と、(ｂ)該ハイブリダイゼーション複合体の有無を検出する過程を含む。該プローブと該標的ポリヌクレオチドあるいはその断片との間でハイブリダイゼーション複合体が形成されるような条件下で、プローブは、該標的ポリヌクレオチドに対し特異的にハイブリダイズする。関連する或る実施様態では、方法にはハイブリダイゼーション複合体の量を検出することが含まれ得る。別の実施様態では、プローブは少なくとも約20、30、40、60、80、あるいは100の連続したヌクレオチドを含むことができる。

【０１３０】

更にまた別の実施様態は、サンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出する方法を提供する。ここで標的ポリヌクレオチドは、(ａ)SEQ ID NO：24-46からなる群から選択したポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(ｂ)SEQ ID NO：24-46からなる群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも90％同一であるあるいは少なくとも約90％同一である天然のポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(ｃ)(ａ)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、(ｄ)(ｂ)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、および(ｅ)(ａ)～(ｄ)のRNA等価物、からなる群から選択される。検出方法は、(a)ポリメラーゼ連鎖反応増幅を用いて標的ポリヌクレオチドまたはその断片を増幅する過程と、(b)増幅した標的ポリヌクレオチドまたはその断片の存在・不存在を検出する過程を含む。関連する或る実施様態では、検出方法には増幅した標的ポリヌクレオチドまたはその断片の量を検出することが含まれ得る。

【０１３１】

別の実施様態は、有効量のポリペプチドと薬剤として許容できる賦形剤とを含む成分を提供する。有効量のポリペプチドは、(a)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90％同一であるあるいは少なくとも約90％同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、または(ｄ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群れから選択される。一実施例では、組成物はSEQ ID NO:1－23からなる群から選択されたアミノ酸配列を含み得る。 他の実施例は、機能的REMAPの発現の低下または異常発現に関連する疾患や症状の治療方法を提供し、そのような治療の必要な患者にこの組成物を投与することを含む。

【０１３２】

また別の実施様態は、(a)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90％同一であるあるいは少なくとも約90％同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、または(ｄ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、、からなる群から選択したポリペプチドのアゴニストとしての有効性を確認するために、或る化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a) 該ポリペプチドを含むサンプルを或る化合物に曝す過程と、(b)

サンプル中のアゴニスト活性を検出する過程からなる。別の実施様態は、この方法で同定したアゴニスト化合物と許容される医薬用賦形剤を含む、或る組成物を提供する。また別の実施態様は、機能的REMAPの発現の低下を伴う疾患や症状の治療を要する患者への、この組成物の投与方法を提供する。

【０１３３】

さらにまた別の実施様態は、(a)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を含むポリペプチド、(b)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90％同一であるあるいは少なくとも約90％同一である天然のアミノ酸配列を含むポリペプチド、(c)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの生物学的活性断片、または(ｄ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を有するポリペプチドの免疫原性断片、からなる群から選択したポリペプチドのアンタゴニストとしての有効性を確認するために、或る化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、（a）該ポリペプチドを含むサンプルを或る化合物に曝す過程と、(b)サンプル中のアンタゴニスト活性を検出する過程からなる。別の実施様態は、この方法で同定したアンタゴニスト化合物と許容される医薬用賦形剤を含む、或る組成物を提供する。また別の実施態様は、機能的REMAPの過剰発現を伴う疾患や症状の治療を要する患者への、該組成物の投与方法を提供する。

【０１３４】

別の実施態様は、(ａ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択した或るアミノ酸配列を持つポリペプチド、(ｂ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択した或るアミノ酸配列との少なくとも９０％の同一性を有する天然アミノ酸配列を持つポリペプチド、(ｃ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列を持つポリペプチドの生物学的活性断片、および(ｄ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択した或るアミノ酸配列を持つポリペプチドの免疫原性断片、からなる群から選択したポリペプチドに特異結合する化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(ａ)該ポリペプチドを少なくとも1つの試験化合物と適切な条件下で混合する過程と、(ｂ)該ポリペプチドと該試験化合物との結合を検出し、該ポリペプチドに特異結合する化合物を同定する過程からなる。

【０１３５】

また別の実施態様は、(ａ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択した或るアミノ酸配列を持つポリペプチド、(ｂ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択したアミノ酸配列との少なくとも９０％または少なくとも約９０％の同一性を有する或る天然アミノ酸配列を持つポリペプチド、(ｃ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択した或るアミノ酸配列を持つポリペプチドの生物学的活性断片、および(ｄ)SEQ ID NO:1-23からなる群から選択した或るアミノ酸配列を持つポリペプチドの免疫原性断片、からなる群から選択した或るポリペプチドの活性をモジュレートする或る化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(ａ)該ポリペプチドの活性にとり許容し得る条件下で、該ポリペプチドを少なくとも１つの試験化合物と混合する過程と、(ｂ)該ポリペプチドの活性をこの試験化合物の存在下で算定する過程と、(ｃ)この試験化合物の存在下での該ポリペプチドの活性をこの試験化合物の不存在下での該ポリペプチドの活性と比較する過程からなり、この試験化合物の存在下での該ポリペプチドの活性の変化は、該ポリペプチドの活性をモジュレートする化合物を標示する。

【０１３６】

更に別の実施様態は、SEQ ID NO:24-46からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列を含む標的ポリヌクレオチドの発現を改変する効果につき、或る化合物をスクリーニングする一方法を提供する。この方法は、(a)この標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを或る化合物に曝露する過程と、(b)この標的ポリヌクレオチドの発現の改変を検出する過程と、(c)可変量のこの化合物の存在下でのこの標的ポリヌクレオチドの発現と、この化合物の不在下での発現とを比較する過程とからなる。

【０１３７】

別の実施様態は、試験化合物の毒性の算定方法を提供する。この方法には、以下の過程

がある。(a)核酸を有する生体サンプルを試験化合物で処理する過程、(b)処理済み生体サンプルの核酸をハイブリダイズする過程。この過程には、次のようなプローブを用いる。(i)SEQ ID NO:20-46からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(ii)SEQ ID NO:24-46からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列との少なくとも90%の同一であるあるいは少なくとも約90%同一である天然ポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、(iii)(i)に相補的な配列を有するポリヌクレオチド、(iv)(ii)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、(v)(i)～(iv)のRNA等価物、からなる群から選択した或るポリヌクレオチドの少なくとも24の連続したヌクレオチド群からなるプローブである。ハイブリダイゼーションは、上記プローブと生体サンプル中の標的ポリヌクレオチドとの間に特異的ハイブリダイゼーション複合体が形成されるような条件下で生じる。上記標的ポリヌクレオチドは、(i)SEQ ID NO:24-46からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列を持つポリヌクレオチド、(ii)SEQ ID NO:24-46からなる群から選択した或るポリヌクレオチド配列との少なくとも９０％または少なくとも約９０％の同一性を有する天然ポリヌクレオチド配列を持つポリヌクレオチド、(iii)(i)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、(iv)(ii)のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、(v)(i)～(iv)のRNA等価物、からなる群から選択する。あるいは標的ポリヌクレオチドは、上記(i)～(v)からなる群から選択したポリヌクレオチド配列の断片を持つ場合がある。毒性の算定方法には更に、以下の過程がある。(ｃ)ハイブリダイゼーション複合体の量を定量する過程と、(ｄ)処理済み生体サンプル中のハイブリダイゼーション複合体の量を、非処理の生体サンプル中のハイブリダイゼーション複合体の量と比較する過程である。処理済み生体サンプル中のハイブリダイゼーション複合体の量の差異が、試験化合物の毒性を示す。

【発明を実施するための最良の形態】

【０１３８】

（本発明の記載について）

タンパク質、核酸および方法について説明するが、その前に、説明した特定の装置、機器、材料および方法に本発明の実施様態が限定されるものではなく、変更され得ることを理解されたい。また、ここで使用する専門用語は特定の実施様態を説明する目的で用いたものであり、本発明の範囲を限定することを意図したものではないことも併せて理解されたい。

【０１３９】

補足請求および明細書中で用いている単数形の「或る」および「その（この）」の表記は、文脈から明らかにそうでないとされる場合を除いて複数のものを指す場合もあることに注意されたい。したがって、例えば「或る宿主細胞」と記されている場合にはそのような宿主細胞が複数あることもあり、「或る抗体」と記されている場合には1個以上の抗体、および、当業者に公知の抗体の等価物などについても言及している。

【０１４０】

本明細書中で用いる全ての技術用語および科学用語は、特に定義されている場合を除き、当業者に一般に理解されている意味と同じ意味を有する。本明細書で説明するものと類似あるいは同等の任意の装置、材料および方法を用いて本発明の実施または試験を行うことができるが、ここでは好適な装置、材料、方法について説明する。本発明で言及する全ての刊行物は、刊行物中で報告されていて且つ本発明の実施様態に関係して用い得る、細胞株、プロトコル、試薬およびベクターについて説明および開示する目的で引用しているものである。本明細書のいかなる開示内容も、本発明が先行技術の効力によってこのような開示に対して先行する権利を与えられていないことを認めるものではない。

【０１４１】

（定義）

用語「REMAP」は、天然、合成、半合成或いは組換え体など全ての種（特にウシ、ヒツジ、ブタ、マウス、ウマ及びヒトを含む哺乳動物）から得られる実質的に精製されたREMAPのアミノ酸配列を指す。

【０１４２】
用語「アゴニスト」は、REMAPの生物学的活性を強めたり、模倣する分子を指す。アゴニストとしては、REMAPと直接に相互作用、あるいはREMAPが関与する生物学的経路の各成分に作用してREMAPの活性をモジュレートする、タンパク質、核酸、糖質、小分子、または任意の他の化合物や組成物があり得る。
【０１４３】
用語「対立遺伝子変異体」は、REMAPをコードする遺伝子の別の形を指す。対立遺伝子変異体は、核酸配列における少なくとも１つの突然変異から作製し得る。また、変容したmRNAまたはポリペプチドを作製し得る。その構造または機能は、変容することもしないこともある。或る遺伝子は、その天然型の対立遺伝子変異体を全く持たない場合もあり、１個以上持つこともある。対立遺伝子変異体を生じさせる通常の突然変異性変化は一般に、ヌクレオチドの自然な欠失、付加または置換に帰するものである。これら各変化は、単独或いは他の変化と共に、所定の配列内で1回若しくは数回生じ得る。
【０１４４】
REMAP をコードする「変異(altered)」核酸配列は、種々のヌクレオチドを欠失、挿入または置換する核酸配列を有し、REMAP と同一またはREMAP の機能的特徴を少なくとも１つ有するポリペプチドを産出する。この定義には、REMAPをコードするポリヌクレオチドにとり正常な染色体の遺伝子座ではない位置での、対立遺伝子変異体群への不適当或いは予期しないハイブリダイゼーションを含み、また、REMAPをコードするポリヌクレオチドの或る特定オリゴヌクレオチドプローブを用いて容易に検出可能な或いは検出困難な多型性を含む。コードされるタンパク質も「変容する／改変される」ことがあり、また、サイレント変化を生じた結果、機能的に等価なREMAPとなるような、アミノ酸残基の欠失、挿入または置換を持ち得る。意図的なアミノ酸置換は、生物学的或いは免疫学的にREMAP の活性が保持される範囲で、残基の、極性、電荷、溶解度、疎水性、親水性、及び／または両親媒性、についての1つ以上の類似性に基づいて成され得る。例えば、負に帯電したアミノ酸にはアスパラギン酸およびグルタミン酸があり、正に帯電したアミノ酸にはリジンおよびアルギニンがある。親水性値が近似した非荷電極性側鎖を持つアミノ酸としては、アスパラギンとグルタミン、およびセリンとトレオニンを含みうる。親水性値が近似した非荷電側鎖を持つアミノ酸としては、ロイシンとイソロイシンとバリン、グリシンとアラニン、およびフェニルアラニンとチロシンを含みうる。
【０１４５】
用語「アミノ酸」および「アミノ酸配列」は、オリゴペプチド、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質配列、あるいはそれらのいずれかの断片を指し、天然分子または合成分子を指し得る。ここで「アミノ酸配列」は天然のタンパク質分子のアミノ酸配列を指すものであり、「アミノ酸配列」及び類似の語は、アミノ酸配列を、列挙したタンパク質分子に関連する完全な本来のアミノ酸配列に限定しようとするものではない。
【０１４６】
「増幅」は、或る核酸配列の付加的複製物を作製する行為に関する。増幅は、ポリメラーゼ連鎖反応法（PCR）技術または当分野でよく知られている他の核酸増幅技術を用いて実行される。
【０１４７】
用語「アンタゴニスト」は、REMAPの生物学的活性を阻害或いは減弱する分子である。アンタゴニストとしては、REMAP と直接相互作用すること、あるいはREMAPが関与する生物学的経路の各成分に作用することによってREMAP の活性をモジュレートする、抗体などタンパク質、anticalin、核酸、糖質、小分子、または任意の他の化合物や組成物があり得る。
【０１４８】
「抗体」の語は、抗原決定基と結合することができる、無傷の免疫グロブリン分子やその断片、例えばFab,、F(ab')2 及びFv断片を指す。REMAPポリペプチドと結合する抗体は、免疫抗原として、無傷のポリペプチド群を用いて、または、当該の小ペプチド群を持つ

断片群を用いて準備できる。動物（マウス、ラット、ウサギ等）を免疫化するために用いるポリペプチドまたはオリゴペプチドは、ＲＮＡの翻訳、または化学合成によって得られるポリペプチドまたはオリゴペプチドに由来し得るもので、所望によりキャリアタンパク質に抱合することも可能である。通常用いられるキャリアであってペプチドと化学結合するものは、ウシ血清アルブミン、サイログロブリン及びスカシガイのヘモシアニン（KLH）等がある。結合その結合ペプチドは、動物を免疫化するために用いる。

【０１４９】

「抗原決定基」の語は、特定の抗体と接触する、分子の領域（即ちエピトープ）を指す。タンパク質またはタンパク質断片を用いて宿主動物を免疫化する場合、タンパク質の多数の領域が、抗原決定基（タンパク質の特定の領域または３次元構造）に特異結合する抗体の産生を誘発し得る。抗原決定基は、抗体への結合において無損傷抗原（即ち免疫応答を誘発するために用いられる免疫原）と競合し得る。

【０１５０】

用語「アプタマー」は、特定の分子標的に結合する核酸またはオリゴヌクレオチドを指す。アプタマーはin vitroでの進化プロセスに由来する(例えば、SELEX(Systematic Evolution of Ligands by EXponential Enrichmentの略、試験管内選択法)、米国特許第5,270,163号に記述)。これは、大規模な組合せライブラリ群から標的特異的アプタマー配列を選択するプロセスである。アプタマーの構成は二本鎖または一本鎖であり、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、ヌクレオチド誘導体または他のヌクレオチド様分子を含み得る。アプタマーのヌクレオチド構成要素は修飾された糖基(例えば、リボヌクレオチドの2'-OH 基が2'-F または 2'-NH_2で置換されている)を有することが可能で、これらの糖基は、例えば、ヌクレアーゼに対する耐性あるいは血中でのより長い寿命など、望む性質を改善しうる。循環系からアプタマーが除去される速度を遅くするために、アプタマーを高分子量キャリアー等の分子に抱合させることができる。アプタマーは、たとえば架橋剤の光活性化によって各々のリガンドと特異的に架橋させることができる（Brody, E.N. および L. Gold (2000) J. Biotechnol. 74:5-13）。

【０１５１】

「intramer」の用語はin vivoで発現されるアプタマーを意味する例えば、ワクシニアウイルスに基づく或るRNA発現系を用いて、白血球の細胞質内で特定のRNAアプタマー類が高レベルに発現されている（Blind, M.他(1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96:3606-3610)。

【０１５２】

「スピーゲルマー（spiegelmer）」の語はＬ-ＤＮＡ、Ｌ-ＲＮＡその他の左旋性ヌクレオチド誘導体またはヌクレオチド様分子を含むアプタマーを指す。左旋性ヌクレオチドを含むアプタマーは、右旋性のヌクレオチドを含む基質に通常作用する天然の酵素による分解に耐性がある。

【０１５３】

用語「アンチセンス」は、或る特定の核酸配列を有するポリヌクレオチドの「センス」（コーディング）鎖との塩基対を形成し得る任意の組成物を指す。アンチセンス組成物としては、DNAや、RNAや、ペプチド核酸（PNA）や、修飾されたバックボーン連結たとえばホスホロチオ酸、メチルホスホン酸またはベンジルホスホン酸などを有するオリゴヌクレオチドや、修飾された糖基たとえば2'-メトキシエチル糖または2'-メトキシエトキシ糖などを有するオリゴヌクレオチドや、あるいは修飾された塩基たとえば5-メチルシトシン、2-デオキシウラシルまたは7-デアザ-2'-デオキシグアノシンなどを有するオリゴヌクレオチドがあり得る。アンチセンス分子は、化学合成または転写など、任意の方法で製造することができる。相補的アンチセンス分子は、細胞に導入されると、細胞が産生した天然核酸配列との塩基対を形成し、二重鎖を形成して転写または翻訳を妨害する。「負」または「マイナス」という表現は、ある参考DNA分子のアンチセンス鎖を意味し、「正」または「プラス」という表現は、ある参考DNA分子のセンス鎖を意味しうる。

【０１５４】

「生物学的に活性」の語は、天然分子の構造的機能、調節機能または生化学的機能を有するタンパク質を指す。同様に、用語「免疫学的に活性」または「免疫原性」は、天然あるいは組換え体のREMAP、合成のREMAPまたはそれらの任意のオリゴペプチドが、適当な動物あるいは細胞の特定の免疫応答を誘発して特定の抗体と結合する能力を指す。

【０１５５】

「相補(的)」または「相補性」の語は、塩基対形成によってアニーリングする2つの一本鎖核酸の間の関係を指す。例えば、配列「5'A-G-T3'」は、相補配列「3'T-C-A5'」と対を形成する。

【０１５６】

「～のポリヌクレオチドを含む（持つ）組成物」または「～のポリペプチドを含む（持つ）組成物」は、所定のポリヌクレオチド配列若しくはポリペプチドを持つ、任意の組成物を指す。この組成物には、乾燥製剤または水溶液が含まれ得る。REMAP をコードまたはREMAP の断片群をコードするポリヌクレオチド群を有する組成物類は、ハイブリダイゼーションプローブとして使用し得る。これらプローブは、凍結乾燥形態で貯蔵でき、また、糖質などの安定化剤と結合させ得る。ハイブリダイゼーションにおいては、塩（例えばNaCl）、界面活性剤（例えばドデシル硫酸ナトリウム；SDS）及びその他の構成要素（例えばデンハート液、粉乳、サケの精子のDNA等）を含む水溶液中にプローブを分散させることができる。

【０１５７】

「コンセンサス配列」は、不要な塩基を分離するためにDNA配列の解析を繰り返し行い、XL-PCRキット（Applied Biosystems,Foster City CA）を用いて５'及び／または３'の方向に伸長され、再度シークエンシングされた核酸配列、またはGELVIEW 断片アセンブリシステム（GCG, Madison, WI）か、あるいはPhrap (University of Washington, Seattle WA)等の断片アセンブリ用のコンピュータプログラムを用いて１つ或いはそれ以上の重複するcDNAやEST、またはゲノムDNA断片からアセンブリされた核酸配列を指す。伸長及びアセンブリの両方を行ってコンセンサス配列を作製する配列もある。

【０１５８】

「保存的なアミノ酸置換」は、置換がなされた時に元のタンパク質の特性を殆ど損なわないと予測されるような置換、即ちタンパク質の構造と特に機能が保存され、そのような置換による大きな変化がない置換を指す。下表は、タンパク質中で元のアミノ酸と置換可能で、保存アミノ酸置換と認められるアミノ酸を示している。

元の残基	保存的な置換
Ala	Gly, Ser
Arg	His, Lys
Asn	Asp、Gln、His
Asp	Asn、Glu
Cys	Ala、Ser
Gln	Asn、Glu、His
Glu	Asp、Gln、His
Gly	Ala
His	Asn、Arg、Gln、Glu
Ile	Leu、Val
Leu	Ile、Val
Lys	Arg、Gln、Glu
Met	Leu、Ile
Phe	His、Met、Leu、Trp、Tyr
Ser	Cys、Thr
Thr	Ser、Val
Trp	Phe、Tyr
Tyr	His、Phe、Trp
Val	Ile、Leu、Thr

【０１５９】
保存アミノ酸置換では通常、(a) 置換領域におけるポリペプチドのバックボーン構造、例えばβシートやα螺旋構造、(b)置換部位における分子の電荷または疎水性、及び／または(c)側鎖の大部分を保持する。
【０１６０】
「欠失」は、結果的に１個若しくは数個のアミノ酸残基またはヌクレオチドが失われてなくなるようなアミノ酸またはヌクレオチド配列における変化を指す。
【０１６１】
「誘導体」の語は、ポリペプチドまたはポリヌクレオチドの化学修飾を指す。例えば、アルキル基、アシル基、ヒドロキシル基またはアミノ基による水素の置換は、ポリヌクレオチドの化学修飾に含まれ得る。ポリヌクレオチド誘導体は、天然分子の生物学的または免疫学的機能を少なくとも１つは保持しているポリペプチドをコードする。ポリペプチド誘導体は、グリコシル化、ポリエチレングリコール化（pegylation）、或いは任意の同様なプロセスであって誘導起源のポリペプチドの、少なくとも１つの生物学的若しくは免疫学的機能を保持するプロセスによって修飾されたポリペプチドである。
【０１６２】
「検出可能な標識」は、測定可能なシグナルを生成することができ、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドに共有結合または非共有結合するようなレポーター分子または酵素を指す。
【０１６３】
「差次的発現」は少なくとも2つの異なったサンプルを比較することによって決められる、増加（上方調節）、あるいは減少（下方調節）、または遺伝子発現またはタンパク発現の欠損を指す。このような比較は例えば、処理済サンプルと不処理サンプル、または病態サンプルと健常サンプルとの間で行われ得る。
【０１６４】
「エキソンシャフリング」は、異なるコード領域（エキソン）の組換えを意味する。1つのエキソンはコードされるタンパク質の1つの構造的または機能的ドメインを代表し得

るため、安定したサブストラクチャー群の新たな組み合わせによって、新しいタンパク質がアセンブリされることが可能であり、新しいタンパク質機能の進化を促進できる。

【０１６５】

「断片」は、REMAP の又はREMAP をコードする或るポリヌクレオチドの固有の部分であって、その親配列（parent sequence）と配列は同一でありうるが親配列より長さが短いものを指す。或る断片は、定義された配列の全長から１ヌクレオチド／アミノ酸残基を差し引いた長さよりも短い長さを有し得る。例えば或る断片は、約5～約1000の連続したヌクレオチドまたはアミノ酸残基を有し得る。プローブ、プライマー、抗原、治療用分子として、或いはその他の目的のために用いられる断片は、少なくとも5、10、15、16、20、25、30、40、50、60、75、100、150、250若しくは５００の連続したヌクレオチド或いはアミノ酸残基長さであり得る。断片は、或る分子の特定領域から優先的に選択し得る。例えば、或るポリペプチド断片は、定義された或る配列内に見られるような或るポリペプチドの最初の２５０または５００アミノ酸（または最初の２５％または５０％）から選択した、或る長さの連続したアミノ酸を持ち得る。これらの長さは明らかに例として挙げているものであり、本発明の実施態様では、配列表、表および図面を含む本明細書が支持する任意の長さであり得る。

【０１６６】

SEQ ID NO:24-46の断片は、例えば、この断片を得たゲノム内の他の配列とは異なる、SEQ ID NO:24-46を特異的に同定する固有のポリヌクレオチド配列の領域を持ちうる。SEQ ID NO:24-46のある断片は、本発明の例えば、ハイブリダイゼーションや増幅技術の１つ以上の実施様態、またはSEQ ID NO:24-46を関連ポリヌクレオチドから区別する類似の方法に有用である。SEQ NO ID:24－46の断片の正確な長さ及び断片に対応するSEQ NO ID:24－46の領域は、断片に対する意図した目的に基づき当業者が慣例的に決定することが可能である。

【０１６７】

SEQ ID NO:1-23の断片はSEQ ID NO:24-46の断片によってコードされている。SEQ ID NO::1-23の断片はSEQ ID NO:1-23を特異的に同定する固有のアミノ酸配列の領域を含む。例えば、SEQ ID NO:1-23の断片は、SEQ ID NO:1-23を特異認識する抗体を産出するための免疫原性ペプチドとして有用である。SEQ ID NO:1-23の断片および断片に対応するSEQ ID NO:1-23の領域の正確な長さは、断片に対する意図した目的に基づき、本明細書に記載されている、あるいは当分野で知られている１つ以上の分析方法を用いて当業者が慣例的に決定することが可能である。

【０１６８】

「完全長」ポリヌクレオチドとは、少なくとも１つの翻訳開始コドン（例えばメチオニン）と、それに続く１オープンリーディングフレームおよび翻訳終止コドンを有する配列である。或る「完全長」ポリヌクレオチド配列は、或る「完全長」ポリペプチド配列をコードする。

【０１６９】

「相同性」の語は、２つ以上のポリヌクレオチド配列または２つ以上のポリペプチド配列の配列類似性、互換性、または配列同一性を意味する。

【０１７０】

ポリヌクレオチド配列に適用される「一致率」または「一致％」の語は、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされた少なくとも２つ以上のポリヌクレオチド配列間で一致する残基の割合を意味する。標準化アルゴリズムは、2配列間のアラインメントを最適化するため、標準化された再現性のある方法で比較対象の2配列内にギャップ群を挿入し得るので、2つの配列をより有意に比較できる。

【０１７１】

ポリヌクレオチド配列間の一致率は、当分野で知られているあるいは本明細書に記載されている１つ以上のコンピュータアルゴリズムまたはプログラムを用いて決定し得る。例えば、一致率は、MEGALIGN version 3.12e配列アラインメントプログラムに組込まれてい

るようなCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトのパラメータを用いて決定できる。このプログラムは、LASERGENE ソフトウェアパッケージ(一組の分子生物学的分析プログラム)(DNASTAR, Madison WI)の一部である。このCLUSTAL Vは、Higgins, D.G. 及び P.M. Sharp (1989) CABIOS 5:151-153、とHiggins, D.G. 他 (1992) CABIOS 8:189-191に記載されている。ポリヌクレオチド配列を２つ１組でアラインメントする際のデフォルトパラメータは、Ktuple=2、gap penalty=5、window=4、「diagonals saved」=4と設定する。デフォルトとして「重みづけされた」残基の重みづけ表を選択する。CLUSTAL Vは、アラインメントされたポリヌクレオチド配列対間の「percent similarity(類似率)」として一致率を報告する。

【０１７２】

あるいは、米国国立バイオテクノロジー情報センター(NCBI)のBasic Local Alignment Search Tool(BLAST)が、一般的に用いられ、且つ、無料で利用可能な用い得る配列比較アルゴリズム一式を提供している(Altschul, S.F. 他（1990）J. Mol. Biol. 215:403-410）。BLASTアルゴリズムは、幾つかの情報源から入手可能であり、メリーランド州ベセスダにあるNCBIおよびインターネット（http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/）からも入手可能である。BLASTソフトウェア一式には様々な配列分析プログラムが含まれており、既知のポリヌクレオチド配列を種々のデータベースから得た別のポリヌクレオチド配列とアラインメントする「blastn」もその１つである。その他にも、２つのヌクレオチド配列をペアワイズで直接比較するために用いる「BLAST 2 Sequences」と称されるツールも利用可能である。「BLAST 2 Sequences」は、http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/bl2.htmlにアクセスして、対話形式で利用ができる。「BLAST 2 Sequences」ツールは、blastn 及び blastp（以下に記載）の両方に用いることができる。BLASTプログラムは、一般的には、ギャップ及び他のパラメータをデフォルト設定に設定して用いる。例えば、２つのヌクレオチド配列を比較するには、デフォルトパラメータに設定した「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12（2000年4月21日）を用いてblastnを実行し得る。デフォルトパラメータの設定例を以下に示す。

【０１７３】

Matrix: BLOSUM62
Reward for match: 1
Penalty for mismatch: -2
Open Gap: 5 and Extension Gap: 2 penalties
Gap x drop-off: 50
Expect: 10
Word Size: 11
Filter: on

【０１７４】

一致率は、ある定義された配列の全長（例えば特定のSEQ IDナンバーで定義された配列）について測定し得る。或いは、より短い長さ、例えば、定義された、より大きな配列から得られた断片（例えば少なくとも20、30、40、50、70、100または200の連続したヌクレオチドの断片）の長さについて一致率を測定してもよい。ここに挙げた長さは単なる例示的なものに過ぎず、表、図および配列リストを含めた本明細書に記載された配列が支持する任意の断片長を用いて、一致率を測定し得る或る長さを説明し得ることを理解されたい。

【０１７５】

高度の同一性を示さない核酸配列が、それにもかかわらず遺伝子コードの縮重が原因で、類似のアミノ酸配列をコードする場合がある。この縮重を利用して核酸配列内で変化を生じさせて、全ての核酸配列が実質上同一のタンパク質をコードするような多数の核酸配列を生成し得ることを理解されたい。

【０１７６】

ポリペプチド配列に用いられる用語「一致率」または「一致性％」とは、標準化された

アルゴリズムを用いてアラインメントされる２つ以上のポリペプチド配列間の一致する残基の百分率のことである。ポリペプチド配列アラインメントの方法は公知である。保存的アミノ酸置換を考慮するアラインメント方法もある。既に詳述したこのような保存的置換は通常、置換部位の電荷および疎水性を保存するので、ポリペプチドの構造を（したがって機能も）保存する。

【０１７７】

ポリペプチド配列間の一致率は、MEGALIGN version 3.12e配列アラインメントプログラムに組込まれているようなCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトのパラメータを用いて決定できる（既に説明したのでそれを参照されたい）。CLUSTAL Vを用いて、ポリペプチド配列をペアワイズアラインメントする際のデフォルトパラメータは、Ktuple=1、gap penalty=3、window=5、「diagonals saved」=5と設定される。PAM250マトリクスが、デフォルトの残基重み付け表として選択される。ポリヌクレオチドのアラインメントと同様に、アラインメントされたポリペプチド配列の対の一致率は、CLUSTAL Vによって「percent similarity（類似性パーセント）」として報告される。

【０１７８】

或いは、NCBI BLASTソフトウェア一式を用いてもよい。例えば、２つのポリペプチド配列をペアワイズで比較する場合、「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12（2000年4月21日）のblastpをデフォルトパラメータに設定して用い得る。デフォルトパラメータの設定例を以下に示す。

【０１７９】

Matrix: BLOSUM62
Open Gap: 11 and Extension Gap: 1 penalties
Gap x drop-off: 50
Expect: 10
Word Size: 3
Filter: on

【０１８０】

一致率は、ある定義されたポリペプチド配列の全長（例えば特定のSEQ IDナンバーで定義された配列）について測定し得る。或いは、より短い長さ、例えば、定義された、より大きなポリペプチド配列から得られた断片（例えば少なくとも15、20、30、40、50、70、または150の連続した残基の断片）の長さについて一致率を測定してもよい。ここに挙げた長さは単なる例示的なものに過ぎず、表、図および配列リストを含めた本明細書に記載された配列が支持する任意の断片長を用いて、一致率を測定し得る或る長さを説明し得ることを理解されたい。

【０１８１】

「ヒト人工染色体（HAC）」は、約６kb（キロベース）～１０MbのサイズのDNA配列を含み得る、染色体の複製、分離及び維持に必要な全ての要素を含む直鎖状の微小染色体である。

【０１８２】

用語「ヒト化抗体」は、もとの結合能力を保持しつつよりヒトの抗体に似せるために、非抗原結合領域のアミノ酸配列が変えられた抗体分子を指す。

【０１８３】

「ハイブリダイゼーション」とは、所定のハイブリダイゼーション条件下で、ある一本鎖ポリヌクレオチドがある相補的な一本鎖と塩基対を形成するアニーリングのプロセスである。特異的ハイブリダイゼーションは、2つの核酸配列が高い相補性を共有することの指標である。特異的ハイブリダイゼーション複合体は許容されるアニーリング条件下で形成され、１回以上の「洗浄」ステップ後もハイブリダイズされたままである。洗浄ステップは、ハイブリダイゼーションプロセスのストリンジェンシーを決定する際に特に重要であり、よりストリンジェントな条件では、非特異結合（すなわち完全には一致しない核酸鎖対間の結合）が減少する。核酸配列のアニーリングに対する許容条件は、当業者が慣例

的に決定できる。許容条件は、どのハイブリダイゼーション実験でも一定でありうるが、洗浄条件は所望のストリンジェンシーを得るように、従ってハイブリダイゼーション特異性も得るように実験によって変更することができる。アニーリングが許容される条件は、例えば、温度が６８℃で、約６×SSC、約１％（w/v）のSDS、並びに約１００μｇ／ｍｌのせん断して変性したサケ精子DNAが含まれる。

【０１８４】

一般に、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは或る程度、洗浄ステップを実行する温度を基準にして表すことができる。このような洗浄温度は通常、所定のイオン強度及びpHにおける特定の配列の融点（Tm）より約５～２０℃低くなるように選択する。このTmは、所定のイオン強度及びpHの下で、完全に一致するプローブに標的配列の５０％がハイブリダイズする温度である。Tmを計算する式および核酸のハイブリダイゼーション条件はよく知られており、Sambrook, J. 他(1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, 1-3巻, Cold Spring Harbor Press, Plainview NYに記載されており、特に2巻の9章を参照されたい。

【０１８５】

本発明のポリヌクレオチド間の高いストリンジェンシーのハイブリダイゼーションでは、約０．２x SSC及び約0.１％のSDSの存在の下、約６８℃で１時間の洗浄過程を含む。或いは、約６５℃、６０℃、５５℃または４２℃の温度で行ってもよい。SSC濃度は、約０．１％のSDS存在下で、約０.１～２×SSCの範囲で変化し得る。通常は、ブロッキング剤を用いて非特異ハイブリダイゼーションを阻止する。このようなブロッキング剤には、例えば、約１００～２００μg/mlの変性サケ精子DNAがある。特定条件下で、例えばRNAとDNAのハイブリダイゼーションでは、有機溶剤、例えば約３５～５０％v/vの濃度のホルムアミドを用いることもできる。洗浄条件の有用なバリエーションは、当業者には自明であろう。ハイブリダイゼーションは、特に高ストリンジェント条件下では、ヌクレオチド間の進化的な類似性を示唆し得る。進化的類似性は、ヌクレオチド群、およびヌクレオチドがコードするポリペプチド群について、或る同様の役割を強く示唆する。

【０１８６】

用語「ハイブリダイゼーション複合体」は、相補的な塩基間の水素結合の形成によって形成された、２つの核酸配列の複合体を指す。ハイブリダイゼーション複合体は、溶解状態で形成し得る(C_0tまたはR_0t解析など)。あるいは、一方の核酸が溶解状態で存在し、もう一方の核酸が固体支持体(例えば紙、膜、フィルタ、チップ、ピンまたはガラススライド、あるいは他の適切な基板であって細胞若しくはその核酸が固定される基板)に固定されているような２つの核酸間に形成され得る。

【０１８７】

用語「挿入」或いは「付加」は、１個以上のアミノ酸残基或いはヌクレオチドがそれぞれ追加されるアミノ酸配列或いはポリヌクレオチド配列の変化を指す。

【０１８８】

「免疫応答」は、炎症、外傷、免疫異常症、伝染性疾患または遺伝性疾患に関連する症状を指し得る。これらの症状は、細胞及び全身の防御系に作用し得る種々の因子、例えばサイトカイン、ケモカイン、その他のシグナル伝達分子の発現によって特徴づけることができる。

【０１８９】

「免疫抗原性断片」とは、哺乳動物等の生命体に導入されると免疫応答を誘発し得るようなREMAPのポリペプチドまたはオリゴペプチド断片である。用語「免疫原性断片」にはまた、本明細書で開示するまたは当分野で既知のあらゆる抗体生産方法に有用な、REMAPのあらゆるポリペプチド断片またはオリゴペプチド断片をも含む。

【０１９０】

用語「マイクロアレイ」は、基板上の複数のポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体またはその他の化合物の構成を指す。

【０１９１】

用語「エレメント」または「アレイエレメント」は、マイクロアレイ上に固有の指定された位置を有する、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体またはその他の化合物を指す。

【０１９２】

用語「調節」は、REMAPの活性の変化を指す。例えば、モジュレートによって、REMAPのタンパク質活性の増減が、あるいは、結合特性またはその他の、生物学的特性、機能的特性あるいは免疫学的特性の変化が生じ得る。

【０１９３】

「核酸」および「核酸配列」の語は、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチドまたはこれらの断片を指す。「核酸」および「核酸配列」の語はまた、ゲノム起源または合成起源のDNAまたはRNAであって一本鎖または二本鎖であるかあるいはセンス鎖またはアンチセンス鎖を表し得るようなDNAまたはRNAや、ペプチド核酸(PNA)や、任意のDNA様またはRNA様物質を指すこともある。

【０１９４】

「機能的に連結した」は、第１の核酸配列と第２の核酸配列が機能的な関係にある状態を指す。例えば、或るプロモーターが或るコード配列の転写または発現に影響を及ぼす場合には、そのプロモーターはそのコード配列に機能的に連結している。機能的に連結したDNA配列群は非常に近接するか連続的に隣接することがあり、また、２つのタンパク質コード領域を結合するために必要な場合は同一リーディングフレーム内にあり得る。

【０１９５】

「ペプチド核酸（PNA）」は、末端がリジンで終わるアミノ酸残基のペプチドのバックボーンに結合した、少なくとも約５ヌクレオチドの長さのオリゴヌクレオチドを含む、アンチセンス分子または抗遺伝子剤を指す。末端のリジンは、この組成に溶解性を与える。PNAは、相補的一本鎖DNAまたはRNAに優先的に結合して転写の伸長を停止するものであり、ポリエチレングリコール化して細胞におけるPNAの寿命を延長し得る。

【０１９６】

REMAP の「翻訳後修飾」には、脂質化、グリコシル化、リン酸化、アセチル化、ラセミ化、蛋白分解性切断及びその他の当分野で既知の修飾が含まれ得る。 これらのプロセスは、合成或いは生化学的に生じ得る。生化学的修飾は、REMAPの酵素環境に依存し、細胞の種類によって異なることとなる。

【０１９７】

「プローブ」とは、同一核酸、対立遺伝子核酸、または関連核酸の検出に用いる、REMAPやそれらの相補配列、またはそれらの断片をコードする核酸を指す。プローブは、単離されたオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドであって、検出可能な標識またはレポーター分子に接着した配列である。典型的な標識には、放射性アイソトープ、リガンド、化学発光試薬および酵素がある。「プライマー」は、短い核酸、通常はDNAオリゴヌクレオチドであり、相補的塩基対を形成することで標的ポリヌクレオチドにアニーリングされ得る。プライマーは次に、DNAポリメラーゼ酵素によって標的DNA鎖に沿って伸長し得る。プライマー対は、例えばポリメラーゼ連鎖反応(PCR)による、核酸の増幅(および同定)に用い得る。

【０１９８】

本発明に用いるようなプローブ及びプライマーは通常、既知の配列の、少なくとも15の連続したヌクレオチドを含んでいる。特異性を高めるため、長めのプローブおよびプライマー、例えば開示した核酸配列の少なくとも２０、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００または少なくとも１５０の連続したヌクレオチドからなるようなプローブおよびプライマーも用い得る。これよりもかなり長いプローブおよびプライマーもある。表、図面および配列リストを含む本明細書が支持する、任意の長さのヌクレオチドを用い得るものと理解されたい。

【０１９９】

プローブ及びプライマーの調製及び使用方法については、Sambrook, J. 他 (1999) Mol

ecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, 1-3巻, Cold Spring Harbor Press, Plainview NY)、Ausubel, F.M. 他, (1999) Short Protocols in Molecular Biology, 第4版、John Wiley & Sons, New York NY)、及び Innis,M. 他 (1990) PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications Academic Press, San Diego CA) 等を参照されたい。PCRプライマー対は、その目的のためのコンピュータプログラム、例えばPrimer (Version 0.5, 1991, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge MA) を用いるなどして既知の配列から得ることができる。

【０２００】

プライマーとして用いるオリゴヌクレオチドの選択は、そのような目的のために本技術分野でよく知られているソフトウェアを用いて行う。例えばOLIGO 4.06ソフトウェアは、各１００ヌクレオチドまでのPCRプライマー対の選択に有用であり、オリゴヌクレオチドおよび、最大５,０００までの大きめのポリヌクレオチドであって３２キロベースまでのインプットポリヌクレオチド配列から得た配列を分析するのにも有用である。類似のプライマー選択プログラムには、拡張能力のための追加機能が組込まれている。例えば、Prim OUプライマー選択プログラム(テキサス州ダラスにあるテキサス大学南西部医療センターのゲノムセンターから一般向けに入手可能)は、メガベース配列から特定のプライマーを選択することが可能であり、したがってゲノム全体の範囲でプライマーを設計するのに有用である。Primer3プライマー選択プログラム（Whitehead Institute/MIT Center for Genome Research（マサチューセッツ州ケンブリッジ）より入手可能）によって、ユーザーは、プライマー結合部位として避けたい配列を指定できる「非プライミングライブラリ（mispriming library）」を入力できる。Primer3は特に、マイクロアレイのためのオリゴヌクレオチドの選択に有用である(後二者のプライマー選択プログラムのソースコードは、それぞれの情報源から得てユーザー固有のニーズを満たすように修正し得る)。PrimerGenプログラム（英国ケンブリッジ市の英国ヒトゲノムマッピングプロジェクト-リソースセンターから一般向けに入手可能）は、多数の配列アラインメントに基づいてプライマーを設計し、それによって、アラインメントされた核酸配列の最大保存領域または最小保存領域のいずれかとハイブリダイズするようなプライマーの選択を可能にする。従って、このプログラムは、固有であって保存されたオリゴヌクレオチド及びポリヌクレオチドの断片の同定に有用である。上記選択方法のいずれかによって同定したオリゴヌクレオチドおよびポリヌクレオチド断片は、ハイブリダイゼーション技術において、例えばPCRまたはシークエンシングプライマーとして、マイクロアレイエレメントとして、あるいは核酸のサンプルにおいて完全または部分的相補的ポリヌクレオチドを同定する特異プローブとして有用である。オリゴヌクレオチドの選択方法は、上記の方法に限定されるものではない。

【０２０１】

本明細書における「組換え核酸」は天然の配列ではなく、2つ以上の配列の離れたセグメントを人工的に組み合わせた核酸である。この人為的組合せはしばしば化学合成によって達成するが、より一般的には核酸の単離セグメントの人為的操作によって、例えばSambrookの文献(前出)に記載されているような遺伝子工学的手法によって達成する。組換え核酸の語は、単に核酸の一部が付加、置換または欠失により改変された核酸も含む。しばしば組換え核酸には、プロモーター配列に機能的に連結した核酸配列が含まれる。このような組換え核酸は、例えばある細胞を形質転換するために使用されるベクターの一部と成し得る。

【０２０２】

あるいはこのような組換え核酸は、ウイルスベクターの一部と成すことができ、ベクターは例えばワクシニアウイルスに基づくものであり得る。そのようなベクターは哺乳類に接種され、その組換え核酸が発現されて、その哺乳類内で防御免疫応答を誘導するように使用することができる。

【０２０３】

「調節因子」は、通常は遺伝子の非翻訳領域に由来する核酸配列であり、エンハンサー

、プロモーター、イントロン及び５'及び３'の非翻訳領域（UTR）を含む。調節エレメントは、転写、翻訳またはRNA安定性を制御する宿主タンパク質またはウイルスタンパク質と相互作用する。

【０２０４】

「レポーター分子」は、核酸、アミノ酸または抗体の標識に用いられる化学的または生化学的な部分である。レポーター分子には、放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、発色剤、基質、補助因子、阻害因子、磁気粒子およびその他の当分野で既知の成分がある。

【０２０５】

DNA分子に対する「RNA等価物」は、基準となるDNA分子と同じ直鎖の核酸配列から構成されるが、全ての窒素性塩基のチミンがウラシルで置換され、糖鎖のバックボーンがデオキシリボースではなくリボースからなる。

【０２０６】

用語「サンプル」は、その最も広い意味で用いられている。REMAP、REMAPをコードする核酸群、またはその断片群を含むと推定されるサンプルとしては、体液と、細胞や細胞から単離した染色体や細胞内小器官（オルガネラ）や膜からの抽出物と、細胞と、溶液中に存在するまたは基板に固定されたゲノムDNA、RNA、cDNAと、組織と、組織プリントなどがあり得る。

【０２０７】

用語「特異的結合」及び「特異的に結合する」は、タンパク質若しくはペプチドと、アゴニスト、抗体、アンタゴニスト、小分子、若しくは任意の天然若しくは合成の結合組成物との間の相互作用を指す。この相互作用は、タンパク質の特定の構造（例えば抗原決定基即ちエピトープ）であって結合分子が認識するものが存在するか否かに依存している。例えば、抗体がエピトープ「Ａ」に対して特異的である場合、遊離した標識Ａ及びその抗体を含む反応において、エピトープＡ（つまり遊離した、標識されていないＡ）を含むポリペプチドの存在が、抗体に結合する標識されたＡの量を低減させる。

【０２０８】

用語「実質的に精製された」は、自然の環境から取り除かれてから、単離或いは分離された核酸配列或いはアミノ酸配列であって、自然に結合している組成物が少なくとも約６０％除去されたものであり、好ましくは約７５％以上の除去、最も好ましくは約９０％以上除去されたものを指す。

【０２０９】

「置換」とは、一つ以上のアミノ酸またはヌクレオチドをそれぞれ別のアミノ酸またはヌクレオチドに置き換えることである。

【０２１０】

用語「基板」は、任意の好適な固体或いは半固体の支持物を指し、膜及びフィルター、チップ、スライド、ウエハ、ファイバー、磁気または非磁気ビーズ、ゲル、チューブ、プレート、ポリマー、微小粒子、毛細管が含まれる。基板は、ウェル、溝、ピン、チャネル、孔など、様々な表面形態を有することができ、基板表面にはポリヌクレオチドやポリペプチドが結合する。

【０２１１】

「転写イメージ(transcript image)」または「発現プロファイル（プロフィール）」は、所定条件下での所定時間における特定の細胞の種類または組織による集合的遺伝子発現のパターンを指す。

【０２１２】

「形質転換(transformation)」とは、外来DNAが受容細胞に導入されるプロセスのことである。形質転換は、本技術分野で知られている種々の方法に従って自然条件または人工条件下で生じ得るものであり、外来性の核酸配列を原核宿主細胞または真核宿主細胞に挿入する、任意の既知の方法を基にし得る。形質転換の方法は、形質転換する宿主細胞の種類によって選択する。限定するものではないが形質転換方法には、バクテリオファージあるいはウイルス感染、電気穿孔法（エレクトロポレーション）、熱ショック、リポフェク

ションおよび微粒子銃を用いる方法がある。「形質転換された細胞」には、導入されたDNAが自律的に複製するプラスミドとして或いは宿主染色体の一部として複製可能である安定的に形質転換された細胞が含まれる。さらに、限られた時間に一過的に導入DNA若しくは導入RNAを発現する細胞も含まれる。

【０２１３】

ここで用いる「遺伝形質転換生物体(transgenic organism)」とは任意の生物体であり、限定するものではないが動植物を含み、生物体の１個以上の細胞が、ヒトの関与によって、例えば本技術分野でよく知られているトランスジェニック(transgenic)技術によって導入された異種核酸を有する。核酸の細胞への導入は、直接または間接的に、細胞の前駆物質に導入することによって、計画的な遺伝子操作によって、例えば微量注射法によって或いは組換えウイルスでの感染によって行う。別の実施様態では、核酸の導入は組換えウイルスベクター、例えばレンチウイルスベクターを感染させて成し得る(Lois, C. 他 (2002) Science 295:868-872)。遺伝子操作の語は、古典的な交雑育種あるいはin vitro受精を指すものではなく、組換えDNA分子の導入を指す。本発明に基づいて予期される遺伝形質転換生物体には、バクテリア、シアノバクテリア、真菌および動植物がある。本発明の単離されたDNAは、本技術分野で知られている方法、例えば感染、形質移入、形質転換またはトランス接合によって宿主に導入することができる。本発明のDNAをこのような生物体に移入する技術はよく知られており、前出のSambrook 他 (1989)等の参考文献に記載されている。

【０２１４】

特定の核酸配列の「変異体」は、核酸配列１本全部の長さに対して特定の核酸配列と少なくとも４０％の相同性を有する核酸配列であると定義する。 その際、デフォルトパラメータに設定した「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9（1999年5月7日）を用いてblastnを実行する。このような核酸対は、所定の長さに対して、例えば少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の相同性を示し得る。或る変異体は、例えば「対立遺伝子」変異体（前述）、「スプライス」変異体、「種」変異体または「多型性」変異体として記載し得る。スプライス変異体は参照分子とかなりの相同性を有し得るが、mRNAプロセッシング中のエキソンの選択的スプライシングによって通常、より多くまたはより少数のヌクレオチドを有することになる。対応するポリペプチドは、追加機能ドメイン群を有するか、あるいは参照分子には存在するドメイン群が欠落していることがある。種変異体は、種によって異なるポリヌクレオチドである。結果的に生じるポリペプチドは通常、相互にかなりのアミノ酸相同性を有する。多型性変異体は、所与の種の個体間で特定の遺伝子のポリヌクレオチド配列が異なる。多型変異配列はまた、ポリヌクレオチド配列の１つのヌクレオチドが異なる「１塩基多型性」（SNP）も含み得る。SNPの存在は、例えば特定の集団、病状または病状性向を示し得る。

【０２１５】

特定のポリペプチド配列の「変異体」は、ポリペプチド配列の１本の長さ全体で特定のポリペプチド配列に対して少なくとも４０％の相同性を有するポリペプチド配列として定義される。定義づけには、デフォルトパラメータに設定した「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9（1999年5月7日）を用いてblastpを実行する。このようなポリペプチド対は、そのポリペプチドの一方の所定の長さに対して、例えば少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上の配列同一性を示し得る。

【０２１６】

（発明）

本発明の様々な実施態様は新規のヒト受容体および膜結合タンパク質（REMAP）、REMAPをコードするポリヌクレオチドと、これらの組成物を利用した細胞増殖異常、自己免疫／炎症性疾患、腎疾患、神経疾患、心血管障害、代謝障害、発達障害、内分泌疾患、筋疾患、胃腸疾患、脂質代謝異常および輸送障害およびウイルス感染症の診断、治療、あるいは

予防に関する。

【０２１７】

表１は、本発明の完全長ポリヌクレオチドおよびポリペプチド実施様態の命名の概略である。各ポリヌクレオチドおよびその対応するポリペプチドは、１つのIncyteプロジェクト識別番号(Incyteプロジェクト ID)に相関する。各ポリペプチド配列は、ポリペプチド配列識別番号（ポリペプチドSEQ ID NO:）とIncyteポリペプチド配列番号（Incyteポリペプチド ID）によって表示した。各ポリヌクレオチド配列は、ポリヌクレオチド配列識別番号（ポリヌクレオチドSEQ ID NO:）とIncyteポリヌクレオチドコンセンサス配列番号（Incyteポリヌクレオチド ID）によって表示した。列６は、ポリペプチド実施態様とポリヌクレオチド実施態様とに対応する物理的完全長クローン群のIncyte ID番号を示す。完全長クローンは、列３に示すポリペプチドに対して少なくとも95%の配列同一性を持つポリペプチドをコードする。

【０２１８】

表２は、GenBankタンパク質（genpept）データベースに対するBLAST分析によって同定されたような、本発明のポリペプチドとの相同性を有する配列を示している。列１および列２はそれぞれ、本発明の各ポリペプチドに対するポリペプチド配列識別番号（ポリペプチド SEQ ID NO:）と、それに対応するIncyteポリペプチド配列番号（Incyteポリペプチド ID）を示す。列３は、最も近いGenBank相同体のGenBank識別番号（GenBank ID NO:）を示す。列４は、各ポリペプチドとその相同体１つ以上との間の一致に関する確率スコアを示す。列５は、該当箇所には適当な引用を示すとともにGenBank相同体１つ以上の注釈（annotation）を示し、これら全ては特に引用を以って本明細書の一部とする。

【０２１９】

表３は、本発明のポリペプチドの多様な構造的特徴を示す。列１および列２はそれぞれ、本発明の各ポリペプチドに対するポリペプチド配列識別番号（SEQ ID NO:）と、それに対応するIncyteポリペプチド配列番号（Incyteポリペプチド ID）を示す。列３は、各ポリペプチドのアミノ酸残基数を示す。列４および列５はそれぞれ、GCG配列分析ソフトウェアパッケージのMOTIFSプログラム(Genetics Computer Group, Madison WI)によって決定された、リン酸化およびグリコシル化の可能性のある部位を示す。列６は、シグネチャ配列、ドメイン、およびモチーフを含むアミノ酸残基を示す。列７は、タンパク質の構造／機能の分析のための分析方法を示し、該当箇所には更に、分析方法に利用した検索可能なデータベースを示す。

【０２２０】

表２及び表３は共に、本発明の各々のポリペプチドの特性を要約しており、それらの特性が請求の範囲に記載されたポリペプチドが受容体および膜結合タンパク質であることを確立している。例えば、SEQ ID NO:1は、I108 残基からP348残基までニワトリのChT1 (GenBank ID g433593) と４６％の同一性を有することがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって確認された（表2参照）。BLAST確率スコアは1e-70であり、これは観測されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SEQ ID NO:1はまた、免疫グロブリンドメインを有するが、 これは、隠れマルコフモデル（HMM）を基にした保存されたタンパク質ファミリードメインのPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された（表3参照）。さらなるBLAST分析のデータは、SEQ ID:１がChT1 相同体であるさらなる確証的証拠を提供する(ChT1 は免疫グロブリンスーパファミリのメンバーである)。また他の例として、SEQ ID NO:3はM562 残基からC641残基まで上皮成長因子受容体関連タンパク質(GenBank ID g178252) と８７％同一であることがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって示された（表2参照）。BLAST確率スコアは5e-38であり、これは観測されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SEQ ID NO:3はまた、１つのrhomboidファミリードメインを有するが、これは、隠れマルコフモデル（HMM）を基にした保存されたタンパク質ファミリードメインのPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された（表3参照）。TMHMMER 解析からのデータは、SEQ ID: 3 が膜内在性タンパク質、特に上皮成長因

子受容体関連タンパク質である、更に確証的証拠を提供する。他の実施例のいて、SEQ ID:５はM1残基からI1168残基までVPS10 ドメイン受容体SorCS (GenBank ID g7715916) のスプライス変異体であるヒトSorCSbに93%同一であることがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって確認された（表2参照）。BLAST確率スコアは0.0であるが、これは観測されたポリペプチド配列が偶然に得られる確率を示す。SEQ ID NO:5はまた、BNRリピートと PKDドメインを有するが、 これは、隠れマルコフモデル（HMM）を基にした保存されたタンパク質ファミリードメインのPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された（表3参照）。BLAST_PRODOM 分析から得たデータは、SEQ ID NO:5がVPS10含有受容体であることを裏づける証拠を更に提供する。また他の例として、SEQ ID NO:7は、S2残基からN232残基まで、ヒトMS4A8B タンパク質(GenBank ID g13649390) と38%同一であることがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって示された（表2参照）。BLAST確率スコアは1.2e-28であり、これは観察されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。MS4A8B は造血細胞特異的タンパク質HTm4であるB細胞特異的抗原CD20に関連するタンパク質の或るファミリのメンバーであり、高親和性IgE受容体β鎖(FcvarepsilonRIbeta)である。すべてのファミリメンバーは少なくとも四つの潜在的膜貫通ドメインを有しており、これらはN末端とC末端細胞質ドメインを持ち、従って、その名称は膜貫通４A遺伝子ファミリである(Liang 他(2001) Genomics 72 (2), 119-127)。MOTIFS 解析および追加のBLAST 解析よりのデータは、SEQ ID NO:7が膜結合タンパク質であることを更に確証する証拠を提供する。また他の例として、SEQ ID NO:10はT27残基からN304残基まで、ラットのニューロピリン-2 (GenBank ID g2367641) と30%同一であることがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって示された（表2参照）。BLAST確率スコアは2.9e-23であり、これは保存されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SEQ ID NO:10はまた、CUB細胞外ドメインと低密度リポタンパク質受容体ドメインを有することが、隠れマルコフモデル（HMM）を基にした保存されたタンパク質ファミリードメインのPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して判定された。BLOCKS のデータおよび追加のBLAST解析もまたこれらの同定を支持している(表3参照)。また他の例として、SEQ ID NO:11はM1残基からA2214残基まで、ラットのMunc 13-3 (GenBank ID g1763306) と91%同一であることがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって示された（表2参照）。BLAST確率スコアは0.0であるが、これは観測されたポリペプチド配列が偶然に得られる確率を示す。SEQ ID NO:11はまた、C2ドメインとホルボールエステル/ジアシルグリセロール結合(C1)ドメインを有することが、隠れマルコフモデル（HMM）を基にした保存されたタンパク質ファミリードメインのPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された（表3参照）。BLAST、MOTIFS、及びPROFILESCAN解析よりのデータは、SEQ ID NO:11 が膜の輸送(情報交換)に関与するタンパク質である、さらに実証的な証拠を提供する。別の例においてSEQ ID NO:13は、M1残基からS381残基まで、Synip（マウスシンタキシン4-相互作用性タンパク質）(GenBank ID g5453324) に60%同一であるとBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)で判定された（表2参照）。BLAST確率スコアは3.1e-112であり、これは観察されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SEQ ID NO:13はまた、PDZ (DHR または GLGF) ドメインを有するが、 これは、隠れマルコフモデル（HMM）を基にした保存されたタンパク質ファミリードメインのPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一致を検索して決定された（表3参照）。BLIMPS及び追加のBLAST 解析よりのデータは、SEQ ID NO:13 がシンタキシン4-相互作用性タンパク質 である、さらに実証的な証拠を提供する。また他の例として、SEQ ID NO:15はL15残基からL３２７残基まで、CD68（ヒト膜貫通糖タンパク質） (GenBank ID g298665) と99%同一であることがBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)によって示された（表2参照）。BLAST確率スコアは4.4e-168であり、これは観察されたポリペプチド配列アラインメントが偶然に得られる確率を示している。SEQ ID NO:15はまた、１つのヒトのリソソーム関連膜糖タンパク質(Lamp)ドメインを有するが、これは、隠れマルコフモデル（HMM）を基にした保存されたタンパク質ファミリードメインのPFAMデータベースにおいて、統計的に有意な一

致を検索して決定された（表3参照）。BLIMPS、MOTIFS、及び他のBLAST 解析よりのデータは、SEQ ID NO:15 が膜貫通糖タンパク質である、さらに実証的な証拠を提供する。SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8-9 、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14, およびSEQ ID NO:16-23は同様にして解析し、注釈付けをされた。SEQ ID NO:1-23の解析用のアルゴリズム及びパラメータを表７に記載した。

【０２２１】

表４に示すように、完全長ポリヌクレオチドの具体例は、cDNA配列またはゲノムDNA由来のコード（エキソン）配列を用いて、あるいはこれら２種類の配列を任意に組み合わせてアセンブリした。列１は本発明の各ポリヌクレオチドに対するポリヌクレオチド配列識別番号（ポリヌクレオチドSEQ ID NO）および対応するIncyteポリヌクレオチドコンセンサス配列番号（Incyte ID）、および塩基対の各ポリヌクレオチド配列の長さを示している。列２は、完全長ポリヌクレオチド実施態様のアセンブリに用いたcDNA配列および／またはゲノム配列の、また、例えばSEQ ID NO:24-46を同定するため、或いはSEQ ID NO:24-46と、関連するポリヌクレオチド群とを区別するためのハイブリダイゼーション技術または増幅技術に有用なポリヌクレオチドの断片の開始ヌクレオチド（５'）位置および終了ヌクレオチド（３'）位置を示す。

【０２２２】

表４の列２で記述されたポリヌクレオチド断片は、具体的にはたとえば組織特異的なcDNAライブラリまたはプールされたcDNAライブラリに由来するIncyte cDNAを指す場合がある。或いは列２に記載したポリヌクレオチド断片は、完全長ポリヌクレオチドのアセンブリに寄与したGenBank cDNAまたはESTを指す場合もある。さらに、列2のポリヌクレオチド断片は、ENSEMBL（The Sanger Centre、英国ケンブリッジ）データベースから由来した配列（即ち「ENST」命名を含む配列）を同定し得る。或いは、列2で記述されたポリヌクレオチド断片は、NCBI RefSeq Nucleotide Sequence Records データベースから由来する場合もあり（即ち「NM」または「NT」の命名を含む配列）、またNCBI RefSeq Protein Sequence Recordsから由来する場合もある（即ち「NP」の命名を含む配列）。または列2のポリヌクレオチド断片は、「エキソンスティッチング（exon-stitching）」アルゴリズムにより結び合わせたcDNA及びGenscan予想エキソンの両方のアセンブリ体を意味する場合がある。例えば、FL_XXXXXX_N_1_N_2_YYYYY_N_3_N_4 と同定されるポリヌクレオチドは、アルゴリズムが適用される配列のクラスターの識別番号がXXXXXXであり、アルゴリズムにより生成される予測の番号がYYYYY であり、（もし存在すれば）$N_{1,2,3..}$が解析中に手動で編集された可能性のある特定のエキソンであるような「縫合された(stitched)」配列である(実施例５参照)。または、列2のポリヌクレオチド断片は「エキソンストレッチング（exon-stretching）」アルゴリズムにより結び合わせたエキソンのアセンブリ体を指す場合もある。例えば、FLXXXXXX_gAAAAA_gBBBBB_1_Nとして同定されるポリヌクレオチド配列は、「ストレッチされた」配列である。XXXXXXはIncyteプロジェクト識別番号、gAAAAAは「エキソンストレッチング」アルゴリズムを適用したヒトゲノム配列のGenBank識別番号、gBBBBBは一番近いGenBankタンパク質相同体のGenBank識別番号またはNCBI RefSeq 識別番号であり、Nは特定のエキソンを指す（実施例５を参照）。あるRefSeq配列が「エキソンストレッチング」アルゴリズムのためのタンパク質相同体として使用された場合では、RefSeq識別子（「NM」、「NP」、または「NT」によって表される）が、GenBank識別子（即ち、gBBBBB）の代わりに使用される場合もある。

【０２２３】

あるいは、接頭コードは手作業で編集されたか、ゲノムDNA配列から予測されたか、または配列解析方法の組み合わせから由来している構成配列を同定する。次の表は構成配列の接頭コードと、接頭コードに対応する同じ配列の分析方法の例を列記する(実施例４と５を参照)。

接頭コード	解析タイプやプログラムの例
GNN、GFG、ENST	例えば、GENSCAN (Stanford University, CA, USA) またはFGENES (Computer Genomics Group, The Sanger Centre, Cambridge, UK)を用いた、ゲノム配列群からのエキソン予測
GBI	手動で編集された、ゲノム配列群の解析
FL	スティッチまたはストレッチゲノム配列(実施例５参照)
INCY	EST配列群の、ゲノムへのマッピングからの、完全長転写物とエキソンとの予想。エキソン群と生じる転写物とを予測するために、ゲノム位置とEST構成とのデータが組み合わされる。

【０２２４】
場合によっては、最終コンセンサスポリヌクレオチド配列を確認するために、表４に示すような配列の適用範囲と重複するIncyte cDNA適用範囲が得られたが、該当するIncyte cDNA識別番号は示さなかった。

【０２２５】
表５は、Incyte cDNA配列を用いてアセンブリされた完全長ポリヌクレオチドのための代表的なcDNAライブラリを示している。代表的なcDNAライブラリとはIncyte cDNAライブラリであり、これは、最も頻繁にはIncyte cDNA配列群によって代表されるが、これら配列は、上記のポリヌクレオチドをアセンブリおよび確認するために用いられた。cDNAライブラリを作製するために用いた組織およびベクターを表５に示し、表６で説明している。

【０２２６】
本発明はまた、REMAP の変異体も含む。好適なREMAP 変異体は、REMAP の機能的或いは構造的特徴の少なくとも１つを有し、かつ、REMAP アミノ酸配列に対して少なくとも約８０％のアミノ酸配列同一性、或いは少なくとも約９０％のアミノ酸配列同一性、更には少なくとも約９５％のアミノ酸配列同一性を有する変異体である。

【０２２７】
種々の実施態様もまた、REMAPをコードするポリヌクレオチドをも含む。特定の実施例において、本発明は、REMAPをコードするSEQ ID NO:24-46からなる群から選択した配列を含むポリヌクレオチド配列を含む。SEQ NO ID:24-46のポリヌクレオチド配列は、配列表に示すように等価RNA配列を有しているが、窒素塩基チミンの出現はウラシルに置換され、糖のバックボーンはデオキシリボースではなくリボースから構成されている。

【０２２８】
本発明はまた、REMAPをコードするポリヌクレオチドの変異体を含む。詳細には、このような変異体ポリヌクレオチドは、REMAPをコードするポリヌクレオチドとの、少なくとも約70%のポリヌクレオチド配列同一性、あるいは少なくとも約85%のポリヌクレオチド配列同一性、更には少なくとも約95%ものポリヌクレオチド配列同一性を持つこととなる。本発明の或る実施態様では、SEQ ID NO:24-46からなる群から選択されたアミノ酸配列と少なくとも約70%、或いは少なくとも約85%、または少なくとも約95%ものポリヌクレオチド配列同一性を有するようなSEQ ID NO:24-46からなる群から選択された配列を有するポリヌクレオチド配列の変異配列を含む。上記の任意のポリヌクレオチドの変異体は、

REMAPの機能的若しくは構造的特徴を少なくとも１つ有するアミノ酸配列をコードし得る。

【０２２９】

更に別の例では、本発明の或るポリヌクレオチド変異体はREMAPをコードするポリヌクレオチドのスプライス変異配列である。或るスプライス変異体はREMAPをコードするポリヌクレオチドとの顕著な配列同一性を持つ部分複数を有し得るが、mRNAプロセッシング中のエキソン群の選択的スプライシングによって生ずる、配列の数ブロックの付加または欠失により、通常、より多数またはより少数のヌクレオチドを有することになる。或るスプライス変異体には、約70％未満、または約60％未満、あるいは約50％未満のポリヌクレオチド配列同一性が、REMAPをコードするポリヌクレオチドとの間で全長に渡って見られるが、このスプライス変異体の幾つかの部分には、REMAPをコードするポリヌクレオチドの各部分との、少なくとも約70％、あるいは少なくとも約85％、または少なくとも約95％、なおまたは100％の、ポリヌクレオチド配列同一性を有することとなる。例えば、SEQ ID NO:30 の配列を含むポリヌクレオチドおよびSEQ ID NO:46の配列を含むポリヌクレオチドは互いにスプライス変異体であり、またSEQ ID NO:31 の配列を含むポリヌクレオチドとSEQ ID NO:32の配列を含むポリヌクレオチドは互いにスプライス変異体である。上記のスプライス変異体は何れも、REMAPの機能的或いは構造的特徴の少なくとも１つを有する或るポリペプチドをコードし得る。

【０２３０】

遺伝暗号の縮重により作り出され得るREMAPをコードする種々のポリヌクレオチド配列には、自然発生する任意の既知の遺伝子のポリヌクレオチド配列と最小の類似性しか有しないものも含まれることを、当業者は理解するであろう。したがって本発明には、可能コドン選択に基づく組合せの選択によって産出し得るあらゆる可能なポリヌクレオチド配列のバリエーションを網羅し得る。これらの組み合わせは、天然REMAPのポリヌクレオチド配列に適用される標準的なトリプレット遺伝暗号を基に作られる。このような全ての変異が明確に開示されていると考慮されたい。

【０２３１】

REMAP とその変異体とをコードするポリヌクレオチドは一般に、好適に選択されたストリンジェンシー条件下で天然REMAP のポリヌクレオチドとハイブリダイズ可能であるが、非天然コドン群を含めるなどの実質的に異なるコドン使用を有するREMAP 或いはその誘導体をコードするポリヌクレオチドを作り出すことは、有益であり得る。宿主が特定コドンを利用する頻度に基づいて、特定の真核宿主または原核宿主に発生するペプチドの発現率を高めるようにコドンを選択し得る。コードされるアミノ酸配列群を改変せずに、REMAPとその誘導体群とをコードするヌクレオチド配列を実質的に改変する別の理由の例として、例えば天然配列から作られる転写物より長い半減期など、より好ましい特性を持つRNA転写物群の産生がある。

【０２３２】

本発明にはまた、REMAP とその誘導体とをコードする、ポリヌクレオチド群またはそれらの断片の、完全に合成化学による作製も含む。作製後、当分野で周知の試薬を用いて、この合成ポリヌクレオチドを任意の様々な入手可能な発現ベクター及び細胞系中に挿入し得る。更に、合成化学を用いてREMAP またはその任意の断片をコードする或るポリヌクレオチドに突然変異を誘導し得る。

【０２３３】

更に本発明の実施態様には、種々のストリンジェントな条件下で、請求項に記載されたポリヌクレオチド配列、特に、SEQ ID NO:24-46及びそれらの断片に示される配列を有するポリヌクレオチドとハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド配列が含まれる(Wahl, G.M.及びS.L. Berger (1987) Methods Enzymol. 152:399-407; および Kimmel. A.R. (1987) Methods Enzymol. 152:507-511)。アニーリングおよび洗浄条件を含むハイブリダイゼーションの条件は、「定義」に記載した。

【０２３４】

DNAシークエンシングの方法は当分野では公知であり、本発明のいずれの実施例もDNAシークエンシング方法を用いて実施可能である。DNAシークエンシング方法には酵素を用い得る。例えばDNAポリメラーゼ１のクレノウ断片、SEQUENASE（US Biochemical, Cleveland OH）、Taqポリメラーゼ（Applied Biosystems）、熱安定性T7ポリメラーゼ（Amersham Biosciences, Piscataway NJ）を用い得る。あるいは、例えばELONGASE増幅システム（Invitrogen, Carlsbad CA）において見られるように、ポリメラーゼと校正エキソヌクレアーゼとを併用し得る。好適には、MICROLAB2200液体転移システム（Hamilton, Reno, NV）、PTC200サーマルサイクラー（MJ Research, Watertown MA）およびABI CATALYST 800サーマルサイクラー（Applied Biosystems）などの装置を用いて配列の準備を自動化する。次に、ABI 373 或いは 377 DNAシークエンシングシステム（Applied Biosystems）、MEGABACE 1000 DNAシークエンシングシステム（Amersham Biosciences）または当分野で周知の他の方法を用いてシークエンシングを行う。結果として得られた配列を当分野でよく知られている種々のアルゴリズムを用いて分析する(Ausubel 他、前出、第7章; Meyers, R. A. (1995) Molecular Biology and Biotechnology, Wiley VCH, New York NY、856-853ページ）。

【０２３５】

当分野で周知の、PCR法をベースにした種々の方法と、部分的ヌクレオチド配列とを利用して、REMAP をコードする核酸を伸長し、プロモーターや調節エレメントなど、上流にある配列を検出し得る。例えば、使用し得る方法の１つである制限部位PCR法は、ユニバーサルプライマー及びネステッドプライマーを用いてクローニングベクター内のゲノムDNAから未知の配列を増幅する方法である（Sarkar, G. (1993) PCR Methods Applic 2:318-322）。別の方法にインバースPCR法があり、これは広範な方向に伸長させたプライマーを用いて環状化した鋳型から未知の配列を増幅する方法である。鋳型は、既知のゲノム遺伝子座及びその周辺の配列からなる制限酵素断片から得る（Triglia, T.他 (1988) Nucleic Acids Res 16:8186）。第３の方法としてキャプチャPCR法があり、これはヒト及び酵母菌人工染色体DNAの既知の配列に隣接するDNA断片をPCR増幅する方法に関与している（Lagerstrom, M.他(1991) PCR Methods Applic 1:111-119）。この方法では、PCRを行う前に複数の制限酵素の消化及びライゲーション反応を用いて未知の配列領域内に組換え二本鎖配列を挿入することが可能である。また、未知の配列を検索するために用い得る別の方法については当分野で知られている（Parker, J.D.他 (1991) Nucleic Acids Res. 19:3055-3060）。更に、PCR、ネステッドプライマー及びPromoterFinderライブラリ（Clontech, Palo Alto CA）を用いてゲノムDNAをウォーキングすることができる。この手順は、ライブラリ類をスクリーニングする必要がなく、イントロン／エキソン接合部の発見に有用である。全てのPCRベースの方法に対して、市販されているソフトウェア、例えばOLIGO 4.06プライマー分析ソフトウェア（National Biosciences, Plymouth MN）或いは別の好適なプログラムを用いて、長さが約２２～３０ヌクレオチド、GC含有率が約５０％以上、温度約６８℃～７２℃で鋳型に対してアニーリングするようにプライマーを設計し得る。

【０２３６】

完全長cDNA群をスクリーニングする際は、より大きなcDNA群を含むようにサイズ選択されたライブラリ群を用いるのが好ましい。更に、ランダムプライマーのライブラリは、遺伝子群の5'領域を有する配列をしばしば含んでおり、オリゴd(T)ライブラリが完全長cDNAを作製できない状況に対して好適である。ゲノムライブラリ群は、5'非転写調節領域への、配列の伸長に有用であろう。

【０２３７】

市販のキャピラリー電気泳動システムを用いて、シークエンシングまたはPCR産物のサイズを分析し、またはそのヌクレオチド配列を確認することができる。具体的には、キャピラリーシークエンシングは、電気泳動による分離のための流動性ポリマーと、4つの異なるヌクレオチドに特異的であるような、レーザで刺激される蛍光色素と、発光された波長の検出に利用するCCDカメラとを有し得る。出力／光の強度は、適切なソフトウェア（Applied Biosystems社のGENOTYPER、SEQUENCE NAVIGATOR等）を用いて電気信号に変換し得

る。サンプルのロードからコンピュータ分析及び電子データ表示までの全プロセスがコンピュータ制御可能である。キャピラリー電気泳動法は、特定のサンプルに少量しか存在しないようなDNA小断片のシークエンシングに特に適している。

【０２３８】

本発明の別の実施態様では、REMAPをコードするポリヌクレオチドまたはその断片を、REMAP、その断片または機能的等価物を適切な宿主細胞内に発現させる組換えDNA分子にクローニングし得る。遺伝暗号に固有の縮重により、実質的に同じ或いは機能的に等価のポリヌクレオチドをコードする別のポリヌクレオチドが作られ、これらの配列をREMAPの発現に利用可能である。

【０２３９】

様々の目的で、REMAPをコードする配列群を改変するために、当分野で一般に既知の複数の方法を用いて、本発明のポリヌクレオチド群を組換えることができる。この組換えの多様な目的には、遺伝子産物のクローン化、あるいはプロセッシングおよび／または発現のモディフィケーションが含まれるが、これらに限定されるものではない。遺伝子断片及び合成オリゴヌクレオチドのランダムなフラグメンテーション及びPCR再アセンブリによるDNAシャッフリングを用い、ヌクレオチド配列を組み換えることが可能である。例えば、オリゴヌクレオチドを介した部位特異的変異誘導を利用して、新規な制限部位の作製、グリコシル化パターンの変更、コドン優先の変更、スプライス変異体の生成等を起こす突然変異を導入し得る。

【０２４０】

本発明のヌクレオチドは、MOLECULARBREEDING（Maxygen Inc., Santa Clara CA, 米国特許第5,837,458号、Chang, C.-C.他 (1999) Nat. Biotechnol. 17:793-797; Christians, F.C. 他(1999) Nat. Biotechnol. 17:259-264; Crameri, A. 他(1996) Nat. Biotechnol. 14:315-319)などのDNAシャッフリング技術の対象となり得る。これにより、生物活性または酵素活性、あるいは他の分子や化合物と結合する能力など、REMAPの生物学的特性を改変あるいは改良し得る。DNAシャッフリングは、遺伝子断片のPCRを介する組換えを用いて遺伝子変異体のライブラリを作製するプロセスである。ライブラリはその後、所望の特性を持つ遺伝子変異体群を同定する、選択またはスクリーニングの手順を経る。続いて、これら好適な変異体をプールし、更に反復してDNAシャッフリングおよび選択／スクリーニングを行い得る。従って、「人工的な」育種及び急速な分子の進化によって遺伝的多様性が生み出される。例えば、ランダムポイント突然変異を持つ単一の遺伝子の断片を組換えて、スクリーニングし、その後所望の特性が最適化されるまでシャッフリングし得る。或いは、所与の遺伝子を同種または異種のいずれかから得た同一遺伝子ファミリーの相同遺伝子と組み換え、それによって天然に存在する複数の遺伝子の遺伝多様性を、管理され制御可能な方法で、最大化させることができる。

【０２４１】

別の実施例によれば、REMAP をコードするポリヌクレオチドは、当分野で周知の化学的方法を用いて、全体或いは一部が合成可能である（Caruthers. M.H.他（1980）Nucl. Acids Res. Symp. Ser 7:215-223; 及びHorn, T.他（1980）Nucl. Acids Res. Symp. Ser.225-232）。あるいは、REMAP 自体またはその断片を当分野で既知の化学的方法を用いて合成し得る。例えば、種々の液相または固相技術を用いてペプチド合成を行うことができる（Creighton, T. (1984) Proteins, Structures and Molecular Properties, WH Freeman, New York NY, 55-60ページ、Roberge, J.Y. 他 (1995) Science 269:202-204）。自動合成はABI 431Aペプチドシンセサイザ（Applied Biosystems）を用いて達成し得る。更に、REMAPのアミノ酸配列または任意のその一部を、直接合成の際に改変することにより、及び／または他のタンパク質からの配列群または任意のその一部と組み合わせることにより、或る天然ポリペプチドの配列を有するポリペプチドまたは変異体ポリペプチドが作製され得る。

【０２４２】

ペプチドは、分離用高速液体クロマトグラフィーを用いて実質上精製可能である（Chie

z, R.M.及び F.Z. Regnier (1990) Methods Enzymol. 182:392-421)。合成ペプチドの組成は、アミノ酸分析またはシークエンシングによって確認することができる（前出のCreighton, 28-53ページ）。

【０２４３】

生物学的に活性なREMAPを発現させるために、REMAPをコードするポリヌクレオチドまたはその誘導体を好適な発現ベクターに挿入し得る。好適な発現ベクターとは、好適な宿主に挿入されたコーディング配列の転写および翻訳の制御に必要なエレメント群を持つベクターである。必要なエレメントとしては、ベクター内およびREMAPをコードするポリヌクレオチドにおける調節配列（例えばエンハンサー、構成型および発現誘導型のプロモーター、５'および３'の非翻訳領域など）が含まれる。必要なエレメント群は、強度および特異性が様々である。特異的な開始シグナルを用いて、REMAPをコードするポリヌクレオチド群の、より効率的な翻訳を達成することもできる。開始シグナルの例には、ATG開始コドンと、コザック配列など近傍の配列とが含まれる。REMAP をコードするポリヌクレオチド配列、およびその開始コドンや、上流の調節配列が好適な発現ベクターに挿入された場合は、更なる転写制御シグナルや翻訳制御シグナルは必要でないこともある。しかしながら、コード配列あるいはその断片のみが挿入された場合は、インフレームATG開始コドンなど外来性の翻訳制御シグナルが発現ベクターに含まれるようにすべきである。外来性の翻訳エレメント及び開始コドンは、様々な天然物及び合成物を起源とし得る。発現の効率は、用いられる特定の宿主細胞系に好適なエンハンサーを包含することによって高めることができる（Scharf, D. 他 (1994) Results Probl. Cell Differ. 20:125-162）。

【０２４４】

当業者に周知の方法を用いて、REMAP をコードするポリヌクレオチドと、好適な転写および翻訳制御エレメントとを持つ発現ベクターを作製することが可能である。これらの方法には、in vitro組換えDNA技術、合成技術、及びin vivo遺伝子組換え技術が含まれる(Sambrook, J. 他. (1989) Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Plainview NY, 4章、8章及び15-17章、Ausubel、 他. 前出、1章、3章及び15章)。

【０２４５】

種々の発現ベクター／宿主系を利用して、REMAPをコードするポリヌクレオチドの保持及び発現が可能である。限定するものではないがこのような発現ベクター／宿主系には、組換えバクテリオファージ、プラスミドまたはコスミドDNA発現ベクターで形質転換させた細菌や、酵母菌発現ベクターで形質転換させた酵母菌などの微生物や、ウイルス発現ベクター（例えばバキュロウイルス）に感染した昆虫細胞系や、ウイルス発現ベクター（例えばカリフラワーモザイクウイルス：CaMVまたはタバコモザイクウイルス：TMV）または細菌発現ベクター（例えばTiまたはpBR322プラスミド）で形質転換させた植物細胞系、動物細胞系等がある(Sambrook、前出、 Ausubel 他、前出、Van Heeke, G. および S.M. Schuster (1989) J. Biol. Chem. 264:55035509; Engelhard, E.K. 他(1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-3227、Sandig, V.他(1996) Hum.Gene Ther.7:1937-1945、Takamatsu, N. (1987) EMBO J. 6:307-311;『マグローヒル科学技術年鑑』(The McGraw Hill Yearbook of Science and Technology) (1992) McGraw Hill, New York NY, 191-196ページ; Logan, J. および T. Shenk (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3655-3659; Harrington, J.J. 他. (1997) Nat. Genet. 15:345-355)。レトロウイルス、アデノウイルス、ヘルペスウイルスまたはワクシニアウイルス由来の発現ベクターまたは種々の細菌性プラスミド由来の発現ベクターを用いて、ポリヌクレオチドを標的器官、組織または細胞集団へ送達することができる（Di Nicola, M. 他 (1998) Cancer Gen. Ther. 5(6):350-356、Yu, M. 他 (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90(13):6340-6344、Buller, R.M. 他 (1985) Nature 317(6040):813-815; McGregor, D.P. 他 (1994) Mol. Immunol. 31(3):219-226、Verma, I.M. および N. Somia (1997) Nature 389:239-242）。本発明は使用する宿主細胞によって限定されない。

【０２４６】

細菌系では、多数のクローニングベクター及び発現ベクターを、REMAPをコードするポリヌクレオチド群の使用目的に応じて選択できる。例えばREMAP をコードするポリヌクレオチドの慣例的なクローニング、サブクローニング、増殖には、PBLUESCRIPT(Stratagene, La Jolla CA)またはPSPORT１プラスミド(Invitrogen)などの多機能の大腸菌ベクターを用いることができる。REMAP をコードするポリヌクレオチドをベクターのマルチクローニング部位にライゲーションするとlacZ遺伝子が破壊され、組換え分子を含む形質転換された細菌の同定のための比色スクリーニング法が可能となる。更にこれらのベクターは、クローニングされた配列におけるin vitro転写、ジデオキシのシークエンシング、ヘルパーファージによる一本鎖のレスキュー、入れ子状態の欠失の生成にも有用であろう（Van Heeke, G. および S.M. Schuster (1989) J. Biol. Chem. 264:5503-5509 ）。例えば抗体類の産生などに多量のREMAP が必要な場合は、高度レベルのREMAP の発現を誘導するベクター類が使用できる。例えば、強力な誘導SP6バクテリオファージプロモーターまたは誘導T7バクテリオファージプロモーターを含むベクターが使用できる。

【０２４７】

酵母の発現系を使用してREMAPを産出することもできる。α因子、アルコールオキシダーゼ、PGHプロモーター等の構成型或いは誘導型のプロモーターを含む多数のベクターが、出芽酵母菌（Saccharomyces cerevisiae） またはピキア酵母（Pichia pastoris）に使用可能である。更に、このようなベクターは、発現したタンパク質の、分泌か細胞内での保持かのどちらかを指示するものであり、安定した増殖のために宿主ゲノムの中に外来ポリヌクレオチド配列群を組み込むことを可能にする(Ausubel 他、前出; Bitter, G.A. 他、(1987) Methods Enzymol.153:516544; Scorer, C.A. 他 (1994) Bio/Technology 12:181-184)。

【０２４８】

植物系もREMAPの発現に使用可能である。REMAP をコードすポリヌクレオチドの転写は、ウイルスプロモーター、例えば単独であるいはTMV由来のオメガリーダー配列と組み合わせて用いられるようなCaMV由来の35Sおよび19Sプロモーターによって促進し得る（Takamatsu, N.（1987） EMBO J 6:307-311）。あるいは、RUBISCO の小サブユニットなどの植物プロモーター、または熱ショックプロモーターを用い得る(Coruzzi, G. 他(1984) EMBO J. 3:1671-1680; Broglie, R.他(1984) Science 224:838-843; および Winter, J.他(1991) Results Probl.Cell Differ. 17:85-105を参照)。これらの構成物は、直接DNA形質転換または病原体を媒介とする形質移入によって、植物細胞内に導入可能である（『マグローヒル科学技術年鑑』(The McGraw Hill Yearbook of Science and Technology) (1992) McGraw Hill New York NY, 191-196ページ）。

【０２４９】

哺乳類細胞においては、多数のウイルスベースの発現系を利用し得る。アデノウイルスが発現ベクターとして用いられる場合、後期プロモーターと３連リーダー配列とからなるアデノウイルス転写／翻訳複合体に、REMAP をコードするポリヌクレオチド群をライゲーションし得る。ウイルスのゲノムの非必須のＥ１またはＥ３領域への挿入により、宿主細胞にREMAP を発現する感染ウイルスを得ることが可能である（Logan, J.及びShenk, T.（1984） Proc. Natl. Acad. Sci. 81:3655-3659）。更に、ラウス肉腫ウイルス（RSV）エンハンサー等の転写エンハンサーを用いて、哺乳動物宿主細胞における発現を増大させ得る。SV40またはEBVをベースにしたベクターを用いてタンパク質を高レベルで発現させることもできる。

【０２５０】

また、ヒト人工染色体（HAC）類を用いて、或るプラスミドに含まれ得る断片やプラスミドから発現し得る断片より大きなDNAの断片群を送達し得る。治療のために約６kb～１０MbのHACsを作製し、従来の送達方法（リポソーム、ポリカチオンアミノポリマー、またはベシクル）で供給する（Harrington, J.J. 他 (1997) Nat. Genet. 15:345-355）。

【０２５１】

長期にわたり哺乳動物系内で組換えタンパク質を生成するためには、細胞株内のREMAP

の安定発現が望ましい。例えば、REMAP をコードするポリヌクレオチドを細胞株に形質転換するために、発現ベクター類と、同じベクター上の或いは別のベクター上の選択可能マーカー遺伝子とを用い得る。用いる発現ベクターは、ウイルス起源の複製要素、および／または内因性の発現要素を持ち得る。ベクターの導入後、選択培地に移す前に強化培地で約１～２日間、細胞を増殖させ得る。選択可能マーカーの目的は選択剤への抵抗性を与えることであり、選択可能マーカーの存在により、導入した配列をうまく発現するような細胞の成長および回収が可能となる。安定的に形質転換された細胞の耐性クローンは、その細胞型に適した組織培養技術を用いて増殖できる。

【０２５２】

任意の数の選択系を用いて、形質転換細胞株を回収できる。限定するものではないがこのような選択系には、tk^-細胞のために用いられる単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ遺伝子と、apr^-細胞のために用いられる単純ヘルペスウイルスのアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ遺伝子がある(Wigler, M. 他(1977) Cell 11:223-232; Lowy, I. 他(1980) Cell 22:817-823)。また、選択の基礎として代謝拮抗物質、抗生物質あるいは除草剤への耐性を用いることができる。例えばdhfrはメトトレキセートに対する耐性を与え、neoはアミノグリコシドであるネオマイシンおよびG-418に対する耐性を与え、alsはクロルスルフロンに対する耐性を、patはホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼに対する耐性を各々与える(Wigler, M. 他(1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:3 5673570、Colbere-Garapin, F.他(1981) J. Mol. Biol. 150:1-14)。この他の選択可能な遺伝子、例えば、代謝のための細胞の必要条件を変えるtrpB及びhisDは、文献に記載されている（Hartman, S.C.及び R.C. Mulligan (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:8047-8051）。可視マーカー、例えばアントシアニン、緑色蛍光タンパク質（GFP；Clontech）、βグルクロニダーゼ及びその基質βグルクロニド、またはルシフェラーゼ及びその基質ルシフェリン等を用いてもよい。これらのマーカーを用いて、形質転換体を同定するだけでなく、特定のベクター系に起因する一過性或いは安定したタンパク質発現を定量することも可能である（Rhodes, C.A. (1995) Methods Mol. Biol. 55:121-131）。

【０２５３】

マーカー遺伝子発現の有無によって目的の遺伝子の存在が示唆されても、その遺伝子の存在および発現の確認が必要な場合もある。例えば、REMAP をコードする配列が或るマーカー遺伝子配列の中に挿入された場合、REMAP をコードするポリヌクレオチド群を有する形質転換された細胞群は、マーカー遺伝子機能の欠落により特定できる。または、単一プロモーターの制御下で、或るマーカー遺伝子を、REMAPをコードする１配列とタンデムに配置することもできる。誘導または選択に応答したマーカー遺伝子の発現は通常、タンデム遺伝子の発現も示す。

【０２５４】

一般に、REMAP をコードするポリヌクレオチドを含み且つREMAP を発現する宿主細胞は、当業者によく知られている種々の方法を用いて同定することが可能である。限定するものではないが当業者によく知られている方法には、DNA-DNA或いはDNA-RNAハイブリダイゼーションと、PCR増幅とがあり、また、核酸配列或いはタンパク質配列の検出、定量、或いはその両方を行うための、膜系、溶液ベース或いはチップベースの技術を含む、タンパク質の生物学的検定法または免疫学的検定法もある。

【０２５５】

特異的ポリクローナル抗体または特異的モノクローナル抗体を用いてREMAP の発現の検出及び計測を行うための免疫学的方法は、当分野で公知である。 このような技術の例としては、酵素に結合したイムノソルベントアッセイ（ELISA）、ラジオイムノアッセイ（RIA）、蛍光活性化細胞選別（FACS）などが挙げられる。REMAP上の２つの非干渉エピトープに反応するモノクローナル抗体群を用いた、２部位のモノクローナルベースイムノアッセイ（two-site, monoclonal-based immunoassay）が好ましいが、競合結合試験を用いることもできる。これらのアッセイおよび他のアッセイは、当分野で周知である(Hampton, R.他(1990) Serological Methods, a Laboratory Manual, APS Press, St. Paul MN, Sec

t.IV、Coligan, J.E.他(1997) Current Protocols in Immunology, Greene Pub.Associates and Wiley-Interscience, New York NY; Pound, J.D. (1998) Immunochemical Protocols, Humana Press, Totowa NJ)。

【０２５６】

多岐にわたる標識方法及び抱合方法が、当業者に知られており、様々な核酸アッセイおよびアミノ酸アッセイにこれらの方法を用い得る。REMAPをコードするポリヌクレオチドに関連する配列を検出するための、標識されたハイブリダイゼーションプローブ或いはPCRプローブを生成する方法には、オリゴ標識化、ニックトランスレーション、エンドラベリング（末端標識化)、または標識されたヌクレオチドを用いるPCR増幅が含まれる。或いはREMAPをコードするポリヌクレオチド、またはその任意の断片を、mRNAプローブを生成するためのベクターにクローニングしうる。このようなベクターは、当分野において知られており、市販もされており、T7、T3またはSP6などの好適なRNAポリメラーゼおよび標識されたヌクレオチドを加えて、in vitroでRNAプローブの合成に用いることができる。これらの方法は、例えばAmersham Biosciences、Promega（Madison WI）、U.S. Biochemicalなどの種々の市販キットを用いて実行できる。検出を容易にするために用い得る好適なレポーター分子あるいは標識には、基質、補助因子、インヒビター、磁気粒子のほか、放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、発色剤などがある。

【０２５７】

REMAP をコードするポリヌクレオチドで形質転換した宿主細胞を、細胞培地での該タンパク質の発現と回収とに好適な条件下で培養しうる。形質転換細胞から製造されたタンパク質が分泌されるか細胞内に留まるかは、使用される配列、ベクター、あるいはその両者に依存する。REMAPをコードするポリヌクレオチド群を持つ発現ベクター類は、原核細胞膜または真核細胞膜を透過してのREMAPの分泌を指示するシグナル配列群を持つように設計できることは、当業者には理解されよう。

【０２５８】

更に、宿主細胞株の選択は、挿入したポリヌクレオチドの発現をモジュレートする能力、または発現したタンパク質を所望の形に処理する能力によって行い得る。限定するものではないがこのようなポリペプチドの修飾には、アセチル化、カルボキシル化、グリコシル化、リン酸化、脂質化およびアシル化がある。タンパク質の「プレプロ」または「プロ」形を切断する翻訳後のプロセシングを利用して、タンパク質の標的への誘導、折りたたみ及び／または活性を特定することが可能である。翻訳後の活性のための、特定の細胞装置および特徴的な機序を持つ、種々の宿主細胞（例えばCHO、HeLa、MDCK、HEK293、WI38など）は、American Type Culture Collection（ATCC, Manassas, VA）から入手可能であり、外来タンパク質の正しい修飾およびプロセシングを確実にするように選択し得る。

【０２５９】

本発明の別の実施態様では、REMAP をコードする、天然ポリヌクレオチド、修飾ポリヌクレオチド、または組換えポリヌクレオチドを或る異種配列に結合させることにより、上記した任意の宿主系内で、融合タンパク質の翻訳を生じ得る。例えば、市販の抗体によって認識できる異種部分を持つキメラREMAPタンパク質が、REMAP活性のインヒビターに対するペプチドライブラリのスクリーニングを促進し得る。また、異種タンパク質部分および異種ペプチド部分も、市販されている親和性マトリックスを用いて融合タンパク質の精製を促進し得る。限定されるものではないがこのような部分には、グルタチオンＳトランスフェラーゼ（GST）、マルトース結合タンパク質（MBP）、チオレドキシン（Trx）、カルモジュリン結合ペプチド（CBP）、6-His、FLAG、c-myc、赤血球凝集素（HA）がある。GSTは固定化グルタチオン上で、MBPはマルトース上で、Trxはフェニルアルシンオキシド上で、CBPはカルモジュリン上で、そして6-Hisは金属キレート樹脂上で、同族の融合タンパク質の精製を可能にする。FLAG、c-mycおよび赤血球凝集素（HA）は、これらのエピトープ標識を特異的に認識する市販のモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体を用いた、融合タンパク質の免疫親和性精製を可能にする。また、REMAPをコードする配列と異種タンパク質配列との間に、タンパク質分解切断部位を融合タンパク質が持つように遺伝子操

作すると、REMAPが精製の後に異種部分から切断され得る。融合タンパク質の発現および精製の方法は、Ausubel 他 (前出、10章および16章)に記載されている。市販されている種々のキットを用いて融合タンパク質の発現および精製を促進することもできる。

【０２６０】

別の実施例では、TNTウサギ網状赤血球可溶化液またはコムギ胚芽抽出系(Promega)を用いてin vitroで放射能標識したREMAP の合成が可能である。これらの系は、T7、T3またはSP6プロモーターと機能的に連結したタンパク質コード配列の転写及び翻訳をカップルさせる。翻訳は、例えば^{35}Sメチオニンのような放射能標識したアミノ酸前駆体の存在下で起こる。

【０２６１】

REMAP或いはその断片またはその変異体を用いて、REMAPに特異結合する化合物をスクリーニングすることができる。REMAPに対する特異的結合について、一つ以上の試験化合物をスクリーンすることができる。種々の実施例において、REMAPに対する特異結合について、1、 2、 3、 4、 5、 10、 20、 50、 100 または 200 の試験化合物をスクリーンすることができる。試験化合物の例として、抗体、アンティカリン(anticalins)、オリゴヌクレオチド、タンパク質（例えばリガンドや受容体）、または小分子が挙げられる。

【０２６２】

関連の実施態様で、REMAP 変異体を用いて試験化合物たとえば抗体の、REMAP への結合や、REMAP 変異体へ、または組み合わせたREMAP および/または1つ以上のREMAP 変異体への結合をスクリーニングできる。ある実施例においては、SEQ ID NO:1-23の正確な配列を有するREMAPではなく、REMAPの変異体に結合する化合物のスクリーニングにREMAP の変異体を用いることができる。このようなスクリーニングを行うために使うREMAP変異体はREMAPに約50%から約99%の範囲で配列同一性を有し得る。また、種々の実施例で60%、 70%、 75%、 80%、 85%、 90%,および 95%の配列同一性を有することができる。

【０２６３】

一実施例では、このように同定された化合物は、例えばリガンドやその断片などのREMAPの天然のリガンド、または天然の基質、構造的または機能的な擬態性または自然結合パートナーに密接に関連している（Coligan, J.E. 他 (1991) Current Protocols in Immunology 1(2)の5章）。別の実施態様では、こうして同定した化合物は、受容体REMAP の天然リガンドでありうる (Howard, A.D. 他(2001) Trends Pharmacol.Sci.22:132-140; Wise, A. 他,(2002) Drug Discovery Today 7:235-246)

別の実施態様でREMAP への特異結合スクリーニングで同定した化合物は、REMAP が結合する天然受容体に、或いは少なくとも該受容体の或る断片に、または例えばリガンド結合部位や結合ポケットの全体または一部を含む該受容体の或る断片に、密接に関連し得る。例えば該化合物は、シグナルを伝播可能なREMAP 受容体の場合や、シグナルを伝播できないREMAP おとり受容体の場合がある(Ashkenazi, A.およびV.M. Divit (1999) Curr. Opin. Cell Biol.11:255-260、Mantovani, A. 他(2001) Trends Immunol.22:328-336)。該化合物は既知の技術を用いて合理的に設計できる。こうした技術の例としては、化合物エタネルセプト（etanercept）(ENBREL; Immunex Corp., Seattle WA)作製に用いた技術を含む。エタネルセプトは、ヒトのリウマチ様関節炎の治療に有効である。エタネルセプトは遺伝子操作されたp75腫瘍壊死因子(TNF)受容体ダイマーであり、ヒトIgG_1 のFc部分に連結されている(Taylor, P.C. 他(2001) Curr. Opin. Immunol. 13:611-616)。

【０２６４】

一実施例においては、類似または異なる特異性を有する2つ以上の抗体のREMAP、REMAPの断片、またはREMAPの変異体への特異的結合についてスクリーニングし得る。こうしてスクリーニングした抗体の結合特異性を選択し、REMAPの特定の断片または変異体を同定できる。１つの実施態様で、REMAPの特定の断片または変異体を優先的に同定できる結合特異性を持つ抗体を選択できる。別の実施態様で、REMAP産生の増加、低下、或いは異常を有する特定の疾患または病状を優先的に診断できる結合特異性を持つ抗体を選択できる。

【０２６５】
１つの実施態様で、anticalinを、REMAPまたはその断片あるいは変異体への特異結合につきスクリーニングできる。anticalinはリポカリン足場に基づいて作成されたリガンド結合タンパク質である(Weiss, G.A. 及び H.B. Lowman (2000) Chem. Biol. 7:R177-R184、Skerra, A. (2001) J. Biotechnol. 74:257-275)。リポカリンのタンパク質構造には、８つの逆平行ベータストランドを持つβバレルが含まれ得り、それらのストランドはバレルの開放末端に4つのループを支持する。これらのループはリポカリンの天然リガンド結合部位を形成し、この部位はin vitro でアミノ酸置換によって再度人工操作して、新規な結合特異性を与えることができる。このアミノ酸置換は当分野で既知の方法または本明細書に記載の方法を用いて行うことができる。また、保存的置換(例えば、結合特異性を変えないような置換)、あるいは、結合特異性を少し、中等度、または大きく変えるような置換を行うこともできる。

【０２６６】
一実施例では、REMAPへの特異的な結合、刺激または阻害を行う化合物に対するスクリーニングには、分泌タンパク質或いは細胞膜上のタンパク質の何れか一方としてREMAPを発現する好適な細胞の作製が含まれる。好適な細胞には、哺乳動物、酵母、ショウジョウバエ、または大腸菌からの細胞が含まれる。REMAPを発現する細胞、またはREMAPを含有する細胞膜断片を試験化合物と接触させて、結合や、REMAPまたは該化合物の何れかの、刺激または活性の阻害を分析する。

【０２６７】
あるアッセイは、単に試験化合物をポリペプチドに実験的に結合させ、結合を、蛍光色素、放射性同位体、酵素抱合体またはその他の検出可能な標識により検出することができる。例えば、このアッセイは、少なくとも１つの試験化合物を、溶液中の或いは固体支持物に固定されたREMAPと結合させるステップと、REMAPとこの化合物との結合を検出するステップを含み得る。別法では、標識された競合物の存在下での試験化合物の結合の検出および測定を行うことができる。更にこのアッセイは、無細胞再構成標本、化学ライブラリ、または、天然産物の混合物を用いて実施でき、試験化合物（群）は、溶液中で遊離させるか固体支持体に固定する。

【０２６８】
アッセイを用いて、或る化合物が、その天然リガンドに結合する能力、および/または、その天然リガンドの、その天然受容体への結合を阻害する能力を評価しうる。こうしたアッセイの例としては、米国特許第5,914,236号および第6,372,724号に記載されたような放射ラベルアッセイを含む。関連した実施態様では、1つ以上のアミノ酸置換が或るポリペプチド化合物(受容体など)に導入され、その天然リガンドに結合する能力を向上または改変しうる(Matthews, D.J. および J.A. Wells. (1994) Chem. Biol. 1:25-30)。もう一つの関連する実施例においては、ポリペプチド化合物（たとえばリガンド）に1つ以上のアミノ酸置換を行うことにより、天然受容体への結合能力を改善または改変することができる(Cunningham, B.C. および J.A. Wells (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:3407-3411; Lowman, H.B. 他 (1991) J. Biol. Chem. 266:10982-10988)。

【０２６９】
REMAPまたはその断片、あるいはREMAPの変異体を用いて、REMAPの活性を変調する化合物をスクリーニングすることができる。このような化合物としては、アゴニスト、アンタゴニスト、部分的アゴニストまたは逆アゴニストなどが含まれ得る。一実施態様では、REMAPが少なくとも１つの試験化合物と混合される、REMAP活性が許容される諸条件下で或るアッセイを実施し、試験化合物の存在下でのREMAPの活性を試験化合物不在下でのREMAPの活性と比較する。試験化合物の存在下でのREMAPの活性の変化は、REMAPの活性をモジュレートする化合物の存在を標示する。別の実施態様において、試験化合物をREMAP の活性に適した条件下でREMAP を含むin vitroまたは無細胞再構成系と混合させてアッセイを実施する。これらアッセイの何れにおいても、REMAPの活性をモジュレートする試験化合物は間接的にモジュレートする場合があり、その際は試験化合物と直接接触する必要がない。

少なくとも１つ、または複数の試験化合物をスクリーニングすることができる。

【０２７０】

別の実施態様では、胚性幹細胞（ES細胞）における相同組み換えを用いて動物モデル系内で、REMAP またはその哺乳動物相同体をコードするポリヌクレオチドを「ノックアウト」する。このような技術は当技術分野において周知であり、ヒト疾患動物モデルの作製に有用である（米国特許第5,175,383号及び第5,767,337号等を参照）。例えば129/SvJ細胞系などのマウスES細胞は初期のマウス胚に由来し、培地で増殖させることができる。このES細胞は、ネオマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子（neo: Capecchi, M.R.（1989）Science 244:1288-1292）などのマーカー遺伝子で破壊した、目的の遺伝子を持つベクターで形質転換される。このベクターは、相同組換えにより、宿主ゲノムの対応する領域に組込まれる。或いは、Cre-loxP系を用いて相同組換えを行い、組織特異的または発生段階特異的に目的遺伝子をノックアウトする(Marth, J.D. (1996) Clin. Invest. 97:1999-2002、Wagner, K.U.他(1997) Nucleic Acids Res. 25(14):2730-2736を参照)。 形質転換したES細胞を同定し、例えばC57BL/6マウス株などから採取したマウス細胞胚盤胞に微量注入する。これらの胚盤胞を偽妊娠メスに外科的に導入し、得られるキメラ子孫の遺伝形質を特定し、これらを交配させてヘテロ接合性系またはホモ接合性系を作製する。このようにして作製した遺伝子組換え動物は、潜在的な治療薬や毒性薬物で検査されうる。

【０２７１】

REMAP をコードするポリヌクレオチドをin vitroでヒト胚盤胞由来のES細胞において操作することが可能である。ヒトES細胞は、内胚葉、中胚葉および外胚葉の細胞タイプを含む、少なくとも８つの別々の細胞系統に分化する可能性を有する。これらの細胞系統は、例えば神経細胞、造血系統および心筋細胞に分化する（Thomson, J.A.他(1998) Science 282:1145-1147）。

【０２７２】

REMAP をコードするポリヌクレオチドを用いて、ヒト疾患をモデルとした「ノックイン」ヒト化動物（ブタ）または遺伝子組み換え動物（マウスまたはラット）を作製することが可能である。ノックイン技術を用いて、REMAPをコードするポリヌクレオチドの或る領域を動物ES細胞に注入し、注入した配列を動物細胞ゲノムに組み込ませる。形質転換細胞を胞胚に注入し、胞胚を上記のように移植する。遺伝子組換え子孫または近交系について試験し、潜在的医薬品を用いて処理し、ヒトの疾患の治療に関する情報を得る。別法では、例えばREMAPを乳汁内に分泌するなどREMAPを過剰に発現する哺乳動物近交系は、便利なタンパク質源となり得る（Janne, J. 他 (1998) Biotechnol. Annu. Rev. 4:55-74）。

【０２７３】

（治療）

REMAP 領域と受容体および膜結合タンパク質領域との間に、例えば配列及びモチーフの内容における化学的及び構造的類似性が存在する。さらに、REMAPを発現する組織の例が、表６および実施例11に見つけられる。従ってREMAPは、細胞増殖異常、自己免疫／炎症性疾患、腎疾患、神経疾患、心血管障害、代謝障害、発達障害、内分泌疾患、筋疾患、胃腸疾患、脂質代謝異常および輸送障害、並びにウイルス感染症において或る役割を果たすものと考えられる。REMAPの発現または活性の、亢進に関連する疾患の治療においては、REMAPの発現または活性を、低下させることが望ましい。また、REMAPの発現または活性の、低下に関連する疾患の治療においては、REMAPの発現または活性を、亢進させることが望ましい。

【０２７４】

従って、或る実施例において、REMAP の発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、患者にREMAP またはその断片や誘導体を投与することが可能である。限定するものではないが、そのような疾患のうち、細胞増殖異常の中には日光性角化症及び動脈硬化、アテローム性動脈硬化、滑液包炎、硬変、肝炎、混合型結合組織病（MCTD）、骨髄線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症、並びに腺癌及び白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、及び奇形癌、具体的には、副腎

、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房、頚部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、子宮の癌が含まれ、自己免疫/炎症性疾患には、後天性免疫不全症候群(AIDS)、アジソン病、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強直性脊椎炎、アミロイド症、貧血症、喘息、アテローム性動脈硬化症、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫性多腺性内分泌カンジダ性外胚葉ジストロフィ(APECED)、気管支炎、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー皮膚炎、皮膚筋炎、真性糖尿病、肺気腫、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、胎児赤芽球症、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋または心膜炎症、骨関節炎、骨粗しょう症、膵炎、多発性筋炎、乾癬、ライター症候群、慢性関節リウマチ炎、強皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性エリテマトーデス、全身性硬化症、血小板減少症、潰瘍性大腸炎、ウェルナー症候群、癌合併症、血液透析、体外循環、ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、蠕虫感染症、外傷が含まれ、腎疾患の中には、腎性アミロイドーシス、高血圧症、原発性アルドステロン症、アジソン病、腎不全、糸球体腎炎、慢性糸球体腎炎、尿細管間質性腎炎、腎臓の嚢胞性障害、形成異常奇形（dysplastic malformation）（多嚢胞性疾患、腎異形成、皮質嚢胞、髄質嚢胞）、遺伝性多発性嚢胞腎(PRD)（劣性または常染色体優性の多発性嚢胞腎）、髄質性嚢胞性疾患、髄質海綿腎および尿細管異形成、アルポート症候群、肺の気管支原性腫瘍または、脳の基底領域の腫瘍のような非腎性癌(腎臓の生理に影響する)、多発性骨髄腫、腎臓の腺癌、転移性腎臓癌、腎臓における機能的または形態的変化（重金属、抗生物質、鎮痛剤、溶剤、シュウ酸症（oxalosis）誘発剤、抗がん剤、除草剤、および抗てんかん剤のような薬学的、化学的または生物学的製剤の摂取、注射、吸入または吸収によって生じる）、神経の疾患の中には、癲癇、虚血性脳血管障害、脳卒中、大脳新生物、アルツハイマー病、ピック病、ハンチントン病、痴呆、パーキソン病及びその他の錐体外路障害、筋萎縮性側策硬化及びその他の運動ニューロン障害、進行性神経性筋萎縮症、色素性網膜炎、遺伝性運動失調、多発性硬化症及び他の脱髄疾患、細菌性及びウイルス性髄膜炎、脳膿瘍、硬膜下蓄膿症、硬膜外膿瘍、化膿性頭蓋内血栓性静脈炎、脊髄炎及び神経根炎、ウイルス性中枢神経系疾患と、クールー及びクロイツフェルト‐ヤコブ病、Gerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含むプリオン病と、致死性家族性不眠症、神経系性栄養病及び代謝病、神経線維腫症、結節硬化症、小脳網膜血管芽腫（cerebelloretinal hemangioblastomatosis）、脳３叉神経血管症候群、ダウン症を含む中枢神経系性精神遅滞及び他の発達障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経系障害、脳神経疾患、脊髄疾患筋ジストロフィー、および他の神経筋障害、末梢神経系疾患、皮膚筋炎及び多発性筋炎と、遺伝性、代謝性、内分泌性、及び中毒性ミオパシーと、重症筋無力症、周期性四肢麻痺と、気分性及び不安性の障害、分裂病性疾患を含む精神病と、季節性障害（SAD）と、静座不能、健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、錐体外路性終末欠陥症候群(遅発性ジスキネジア)、ジストニー、分裂病性精神障害、帯状疱疹後神経痛、及びトゥーレット病と、進行性核上麻痺、大脳皮質基底核変性症及び家族性前頭側頭性健忘症が含まれ、心血管疾患の中には、動静脈瘻、アテローム硬化、高血圧、脈管炎、レイノー病、静脈奇形、動脈解離、静脈瘤、血栓静脈炎及び静脈血栓、血管の腫瘍、血栓崩壊の合併症、バルーン血管形成術、血管置換術、バイパス手術、うっ血性心不全、虚血性心疾患、狭心症、心筋梗塞、高血圧性心疾患、変性弁膜性心疾患、石灰化大動脈弁狭窄症、先天性２尖大動脈弁、僧帽弁輪状石灰化、僧帽弁逸脱、リウマチ熱、リウマチ性心疾患、感染性心内膜炎、非細菌性血栓性心内膜炎、全身性エリテマトーデスの心内膜炎、カルチノイド心疾患、心筋症、心筋炎、心膜炎、腫瘍性心疾患、先天性心臓疾患、及び心臓移植の合併症が含まれ、代謝系の疾患の中には、アジソン病、脳腱黄色腫症、先天性副腎過形成、クマリン耐性（coumarin resistance）、嚢胞性繊維症、糖尿病、脂肪性肝硬変、フルクトース-１、６－ジホスファターゼ欠乏症、ガラクトース血症、甲状腺腫、グルカゴノーマ、糖原病、遺伝性果糖不耐症、副腎皮質機能亢進症（Hyperadrenalism）、副甲状腺機能亢進症、副甲状腺機能低下症、高コレステロール血症、

甲状腺機能亢進症、低血糖症、甲状腺機能低下症、脂肪過剰血症、脂質ミオパシー、脂肪ジストロフィー症、リソソーム蓄積症、マノシドーシス、ノイラミニナーゼ欠損症、肥満、骨粗しょう症、フェニルケトン尿症、プソイドビタミンD欠損くる病、炭水化物代謝障害(例えば、先天性II型異常赤血球産生症性貧血、糖尿病、インスリン依存型真性糖尿病、非インスリン依存型真性糖尿病、ガラクトースエピメラーゼ欠乏症、糖原病、リソソーム蓄積症、果糖尿、五炭糖尿症)、およびピルビン酸代謝の先天性異常、脂肪肝のような脂質代謝異常、胆汁うっ滞、原発性胆汁性肝硬変、カルニチン欠乏症、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠乏症、ミオアデニレートデミナーゼ欠乏症、高トリグリセリド血症、ファブリー病などの脂質貯蔵病、ゴーシェ病、ニーマン‐ピック病、変染色性白質ジストロフィー、副腎性白質ジストロフィー、G_{M2}にガングリオシドーシス、セロイドリポフスチン症、無β‐リポ蛋白血症、タンジアー病、リポ蛋白過剰血症、脂肪異栄養症、脂肪腫症、急性皮下脂肪組織炎、播種性脂肪組織壊死症、有痛脂肪症、リポイド副腎過形成、最小変化症、脂肪腫、アテローム性動脈硬化症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症を伴った高コレステロール血症、原発性低αリポ蛋白血症、甲状腺症機能低下症、腎臓病、肝疾患、レシチン-コレステロールアシルトランスフェラーゼ欠乏症、脳腱黄色腫症、シトステロール血症、低コレステロール血症、テイ‐サックス病、サンドホフ病、高脂血症、脂肪過剰血症、脂質筋障害、およびMenke病のような銅代謝疾患、ウイルソン病、およびエーレルス‐ダンロー症候群IX型糖尿病が含まれ、また発達障害の中には尿細管性アシドーシス、貧血、クッシング症候群、軟骨形成不全性小人症、デュシェンヌ‐ベッカー型筋ジストロフィー、癲癇、性腺形成異常、WAGR症候群（ウィルムス腫瘍、無虹彩症、尿生殖器異常、精神薄弱）、スミス‐マジェニス症候群(Smith- Magenis syndrome)、脊髄形成異常症候群、遺伝性粘膜上皮異形成、遺伝性角皮症、シャルコー‐マリー‐ツース病及び神経線維腫症などの遺伝性神経病、甲状腺機能低下症、水頭症、Sydenham舞踏病(Syndenham's chorea)及び脳性小児麻痺などの発作障害、脊髄二分裂、無脳症、頭蓋脊椎披裂、先天性緑内障、白内障、感覚神経性聴力損失が含まれ、内分泌疾患の中には原発脳腫瘍及び腺腫、妊娠性梗塞、下垂体切除、動脈瘤、血管奇形、血栓症、感染症、免疫異常、頭部外傷による合併症などの病変から起こる視床下部及び下垂体の障害と、性機能低下及びシーハン症候群、尿崩症、カルマン病、ハンド‐シュラークリスチャン病、レトラ‐シヴェ病、サルコイドーシス、エンプティセラ症候群、小人症を含む下垂体低下に関連した障害と、良性線種によって発生しやすい不適当抗利尿ホルモン（ADH）分泌症候群（SIADH）及び先端巨大症、巨人症を含む下垂体亢進に関連した障害と、甲状腺腫及び粘液水腫、細菌感染性急性甲状腺炎、ウイルス感染性亜急性甲状腺炎、自己免疫性甲状腺炎（橋本病）、クレチン病を含む甲状腺機能低下症に関連した障害と、甲状腺中毒症及びその様々な型、グレーブス病、前脛骨粘液水腫、中毒性多結節性甲状腺腫、甲状腺癌、プランマー病を含む甲状腺機能亢進症と、Conn病（chronic hypercalemia）を含む副甲状腺機能亢進症と、Ｉ型及びII型糖尿病及び合併症などの膵臓疾患と、過形成及び副腎皮質の癌腫や腺腫、アルカローシスに関連した高血圧、アミロイド症、低カリウム血、クッシング病、リドル症候群、Arnold-Healy-Gordon症候群、褐色細胞腫瘍、アジソン病、副腎機能不全などの副腎に関連した障害と、女性の異常プロラクチン産生及び不妊症、子宮内膜症、月経周期の摂動、多嚢胞性卵巣疾患、高プロラクチン血症、選択的性腺刺激ホルモン不全（isolated gonadotropin deficiency）、無月経、乳汁漏出症、半陰陽、多毛症及び男性化、乳癌、閉経期後の骨粗鬆症、男性のライジッヒ細胞過形成、男性更年期、生殖細胞無形成症、ライジッヒ細胞腫瘍に関連した性機能亢進、アンドロゲン受容体の欠如に関連したアンドロゲン耐性、５α－還元酵素症候群、女性化乳房症などの生殖腺ステロイドホルモンに関連した疾患とが含まれる。筋疾患には、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、ベッカー型筋ジストロフィー、筋緊張（強直）性ジストロフィー、セントラルコア病、ネマリンミオパシー、中心核ミオパシー、脂質ミオパシー、ミトコンドリアミオパシー、感染性筋炎、多発性筋炎、皮膚筋炎、封入体筋炎、甲状腺中毒性ミオパシーおよびエタノールミオパシー、狭心症、アナフィラキシーショック、不整脈、喘息、心血管ショック、クッシング病、高血圧症、低血糖症、心筋梗塞、片頭痛、クロム親和細胞腫、脳症、て

んかんを含む筋障害、カーンズ‐セイヤ症候群、乳酸アシドーシス、ミオクローヌス疾患、眼筋麻痺、および酸性マルターゼ欠損症（AMD、ポンペ病としても知られる）が含まれ、また、胃腸疾患が含まれ、その中には嚥下障害、消化性食道炎、食道痙攣、食道狭窄、食道癌、消化不良、消化障害、胃炎、胃癌、食欲不振、悪心、嘔吐、胃不全麻痺、洞または幽門の浮腫、腹部アンギナ、胸焼け、胃腸炎、イレウス、腸管感染、消化性潰瘍、胆石症、胆嚢炎、胆汁うっ滞、膵臓炎、膵臓癌、胆道疾患、肝炎、高ビリルビン血症、硬変症、肝臓の受動性うっ血、ヘパトーム、感染性大腸炎、潰瘍性大腸炎、潰瘍性直腸炎、クローン病、ホイップル病、マロリー‐ヴァイス症候群、結腸癌、結腸閉塞、過敏性腸症候群、短小腸症候群、下痢、便秘、胃腸出血、後天性免疫不全症候群（AIDS）腸症、黄疸、肝性脳症、肝腎症候群、肝炎、血色素症、ウィルソン病、α_1アンチトリプシン欠損症、ライ症候群、原発性硬化性胆管炎、肝梗塞、門脈循環閉塞及び血栓、小葉中心壊死、肝臓紫斑病、肝静脈血栓、肝静脈閉塞症、子癇前症、子癇、妊娠性急性肝脂肪、妊娠性肝臓内胆汁うっ滞と、結節性再生及び腺腫、癌腫を含む肝癌が含まれ、

脂質代謝障害の中には、脂肪肝、胆汁うっ滞、原発性胆汁性肝硬変、カルニチン欠乏症、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠乏症、ミオアデニレートデミナーゼ欠乏症、高トリグリセリド血症、ファブリー病などの脂質貯蔵病、ゴーシェ病、ニーマン‐ピック病、変染色性白質ジストロフィー、副腎性白質ジストロフィー、G_{M2}にガングリオシドーシス、セロイドリポフスチン症、無β‐リポ蛋白血症、タンジアー病、リポ蛋白過剰血症、糖尿病、脂肪異栄養症、脂肪腫症、急性皮下脂肪組織炎、播種性脂肪組織壊死症、有痛脂肪症、リポイド副腎過形成、リポイドネフローゼ、脂肪腫、アテローム性動脈硬化症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症を伴った高コレステロール血症、原発性低αリポ蛋白血症、甲状腺症機能低下症、腎臓病、肝疾患、レシチン-コレステロールアシルトランスフェラーゼ欠乏症、脳腱黄色腫症、シトステロール血症、低コレステロール血症、テイ‐サックス病、サンドホフ病、高脂血症、脂肪過剰血症、脂質筋障害、肥満症が含まれ、輸送障害として、運動不能症、筋萎縮性側索硬化症、毛細血管拡張性運動失調症、嚢胞性線維症、ベッカー型筋ジストロフィー、顔面神経麻痺、シャルコー・マリー・ツース病、糖尿病、尿崩症、糖尿病性ニューロパシー、 デュシェンヌ型筋ジストロフィー、高カリウム血性周期性四肢麻痺、正常カリウム血性周期性四肢麻痺、パーキンソン病、悪性高体温症、多剤耐性、重症筋無力症、筋緊張性異栄養症(筋強直性ジストロフィー)、緊張病、遅発性ジスキネジー、ジストニー、末梢神経障害、脳腫瘍、前立腺癌、輸送に関連する心臓疾患（例えばアンギナ、徐脈性不整脈、頻脈性不整脈、高血圧、QT延長症候群、心筋炎、心筋症、ネマリンミオパシー、中心核ミオパシー、脂質ミオパシー、ミトコンドリアミオパシー、甲状腺中毒性ミオパシー、エタノールミオパシー、皮膚筋炎、封入体筋炎、感染性筋炎、多発性筋炎）、輸送に関連する神経疾患（例えばアルツハイマー病、記憶喪失、双極性障害、痴呆、鬱病、癲癇、トゥーレット病、パラノイド精神病、および精神分裂病(統合失調症)）、輸送に関する他の疾患（例えば神経線維腫症、帯状疱疹後神経痛、三叉神経障害、サルコイドーシス、鎌状赤血球貧血、ウィルソン病、白内障、不妊症、肺動脈狭窄、感音常染色体難聴、高血糖症、低血糖症、グレーヴズ病、甲状腺腫、クッシング病、アジソン病、グルコース・ガラクトース吸収不良症候群、高コレステロール血症、副腎脳白質ジストロフィー、ツェルヴェーガー症候群、Menkes病、後頭角症候群（occipital horn syndrome）、von Gierke病、シスチン尿症、イミノグリシン尿症、Hartup病、およびファンコーニ病）、

癌（腺癌、白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、及び奇形癌、具体的には、副腎、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房、頚部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、子宮の癌）が含まれ、さらに、ウイルス感染症の内には、アデノウイルス（急性呼吸疾患、肺炎）、アレナウイルス（リンパ球性脈絡髄膜炎）、ブニャウイルス（ハンタウイルス）、コロナウイルス（肺炎、慢性気管支炎）、ヘパドナウイルス（肝炎）、ヘルペスウイルス（ヘルペス単純ウイルス、水痘・帯状ウイルス、エプスタイン バーウイルス、サイトメガロウイルス）、フラビウイルス（黄熱）、オルソミクソウイルス（インフルエンザ

）、乳頭腫ウイルス（癌）、パラミクソウイルス（麻疹、おたふく風邪）、ピコルナウイルス（ライノウイルス、ポリオウイルス、コクサッキーウイルス）、ポリオーマウイルス（BKウイルス、JCウイルス）、ポックスウイルス（痘瘡）、レオウイルス（コロラドダニ熱）、レトロウイルス（ヒト免疫不全ウイルス、ヒトT細胞ウイルス）、ラブドウイルス（狂犬病）、ロタウイルス（胃腸炎）、およびトガウイルス（脳炎、風疹）によって起こされる感染症が含まれる。

【０２７５】

別の実施例では、REMAP またはその断片や誘導体を発現し得るベクターを患者に投与して、限定するものではないが上記した疾患を含むREMAP の発現または活性の低下に関連した疾患を治療または予防することも可能である。

【０２７６】

更に別の実施態様では、限定するものではないが上記した疾患を含む、REMAP の発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、実質的に精製されたREMAP を含む組成物を好適な医薬用キャリアと共に患者に投与することも可能である。

【０２７７】

更に別の実施態様では、限定するものではないが上に列記した疾患を含む、REMAPの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、REMAPの活性を調節するアゴニストを被験者に投与し得る。

【０２７８】

更なる実施例では、REMAP の発現または活性の増大に関連した疾患の治療または予防のために、患者にREMAP のアンタゴニストを投与することが可能である。限定するものではないがこのような疾患の例には、上記した細胞増殖異常、自己免疫／炎症性の疾患、腎疾患、神経疾患、心血管障害、代謝異常、発生または発達障害、内分泌疾患、筋疾患、胃腸疾患、脂質代謝異常、および輸送障害、並びウィルス感染がある。一実施態様では、REMAPと特異的に結合する抗体が直接アンタゴニストとして、或いはREMAPを発現する細胞または組織に薬剤を運ぶターゲッティング機構或いは送達機構として間接的に用いられ得る。

【０２７９】

別の実施態様では、限定するものではないが上に列記した疾患を含む、REMAPの発現または活性の増大に関連した疾患の治療または予防のために、REMAPをコードするポリヌクレオチドの相補配列を発現するベクターを被験者に投与し得る。

【０２８０】

他の実施態様において、タンパク質、アゴニスト、アンタゴニスト、抗体、相補的配列、またはベクタは他の適切な治療剤と併用して投与し得る。併用療法で用いる好適な治療薬は、当業者が従来の医薬原理に従って選択し得る。治療薬と組合せることにより、上記した種々の疾患の治療または予防に相乗効果をもたらし得る。この方法により、少量の各薬物で医薬効果をあげることが可能となり、それによって副作用の可能性を低減し得る。

【０２８１】

REMAP のアンタゴニストは、本技術分野で一般的に知られている方法を用いて製造し得る。具体的には、精製されたREMAP を用いて抗体を作るか、治療薬のライブラリをスクリーニングして、REMAPと特異結合するものを同定することが可能である。REMAP の抗体も、当分野で一般的な方法を用いて製造することが可能である。このような抗体には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖、Fab断片、及びFab発現ライブラリによって作られた断片が含まれる。但し、これらに限定されるものではない。中和抗体（すなわち二量体の形成を阻害する抗体）は通常、治療用に好適である。一本鎖抗体（例えばラクダまたはラマ由来）は強力な酵素阻害剤である可能性があり、ペプチド擬態物質の設計において利点を持つようであり、免疫吸着剤とバイオセンサーとの開発においても利点を持つようである(Muyldermans, S. (2001) J. Biotechnol. 74:277-302)。

【０２８２】

抗体の産生のためには、ヤギ、ウサギ、ラット、マウス、ラクダ、ヒトコブラクダ、ラマ、ヒト及びその他のものを含む種々の宿主が、REMAP または任意の断片、または免疫原

性の特性を備えるそのオリゴペプチドの注入によって免疫化され得る。宿主の種に応じて、種々のアジュバントを用いて免疫応答を高めることもできる。限定するものではないがこのようなアジュバントには、フロイントアジュバントと、水酸化アルミニウムなどのミネラルゲルアジュバントと、リゾレシチン、プルロニックポリオル、ポリアニオン、ペプチド、油性乳剤、スカシガイのヘモシアニン（KLH）、ジニトロフェノールなどの界面活性剤とがある。ヒトに用いられるアジュバントの中では、BCG（カルメット‐ゲラン杆菌）およびコリネバクテリウム‐パルバム（Corynebacterium parvum）が特に好ましい。

【０２８３】

REMAP に対する抗体類を誘導するために用いられるオリゴペプチド、ペプチド、または断片は、少なくとも約５個のアミノ酸からなるアミノ酸配列を持つものが好ましく、一般的には約１０個以上のアミノ酸からなる。これらのオリゴペプチド、ペプチドまたは断片はまた、天然のタンパク質のアミノ酸配列の一部と同一であることが望ましい。REMAPアミノ酸類の短いストレッチ群は、KLHなど他のタンパク質の配列と融合され、このキメラ分子に対する抗体群が産生され得る。

【０２８４】

REMAP に対するモノクローナル抗体は、抗体分子を産生する任意の技術を用いて、培地内の連続した細胞株によって作製し得る。限定するものではないがこのような技術には、ハイブリドーマ技術、ヒトＢ細胞ハイブリドーマ技術、およびEBV-ハイブリドーマ技術がある（Kohler, G. 他(1975) Nature 256:495-497; Kozbor, D.他(1985) J. Immunol. Methods 81:31-42; Cote, R.J.他 (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:2026-2030; Cole, S.P.他(1984) Mol.Cell Biol. 62:109-120)。

【０２８５】

更に、「キメラ抗体」作製のために開発された技術、例えば、ヒト抗体遺伝子にマウス抗体遺伝子をスプライシングするなどの技術が、好適な抗原特異性および生物学的活性を有する分子を得るために用いられる(Morrison, S.L. 他(1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855、Neuberger, M.S. 他(1984) Nature 312:604-608; Takeda, S.他(1985) Nature 314:452-454)。別法では、当分野で周知の方法を用い、一本鎖抗体の産生のための記載された技術を適用して、REMAP特異的一本鎖抗体を生成する。関連特異性を有するがイディオタイプ組成が異なるような抗体を、ランダムな組合せの免疫グロブリンライブラリからチェーンシャッフリングによって産生することもできる（Burton D.R. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10134-10137）。

【０２８６】

抗体の産生は、リンパ球集団におけるin vivo産生の誘導によって、或いは文献に開示されているように非常に特異的な結合試薬の免疫グロブリンのライブラリまたはパネルのスクリーニングによっても行い得る(Orlandi, R. 他(1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:3833-3837、Winter, G.他(1991) Nature 349:293-299)。

【０２８７】

REMAP のための特異結合部位を有する抗体断片を産生することもできる。例えば、限定するものではないが、このような断片には、抗体分子のペプシン消化によって作製される$F(ab')_2$断片と、$F(ab')_2$断片のジスルフィド架橋を還元することによって作製されるFab断片とがある。あるいは、Fab発現ライブラリを作製することによって、所望の特異性を持つモノクローナルFab断片を迅速且つ容易に同定することが可能となる (Huse, W.D. 他(1989) Science 246:1275-1281）。

【０２８８】

種々の免疫学的検定（イムノアッセイ）を用いてスクリーニングすることにより、所望の特異性を有する抗体を同定し得る。隔離された特異性を有するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体の何れかを用いる競合的な結合、または免疫放射線活性のための数々のプロトコルが、当分野では周知である。 通常このようなイムノアッセイには、REMAPとその特異性抗体との間の複合体形成の計測が含まれる。２つの非干渉性REMAPエピトープに対して反応性を持つモノクローナル抗体を用いる、２部位モノクローナルベースの

イムノアッセイが一般に利用されるが、競合的結合アッセイも利用することができる（Pound、前出）。

【０２８９】

ラジオイムノアッセイ技術と共にScatchard分析などの様々な方法を用いて、REMAPに対する抗体の親和性を評価する。親和性を結合定数Kaで表すが、このKaは、平衡状態の下でREMAP抗体複合体のモル濃度を遊離抗体と遊離抗原のモル濃度で除して得られる値である。ポリクローナル抗体類は多数のREMAPエピトープに対して親和性が不均一であり、或るポリクローナル抗体製剤に関して判定したKaは、REMAPに対する抗体群の平均の親和性または結合活性を表す。モノクローナル抗体は或る特定のREMAPエピトープに対して単一特異的であり、モノクローナル抗体の或る製剤について判定したKaは、親和性の真の測定値を表す。Ka値が10^{9}～10^{12}liter／ｍｏｌの高親和性抗体製剤は、REMAP抗体複合体が激しい操作に耐えなければならないイムノアッセイに用いるのが好ましい。Ka値が10^{6}～10^{7}liter／ｍｏｌの低親和性抗体製剤は、REMAPが抗体から最終的に（好ましくは活性化状態で）解離する必要がある免疫精製（immunopurification）および類似の処理に用いるのが好ましい（Catty, D.（1988）Antibodies, Volume I: A Practical Approach, IRL Press, Washington, DC; Liddell, J. E. および Cryer, A.（1991）A Practical Guide to Monoclonal Antibodies, John Wiley & Sons, New York NY）。

【０２９０】

ポリクローナル抗体製剤の抗体価および結合活性を更に評価して、後に使う或る適用例に対するこのような試薬の品質および適性を決定することができる。例えば、少なくとも１～２ｍｇ／ｍｌの特異的な抗体、好ましくは５～１０ｍｇ／ｍｌの特異的な抗体を含むポリクローナル抗体製剤は一般に、REMAP抗体複合体を沈殿させなければならない処理に用いられる。抗体の特異性、抗体価、結合活性、様々な適用例における抗体の品質や使用に対する指針については、一般に入手可能である（Catty、前出、Coligan 他、前出）。

【０２９１】

本発明の別の実施態様では、REMAPをコードするポリヌクレオチド、またはその任意の断片や相補配列を、治療目的で使用できる。或る実施態様では、REMAPをコードする遺伝子のコーディング領域や調節領域に相補的な配列やアンチセンス分子（DNA、RNA、PNA、または修飾したオリゴヌクレオチド）を設計して遺伝子発現をモディフィケーションし得る。このような技術は当分野では周知であり、センスまたはアンチセンスオリゴヌクレオチドまたは大きな断片が、REMAP をコードする配列の制御領域、またはコード領域に沿ったさまざまな位置から設計可能である（Agrawal, S., 編集 (1996) Antisense Therapeutics, Humana Press Inc., Totawa NJ 等を参照）。

【０２９２】

治療に用いる場合、アンチセンス配列を適切な標的細胞に導入するのに好適な、任意の遺伝子送達系を用いることができる。アンチセンス配列は、転写時に標的タンパク質をコードする細胞配列の少なくとも一部に相補的な配列を発現する発現プラスミドの形で細胞内に送達することが可能である（Slater, J.E. 他 (1998) J. Allergy Clin. Immunol. 102:469-475 ；Scanlon, K.J. 他 (1995)9:1288-1296）。アンチセンス配列はまた、例えばレトロウイルスやアデノ関連ウイルスベクター等のウイルスベクターを用いて細胞内に導入することもできる（Miller, A.D. (1990) Blood 76:271、前出のAusubel、Uckert, W. 及び W. Walther (1994) Pharmacol. Ther. 63:323-347）。その他の遺伝送達機構には、リポソーム系、人工的なウイルスエンベロープ及び当分野で公知のその他のシステムが含まれる（Rossi, J.J. (1995) Br. Med. Bull. 51:217-225; Boado、R.J.他 (1998) J. Pharm. Sci. 87:1308-1315、Morris, M.C. 他 (1997) Nucleic Acids Res. 25:2730-2736）。

【０２９３】

本発明の別の実施例では、REMAP をコードするポリヌクレオチドを、体細胞若しくは生殖細胞遺伝子治療に用いることが可能である。遺伝子治療により、（i）遺伝子欠損症を治療し（例えばＸ染色体連鎖遺伝（Cavazzana-Calvo, M.他(2000) Science 288:669-672

）により特徴付けられる重症複合型免疫不全(SCID)-X1病の場合）、先天性アデノシンデアミナーゼ（ADA）欠損症に関連する重症複合型免疫不全症候群（Blaese, R.M. 他(1995) Science 270:475-480; Bordignon, C.他(1995) Science 270:470-475）、嚢胞性繊維症（Zabner, J.他(1993) Cell 75:207-216; Crystal, R.G.他(1995) Hum.Gene Therapy 6:643-666; Crystal, R.G.他(1995) Hum.Gene Therapy 6:667-703）、サラセミア（thalassamia）、家族性高コレステロール血症や、第８因子若しくは第９因子欠損に起因する血友病（Crystal, R.G. (1995) Science 270:404-410、Verma, I.M. および N. Somia (1997) Nature 389:239-242）、（ii）条件的致死性遺伝子産物を発現させ（例えば制御不能な細胞増殖に起因する癌の場合）、（iii）細胞内の寄生生物、例えばヒト免疫不全ウイルス(HIV)（Baltimore, D. (1988) Nature 335:395-396、Poeschla, E.他(1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93:11395-11399）などヒトレトロウイルス、B型若しくはC型肝炎ウイルス（HBV、HCV）、Candida albicansおよびParacoccidioides brasiliensis等の寄生真菌、並びに熱帯熱マラリア原虫およびクルーズトリパノソーマ等の寄生原虫に対する防御機能を有するタンパク質を発現できる。REMAPの発現若しくは調節に必要な遺伝子の欠損が疾患を引き起こす場合、導入した細胞の好適な集団からREMAPを発現させて、遺伝子欠損によって起こる症状の発現を緩和することが可能である。

【０２９４】

本発明の更なる実施例では、REMAPの欠損による疾患や障害は、REMAPをコードする哺乳動物発現ベクターを作製して、これらのベクターを機械的手段によってREMAP欠損細胞に導入することによって治療される。in vivoあるいはex vitroの細胞に用いる機械的導入技術には、(i)個々の細胞内への直接的なDNA微量注射法、(ii)遺伝子銃、(iii)リポソームを介した形質移入、(iv)受容体を介した遺伝子導入、および(v)DNAトランスポゾンの使用がある(Morgan, R.A. および W.F. Anderson(1993)Annu. Rev. Biochem. 62:191-217、Ivics, Z.(1997)Cell 91:501-510; Boulay, J-L. およびH. Recipon(1998)Curr. Opin. Biotechnol. 9:445-450)。

【０２９５】

REMAP の発現に有効であり得る発現ベクターの例として、限定するものではないがpcDNA 3.1、EpiTag、pRcCMV2、pREP、pVAX、pCRII-TOPOTAベクター（Invitrogen, Carlsbad CA）、pCMV-Script、pCMV-Tag、PEGSH/PERV（Stratagene, La Jolla CA）およびPTET-OFF、PTET-ON、PTRE2、PTRE2-LUC、PTK-HYG（Clontech, Palo Alto CA）が挙げられる。REMAP を発現させるために、（i）恒常的に活性なプロモーター（例えば、サイトメガロウイルス（CMV）、ラウス肉腫ウイルス（RSV）、SV40ウイルス、チミジンキナーゼ（TK）、若しくはβ－アクチン遺伝子等）、(ii)誘導性プロモーター（例えば、市販のT-REXプラスミド（Invitrogen）に含まれている、テトラサイクリン調節性プロモーター（Gossen, M. and H. Bujard (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:5547-5551; Gossen, M. 他(1995) Science 268:1766-1769; Rossi, F.M.V. 及び H.M. Blau (1998) Curr. Opin. Biotechnol. 9:451-456））、エクジソン誘導性プロモーター（市販のプラスミドPVGRXR及びPINDに含まれている：Invitrogen）、FK506／ラパマイシン誘導性プロモーター、またはRU486／ミフェプリストーン誘導性プロモーター（Rossi, F.M.V. and H.M. Blau, 前出）、または（iii）正常な個体に由来するREMAP をコードする内在性遺伝子の天然のプロモーター若しくは組織特異的プロモーターを用いることが可能である。

【０２９６】

市販のリポソーム形質転換キット（例えばInvitrogen社のPERFECT LIPID TRANSFECTION KIT）を用いれば、当業者は経験にそれほど頼らないでもポリヌクレオチドを培養中の標的細胞に導入することが可能になる。別法では、リン酸カルシウム法（Graham. F.L. および A.J. Eb（1973）Virology 52:456-467）若しくは電気穿孔法（Neumann, E. 他 (1982) EMBO J. 1:841845).初代培養細胞にDNAを導入するためには、標準化された哺乳類の形質移入プロトコルの修正が必要である。

【０２９７】

本発明の別の実施態様では、REMAP の発現に関連する種々の遺伝子欠損によって起こる

疾患や障害を、（i）レトロウイルス長末端反復配列（LTR）プロモーター若しくは或る独立プロモーターのコントロール下でREMAP をコードするポリヌクレオチドと、（ii）好適なRNAパッケージングシグナル群と、（iii）効率的なベクター増殖に必要なコーディング配列群と追加のレトロウイルス・シス作用性RNA配列群とを伴うRev応答性エレメント（RRE）と、からなるレトロウイルスベクターを作製して治療し得る。レトロウイルスベクター（例えばPFBおよびPFBNEO）はStratagene社から市販されており、刊行データ（Riviere, I. 他（1995）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:6733-6737）に基づく。上記データを引用することを以て本明細書の一部とする。このベクターは、好適なベクター産生細胞株（VPCL）において増殖される。VPCLは、各標的細胞上の受容体への親和性を持つエンベロープ遺伝子を、またはVSVgなど汎親和性エンベロープタンパク質を発現する（Armentano, D. 他(1987) J. Virol. 61:1647-1650; Bender, M.A.他 (1987) J. Virol. 61:1639-1646; Adam, M.A. および A.D. Miller (1988) J. Virol. 62:3802-3806; Dull, T.他 (1998) J. Virol. 72:8463-8471; Zufferey, R.他 (1998) J. Virol. 72:9873-9880)。Riggに付与された米国特許第5,910,434号（「Method for obtaining retrovirus packaging cell lines producing high transducing efficiency retroviral supernatant」）において、レトロウイルスパッケージング細胞株を得るための方法が開示されており、引用することをもって本明細書の一部とする。レトロウイルスベクター類の繁殖や、細胞集団（例えば$CD4^+$T細胞群）の形質導入、および形質導入した細胞群の患者への戻しは、遺伝子治療分野では当業者に周知の手法であり、多数の文献に記載がある（Ranga, U.他(1997) J. Virol. 71:7020-7029; Bauer, G.他 (1997) Blood 89:2259-2267; Bonyhadi, M.L. (1997) J. Virol. 71:4707-4716; Ranga, U.他 (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:1201-1206; Su, L. (1997) Blood 89:2283-2290)。

【０２９８】

或る実施態様では、アデノウイルス系遺伝子治療の送達系を用いて、REMAP の発現に関連する１或いは複数の遺伝子異常を有する細胞にREMAP をコードするポリヌクレオチドを送達する。アデノウイルス系ベクター類の作製およびパッケージングについては、当業者に周知である。複製欠損型アデノウイルスベクター類は、種々の免疫調節タンパク質をコードする遺伝子群を、無損傷の膵島内に導入する目的で多様に利用し得ることが証明された（Csete, M.E.他(1995) Transplantation 27:263-268)。使用できる可能性のあるアデノウイルスベクターは、Armentanoに付与された米国特許第5,707,618号（「Adenovirus vectors for gene therapy」）に記載されており、引用することをもって本明細書の一部とする。アデノウイルスベクター類については、Antinozzi, P.A. 他(1999; Annu. Rev. Nutr. 19:511-544） 並びに、Verma, I.M. および N. Somia (1997; Nature 18:389:239-242）。

【０２９９】

別法では、ヘルペス系遺伝子治療の送達系を用いて、REMAP の発現に関して１以上の遺伝子異常を持つ標的細胞に、REMAP をコードするポリヌクレオチド類を送達する。単純ヘルペスウイルス（HSV）系ベクター類は、HSVが向性を持つ中枢神経細胞にREMAPを導入する際に、特に有益に思える。ヘルペス系ベクター類の作製およびパッケージングは、当業者に公知である。或る複製適格性単純ヘルペスウイルス（HSV）１型系のベクターが、或るレポーター遺伝子の、霊長類の眼への送達に用いられている（Liu, X. 他(1999) Exp.Eye Res.169:385395)。 HSV-1ウイルスベクターの作製についても、DeLucaに付与された米国特許第5,804,413号（「Herpes simplex virus strains for gene transfer」）に開示されており、該特許の引用をもって本明細書の一部とする。米国特許第5,804,413号には、ヒト遺伝子治療を含む目的のために好適なプロモーターの制御下において細胞に導入される少なくとも１つの外在性遺伝子を有するゲノムを含む組換えHSV d92の使用についての記載がある。上記特許はまた、ICP4、ICP27及びICP22を欠失した組換えHSV系統の作製及び使用について開示している。HSVベクター類については、Goins, W.F. 他(1999; J. Virol. 73:519532) および Xu, H. 他 (1994; Dev. Biol. 163:152161)。クローン化ヘルペスウイルス配列の操作、巨大ヘルペスウイルスのゲノムの異なったセグメント群を含

む多数のプラスミドを形質移入した後の組換えウイルスの産生、ヘルペスウイルスの成長及び増殖、並びにヘルペスウイルスの細胞への感染は、当業者に公知の技術である。

【０３００】

別法では、αウイルス（正の一本鎖RNAウイルス）ベクターを用いてREMAP をコードするポリヌクレオチドを標的細胞に送達する。プロトタイプのαウイルスであるセムリキ森林熱ウイルス（Semliki Forest Virus, SFV）の生物学的研究が広範に行われており、遺伝子導入ベクターはSFVゲノムに基づいている（Garoff, H. 及び K.-J. Li (1998) Cun. Opin. Biotech. 9:464-469）。αウイルスRNAの複製中に、通常はウイルスのカプシドタンパク質をコードするサブゲノムRNAが作り出される。このサブゲノムRNAは、完全長のゲノムRNAより高いレベルに複製されるため、酵素活性（例えばプロテアーゼ及びポリメラーゼ）を有するウイルスタンパク質に比べてカプシドタンパク質が過剰産生される。同様に、REMAPをコードする配列をαウイルスゲノムのカプシドをコードする領域に導入することによって、ベクター導入細胞において多数のREMAPをコードするRNAが産生され、高いレベルでREMAPが合成される。通常、αウイルスの感染は、数日以内の細胞溶解を伴う。一方、シンドビスウイルス（SIN）の或る変異体を有するハムスター正常腎臓細胞（BHK-21）群が持続的な感染を確立する能力は、αウイルス類の溶解複製を、遺伝子治療に応用し得るように好適に改変可能であることを示唆する（Dryga, S.A.他(1997) Virology 228 :74-83)。αウイルスの宿主域は広いので、様々なタイプの細胞にREMAPを導入できることとなる。或る集団における或るサブセットの細胞群の特異的形質導入は、形質導入前に細胞の選別を必要とし得る。αウイルスの感染性cDNAクローンの処置方法、αウイルスのcDNAおよびRNAの形質移入方法およびαウイルスの感染方法は、当業者に公知である。

【０３０１】

転写開始部位（transcription initiation site）由来のオリゴヌクレオチドを用いて遺伝子発現を阻害することも可能である。この位置は、例えばスタート部位(start site)から数えて約－１０と約＋１０の間である。同様に、三重らせん塩基対の形成方法を用いて阻害が可能となる。三重らせん塩基対形成は、ポリメラーゼ、転写因子または調節分子と結合できるように十分に開こうとする、二重らせんの能力を阻害するため有用である。三重らせんDNAを用いる最近の治療の進歩については文献に記載がある（Gee, J.E. 他 (1994) in: Huber, B.E.及び B.I. Carr, Molecular and Immunologic Approaches, Futura Publishing Co., Mt. Kisco, NY, 163-177ページ）。相補配列またはアンチセンス分子もまた、転写物がリボソームに結合するのを阻止することによってmRNAの翻訳を阻止するように設計することができる。

【０３０２】

リボザイムは酵素的RNA分子であり、RNAの特異的切断を触媒するためにリボザイムを用いることもできる。リボザイム作用のメカニズムは、相補的標的RNAへのリボザイム分子の配列特異的ハイブリダイゼーションとその後に起こる内ヌクレオチド鎖切断に関与している。例えば、人為操作されたハンマーヘッド型リボザイム分子は、REMAPをコードするRNA分子のヌクレオチド鎖切断を、特異的且つ効果的に触媒する可能性がある。

【０３０３】

任意のRNA標的内の特異的リボザイム切断部位は、GUA、GUU、GUC配列を含めたリボザイム切断部位に対して標的分子をスキャンすることによって先ず同定される。一度同定されると、切断部位を持つ標的遺伝子の領域に対応する１５～２０リボヌクレオチドの短いRNA配列が、そのオリゴヌクレオチドを機能不全にするような２次構造の特徴をもっていないかを評価することが可能になる。候補標的の適合性の評価も、リボヌクレアーゼ保護アッセイを用いて相補的オリゴヌクレオチド群とのハイブリダイゼーションへのアクセス可能性をテストすることによって行い得る。

【０３０４】

相補リボ核酸分子及びリボザイムは、核酸分子の合成のために当分野で既知の任意の方法を用いて作製し得る。作製方法には、固相ホスホラミダイト化学合成など、オリゴヌクレオチドを化学的に合成する方法がある。或いは、REMAPをコードするDNA分子のin vitro

およびin vivo転写によってRNA分子を作成し得る。このようなDNA配列は、T7やSP6などの好適なRNAポリメラーゼプロモーターを用いて多様なベクター内に取り込むことが可能である。或いは、相補的RNAを構成的或いは誘導的に合成するようなこれらcDNA産物を、細胞株、細胞または組織内に導入することができる。

【０３０５】

細胞内の安定性を高め、半減期を長くするために、RNA分子を修飾し得る。限定するものではないが可能な修飾としては、分子の５'末端、３'末端、あるいはその両方において隣接配列群を追加することや、分子の主鎖内においてホスホジエステラーゼ結合ではなくホスホロチオエートまたは2' O-メチルを使用することが含まれる。この概念は、本来はPNA群の産出におけるものであるが、これら全ての分子に拡大することができる。そのためには、内因性エンドヌクレアーゼによって容易には認識されない、アデニン、シチジン、グアニン、チミン、およびウリジンにアセチル－、メチル－、チオ－および同様の修飾をしたものや、非従来型塩基、例えばイノシン、クエオシン（queosine）、ワイブトシン（wybutosine）を加える。

【０３０６】

本発明の更なる実施例は、REMAPをコードするポリヌクレオチドの発現の変化に有効な化合物をスクリーニングする方法を含む。限定するものではないが特異ポリヌクレオチドの発現の改変に効果的な化合物には、オリゴヌクレオチド、アンチセンスオリゴヌクレオチド、三重らせん形成オリゴヌクレオチド、転写因子その他のポリペプチド転写制御因子、及び特異ポリヌクレオチド配列と相互作用し得る非高分子化学的実体がある。有効な化合物は、ポリヌクレオチド発現のインヒビターまたはエンハンサーのいずれかとして作用することによりポリヌクレオチド発現を改変し得る。従って、REMAPの発現または活性の増加に関連する疾患の治療においては、REMAPをコードするポリヌクレオチドの発現を特異的に阻害する化合物が治療上有用であり、REMAPの発現または活性の低下に関連する疾患の治療においては、REMAPをコードするポリヌクレオチドの発現を特異的に促進する化合物が治療上有用であり得る。

【０３０７】

特異ポリヌクレオチドの発現改変における有効性に対して、少なくとも1個から複数個の試験化合物をスクリーニングし得る。試験化合物は、当分野で通常知られている任意の方法により得られる。このような方法には、ポリヌクレオチドの発現を変異させる場合と、既存の、市販のまたは私的な、天然または非天然の化合物ライブラリから選択する場合と、標的ポリヌクレオチドの化学的及び／または構造的特性に基づく化合物を合理的にデザインする場合と、組合せ的にまたは無作為に生成した化合物のライブラリから選択する場合に有効であることが知られているような化合物の化学修飾がある。REMAPをコードするポリヌクレオチドを有するサンプルを、このようにして得た試験化合物の少なくとも１つに曝露する。サンプルは例えば、無傷細胞、透過化処理した細胞、あるいはin vitro無細胞系すなわち再構成生化学系があり得る。REMAP をコードするポリヌクレオチドの発現における変化は、当分野で通常知られている任意の方法でアッセイする。通常、REMAPをコードするポリヌクレオチドの配列に相補的なヌクレオチド配列を有するプローブを用いたハイブリダイゼーションにより、特異ヌクレオチドの発現を検出する。ハイブリダイゼーション量を定量し、それによって１つ以上の試験化合物に曝露される及び曝露されないポリヌクレオチドの発現の比較に対する基礎を形成し得る。試験化合物に曝露されるポリヌクレオチドの発現における変化の検出は、ポリヌクレオチドの発現を改変する際に試験化合物が有効であることを示している。或る特定ポリヌクレオチドの改変発現に有効な化合物のためのスクリーニングを実行でき、例えば分裂酵母（Schizosaccharomyces pombe）遺伝子発現系（Atkins, D. 他(1999) 米国特許第5,932,435号、Arndt, G.M. 他(2000) Nucleic Acids Res. 28:E15）またはHeLa細胞等のヒト細胞株（Clarke, M.L. 他(2000) Biochem. Biophys. Res. Commun. 268:8-13）。本発明の或る特定の実施態様は、或る特定ポリヌクレオチド配列に対するアンチセンス活性について、オリゴヌクレオチド（デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、ペプチド核酸、修飾したオリゴヌクレオチド

）の組合せライブラリをスクリーニングする過程に関する（Bruice, T.W. 他(1997) 米国特許第5,686,242号、Bruice, T.W.他(2000) 米国特許第6,022,691号）。

【０３０８】

ベクターを細胞または組織に導入する多数の方法が利用可能であり、in vivo、in vitro及びex vivoの使用に対して同程度に適している。ex vivo治療の場合、ベクターを、患者から採取した幹細胞内に導入し、クローニング増殖して同患者に自家移植で戻すことができる。トランスフェクション、リポソーム注入またはポリカチオンアミノポリマーによる送達は、当分野でよく知られている方法を用いて実行することができる（Goldman, C.K. 他 (1997) Nat. Biotechnol. 15:462-466）。

【０３０９】

上記の治療方法はいずれも、例えば、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ウサギ、サルなどの哺乳類を含めて治療が必要な全ての被験体に適用できる。

【０３１０】

本発明の或る更なる実施態様は、薬物として許容できる或る賦形剤と共に製剤される或る活性成分を一般に有する、或る組成物の投与に関する。賦形剤には例えば、糖、でんぷん、セルロース、ゴムおよびタンパク質がある。様々な剤型が広く知られており、詳細はRemington's Pharmaceutical Sciences（Maack Publishing, Easton PA）の最新版に記載されている。このような組成物は、REMAP、REMAPの抗体、擬態物質、アゴニスト、アンタゴニスト、またはインヒビターなどからなる。

【０３１１】

本発明に用いられる組成物は、任意の数の経路によって投与することができ、限定するものではないが経路には、経口、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、クモ膜下腔内、心室内、肺、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸内、局所、舌下または直腸がある。

【０３１２】

肺から投与する組成物は、液状または乾燥粉末状で調製し得る。このような組成物は通常、患者が吸入する直前にエアロゾル化する。小分子（例えば伝統的な低分子量有機薬）の場合には、速効製剤のエアロゾル送達は当分野で公知である。高分子（例えばより大きなペプチドおよびタンパク質）の場合には、当該分野において肺の肺胞領域を介しての肺送達が最近向上したことにより、インスリンなどの薬物を実質的に血液循環へ輸送することを可能にした（Patton, J.S. 他, 米国特許第5,997,848号などを参照）。肺送達は、針注射なしに投与する点で優れており、有毒な可能性のある浸透エンハンサーの必要性をなくす。

【０３１３】

本発明での使用に適した組成物には、所定の目的を達成するために必要なだけの量の活性成分を含有する組成物が含まれる。有効投与量の決定は、当業者の能力の範囲内で行う。

【０３１４】

特殊形状の成分は、REMAP またはその断片を含む高分子を直接細胞内輸送するために調製される。例えば、細胞不透過性高分子を含むリポソーム製剤は、その高分子の細胞融合と細胞内送達とを促進し得る。別法では、REMAPまたはその断片を、HIV Tat-1タンパク質から得た短い陽イオンN末端部に結合することもできる。このようにして生成された融合タンパク質類は、或るマウスモデル系の、脳を含む全ての組織の細胞群に形質導入することがわかっている（Schwarze, S.R. 他(1999) Science 285:1569-1572）。

【０３１５】

任意の化合物に対して、細胞培養アッセイ、例えば新生物性細胞の細胞培養アッセイにおいて、或いは、動物モデル、例えばマウス、ウサギ、イヌまたはブタ等において、先ず治療有効投与量を推定することができる。動物モデルはまた、好適な濃度範囲および投与経路を決定するためにも用い得る。このような情報を用いて、次にヒトに対する有益な投与量および投与経路を決定することができる。

【０３１６】

医学的に効果的な薬用量は、症状や容態を回復させる、たとえばREMAPまたはその断片、REMAPの抗体、REMAPのアゴニストまたはアンタゴニスト、インヒビターなどの活性処方成分の量に関連する。治療有効性及び毒性は、細胞培養または動物実験における標準的な薬剤手法によって、例えばED_{50}（集団の５０％の治療有効量）またはLD_{50}（集団の５０％の致死量）を測定するなどして決定することができる。毒性効果の治療効果に対する投与量の比が治療指数であり、LD_{50}/ED_{50}比として表すことができる。高い治療指数を示すような組成物が望ましい。細胞培養アッセイと動物実験とから得られたデータは、ヒトに用いる投与量の範囲の策定に用いられる。このような組成物に含まれる投与量は、毒性を殆どあるいは全く持たず、ED_{50}を含むような血中濃度の範囲にあることが好ましい。投与量は、用いられる投与形態、患者の感受性および投与の経路によってこの範囲内で変わる。

【０３１７】

正確な投与量は、治療が必要な被験者に関する要素を考慮して、現場の医者が決定することになる。充分なレベルの活性成分を与え、あるいは所望の効果を維持すべく、用法および用量を調整する。被験者に関する要素としては、疾患の重症度、患者の全身の健康状態、患者の年齢、体重及び性別(ジェンダー)、投与の時間及び頻度、併用薬、反応感受性及び治療に対する応答等を考慮しうる。作用期間が長い組成物は、特定の製剤の半減期及びクリアランス率によって３～４日毎に１度、１週間に１度、或いは２週間に１度の間隔で投与し得る。

【０３１８】

通常の投与量は、投与の経路にもよるが約0.1～100.000μgであり、合計で約1gまでとする。特定の投与量および送達方法に関するガイダンスは文献に記載されており、現場の医者は通常それを利用することができる。当業者は、ヌクレオチドの処方では、タンパク質またはそれらのインヒビター類とは異なる処方を利用することになる。同様に、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの送達は、特定の細胞、症状、部位などに特異的なものとなる。

【０３１９】

（診断）

別の実施例では、REMAP の発現によって特徴付けられる疾患の診断のために、或いはREMAP やREMAP のアゴニスト、アンタゴニストまたは阻害剤で治療を受けている患者をモニターするためのアッセイにおいて、REMAP を特異的に結合する抗体が用いられることがある。診断目的に有用な抗体は、上記の治療の箇所で記載した方法と同じ方法で作成される。REMAPの診断アッセイには、ヒトの体液から、あるいは細胞や組織の抽出物から、抗体および標識を用いてREMAPを検出する方法が含まれる。この抗体は修飾されたものも、されていないものも可能であり、レポーター分子との共有結合または非共有結合で標識化できる。レポーター分子としては広くさまざまな種類が本分野で知られており、また使用可能であるが、そのうちのいくつかは上記で説明されている。

【０３２０】

REMAPを測定するための、ELISA, RIA, 及びFACSなど種々のプロトコルは、当分野では既知であり、変容した或いは異常なレベルのREMAP発現を診断するための基盤を提供する。正常或いは標準的なREMAPの発現の値は、正常な哺乳動物、例えばヒトなどの被験体から採取した体液または細胞と、REMAPに対する抗体とを、複合体の形成に適した条件下で結合させることによって確立する。標準複合体形成量は、種々の方法、例えば測光法で定量できる。被験体、対照および、生検組織からの疾患サンプルで発現するREMAPの量を、標準値と比較する。標準値と被験体との偏差が、疾患を診断するパラメータを確定する。

【０３２１】

本発明の別の実施態様では、REMAP をコードするポリヌクレオチドを、診断目的で用い得る。用いることができるポリヌクレオチドには、オリゴヌクレオチド配列、相補的RNA及びDNA分子、そしてPNAが含まれる。これらのポリヌクレオチドを用いて、REMAPの発現が疾患と相関し得る生検組織での遺伝子発現を、検出し定量し得る。この診断アッセイを用いて、REMAPの存在の有無、更には過剰な発現を調べ、治療時のREMAP値の調節を監視す

る。

【０３２２】

一態様では、REMAP または近縁の分子をコードする、ゲノム配列などポリヌクレオチドを検出可能なPCRプローブ類とのハイブリダイゼーションを、REMAP をコードする核酸配列の同定に用いうる。プローブが高度に特異的な領域（例えば５'調節領域）から作られているか、またはやや特異性の低い領域（例えば保存されたモチーフ）から作られているかという、そのプローブの特異性と、ハイブリダイゼーションのまたは増幅のストリンジェンシーとによって、プローブが、REMAPをコードする天然配列のみを同定するかどうか、あるいは対立遺伝子変異配列や関連配列を同定するかどうかが決まることになる。

【０３２３】

プローブはまた、関連する配列の検出に利用され、REMAP をコードする任意の配列と少なくとも５０％の配列同一性を有し得る。本発明のハイブリダイゼーションプローブ類はDNAまたはRNAであることがあり、SEQ ID NO:24-46の配列に由来、或いはゲノム配列群、例えばREMAP遺伝子のプロモーター、エンハンサー、イントロンなどに由来し得る。

【０３２４】

REMAP をコードするポリヌクレオチド群に対して特異的なハイブリダイゼーションプローブ群の作製手段としては、REMAP またはREMAP 誘導体群をコードするポリヌクレオチド群を、mRNAプローブ群の作製のためのベクター類にクローニングする方法を含む。ｍＲＮＡプローブ作製のためのベクターは、当業者に知られており、市販されており、好適なＲＮＡポリメラーゼ及び好適な標識されたヌクレオチドを加えることによって、in vitroでＲＮＡプローブを合成するために用いられ得る。ハイブリダイゼーションプローブは、種々のレポーター集団によって標識され得る。レポーター集団の例としては、^{32}Pまたは^{35}S等の放射性核種、或いはアビジン／ビオチン結合系を介してプローブに結合されたアルカリホスファターゼ等の酵素標識などが挙げられる。

【０３２５】

REMAP をコードするポリヌクレオチドを用いて、REMAP の発現に関連する疾患を診断することが可能である。限定するものではないが、そのような疾患のうち、細胞増殖異常の中には日光性角化症及びアテローム性動脈硬化、滑液包炎、硬変、肝炎、混合型結合組織病（MCTD）、骨髄線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症、並びに腺癌及び白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、及び奇形癌、具体的には、副腎、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房、頚部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、子宮の癌が含まれ、自己免疫/炎症性疾患には、後天性免疫不全症候群(AIDS)、アジソン病、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強直性脊椎炎、アミロイド症、貧血症、喘息、アテローム性動脈硬化症、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫性多腺性内分泌カンジダ性外胚葉ジストロフィ(APECED)、気管支炎、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー皮膚炎、皮膚筋炎、真性糖尿病、肺気腫、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、胎児赤芽球症、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋または心膜炎症、骨関節炎、骨粗しょう症、膵炎、多発性筋炎、乾癬、ライター症候群、慢性関節リウマチ炎、強皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性エリテマトーデス、全身性硬化症、血小板減少症、潰瘍性大腸炎、ウェルナー症候群、癌合併症、血液透析、体外循環、ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、蠕虫感染症、外傷が含まれ、腎疾患としては、腎性アミロイドーシス、高血圧症、原発性アルドステロン症、アジソン病、腎不全、糸球体腎炎、慢性糸球体腎炎、尿細管間質性腎炎、腎臓の嚢胞性障害、形成異常奇形（dysplastic malformation）（多嚢胞性疾患、腎異形成、皮質嚢胞、髄質嚢胞）、遺伝性多発性嚢胞腎(PRD)（劣性または常染色体優性の多発性嚢胞腎）、髄質性嚢胞性疾患、髄質海綿腎および尿細管異形成、アルポート症候群、肺の気管支原性腫瘍または、脳の基底領域の腫瘍のような非腎性癌(腎臓の生理に影響する)、多発性骨髄腫、腎臓の腺癌、転移

性腎臓癌、腎臓における機能的または形態的変化（重金属、抗生物質、鎮痛剤、溶剤、シュウ酸症（oxalosis）誘発剤、抗がん剤、除草剤、および抗てんかん剤のような薬学的、化学的または生物学的製剤の摂取、注射、吸入または吸収によって生じる）、神経の疾患の中には、癲癇、虚血性脳血管障害、脳卒中、大脳新生物、アルツハイマー病、ピック病、ハンチントン病、痴呆、パーキソン病及びその他の錐体外路障害、筋萎縮性側策硬化及びその他の運動ニューロン障害、進行性神経性筋萎縮症、色素性網膜炎、遺伝性運動失調、多発性硬化症及び他の脱髄疾患、細菌性及びウイルス性髄膜炎、脳膿瘍、硬膜下蓄膿症、硬膜外膿瘍、化膿性頭蓋内血栓性静脈炎、脊髄炎及び神経根炎、ウイルス性中枢神経系疾患と、クールー及びクロイツフェルト‐ヤコブ病、Gerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含むプリオン病と、致死性家族性不眠症、神経系性栄養病及び代謝病、神経線維腫症、結節硬化症、小脳網膜血管芽腫（cerebelloretinal hemangioblastomatosis）、脳３叉神経血管症候群、ダウン症を含む中枢神経系性精神遅滞及び他の発達障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経系障害、脳神経疾患、脊髄疾患筋ジストロフィー、および他の神経筋障害、末梢神経系疾患、皮膚筋炎及び多発性筋炎と、遺伝性、代謝性、内分泌性、及び中毒性ミオパシーと、重症筋無力症、周期性四肢麻痺と、気分性及び不安性の障害、分裂病性疾患を含む精神病と、季節性障害（SAD）と、静座不能、健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、錐体外路性終末欠陥症候群(遅発性ジスキネジア)、ジストニー、分裂病性精神障害、帯状疱疹後神経痛、及びトゥーレット病と、進行性核上麻痺、大脳皮質基底核変性症及び家族性前頭側頭性健忘症が含まれ、心血管疾患の中には、動静脈瘻、アテローム硬化、高血圧、脈管炎、レイノー病、静脈奇形、動脈解離、静脈瘤、血栓静脈炎及び静脈血栓、血管の腫瘍、血栓崩壊の合併症、バルーン血管形成術、血管置換術、バイパス手術、うっ血性心不全、虚血性心疾患、狭心症、心筋梗塞、高血圧性心疾患、変性弁膜性心疾患、石灰化大動脈弁狭窄症、先天性２尖大動脈弁、僧帽弁輪状石灰化、僧帽弁逸脱、リウマチ熱、リウマチ性心疾患、感染性心内膜炎、非細菌性血栓性心内膜炎、全身性エリテマトーデスの心内膜炎、カルチノイド心疾患、心筋症、心筋炎、心膜炎、腫瘍性心疾患、先天性心臓疾患、及び心臓移植の合併症が含まれ、代謝系の疾患の中には、アジソン病、脳腱黄色腫症、先天性副腎過形成、クマリン耐性（coumarin resistance）、嚢胞性繊維症、糖尿病、脂肪性肝硬変、フルクトース-１、６－ジホスファターゼ欠乏症、ガラクトース血症、甲状腺腫、グルカゴノーマ、糖原病、遺伝性果糖不耐症、副腎皮質機能亢進症（Hyperadrenalism）、副甲状腺機能亢進症、副甲状腺機能低下症、高コレステロール血症、甲状腺機能亢進症、低血糖症、甲状腺機能低下症、脂肪過剰血症、脂質ミオパシー、脂肪ジストロフィー症、リソソーム蓄積症、マノシドーシス、ノイラミニナーゼ欠損症、肥満、骨粗しょう症、フェニルケトン尿症、プソイドビタミンD欠損くる病、炭水化物代謝障害(例えば、先天性II型異常赤血球産生症性貧血、糖尿病、インスリン依存型真性糖尿病、非インスリン依存型真性糖尿病、ガラクトースエピメラーゼ欠乏症、糖原病、リソソーム蓄積症、果糖尿、五炭糖尿症)、およびピルビン酸代謝の先天性異常、脂肪肝のような脂質代謝異常、胆汁うっ滞、原発性胆汁性肝硬変、カルニチン欠乏症、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠乏症、ミオアデニレートデミナーゼ欠乏症、高トリグリセリド血症、ファブリー病などの脂質貯蔵病、ゴーシェ病、ニーマン‐ピック病、変染色性白質ジストロフィー、副腎性白質ジストロフィー、G_{M2}にガングリオシドーシス、セロイドリポフスチン症、無β‐リポ蛋白血症、タンジアー病、リポ蛋白過剰血症、脂肪異栄養症、脂肪腫症、急性皮下脂肪組織炎、播種性脂肪組織壊死症、有痛脂肪症、リポイド副腎過形成、最小変化症、脂肪腫、アテローム性動脈硬化症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症を伴った高コレステロール血症、原発性低αリポ蛋白血症、甲状腺症機能低下症、腎臓病、肝疾患、レシチン-コレステロールアシルトランスフェラーゼ欠乏症、脳腱黄色腫症、シトステロール血症、低コレステロール血症、テイ‐サックス病、サンドホフ病、高脂血症、脂肪過剰血症、脂質筋障害、およびMenke病のような銅代謝疾患、ウイルソン病、およびエーレルス‐ダンロー症候群IX型糖尿病が含まれ、また発達障害の中には尿細管性アシドーシス、貧血、クッシング症候群、軟骨形成不全性小人症、デュシェンヌ‐ベッカー型筋ジストロフィー、癲癇、性腺形成異常、WAGR症候群（ウィル

ムス腫瘍、無虹彩症、尿生殖器異常、精神薄弱）、スミス‐マジェニス症候群(Smith- Magenis syndrome)、脊髄形成異常症候群、遺伝性粘膜上皮異形成、遺伝性角皮症、シャルコー‐マリー‐ツース病及び神経線維腫症などの遺伝性神経病、甲状腺機能低下症、水頭症、Syndenham舞踏病(Syndenham's chorea)及び脳性小児麻痺などの発作障害、脊髄二分裂、無脳症、頭蓋脊椎披裂、先天性緑内障、白内障、感覚神経性聴力損失が含まれ、内分泌疾患の中には原発脳腫瘍及び腺腫、妊娠性梗塞、下垂体切除、動脈瘤、血管奇形、血栓症、感染症、免疫異常、頭部外傷による合併症などの病変から起こる視床下部及び下垂体の障害と、性機能低下及びシーハン症候群、尿崩症、カルマン病、ハンド‐シュラークリスチャン病、レトラ‐シヴェ病、サルコイドーシス、エンプティセラ症候群、小人症を含む下垂体低下に関連した障害と、良性線種によって発生しやすい不適当抗利尿ホルモン（ADH）分泌症候群（SIADH）及び先端巨大症、巨人症を含む下垂体亢進に関連した障害と、甲状腺腫及び粘液水腫、細菌感染性急性甲状腺炎、ウイルス感染性亜急性甲状腺炎、自己免疫性甲状腺炎（橋本病）、クレチン病を含む甲状腺機能低下症に関連した障害と、甲状腺中毒症及びその様々な型、グレーブス病、前脛骨粘液水腫、中毒性多結節性甲状腺腫、甲状腺癌、プランマー病を含む甲状腺機能亢進症と、Conn病（chronic hypercalemia）を含む副甲状腺機能亢進症と、Ｉ型及びII型糖尿病及び合併症などの膵臓疾患と、過形成及び副腎皮質の癌腫や腺腫、アルカローシスに関連した高血圧、アミロイド症、低カリウム血、クッシング病、リドル症候群、Arnold-Healy-Gordon症候群、褐色細胞腫瘍、アジソン病、副腎機能不全などの副腎に関連した障害と、女性の異常プロラクチン産生及び不妊症、子宮内膜症、月経周期の摂動、多嚢胞性卵巣疾患、高プロラクチン血症、選択的性腺刺激ホルモン不全（isolated gonadotropin deficiency）、無月経、乳汁漏出症、半陰陽、多毛症及び男性化、乳癌、閉経期後の骨粗鬆症、男性のライジッヒ細胞過形成、男性更年期、生殖細胞無形成症、ライジッヒ細胞腫瘍に関連した性機能亢進、アンドロゲン受容体の欠如に関連したアンドロゲン耐性、５α－還元酵素症候群、女性化乳房症などの生殖腺ステロイドホルモンに関連した疾患とが含まれ、 筋疾患には、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、ベッカー型筋ジストロフィー、筋緊張（強直）性ジストロフィー、セントラルコア病、ネマリンミオパシー、中心核ミオパシー、脂質ミオパシー、ミトコンドリアミオパシー、感染性筋炎、多発性筋炎、皮膚筋炎、封入体筋炎、甲状腺中毒性ミオパシーおよびエタノールミオパシー、狭心症、アナフィラキシーショック、不整脈、喘息、心血管ショック、クッシング病、高血圧症、低血糖症、心筋梗塞、片頭痛、クロム親和細胞腫、脳症、てんかんを含む筋障害、カーンズ‐セイヤ症候群、乳酸アシドーシス、ミオクローヌス疾患、眼筋麻痺、および酸性マルターゼ欠損症（AMD、ポンペ病としても知られる）が含まれ、また、胃腸疾患が含まれ、その中には嚥下障害、消化性食道炎、食道痙攣、食道狭窄、食道癌、消化不良、消化障害、胃炎、胃癌、食欲不振、悪心、嘔吐、胃不全麻痺、洞または幽門の浮腫、腹部アンギナ、胸焼け、胃腸炎、イレウス、腸管感染、消化性潰瘍、胆石症、胆嚢炎、胆汁うっ滞、膵臓炎、膵臓癌、胆道疾患、肝炎、高ビリルビン血症、硬変症、肝臓の受動性うっ血、ヘパトーム、感染性大腸炎、潰瘍性大腸炎、潰瘍性直腸炎、クローン病、ホイップル病、マロリー‐ヴァイス症候群、結腸癌、結腸閉塞、過敏性腸症候群、短小腸症候群、下痢、便秘、胃腸出血、後天性免疫不全症候群（AIDS）腸症、黄疸、肝性脳症、肝腎症候群、肝炎、血色素症、ウィルソン病、α_1アンチトリプシン欠損症、ライ症候群、原発性硬化性胆管炎、肝梗塞、門脈循環閉塞及び血栓、小葉中心壊死、肝臓紫斑病、肝静脈血栓、肝静脈閉塞症、子癇前症、子癇、妊娠性急性肝脂肪、妊娠性肝臓内胆汁うっ滞と、結節性再生及び腺腫、癌腫を含む肝癌が含まれ、脂質代謝障害の中には、脂肪肝、胆汁うっ滞、原発性胆汁性肝硬変、カルニチン欠乏症、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠乏症、ミオアデニレートデミナーゼ欠乏症、高トリグリセリド血症、ファブリー病などの脂質貯蔵病、ゴーシェ病、ニーマン‐ピック病、変染色性白質ジストロフィー、副腎性白質ジストロフィー、G_{M2}にガングリオシドーシス、セロイドリポフスチン症、無β‐リポ蛋白血症、タンジアー病、リポ蛋白過剰血症、糖尿病、脂肪異栄養症、脂肪腫症、急性皮下脂肪組織炎、播種性脂肪組織壊死症、有痛脂肪症、リポイド副腎過形成、リポイドネフローゼ、脂肪腫、アテローム性動脈硬化症、高コレステロー

ル血症、高トリグリセリド血症を伴った高コレステロール血症、原発性低αリポ蛋白血症、甲状腺症機能低下症、腎臓病、肝疾患、レシチン-コレステロールアシルトランスフェラーゼ欠乏症、脳腱黄色腫症、シトステロール血症、低コレステロール血症、テイ‐サックス病、サンドホフ病、高脂血症、脂肪過剰血症、脂質筋障害、肥満症が含まれる。輸送障害として、運動不能症、筋萎縮性側索硬化症、毛細血管拡張性運動失調症、嚢胞性線維症、ベッカー型筋ジストロフィー、顔面神経麻痺、シャルコー・マリー・ツース病、糖尿病、尿崩症、糖尿病性ニューロパシー、 デュシェンヌ型筋ジストロフィー、高カリウム血性周期性四肢麻痺、正常カリウム血性周期性四肢麻痺、パーキンソン病、悪性高体温症、多剤耐性、重症筋無力症、筋緊張性異栄養症(筋強直性ジストロフィー)、緊張病、遅発性ジスキネジー、ジストニー、末梢神経障害、脳腫瘍、前立腺癌、輸送に関連する心臓疾患（例えばアンギナ、徐脈性不整脈、頻脈性不整脈、高血圧、QT延長症候群、心筋炎、心筋症、ネマリンミオパシー、中心核ミオパシー、脂質ミオパシー、ミトコンドリアミオパシー、甲状腺中毒性ミオパシー、エタノールミオパシー、皮膚筋炎、封入体筋炎、感染性筋炎、多発性筋炎）、輸送に関連する神経疾患（例えばアルツハイマー病、記憶喪失、双極性障害、痴呆、鬱病、癲癇、トゥーレット病、パラノイド精神病、および精神分裂病(統合失調症)）、輸送に関する他の疾患（例えば神経線維腫症、帯状疱疹後神経痛、三叉神経障害、サルコイドーシス、鎌状赤血球貧血、ウィルソン病、白内障、不妊症、肺動脈狭窄、感音常染色体難聴、高血糖症、低血糖症、グレーヴズ病、甲状腺腫、クッシング病、アジソン病、グルコース・ガラクトース吸収不良症候群、高コレステロール血症、副腎脳白質ジストロフィー、ツェルヴェーガー症候群、Menkes病、後頭角症候群（occipital horn syndrome）、von Gierke病、シスチン尿症、イミノグリシン尿症、Hartup病、およびファンコーニ病）、癌（腺癌及び白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、及び奇形癌など、具体的には、副腎、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房、頚部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、子宮の癌）が含まれ、さらに、ウイルス感染症の内には、アデノウイルス（急性呼吸疾患、肺炎）、アレナウイルス（リンパ球性脈絡髄膜炎）、ブニャウイルス（ハンタウイルス）、コロナウイルス（肺炎、慢性気管支炎）、ヘパドナウイルス（肝炎）、ヘルペスウイルス（ヘルペス単純ウイルス、水痘・帯状ウイルス、エプスタイン バーウイルス、サイトメガロウイルス）、フラビウイルス（黄熱）、オルソミクソウイルス（インフルエンザ）、乳頭腫ウイルス（癌）、パラミクソウイルス（麻疹、おたふく風邪）、ピコルナウイルス（ライノウイルス、ポリオウイルス、コクサッキーウイルス）、ポリオーマウイルス（BKウイルス、JCウイルス）、ポックスウイルス（痘瘡）、レオウイルス（コロラドダニ熱）、レトロウイルス（ヒト免疫不全ウイルス、ヒトT細胞ウイルス）、ラブドウイルス（狂犬病）、ロタウイルス（胃腸炎）、およびトガウイルス（脳炎、風疹）によって起こされる感染症が含まれる。REMAP をコードするポリヌクレオチドは、サザーン法やノーザン法、ドットブロット法、或いはその他の膜系の技術、PCR法、ディップスティック（dipstick）、ピン（pin）、およびマルチフォーマットのELISA式アッセイ、および、変容したREMAP 発現を検出するために患者から採取した体液或いは組織を利用するマイクロアレイに使用可能である。このような定性方法または定量方法は、当分野で公知である。

【０３２６】

或る特定の態様では、REMAP をコードするヌクレオチド群を、関連する障害、特に上記した障害を検出するアッセイ類に用い得る。REMAP をコードする配列に相補的なポリヌクレオチドは、標準的な方法で標識化され、ハイブリダイゼーション複合体の形成に好適な条件の下、患者から採取した体液或いは組織のサンプルに加えることができる。好適なインキュベーション期間が経過したらサンプルを洗浄し、シグナルを定量して標準値と比較する。患者のサンプルのシグナルの量が対照サンプルに比較して著しく変化している場合は、そのサンプル内のREMAP をコードするポリヌクレオチド群のレベル変化の存在により、関連する疾患の存在が明らかになる。このようなアッセイは、動物実験、臨床試験における特定の治療効果を評価するため、あるいは個々の患者の治療をモニターするために

用いることもできる。

【０３２７】

REMAPの発現に関連する疾患の診断の基礎を提供するために、発現の正常すなわち標準的なプロフィールが確立される。これは、ハイブリダイゼーション或いは増幅に好適な条件の下で、動物或いはヒトの何れかの正常な被験者から抽出された体液或いは細胞と、REMAPをコードする配列或いはその断片とを結合させることにより達成され得る。実質的に精製されたポリヌクレオチドを既知量で用いて行った実験から得た値を正常な被験者から得た値と比較することにより、標準ハイブリダイゼーションを定量することができる。このようにして得た標準値は、疾患の徴候を示す患者から得たサンプルから得た値と比較することができる。標準値からの偏差を用いて疾患の存在を確定する。

【０３２８】

疾患の存在が確定されて治療プロトコルが開始されると、患者の発現レベルが正常な被検者に観察されるレベルに近づき始めたかどうかを測定するため、ハイブリダイゼーションアッセイを定期的に繰り返し得る。連続アッセイから得られた結果を用いて、数日から数ヶ月の期間にわたる治療の効果を示し得る。

【０３２９】

癌に関しては、個体からの生体組織における異常な量の転写物（過少発現または過剰発現）の存在は、疾患の発生素質を示したり、実際に臨床的症状が現れる前に疾患を検出する方法を提供し得る。この種のより明確な診断により、医療の専門家が予防方法または積極的な治療法を早くから利用し、それによって癌の発生または更なる進行を防止することが可能となる。

【０３３０】

REMAP をコードする配列群から設計したオリゴヌクレオチド群の更なる診断的利用には、PCRの利用を含み得る。これらのオリゴマーは、化学的に合成するか、酵素により生産するか、あるいはin vitroで産出し得る。オリゴマーは、好ましくはREMAPをコードするポリヌクレオチドの断片、あるいはREMAPをコードするポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドの断片を含み、最適な条件下で、特定の遺伝子や条件を識別するために利用される。また、オリゴマーは、やや緩いストリンジェンシー条件下で、近縁のＤＮＡ或いはＲＮＡ配列の検出、定量、或いはその両方のため用いることが可能である。

【０３３１】

或る特定態様で、REMAP をコードするポリヌクレオチド群に由来のオリゴヌクレオチドプライマー類を用い一塩基多型(SNP)を検出し得る。SNPは、多くの場合にヒトの先天性または後天性遺伝病の原因となるような置換、挿入及び欠失である。限定するものではないがＳＮＰの検出方法には、ＳＳＣＰ（single-stranded conformation polymorphism）及び蛍光ＳＳＣＰ（ｆＳＳＣＰ）がある。SSCPでは、REMAP をコードするポリヌクレオチド群に由来のオリゴヌクレオチドプライマー類とポリメラーゼ連鎖反応法（PCR）を用いDNAを増幅する。このDNAは例えば、病変組織または正常組織、生検サンプル、体液などに由来し得る。ＤＮＡ内のＳＮＰによって、一本鎖形状のＰＣＲ生成物の２次及び３次構造に差異が生じる。この差異は非変性ゲル中でのゲル電気泳動法を用いて検出可能である。ｆＳＣＣＰでは、オリゴヌクレオチドプライマーを蛍光性に標識する。それによってＤＮＡシークエンシング機などの高処理機器でアンプリマー（amplimer）の検出が可能になる。更に、インシリコSNP（in silico SNP, isSNP）と呼ばれる配列データベース分析法は、一般的なコンセンサス配列へアセンブリされるような個々のオーバーラップするDNA断片の配列を比較することにより、多型性を同定し得る。これらのコンピュータベースの方法は、ＤＮＡの実験室での調製に、また統計モデル及びＤＮＡ配列クロマトグラムの自動分析を用いたシークエンシングのエラーに起因する配列の変異をフィルタリングして除去する。別の態様では、例えば高処理MASSARRAYシステム（Sequenom, Inc., San Diego CA）を用いた質量分析によりSNPを検出し、特徴付ける。

【０３３２】

SNPを利用して、ヒト疾患の遺伝的基礎を研究しうる。例えば、少なくとも16の一般的

ＳＮＰが非インスリン依存型真性糖尿病と関連がある。SNPはまた、嚢胞性線維症、鎌状赤血球貧血、慢性肉芽腫性疾病等の単一遺伝子病の転帰の違いを研究するために有用である。例えば、マンノース結合レクチンでの変異体（MBL2）は、嚢胞性線維症の肺での有害な転帰と相関することがわかっている。ＳＮＰはまた、生命を脅かす毒性等の薬剤への患者の反応に影響する遺伝変異体の同定という薬理ゲノミックスにおいても有用性がある。例えば、N-アセチルトランスフェラーゼにおける変異は抗結核剤、イソニアジドに応答した末梢神経障害の発生率が高くなるが、ALOX5 遺伝子のコアプロモータの変異は５-リポキシゲナーゼ経路を標的とする抗喘息薬での治療に対する臨床的反応を減少する。異なった集団でのSNPの分布についての分析は遺伝的浮動、突然変異、組み換えおよび選択の研究に有用であると共に、集団の起源と移動の調査にも有用である（Taylor, J.G. 他(2001) Trends Mol. Med. 7:507-512、Kwok, P.-Y.およびZ. Gu (1999) Mol. Med. Today 5:538-543、Nowotny, P. 他(2001) Curr. Opin. Neurobiol. 11:637-641)。

【０３３３】

REMAPの発現を定量するために用い得る別の方法の例としては、ヌクレオチド群の放射標識またはビオチン標識、対照核酸の共増幅（coamplification）、および、標準曲線から得た結果の補間もある(Melby, P.C. 他(1993) J. Immunol. Methods 159:235-244、Duplaa, C.他(1993) Anal. Biochem. 212:229-236)。目的のオリゴマーが種々の希釈液中に存在し、分光光度法または比色反応によって定量が迅速になるような高処理フォーマットのアッセイを行うことによって、複数のサンプルの定量速度を加速することができる。

【０３３４】

更に別の実施様態では、本明細書に記載した任意のポリヌクレオチドに由来するオリゴヌクレオチドまたはより長い断片を、或るマイクロアレイにおけるエレメント群として用いることができる。大多数の遺伝子の相対発現レベルを同時にモニターする転写イメージング技術にマイクロアレイを用いることが可能である。これについては、以下に記載する。マイクロアレイはまた、遺伝変異体、突然変異および多型性の同定に用いることができる。この情報を用いることで、遺伝子機能を決定し、疾患の遺伝的根拠を理解し、疾患を診断し、遺伝子発現の機能としての疾病の進行／後退をモニターし、疾病治療における薬物の活性を開発およびモニターすることができる。特に、患者にとって最もふさわしく、有効な治療法を選択するために、この情報を用いて患者の薬理ゲノムプロフィールを開発することができる。例えば、患者の薬理ゲノムプロファイルに基づき、患者に対して高度に効果的で副作用の最も少ない治療薬を選択することができる。

【０３３５】

別の実施例では、REMAP、REMAPの断片、REMAPに特異的な抗体を、マイクロアレイ上のエレメントとして用いることができる。マイクロアレイを用いて、上記のようなタンパク質－タンパク質相互作用、薬物－標的相互作用および遺伝子発現プロファイルをモニターまたは測定することが可能である。

【０３３６】

或る実施態様は、或る組織または細胞タイプの転写イメージを作製する、本発明のポリヌクレオチドの使用に関連する。転写イメージは、特定の組織または細胞タイプによる遺伝子発現の包括的パターンを表す。包括的遺伝子発現パターンは、所与の条件下で所与の時間に発現した遺伝子の数および相対存在量を定量することにより分析し得る（Seilhamer 他の米国特許第5,840,484号 「Comparative Gene Transcript Analysis」は特に引用することを以って本明細書の一部となす）。従って、特定の組織または細胞タイプの転写物または逆転写物全体に本発明のポリヌクレオチドまたはその相補体をハイブリダイズすることにより、転写イメージを生成し得る。或る実施例では、本発明のポリヌクレオチドまたはその相補体がマイクロアレイ上のエレメントのサブセットを複数含むような高処理フォーマットでハイブリダイゼーションを発生させる。結果として得られる転写イメージは、遺伝子活性のプロファイルを提供し得る。

【０３３７】

転写イメージは、組織、細胞株、生検またはその生体サンプルから単離した転写物を用

いて作製し得る。転写イメージはしたがって、組織または生検サンプルの場合にはin vivo、細胞株の場合にはin vitroでの遺伝子発現を反映する。

【０３３８】

本発明のポリヌクレオチドの発現のプロフィールを作製する転写イメージはまた、工業的または天然の環境化合物の毒性試験のみならず、in vitroモデル系及び薬剤の前臨床評価と併せて使用し得る。全ての化合物は、作用および毒性のメカニズムを標示し、しばしば分子フィンガープリントまたは毒性シグネチャ(toxicant signatures)と称される、特徴的な遺伝子発現パターンを惹起する（Nuwaysir, E.F. 他(1999) Mol. Carcinog. 24:153-159; Steiner, S.およびN.L. Anderson (2000) Toxicol. Lett. 112-113:467-471)。試験化合物が、既知の毒性を有する化合物のシグネチャと同様のシグネチャを有する場合には、毒性特性を共有している可能性がある。フィンガープリントまたはシグネチャは、多数の遺伝子および遺伝子ファミリからの発現情報を含んでいる場合に、最も有用且つ正確である。理想的には、ゲノム全域にわたる発現の測定が、最高品質のシグネチャを提供する。たとえ、発現が任意の試験された化合物によって変容しない遺伝子があったとしても、それらの発現レベルを残りの発現データをノーマライズするために使用できるため、それらの遺伝子は重要である。ノーマライズ手順は、種々の化合物で処理した後の発現データの比較に有用である。毒性シグネチャの要素への遺伝子機能を割り当てることは毒性機構の解明に役立つが、毒性の予測につながるシグネチャの統計的な一致には遺伝子機能の知識は必要ではない（例えば２０００年２月２９日に米国国立環境健康科学研究所（National Institute of Environmental Health Sciences）より2000年2月29日に発行されたPress Release 00-02を参照されたい。これについてはhttp://www.niehs.nih.gov/oc/news/toxchip.htmで入手可能である）。したがって、毒性シグネチャを用いる中毒学的スクリーニングの際に、全ての発現した遺伝子配列を含めることは、重要且つ望ましい。

【０３３９】

或る実施例では、核酸を有する生体サンプルを試験化合物で処理することにより、この試験化合物の毒性を算定する。処理した生物学的サンプル中で発現した核酸は、本発明のポリヌクレオチドに特異的な１つ以上のプローブでハイブリダイズし、それによって本発明のポリヌクレオチドに対応する転写物レベルを定量し得る。処理した生体サンプル中の転写レベルを、未処理生体サンプル中のレベルと比較する。両サンプルの転写物レベルの差は、処理されたサンプル中で試験化合物が引き起こす毒性反応を示す。

【０３４０】

別の実施態様は、本明細書に開示するポリペプチド配列群を用いて或る組織または細胞タイプのプロテオームを分析することに関する。プロテオームの語は、特定の組織または細胞タイプでのタンパク質発現の包括的パターンを指す。プロテオームの各タンパク質成分は、個々に更なる分析にかけることができる。プロテオーム発現パターンすなわちプロファイルは、所与の条件下で所与の時間に発現したタンパク質の数および相対存在量を定量することにより分析し得る。したがって、或る細胞のプロテオームのプロファイルは、特定の組織または細胞タイプのポリペプチドを分離および分析することにより作成し得る。或る実施例では、１次元等電点電気泳動によりサンプルからタンパク質を分離し、２次元ドデシル硫酸ナトリウムスラブゲル電気泳動により分子量に応じて分離するような２次元ゲル電気泳動により、分離が達成される（前出のSteiner および Anderson）。タンパク質は、通常はクーマシーブルー、あるいは銀染色液または蛍光染色液などの物質を用いてゲルを染色することにより、分散した、独自の位置にある点としてゲル中で可視化される。各タンパク質スポットの光学密度は、通常、サンプル中のタンパク質レベルに比例する。異なるサンプル、例えば試験化合物または治療薬で処理または未処理のいずれかの生体サンプルからの、同等に位置したタンパク質スポットの光学密度を比較し、処理に関連するタンパク質スポット密度の変化を同定する。スポット内のタンパク質は、例えば化学的または酵素的切断とそれに続く質量分析を用いる標準的な方法を用いて部分的にシークエンシングする。或るスポット内のタンパク質の同一性は、その部分配列を、好適には少なくとも５個の連続するアミノ酸残基を、目的のポリペプチド配列と比較することにより

決定し得る。場合によっては、決定的なタンパク質同定のための更なる配列データが得られる。

【０３４１】

プロテオームのプロファイルは、REMAP に特異的な抗体を用いて作成してREMAP 発現レベルを定量する。或る実施態様では、マイクロアレイ上のエレメントとしてこれら抗体を用い、マイクロアレイをサンプルに曝して各アレイエレメントへのタンパク質結合レベルを検出することにより、タンパク質発現レベルを定量する（Lueking, A. 他(1999) Anal. Biochem. 270:103-111、Mendoze, L.G.他(1999) Biotechniques 27:778-788)。検出は当分野で既知の様々な方法で行うことができ、例えば、チオール反応性またはアミノ反応性蛍光化合物とサンプル中のタンパク質を反応させ、各アレイエレメントにおける蛍光結合の量を検出し得る。

【０３４２】

プロテオームレベルでの毒性シグネチャも中毒学的スクリーニングに有用であり、転写レベルでの毒性シグネチャと並行に分析するべきである。いくつかの組織のいくつかのタンパク質については、転写物の存在量とタンパク質の存在量との相関が乏しいので（Anderson, N.L. および J. Seilhamer（1997）Electrophoresis 18:533-537）、転写イメージにはそれ程影響しないがプロテオームのプロファイルを改変するような化合物の分析において、プロテオーム毒性シグネチャは有用たり得る。更に、体液中の転写物の分析はmRNAの急速な分解のために困難なので、プロテオームのプロファイル作成はこのような場合により信頼でき、情報価値があり得る。

【０３４３】

別の実施様態では、タンパク質を含有する生体サンプルを試験化合物で処理することにより試験化合物の毒性を算定する。処理された生体サンプル中で発現したタンパク質は、各タンパク質の量を定量し得るように分離する。各タンパク質の量を、未処理生物学的サンプル中の対応するタンパク質の量と比較する。両サンプルのタンパク質量の差は、処理サンプル中の試験化合物に対する毒性反応を示す。個々のタンパク質は、個々のタンパク質のアミノ酸残基をシークエンシングし、これら部分配列を本発明のポリペプチドと比較することにより同定する。

【０３４４】

別の実施様態では、タンパク質を含有する生体サンプルを試験化合物で処理することにより試験化合物の毒性を算定する。生体サンプルから得たタンパク質は、本発明のポリペプチドに特異的な抗体を用いてインキュベートする。抗体により認識されたタンパク質の量を定量する。処理された生物学的サンプル中のタンパク質の量を、未処理生物学的サンプル中のタンパク質の量と比較する。両サンプルのタンパク質量の差は、処理サンプル中の試験化合物に対する毒性反応を示す。

【０３４５】

マイクロアレイは、本技術分野で既知の方法で調製し、使用し、分析する(例えばBrennan, T.M. 他（1995）米国特許第5,474,796号、Schena, M. 他（1996）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:10614-10619、Baldeschweiler 他（1995）PCT出願第WO95/251116号、Shalon, D.他（1995）PCT出願第WO95/35505号、Heller, R.A. 他 (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:2150-2155; Heller, M.J. et al.(1997) 米国特許第5,605,662号）。様々なタイプのマイクロアレイが周知であり、詳細は、M. Schena, 編集(1999; DNA Microarrays: A Practical Approach, Oxford University Press, London)に記載がある。

【０３４６】

本発明の別の実施例では、天然のゲノム配列をマッピングする際に有効なハイブリダイゼーションプローブを産出するため、REMAP をコードする核酸配列を用いることが可能である。コード配列または非コード配列のいずれかを用いることができ、或る例では、コード配列より非コード配列の方が好ましい。例えば、多重遺伝子族のメンバー内でのコード配列の保存により、染色体マッピング中に望ましくないクロスハイブリダイゼーションが生じる可能性がある。核酸配列は、特定の染色体、染色体の特定領域または人工形成の染

色体、例えば、ヒト人工染色体（HAC）、酵母人工染色体（YAC）、細菌人工染色体（BAC）、細菌P1産物、或いは単一染色体cDNAライブラリに対してマッピングされる（Harrington, J.J. 他 (1997) Nat Genet. 15:345-355、Price, C.M. (1993) Blood Rev. 7:127-134、Trask, B.J. (1991) Trends Genet. 7:149-154）。一度マッピングすると、核酸配列を用いて、例えば病状の遺伝と特定の染色体領域やまたは制限酵素断片長多型（RFLP）の遺伝とが相関するような遺伝子連鎖地図を作成可能である（Lander, E.S. 及び D. Botstein (1986) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:7353-7357）。

【０３４７】

蛍光原位置ハイブリッド形成法（FISH）は、他の物理的及び遺伝地図データと相関し得る（Heinz-Ulrich, 他 (1995) 前出のMeyers, 965-968ページ）。遺伝地図データの例は、種々の科学雑誌あるいはOnline Mendelian Inheritance in Man（OMIM）のウェブサイトに見ることができる。物理的な染色体地図上のREMAP をコードする遺伝子の位置と、特定の疾患との相関性、あるいは特定の疾患に対する素因との相関性は、この疾患と関連するDNAの領域の決定に役立ち得るため、ポジショナルクローニングの作業を促進し得る。

【０３４８】

確定した染色体マーカーを用いた連鎖分析等の物理的マッピング技術及び染色体標本原位置ハイブリッド形成法を用いて、遺伝地図を拡張することができる。例えばマウスなど別の哺乳類の染色体上に遺伝子を配置することにより、正確な染色体上の遺伝子座が未知でも、関連するマーカー類をしばしば明らかにし得る。この情報は、ポジショナルクローニング、またはその他の遺伝子発見技術を用いて疾患遺伝子を探す研究者にとって価値がある。疾患または症候群に関与する遺伝子が、血管拡張性失調症の11q22-23領域等、特定の遺伝子領域への遺伝的結合によって大まかに位置決めがなされると、該領域にマップされる任意の配列は、更なる調査のための関連遺伝子あるいは調節遺伝子を提示している可能性がある(Gatti, R.A.他(1988) Nature 336:577-580)。転座、反転などに起因する、健常者、保有者、罹病者の三者間における染色体位置の相違を検出する場合にも、本発明のヌクレオチド配列を用い得る。

【０３４９】

本発明の別の実施例では、REMAP、その触媒作用断片或いは免疫原断片またはそのオリゴペプチドを、種々の任意の薬剤スクリーニング技術における化合物のライブラリのスクリーニングに用いることができる。薬剤スクリーニングに用いる断片は、溶液中に遊離しているか、固体支持物に固定されるか、細胞表面上に保持されるか、細胞内に位置しうる。REMAPと、テストする薬剤との、結合複合体の形成を測定し得る。

【０３５０】

別の薬剤スクリーニング方法は、目的のタンパク質に対して好適な結合親和性を有する化合物を高処理能力でスクリーニングするために用いられる（Geysen,他 (1984) PCT出願番号 WO84/03564）。この方法においては、多数の様々な低分子の試験用化合物を固体基板上で合成する。テスト化合物は、REMAP、或いはその断片と反応してから洗浄する。次ぎに、結合されたREMAP が当分野で周知の方法で検出される。 精製されたREMAP はまた、前記した薬剤をスクリーニングする技術に用いられるプレート上で直接被覆することもできる。別法では、非中和抗体を用いてペプチドを捕捉し、ペプチドを固体支持物に固定することもできる。

【０３５１】

別の実施例では、REMAP と特異結合可能な中和抗体がREMAP との結合について試験用化合物競合する、競合的薬剤スクリーニングアッセイを用いることができる。この方法では、抗体を用いて、１つ以上の抗原決定因子をREMAPと共有する、どのペプチドの存在も検出できる。

【０３５２】

別の実施例では、発展途上の分子生物学技術にREMAP をコードするヌクレオチド配列を用いて、限定はされないが、現在知られているトリプレット暗号及び特異的な塩基対相互作用などのヌクレオチド配列の特性に依存する新しい技術を提供することができる。

【０３５３】
更に詳細説明をしなくとも、当業者であれば以上の説明を以って本発明を最大限に利用できるであろう。したがって、これ以下に記載する実施例は単なる例示目的にすぎず、いかようにも本発明を限定するものではない。
【０３５４】
更に詳細説明をしなくとも、当業者であれば以上の説明を以って本発明を最大限に利用できるであろう。従って、これ以下に記載する実施例は単なる例示目的にすぎず、いかようにも本発明を限定するものではない。
【０３５５】
本明細書において開示した全ての特許、特許出願及び刊行物、特に、米国特許第60/306.020号、第 60/308.179号、第60/309.702号、第60/311.476号、第60/311.551号、第60/311.718号、第60/314.798号、第60/316.0639号及び第 60/317.996号は言及することをもって本明細書の一部となす。
【実施例】
【０３５６】
１　cDNAライブラリの作製
Incyte cDNA群の由来は、LIFESEQ GOLDデータベース (Incyte Genomics, Palo Alto CA)に記載されたcDNAライブラリ群である。幾つかの組織はホモジナイズしてグアニジニウムイソチオシアネート溶液に溶解し、他の組織はホモジナイズしてフェノールにまたは変性剤群の好適な混合液に溶解した。混合液の１例であるTRIZOL（Invitrogen）は、フェノールとグアニジンイソチオシアネートとの単相溶液である。結果として得た溶解物は、塩化セシウムのクッション液の上に重層して遠心分離するか、クロロフォルムで抽出した。イソプロパノールか、酢酸ナトリウムとエタノールか、いずれか一方、或いは別の方法を用いて、溶解物からＲＮＡを沈殿させた。
【０３５７】
RNAの純度を高めるため、RNAのフェノールによる抽出及び沈殿を必要な回数繰り返した。場合によっては、ＤＮＡ分解酵素でＲＮＡを処理した。殆どのライブラリでは、オリゴd（T）連結常磁性粒子（Promega）、OLIGOTEXラテックス粒子（QIAGEN, Chatsworth CA）またはOLIGOTEX mRNA精製キット（QIAGEN）を用いて、ポリ（A）+RNAを単離した。別法では、別のRNA単離キット、例えばPOLY（A）PURE mRNA精製キット（Ambion, Austin TX）を用いて、組織溶解物からRNAを直接単離した。
【０３５８】
場合によってはStratagene社へのRNA提供を行い、対応するcDNAライブラリをStratagene社が作製することもあった。そうでない場合は、UNIZAPベクターシステム（Stratagene）またはSUPERSCRIPTプラスミドシステム（Invitrogen）を用いて本技術分野で公知の推奨される方法または類似の方法でcDNAを合成し、cDNAライブラリを作製した（前出のAusubel、他、5章）。逆転写は、オリゴd（T）またはランダムプライマーを用いて開始した。合成オリゴヌクレオチドアダプターを二本鎖cDNAに連結反応させ、好適な制限酵素または酵素群でcDNAを消化した。殆どのライブラリに対しcDNAのサイズ選択（300～1000bp）は、SEPHACRYL S1000、SEPHAROSE CL2BまたはSEPHAROSE CL4Bカラムクロマトグラフィ（Amersham Biosciences）、あるいは分取用アガロースゲル電気泳動法を用いて行った。cDNAは好適なプラスミドのポリリンカーの、適合する制限酵素部位にライゲーションされた。好適なプラスミドは、例えばPBLUESCRIPTプラスミド（Stratagene）、PSPORT1プラスミド（Invitrogen）PCDNA2.1プラスミド（Invitrogen, Carlsbad CA）、PBK-CMVプラスミド（Stratagene）、PCR2－TOPOTAプラスミド（Invitrogen）、PCMV-ICISプラスミド（Stratagene）、pIGEN（Incyte Genomics, Palo Alto CA）、pRARE (Incyte Genomics)、またはpINCY（Incyte Genomics）、またはこれらの誘導体である。組換えプラスミドは、Stratagene社のXL1-Blue、XL1-BIueMRFまたはSOLR、あるいはInvitrogen社のDH5α、DH10BまたはElectroMAX DH10Bなど適格な大腸菌細胞に形質転換した。
【０３５９】

2 cDNAクローンの単離

UNIZAPベクターシステム（Stratagene）を用いたin vivo切除によって、或いは細胞溶解によって、実施例1のようにして得たプラスミドを宿主細胞から回収した。プラスミドを精製する方法は、MagicまたはWIZARD Minipreps DNA精製システム（Promega）、AGTC Miniprep精製キット（Edge Biosystems, Gaithersburg MD）、QIAGEN社のQIAWELL 8 Plasmid、QIAWELL 8 Plus PlasmidおよびQIAWELL 8 Ultra Plasmid 精製システム、R.E.A.L. Prep 96プラスミド精製キットの中から少なくとも１つを用いた。プラスミドは、沈殿させた後、0.1mlの蒸留水に再懸濁して、凍結乾燥して或いは凍結乾燥しないで４℃で保管した。

【０３６０】

別法では、高処理フォーマットにおいて直接結合ＰＣＲ法を用いて宿主細胞溶解物からプラスミドＤＮＡを増幅した（Rao, V.B. (1994) Anal. Biochem. 216:1-14）。宿主細胞の溶解および熱サイクリング過程は、単一反応混合液中で行った。サンプルを処理し、それを３８４穴プレート内で保管し、増幅したプラスミドＤＮＡの濃度をPICOGREEN色素（Molecular Probes, Eugene OR）及びFLUOROSKAN２蛍光スキャナ（Labsystems Oy, Helsinki, Finland）を用いて蛍光分析的に定量した。

【０３６１】

3 シークエンシング及び分析

実施例２に記載したようにプラスミドから回収したＩｎｃｙｔｅ cDNAを、以下に示すようにシークエンシングした。cDNAのシークエンス反応は、標準的方法あるいは高処理装置、例えばABI CATALYST 800 サーマルサイクラー（Applied Biosystems）またはPTC-200 サーマルサイクラー（MJ Research）を、HYDRAマイクロディスペンサー（Robbins Scientific）またはMICROLAB 2200（Hamilton）液体転移システムと併用して処理した。cDNAのシークエンス反応は、Amersham Biosciences社が提供する試薬、またはABIシークエンシングキット、例えばABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reaction kit（Applied Biosystems）の試薬を用いて準備した。ｃＤＮＡのシークエンス反応の電気泳動的分離及び標識したポリヌクレオチドの検出には、MEGABACE 1000 DNAシークエンシングシステム（Applied Biosystems）か、標準ABIプロトコル及び塩基呼び出し(base calling)ソフトウェアを用いるABI PRISM 373または377シークエンシングシステム（Applied Biosystems）か、或いはその他の本技術分野で既知の配列解析システムを用いた。ｃＤＮＡ配列内のリーディングフレームは、標準的方法（前出のAusubel, 7章）を用いて決定した。ｃＤＮＡ配列の幾つかを選択して、実施例８に記載した方法で配列を伸長させた。

【０３６２】

IncyteのｃＤＮＡ配列に由来するポリヌクレオチド配列は、ベクター、リンカー及びポリ(A)配列を除去し、あいまいな塩基をマスクすることによって有効性を確認した。その際、BLAST、動的プログラミング及び隣接ジヌクレオチド頻度分析に基づくアルゴリズム及びプログラムを用いた。次に、Incyte cDNA配列またはそれらの翻訳の問い合わせを、以下のデータベース群に対して行った。すなわち、選抜した公共のデータベース群(例えばGenBankの霊長類、げっ歯類、哺乳類、脊椎動物、真核生物のデータベースと、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM)と、ヒト、ラット、マウス、線虫(Caenorhabditis elegans)、出芽酵母(Saccharomyces cerevisiae)、分裂酵母(Schizosaccharomyces pombe)およびCandida albicansからの配列群を持つPROTEOMEデータベース群(Incyte Genomics, Palo Alto CA)、および、隠れマルコフモデル(HMM)ベースのタンパク質ファミリーデータベース群、例えばPFAM、INCY、およびTIGRFAM (Haft, D.H. 他(2001) Nucleic Acids Res. 29:41-43); 並びにHMMベースのタンパク質ドメインデータベース例えばSMART (Schultz J. 他(1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:5857-5864; Letunic, I. 他(2002) Nucleic Acids Res. 30:242-244)。（HMMは、遺伝子ファミリーのコンセンサス１次構造を分析する確率的アプローチである。Eddy, S.R. (1996) Cuff. Opin. Struct. Biol. 6:361-365等を参照）。問合せは、BLAST、FASTA、BLIMPS、およびHMMERに基づくプログラムを用いて行っ

た。Incyte cDNA配列は、完全長のポリヌクレオチド配列を産出するようにアセンブリした。あるいは、GenBank cDNA群、GenBank EST群、スティッチされた配列群、ストレッチされた配列群、またはGenscan予測コード配列群（実施例４および５を参照）を用い、Incyte cDNAのアセンブリ体群を完全長まで伸長させた。PhredとPhrapとConsedとに基づくプログラムを用いてアセンブリし、GenMarkとBLASTとFASTAとに基づくプログラムを用いて、cDNAのアセンブリ体を、オープンリーディングフレームについてスクリーニングした。完全長ポリヌクレオチド配列を翻訳し、対応する完全長ポリペプチド配列を得た。あるいは、或るポリペプチドは、完全長翻訳ポリペプチドの任意のメチオニン残基で開始し得る。完全長ポリペプチド配列群の続いての分析としての問い合わせを、GenBankタンパク質データベース群（genpept）、SwissProt、PROTEOMEデータベース群、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOMおよびProsite等のデータベースや、PFAM、INCY、およびTIGRFAM等の隠れマルコフモデル（HMM）ベースのタンパク質ファミリーデータベース群、並びにSMART等のHMMベースのタンパク質ドメインデータベース群に対し行った。完全長ポリヌクレオチド配列はまた、MACDNASIS PROソフトウェア（日立ソフトウェアエンジニアリング，South San Francisco CA）およびLASERGENEソフトウェア（DNASTAR）を用いて分析する。ポリヌクレオチド及びポリペプチド配列アラインメントは、アラインメントした配列間の一致率も計算するMEGALIGNマルチシークエンスアラインメントプログラム（DNASTAR）に組み込まれているようなCLUSTALアルゴリズムによって指定されるデフォルトパラメータを用いて作製する。

【０３６３】

Incyte ｃＤＮＡ及び完全長配列の分析及びアセンブリに利用したツール、プログラム及びアルゴリズムの概略と、適用可能な説明、参照文献、閾値パラメータを表7に示す。用いたツール、プログラム及びアルゴリズムを表７の列１に、それらの簡単な説明を列２に示す。列３は好適な参照文献であり、全ての文献は全体を引用を以って本明細書の一部となす。適用可能な場合には、列４は２つの配列が一致する強さを評価するために用いたスコア、確率値その他のパラメータを示す（スコアが高いほど、または確率値が低いほど、２配列間の相同性が高くなる）。

【０３６４】

完全長ポリヌクレオチド配列およびポリペプチド配列の組み立て及び分析に用いる上記のプログラムは、SEQ ID NO:24－46のポリヌクレオチド配列断片の同定にも利用できる。ハイブリダイゼーション及び増幅技術に有用である約２０～約４０００ヌクレオチドの断片を表４の列2に示した。

【０３６５】

４　ゲノムDNAからのコード配列の同定及び編集

推定上の受容体および膜結合タンパク質は、公共のゲノム配列データベース（例えば、gbpriやgbhtg）においてGenscan遺伝子同定プログラムを実行して初めに同定された。Genscanは、様々な生物からのゲノムDNA配列を分析する汎用遺伝子同定プログラムである（Burge, C. 及び S. Karlin (1997) J. Mol. Biol. 268:78-94、Burge, C. 及び S. Karlin (1998) Curr. Opin. Struct. Biol. 8:346-354）。プログラムは予測エキソンを連結し、メチオニンから停止コドンに及ぶアセンブリされたcDNA配列を形成する。Genscanの出力は、ポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列のFASTAデータベースである。Genscanが一度に分析する配列の最大範囲は、３０kbに設定した。これらのGenscan予測cDNA配列の内、どの配列が受容体および膜関連タンパク質をコードするかを判定するために、コードされるポリペプチドを、PFAMモデル群に対し、受容体および膜関連タンパク質について問合せて分析した。潜在的な受容体および膜関連タンパク質はまた、既に受容体および膜関連タンパク質としてアノテーションが付けられたIncyte cDNA配列に対する相同性を基に同定された。こうして選択されたGenscan予測配列は、次にBLAST分析により公共データベースgenpept及びgbpriと比較した。必要であれば、genpeptからのトップBLASTヒットと比較することによりGenscan予測配列を編集し、余分なまたは省略されたエキソンなど、Genscanが予測した配列におけるエラーを補正した。BLAST分析はまた、Genscan予測配列の、

いかなるIncyte cDNAまたは公共cDNAカバレッジ（coverage）の発見にも用いられ、したがって転写の証拠を提供した。Incyte cDNAカバレッジが利用できた場合には、この情報を用いてGenscan予測配列を補正または確認した。完全長ポリヌクレオチド配列は、実施例３に記載したアセンブリプロセスを用いて、Incyte cDNA配列および／または公共cDNA配列でGenscan予測コード配列をアセンブリして得た。或いは、完全長ポリヌクレオチド配列は、編集した、または非編集のGenscan予測コード配列に完全に由来する。

【０３６６】

５　ｃDNA配列データを使ったゲノム配列データのアセンブリ

スティッチ配列（Stitched Sequence）

部分cDNA配列は、実施例４に記載のGenscan遺伝子同定プログラムにより予測されたエキソンを用いて伸長させた。実施例３に記載されたようにアセンブリされた部分cDNAは、ゲノムDNAにマッピングし、関連するcDNA及び１つ以上のゲノム配列から予測されたGenscanエキソンを含むクラスタに分解した。cDNA及びゲノム情報を統合するべくグラフ理論及び動的プログラミングに基づくアルゴリズムを用いて各クラスタを分析し、引き続いて確認、編集または伸長して完全長配列を産出するような潜在的スプライス変異体を生成した。区間の全長が、２つ以上の配列に在るような配列区間群をクラスター内で同定し、そのように同定された区間群は、推移性により、等しいと考えた。例えば、１つのｃＤＮＡと２つのゲノム配列上に或る区間が存在する場合、この３つの区間は全て等しいと考えられた。このプロセスは、無関係であるが連続したゲノム配列をcDNA配列により結び合わせて架橋し得る。このようにして同定された区間を、親配列（parent sequence）に沿って現われる順にステッチアルゴリズムで縫い合わせ、可能な最も長い配列および変異配列を作製する。１種類の親配列に沿って発生した区間間の連鎖（ｃＤＮＡ－ｃＤＮＡまたはゲノム配列－ゲノム配列）は、親の種類を変える連鎖（ｃＤＮＡ－ゲノム配列）に優先した。結果として得たスティッチ配列群を翻訳し、BLAST分析で公共データベースgenpeptおよびgbpriと比較した。Genscanが予測した不正確なエキソン群は、genpeptからのトップBLASTヒットとの比較により補正した。必要な場合には、追加cDNA配列を用いるかゲノムDNAの検査により配列を更に伸長させた。

【０３６７】

ストレッチ配列（Stretched Sequence）

部分DNA配列は、BLAST分析に基づくアルゴリズムにより完全長まで伸長された。先ず、BLASTプログラムを用いて、GenBankの霊長類、げっ歯類、哺乳動物、脊椎動物及び真核生物のデータベースなどの公共データベースに対し、実施例３に記載したようにアセンブリされた部分cDNAを問い合わせた。次に、最も近いGenBankタンパク質相同体を、BLAST分析により、Incyte cDNA配列または実施例４に記載のGenScanエキソン予測配列のいずれかと比較した。結果として得られる高スコアリングセグメント対（HSP）を用いてキメラタンパク質を産出し、翻訳した配列をGenBankタンパク質相同体上にマッピングした。元のGenBankタンパク質相同体に対し、キメラタンパク質内では挿入または欠失が起こり得る。GenBankタンパク質相同体、キメラタンパク質またはその両方をプローブとして用い、公共のヒトゲノムデータベースから相同ゲノム配列を検索した。このようにして、部分的なDNA配列を、相同ゲノム配列の付加によりストレッチすなわち伸長した。結果として得られるストレッチ配列を検査し、完全遺伝子を含んでいるか否かを判定した。

【０３６８】

６　REMAP をコードするポリヌクレオチドの染色体マッピング

SEQ ID NO:24－46を構築するために用いた配列を、BLAST及びSmith-Watermanアルゴリズムを用いて、Incyte LIFESEQデータベース及び公共のドメインデータベースの配列と比較した。SEQ ID NO:24-46 と一致するこれらのデータベースの配列を、Phrapなどのアセンブリアルゴリズム（表７）を使用して、連続及びオーバーラップした配列のクラスターにアセンブリした。スタンフォード・ヒトゲノムセンター（SHGC）、ホワイトヘッド・ゲノム研究所（WIGR）、Genethonなどの公的な情報源から入手可能な放射線ハイブリッドおよび遺伝地図データを用いて、いずれかのクラスター化された配列が既にマッピングされ

ているかを判定した。マッピングされた配列が或るクラスターに含まれている場合、そのクラスターの全配列が、個々の配列番号と共に、地図上の位置に割り当てられた。

【０３６９】

地図上の位置は、ヒト染色体の範囲または区間として表される。センチモルガン単位での或る区間の地図上の位置は、染色体の短腕（p-arm）の末端に対して測定する（センチモルガン（cM）は、染色体マーカー間の組換え頻度に基づく計測単位である。平均して、１cMは、ヒト中のDNAの１メガベース（Mb）にほぼ等しい。 もっとも、この値は、組換えのホットスポット及びコールドスポットによって広範囲に変化する）。cM距離は、各クラスタ内に配列が含まれる放射線ハイブリッドマーカー類に対して境界を提供するGenethonによってマッピングされた遺伝マーカー群に基づく。NCBI「GeneMap'99」（http://www.ncbi.nlm.nih.gpv/genemap/）などの一般個人が入手可能なヒト遺伝子マップおよびその他の情報源を用いて、既に同定されている疾患遺伝子群が、上記した区間内若しくは近傍に位置するかを決定できる。

【０３７０】

7　ポリヌクレオチド発現の分析

ノーザン分析は、遺伝子の転写物の存在を検出するために用いられる実験用技術であり、特定の細胞種或いは組織からのRNAが結合されている膜への標識されたヌクレオチド配列のハイブリダイゼーションを伴う(Sambrook 他,前出, 7章; Ausubel 他、前出, 4章)。

【０３７１】

BLASTを適用する類似のコンピュータ技術を用いて、GenBankやLifeSeq（Incyte Genomics）等のcDNAデータベースにおいて同一または関連分子を検索した。ノーザン分析は、多数の膜系ハイブリダイゼーションよりも非常に速い。更に、任意の特定の一致を厳密なあるいは相同的なものとして分類するか否かを決定するため、コンピュータ検索の感度を修正することができる。検索の基準は積スコアであり、次式で定義される。

【０３７２】

【数１】

$$\frac{(\text{BLAST スコア} \times \text{配列一致率})}{5 \times (\text{長さ(配列1)，長さ(配列2)})\text{の最小値}}$$

【０３７３】

積スコアは、2つの配列間の類似度と、配列が一致する長さとの両方を考慮している。積スコアは、0～100のノーマライズされた値であり、次のようにして求める。BLASTスコアにヌクレオチドの配列一致率を乗じ、その積を2つの配列の短い方の長さの5倍で除する。BLASTスコアを計算するには、或る高スコアリングセグメント対（HSP）内の一致する各塩基に＋５のスコアを割り当て、各不一致塩基に－４を割り当てる。２つの配列は、２以上のHSPを共有し得る（ギャップにより隔離される）。２以上のHSPがある場合には、最高BLASTスコアのセグメント対を用いて積スコアを計算する。積スコアは、断片的オーバーラップとBLASTアラインメントの質とのバランスを表す。例えば積スコア１００は、比較した２つの配列の短い方の長さ全体にわたって１００％一致する場合のみ得られる。積スコア７０は、一端が１００％一致し、７０％オーバーラップしているか、他端が８８％一致し、１００％オーバーラップしているかのいずれかの場合に得られる。積スコア５０は、一端が１００％一致し、５０％オーバーラップしているか、７９％一致し、１００％オーバーラップしているかのいずれかの場合に得られる。

【０３７４】

或いは、REMAP をコードするポリヌクレオチドを、由来する組織源について分析する。例えば幾つかの完全長配列は、少なくとも一部は、オーバーラップするIncyte cDNA配列群を用いてアセンブリされる（実施例３を参照）。各cDNA配列は、ヒト組織から作製されたcDNAライブラリに由来する。各ヒト組織は、以下の臓器／組織カテゴリーの１つに分類

される。すなわち心血管系、結合組織、消化器系、胎芽構造、内分泌系、外分泌腺、女性生殖器、男性生殖器、生殖細胞、血液および免疫系、肝、筋骨格系、神経系、膵臓、呼吸器系、感覚器、皮膚、顎口腔系、非分類性／混合性または尿路である。各カテゴリーのライブラリ数を数えて、全カテゴリーの総ライブラリ数で除する。同様に、各ヒト組織は、以下の疾患／条件カテゴリー即ち癌、細胞株、発達、炎症、神経性、外傷、心血管、プール、その他の１つに分類される。各カテゴリーのライブラリ数を数えて、全カテゴリーの総ライブラリ数で除する。得られるパーセンテージは、REMAP をコードするcDNAの疾患特異的な発現を反映する。 cDNA配列およびcDNAライブラリ／組織の情報は、LIFESEQ GOLD データベース（Incyte Genomics, Palo Alto CA）から得ることができる。

【０３７５】

８　REMAPをコードするポリヌクレオチドの伸長

完全長のポリヌクレオチドもまた、完全長分子の適切な断片から設計したオリゴヌクレオチドプライマーを用いて該断片を伸長させて生成した。或るプライマーは既知の断片の５'伸長を開始するべく合成し、別のプライマーは既知の断片の３'伸長を開始するべく合成した。開始プライマーは、長さが約２２～３０ヌクレオチド、GC含有率が約５０％以上となり、約６８～７２℃の温度で標的配列にアニーリングするように、OLIGO 4.06ソフトウェア（National Biosciences）或いは別の適切なプログラムを用いて、cDNAから設計した。 ヘアピン構造及びプライマー－プライマー二量体を生ずるようなヌクレオチドの伸長は全て回避した。

【０３７６】

選択したヒトcDNAライブラリ群を用い、配列を伸長した。２段階以上の伸長が必要または望ましい場合には、付加的プライマーあるいはプライマーのネステッドセットを設計した。

【０３７７】

高忠実度の増幅が、当業者によく知られている方法を利用したＰＣＲ法によって得られた。ＰＣＲは、PTC-200 サーマルサイクラー（MJ Research, Inc.）を用いて96ウェルプレート内で行った。反応混合液は、鋳型DNA及び200nmolの各プライマーを有する。また、Mg^{2+}と$(NH_4)_2SO_4$と２－メルカプトエタノールを含む反応バッファー、Taq DNAポリメラーゼ(Amersham Biosciences)、ELONGASE酵素(Invitrogen)、Pfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)を含む。プライマー対、PCI AとPCI Bに対して以下のパラメータで増幅を行った。 ステップ1: 94℃, 3分、 ステップ 2: 94℃, 15 秒、ステップ 3: 60℃, 1 分、ステップ 4: 68℃, 2 分、 ステップ 5: ステップ2、3および 4を20回反復する。 ステップ6: 68℃、 5 分、ステップ7: 4℃で保存する。別法では、プライマーの組、T7とSK+に対して以下のパラメータで増幅を行った。ステップ1: 94℃, 3分、 ステップ 2: 94℃, 15 秒、ステップ 3: 57℃, 1 分、ステップ 4: 68℃, 2 分、 ステップ 5: ステップ2、3および4を20回反復する。 ステップ6: 68℃、 5 分、ステップ7: 4℃で保存する。

【０３７８】

1X TEに溶解したPICOGREEN定量試薬（０．２５％(v/v) PICOGREEN、Molecular Probes, Eugene OR）１００μlと、希釈していないPCR産物０．５μlとを不透明な蛍光光度計プレート（Coming Costar, Acton MA）の各穴に分配し、DNAを試薬と結合可能にさせることによって各穴内のDNA濃度の測定を行った。サンプルの蛍光を計測してDNAの濃度を定量すべく、プレートをFluoroskan II （Labsystems Oy, Helsinki, Finland）でスキャンした。反応混合物のアリコット５～１０μlを１％アガロースゲル上で電気泳動法によって解析し、どの反応が配列の伸長に成功したかを判定した。

【０３７９】

伸長したヌクレオチドは、脱塩および濃縮して３８４穴プレートに移し、CviJIコレラウイルスエンドヌクレアーゼ（Molecular Biology Research, Madison WI）を用いて消化し、音波処理またはせん断し、pUC 18ベクター（Amersham Biosciences）への再連結を行った。ショットガン・シークエンシングのために、消化したヌクレオチドを低濃度（０．６～０．８％）のアガロースゲル上で分離し、断片を切除し、寒天をAgar ACE（Promega）

で消化した。伸長したクローンをT4リガーゼ（New England Biolabs, Beverly MA）を用いてpUC 18ベクター（Amersham Biosciences）に再連結し、Pfu DNAポリメラーゼ（Stratagene）で処理して制限部位のオーバーハング部分を満たし、大腸菌細胞に形質移入した。形質移入した細胞を選択して抗生物質を含む培地に移し、それぞれのコロニーを切りとってLB/2Xカルベニシリン培養液の384ウェルプレートに３７℃で一晩培養した。

【０３８０】

細胞を溶解して、Taq DNAポリメラーゼ(Amersham Biosciences)及びPfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)を用いて以下の手順でDNAをPCR増幅した。ステップ1: 94℃，3分、 ステップ 2: 94℃、 15 秒、ステップ 3: 60℃、 1 分、ステップ 4: 72℃、 2 分、 ステップ 5: ステップ2、3および 4を29回反復する。 ステップ6: 72℃、5 分、ステップ7: 4℃で保存する。上記のようにPICOGREEN試薬(Molecular Probes)でDNAを定量した。DNAの回収率が低いサンプルは、上記と同一の条件を用いて再増幅した。サンプルは20%ジメチルスルホキシド（１：２，v/v）で希釈し、DYENAMIC エネルギートランスファー シークエンシングプライマー、及びDYENAMIC DIRECT kit（Amersham Biosciences）またはABI PRISM BIGDYE ターミネーターサイクル シークエンシング反応キット（Terminator cycle sequencing ready reaction kit）（Applied Biosystems）を用いてシークエンシングした。

【０３８１】

同様に、上記手順を用いて完全長ポリヌクレオチドを検証した。あるいは、完全長ポリヌクレオチドを用い、上記手順で、そのような伸長のために設計したオリゴヌクレオチド類と、或る適切なゲノムライブラリとを用いて５'調節配列を得た。

【０３８２】

９ REMAP がコードするポリヌクレオチドのSNP(一塩基多型)の同定

一塩基多型性（SNP）として知られる一般的なＤＮＡ配列変異体は、LIFESEQデータベース(Incyte Genomics)を用いてSEQ ID NO:24-46において同定された。実施例３に記述されているように、同じ遺伝子からの配列を共にクラスターにしてアセンブリし、これによって遺伝子内のすべての配列変異体の同定ができた。一連のフィルタからなるアルゴリズムを使って、SNPを他の配列変異体から区別した。前段フィルターは、最小限Phredクオリティスコア15を要求することにより大多数のベースコールのエラーを除去し、また、配列アライメントエラーや、ベクター配列、キメラおよびスプライス変異体の不適当なトリミングにより生じるエラーを取り除いた。染色体の高度解析の自動化手順により、推定SNPの近傍におけるオリジナルのクロマトグラムファイルが解析された。クローンエラーフィルタは統計的に生み出されたアルゴリズムを用いて、逆転写酵素、ポリメラーゼ、または体細胞突然変異によって引き起こされるエラーのような、実験処理時に導入されるエラーを識別した。クラスターエラーフィルターは、統計的に生み出されたアルゴリズムを用いて、近縁の相同体または偽遺伝子のクラスター化に起因するエラー、または非ヒト配列によるコンタミネーションにより生じたエラーを同定した。最後のフィルター群によって、免疫グロブリンまたはT細胞受容体に存在する重複(duplicates)とSNPが除去された。

【０３８３】

異なる4つのヒト集団のＳＮＰ部位における対立遺伝子頻度を分析するために、高処理MASSARRAYシステム(Sequenom, Inc.)を用いる質量分析によって、更なる特徴付けのためにいくつかのＳＮＰが選択された。白人母集団は、ユタ州の83人、フランス人4人、ベネズエラ３人およびアーミッシュ派２人を含む92人(男性46人、女性46人)で構成された。アフリカ人母集団はすべてアフリカ系アメリカ人である194人(男性97人、 女性97人)からなる。ヒスパニック母集団はすべてメキシコ系ヒスパニックの324人(男性162人、 女性162人)からなる。アジア人母集団は126人(男性64人、女性62人)からなり、親の内訳は中国人43%、日本人31%、コリアン13%、ベトナム人5%およびその他のアジア人8%と報告されている。対立形質の発生頻度は最初に白人母集団において分析し、いくつかの例において、この母集団で対立形質分散を示さなかったSNPは他の三つの母集団においてさらに検査しなかった。

【０３８４】
１０　個々のハイブリダイゼーションプローブの標識化及び使用
SEQ NO ID:24－46から得たハイブリダイゼーションプローブを利用して、cDNA、ゲノムDNAまたはmRNAをスクリーニングする。約20塩基対からなるオリゴヌクレオチドの標識について特に記載するが、より大きなヌクレオチド断片に対しても本質的に同一の手順が用いられる。オリゴヌクレオチドは、OLIGO 4.06ソフトウェア（National Biosciences）等の最新ソフトウェアを用いて設計し、各オリゴマー５０pmolと、[γ-^{32}P]アデノシン３リン酸（Amersham Biosciences）２５０μCiと、T4ポリヌクレオチドキナーゼ（DuPont NEN, Boston MA）を混合することにより標識する。標識したオリゴヌクレオチドは、SEPHADEX G-25超細繊分子サイズ排除デキストラン ビーズカラム（Amersham Biosciences）を用いて実質的に精製する。Ase I、Bgl II、Eco RI、Pst I、XbalまたはPvu II（DuPont NEN）のいずれか１つのエンドヌクレアーゼで消化されたヒトゲノムDNAの典型的な膜ベースのハイブリダイゼーション解析において、毎分１０^{7}カウントの標識されたプローブを含むアリコットを用いる。
【０３８５】
各消化物から得たDNAは、０.７％アガロースゲル上で分画してナイロン膜（Nytran Plus, Schleicher & Schuell, Durham NH）に移す。ハイブリダイゼーションは、４０℃で１６時間行う。 非特異的シグナルを除去するため、例えば０.１×クエン酸ナトリウム食塩水及び０.５％ドデシル硫酸ナトリウムに一致する条件下で、ブロットを室温で順次洗浄する。オートラジオグラフィーまたはそれに代わるイメージング手段を用いてハイブリダイゼーションパターンを視覚化し、比較する。
【０３８６】
11　マイクロアレイ
マイクロアレイの表面上でアレイエレメントの結合または合成は、フォトリソグラフィ、ピエゾ式印刷（インクジェット印刷、前出のBaldeschweiler他等を参照）、機械的マイクロスポッティング技術及びこれらから派生したものを用いて達成することが可能である。上記各技術において基板は、均一且つ無孔の固体とするべきである（Schena, M., 編集 (1999) DNA Microarrays: A Practical Approach, Oxford University Press, London）。推奨する基板には、シリコン、シリカ、スライドガラス、ガラスチップおよびシリコンウェハがある。あるいは、ドットブロット法またはスロットブロット法に類似した手順を利用し、熱的、紫外線的、化学的または機械的結合手順を用いて基板の表面にエレメントを配置および結合させてもよい。通常のアレイは、利用可能な、当業者に公知の方法と機械とを用いて作製でき、任意の適正数のエレメントを有し得る(Schena, M. 他(1995) Science 270:467-470; Shalon, D.他(1996) Genome Res.6:639-645; Marshall, A. および J. Hodgson (1998) Nat. Biotechnol. 16:27-31を参照)。
【０３８７】
完全長cDNA、発現配列タグ（EST）、またはその断片またはオリゴマーが、マイクロアレイのエレメントと成り得る。ハイブリダイゼーションに好適な断片またはオリゴマーを、LASERGENEソフトウェア（DNASTAR）など本技術分野で公知のソフトウェアを用いて選択することが可能である。アレイエレメント群を、生体サンプル中のポリヌクレオチド群とハイブリダイズする。生体サンプル中のポリヌクレオチドは、検出を容易にするために蛍光標識などの分子タグに抱合させる。ハイブリダイゼーション後、生体サンプルからのハイブリダイズされていないヌクレオチドを除去し、蛍光スキャナを用いて各アレイエレメントでのハイブリダイゼーションを検出する。あるいは、レーザー脱離および質量スペクトロメトリを用いてもハイブリダイゼーションを検出し得る。マイクロアレイ上の或るエレメントにハイブリダイズする各ポリヌクレオチドの、相補性の度合と相対存在度とを算定し得る。一実施態様におけるマイクロアレイの調製および使用について、以下に詳述する。
【０３８８】
組織または細胞サンプルの調製

グアニジニウムチオシアネート法を用いて組織サンプルから全RNAを単離し、オリゴ(dT)セルロース法を用いてポリ(A)$^+$RNAを精製する。各ポリ(A)$^+$RNAサンプルを、MMLV逆転写酵素、0.05pg/μlのオリゴ(dT)プライマー（21mer）、１×第一鎖合成バッファー、0.03unit/μlのRNアーゼ阻害因子、500μMのdATP、500μMのdGTP、500μMのdTTP、40μMのdCTP、40μMのdCTP-Cy3（BDS）またはdCTP-Cy5（Amersham Biosciences）を用いて逆転写する。逆転写反応は、GEMBRIGHTキット（Incyte）を用い、２００ｎｇのポリ（A）$^+$RNAを含有する体積２５ｍｌで行う。特異的対照ポリ(A)$^+$RNAは、非コード酵母ゲノムDNAからin vitro転写により合成する。37℃で２時間インキュベートした後、各反応サンプル（１つはCy3、もう１つはCy5標識）は、２．５mlの０．５M水酸化ナトリウムで処理し、８５℃で２０分間インキュベートし、反応を停止させてRNAを分解させる。サンプルは、２つの連続するCHROMA SPIN 30ゲル濾過スピンカラム（CLONTECH Laboratories, Inc. (CLONTECH), Palo Alto CA）を用いて精製する。結合後、２つの反応サンプルは、１mlのグリコーゲン（１mg/ml）を用いて析出させたエタノール、60mlの酢酸ナトリウム及び300mlの100%エタノールである。サンプルは次に、SpeedVAC（Savant Instruments Inc., Holbrook NY）を用いて完全に乾燥させ、１４μlの５×SSC／０．２％SDS中で再懸濁する。

【０３８９】

マイクロアレイの調製

本発明の配列を用いて、アレイエレメントを作製する。各アレイエレメントは、クローン化ｃＤＮＡインサートを持つベクター含有細菌細胞から増幅する。ＰＣＲ増幅は、cDNAインサートに隣接するベクター配列に相補的なプライマーを用いる。３０サイクルのPCRで１～２ngの初期量から５μgより大きい最終量までアレイエレメントを増幅する。増幅したアレイエレメントは、SEPHACRYL-400（Amersham Biosciences）を用いて精製する。

【０３９０】

精製したアレイエレメントは、ポリマーコートされたスライドグラス上に固定する。顕微鏡スライドグラス（Corning）は、０．１％のSDSおよびアセトン中で超音波洗浄し、処理の間および処理後に充分に蒸留水で洗浄する。スライドグラスは、４％フッ化水素酸（VWR Scientific Products Corporation（VWR）, West Chester PA）中でエッチングし、充分に蒸留水中で洗浄し、９５％エタノール中で０．０５％アミノプロピルシラン（Sigma）を用いてコーティングする。コーティングしたスライドは、１１０℃のオーブンで硬化させる。

【０３９１】

米国特許第5,807,522号に記載されている方法を用いて、コーティングしたガラス基板にアレイエレメントを付加する。 この特許に引用することを以って本明細書の一部とする。平均濃度が１００ng/μlのアレイエレメントDNA1μlを高速機械装置により開放型キャピラリープリンティングエレメント（open capillary printing element）に充填する。装置はここで、スライド毎に約５nlのアレイエレメントサンプルを置く。

【０３９２】

マイクロアレイには、STRATALINKER ＵＶ架橋剤（Stratagene）を用いてＵＶ架橋する。マイクロアレイは、室温において０．２％SDSで１度洗浄し、蒸留水で３度洗浄する。リン酸緩衝生理食塩水（PBS）（Tropix, Inc., Bedford MA）中の０．２％カゼイン中において６０℃で３０分間マイクロアレイをインキュベートした後、前に行ったように０．２％SDS及び蒸留水で洗浄することにより、非特異結合部位をブロックする。

【０３９３】

ハイブリダイゼーション

ハイブリダイゼーション反応に用いる９μlのサンプル混合体には、Cy3またはCy5で標識したcDNA合成産物群の各０．２μgを、５×SSC,０．２％SDSハイブリダイゼーション緩衝液中に含む。サンプル混合体は、６５℃まで５分間加熱し、マイクロアレイ表面上で等分して１．８cm^2 のカバーガラスで覆う。アレイは、顕微鏡スライドより僅かに大きい空洞を有する防水チェンバーに移す。チェンバーのコーナーに１４０μlの５×SSCを加えることにより、チェンバー内部を湿度100%に保持する。アレイを含むチェンバーは、60℃で約

6.5時間インキュベートする。アレイは、第１洗浄緩衝液中（１×SSC、0.1%SDS）において45℃で10分間洗浄し、第２洗浄緩衝液中（0.1×SSC）において各々45℃で10分間、3度洗浄して乾燥させる。

【０３９４】

検出

レポーター標識したハイブリダイゼーション複合体を検出するには、Ｃｙ3の励起のために４８８nm、Ｃｙ5の励起のために６３２nmでスペクトル線を発生し得るInnova70混合ガス10Wレーザー（Coherent, Inc., Santa Clara CA）を備えた顕微鏡を用いる。励起レーザー光の焦点をアレイ上に置くため、２０×顕微鏡対物レンズ（Nikon, Inc., Melville NY）を用いる。アレイを含むスライドを、顕微鏡の、コンピュータ制御のX-Yステージに置き、対物レンズを通してラスタースキャンする。本実施例で用いる１.８cm×１.８cmのアレイは、解像度２０μmでスキャンする。

【０３９５】

２回の異なるスキャンで、混合ガスマルチラインレーザは２つのフルオロフォアを連続的に励起する。発光された光は、波長に基づき分離され、２つのフルオロフォアに対応する２つの光電子増倍管検出器（PMT R1477, Hamamatsu Photonics Systems, Bridgewater NJ）に送られる。好適なフィルタ群をアレイと光電子増倍管との間に設置して、シグナルをフィルタする。用いるフルオロフォアの最大発光の波長は、Cy3では５６５nm、Cy5では６５０nmである。装置は両方の蛍光色素からのスペクトルを同時に記録し得るが、レーザ源において好適なフィルターを用いて、蛍光色素１つにつき１度スキャンし、各アレイを通常２度スキャンする。

【０３９６】

スキャンの感度は通常、既知濃度のサンプル混合体に添加されるcDNA対照種により生成されるシグナル強度を用いて較正する。アレイ上の特定の位置には相補的DNA配列が含まれ、その位置におけるシグナルの強度を、ハイブリダイズする種の重量比1：100,000に相関させる。 異なる源泉（例えば試験される細胞及び対照細胞など）からの２つのサンプルを、各々異なる蛍光色素で標識し、他と異なって発現した遺伝子を同定するために単一のアレイにハイブリダイズする場合には、その較正を、較正するcDNAのサンプルを２つの蛍光色素で標識し、ハイブリダイゼーション混合体に各々等量を加えることによって行う。

【０３９７】

光電子増倍管の出力は、IBMコンパチブルPCコンピュータにインストールされた12ビットRTI-835Hアナログ－ディジタル（A/D）変換ボード（Analog Devices, Inc., Norwood MA）を用いてディジタル化される。ディジタル化したデータは、青色（低シグナル）から赤色（高シグナル）までの擬似カラースケールへのリニア20色変換を用いて、シグナル強度がマッピングされたイメージとして表示される。データは、定量的にも分析される。２つの異なるフルオロフォアを同時に励起および測定する場合には、各フルオロフォアの発光スペクトルを用いて、データは先ずフルオロフォア間の光学的クロストーク（発光スペクトルの重なりに起因する）を補正される。

【０３９８】

グリッドが蛍光シグナルイメージ上に重ねられ、それによって各スポットからのシグナルはグリッドの各エレメントに集められる。各エレメント内の蛍光シグナルは統合され、シグナルの平均強度に応じた数値が得られる。シグナル分析に用いるソフトウェアは、GEMTOOLS遺伝子発現分析プログラム（Incyte）である。発現の変化が少なくともほぼ２倍、シグナルとバックグラウンドの割合が少なくとも2.5、および少なくとも40%のエレメントのスポットサイズを示すアレイエレメントは、差次的発現されるものとGEMTOOLS プログラム (Incyte Genomics)を用いて同定された。

【０３９９】

発現

SEQ ID NO:35 は肺癌と関連して差次的発現を示し、これはマイクロアレイ分析で確認

された。遺伝子発現プロファイルは競合的ハイブリダイゼーション実験の結果と比較して得られた。視覚的な異常を伴わず、肉眼的に関与していない肺組織から単離されたメッセンジャーRNAを対応するドナーからの肺の扁平細胞腺癌組織と比較した(Roy Castle International Centre for Lung Cancer Research, Liverpool, UK)。対応する組織の実験において、SEQ ID NO:35 の発現は、同じドナーの正常肺組織に比べると腫瘍性肺組織において少なくとも2倍の増加があった。このように、様々な実施例において、SEQ ID NO:35 は、i)肺癌治療のモニタリング、ii)肺癌の診断試験、およびiii)肺癌の薬物療法および／または他の治療の開発の中の一つ以上の項目に用いる事ができる。

【０４００】

１２　相補的ポリヌクレオチド

REMAPをコードする配列或いはその任意の一部に対して相補的な配列は、天然のREMAPの発現を低下させるため即ち阻害するために用いられる。約15～30塩基対を含むオリゴヌクレオチドの使用について記すが、これより小さなあるいは大きな配列の断片の場合でも、本質的に同じ手順を用いる。適切なオリゴヌクレオチドを設計するため、Oligo 4.06ソフトウェア（National Biosciences）およびREMAPのコーディング配列を用いる。転写を阻害するためには、最も独特な5'配列から相補的オリゴヌクレオチドを設計し、これを用いて、プロモーターがコーディング配列に結合するのを防止する。翻訳を阻害するためには、相補的なオリゴヌクレオチドを設計して、リボソームが、REMAPをコードする転写物に結合するのを阻害する。

【０４０１】

１３　REMAPの発現

REMAP の発現及び精製は、細菌若しくはウイルスを基にした発現系を用いて行うことができる。細菌内でREMAPを発現させるには、抗生物質耐性遺伝子と、cDNA転写レベルを高める誘導性プロモーターとを有する好適なベクターにcDNAをサブクローニングする。このようなプロモーターとしては、lacオペレーター調節エレメントと併用するT5またはT7バクテリオファージプロモーター、およびtrp-lac（tac）ハイブリッドプロモーターが含まれるが、これらに限定するものではない。組換えベクターを、BL21（DE3）などの好適な細菌宿主に形質転換する。抗生物質耐性細菌は、イソプロピルβ－Dチオガラクトピラノシド（IPTG）で誘発されるとREMAPを発現する。真核細胞でのREMAPの発現は、昆虫細胞株または哺乳類細胞株に、一般にバキュロウイルスとして知られているAutographica californica核多角体病ウイルス（AcMNPV）の組換え型を感染させて行う。バキュロウイルスの非必須ポリヘドリン遺伝子を、相同組換えによって、あるいは転移プラスミドの媒介を伴う細菌の媒介による遺伝子転移によって、REMAPをコードするcDNAと置換する。ウイルスの感染力は維持され、強力なポリヘドリンプロモーターによって高レベルのcDNA転写が行われる。組換えバキュロウイルスは、多くの場合はSpodoptera frugiperda（Sf9）昆虫細胞への感染に用いられるが、ヒト肝細胞の感染にも用いられることもある。後者の感染の場合は、バキュロウイルスへの更なる遺伝的修飾が必要になる(Engelhard, E.K 他、(1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-3227、Sandig, V.他(1996) Hum.Gene Ther. 7:1937-1945)。

【０４０２】

殆どの発現系では、REMAP　が、例えばグルタチオンＳトランスフェラーゼ(GST)、またはFLAGや6-Hisなどのペプチドエピトープ標識で合成された融合タンパク質となるため、未精製の細胞溶解物からの組換え融合タンパク質の親和性ベースの精製が素早く１回で行うことができる。GSTは日本住血吸虫からの26kDaの酵素であり、タンパク質の活性および抗原性を維持した状態で、固定化したグルタチオン上での融合タンパク質の精製を可能とする（Amersham Biosciences）。精製後、GST部分を、特異的に操作した部位で、REMAPからタンパク分解的に切断できる。FLAGは８アミノ酸のペプチドであり、市販されているモノクローナルおよびポリクローナル抗FLAG抗体（Eastman Kodak）を用いた免疫親和性精製を可能にする。6ヒスチジン残基が連続して伸長した6-Hisは、金属キレート樹脂上での精製を可能にする（QIAGEN）。タンパク質の発現および精製の方法は、Ausubel 他（前

出、10章および16章)に記載されている。これらの方法で精製したREMAP を直接用いて以下の実施例１７、１８、および１９のアッセイを行うことができる。

【０４０３】

１４ 機能的アッセイ

REMAP 機能は、哺乳動物細胞培養系において生理学的に高められたレベルでのREMAPをコードする配列の発現によって評価する。 cDNAを、cDNAを高いレベルで発現する強いプロモーターを含む哺乳動物発現ベクターにサブクローニングする。選択されるベクターとしては、PCMV SPORT（Invitrogen, Carlsbad CA）およびPCR 3.1プラスミド（Invitrogen,）があり、どちらもサイトメガロウイルスプロモーターを持つ。リポソーム製剤あるいは電気穿孔法を用いて、5～10μgの組換えベクターをヒト細胞株、例えば内皮由来または造血由来の細胞株に、一過的に形質移入する。更に、標識タンパク質をコードする配列を含む1～2μgのプラスミドを同時に形質移入する。標識タンパク質の発現により、形質移入細胞と非形質移入細胞を区別する手段が与えられる。また、標識タンパク質の発現によって、cDNAの組換えベクターからの発現を正確に予想できる。標識タンパク質は、例えば緑色蛍光タンパク質（GFP;Clontech）、CD64またはCD64-GFP融合タンパク質から選択できる。自動化された、レーザ光学に基づく技術であるフローサイトメトリー（FCM）を用いて、GFPまたはCD64-GFPを発現する形質移入された細胞を同定し、その細胞のアポトーシス状態や他の細胞特性を評価する。FCMは、細胞死に先行するか或いは同時に発生する現象を診断する蛍光分子の取込を検出して計量する。このような現象として挙げられるのは、ヨウ化プロピジウムによるDNA染色によって計測される核DNA含量の変化、前方散乱光と90°側方散乱光によって計測される細胞サイズと粒度の変化、ブロモデオキシウリジンの取込量の低下によって計測されるDNA合成の下方調節、特異抗体との反応性によって計測される細胞表面及び細胞内におけるタンパク質の発現の変容、及びフルオレセイン抱合したアネキシンⅤタンパク質の細胞表面への結合によって計測される原形質膜組成の変容とがある。フローサイトメトリー法については、Ormerod, M.G. (1994; Flow Cytometry, Oxford, New York NY)に記述がある。

【０４０４】

遺伝子発現におけるREMAP の影響は、REMAP をコードする配列とCD64またはCD64-GFPのどちらかが形質移入された高度に精製された細胞集団を用いて評価することができる。CD64またはCD64-GFPは、形質移入された細胞表面で発現し、ヒト免疫グロブリンG（IgG）の保存された複数の領域に結合する。形質転換された細胞と形質転換されない細胞とは、ヒトIgGかCD64に対する抗体のどちらかで被覆された磁気ビードを用いて分離することができる(DYNAL. Lake Success. NY)。mRNAは、当分野で周知の方法で細胞から精製することができる。REMAP および目的の他の遺伝子をコードするmRNAの発現は、ノーザン分析やマイクロアレイ技術で分析することができる。

【０４０５】

１５ REMAPに特異的な抗体の作製

実質的に精製されたREMAPを、ポリアクリルアミドゲル電気泳動法（PAGE；例えば、Harrington, M.G.（1990）Methods Enzymol.182:488-495を参照）または他の精製技術で行い、これを用いて標準的なプロトコルで動物（例えばウサギ、マウスなど）を免疫化して抗体を作り出す。

【０４０６】

或いは、レーザGENEソフトウェア（DNASTAR）を用いてREMAP アミノ酸配列を解析し、免疫原性の高い領域を決定する。そして対応するオリゴペプチドを合成し、このオリゴペプチドを用いて当業者によく知られている方法で抗体を生成する。例えばC末端付近或いは隣接する親水性領域等の、適切なエピトープの選択については、当分野で公知である（前出のAusubel 他、11章）。

【０４０７】

通常は、長さ約１５残基のオリゴペプチドを、FMOC 化学法を用いるABI 431A ペプチドシンセサイザ（Applied Biosystems）を用いて合成し、N-マレイミドベンゾイル-N-ヒド

ロキシスクシンイミドエステル（MBS）を用いた反応によってKLH（Sigma-Aldrich, St. Louis MO）に結合させて、免疫原性を高める（前出のAusubel 他）。完全フロイントアジュバントにおいて、オリゴペプチド-KLH複合体を用いてウサギを免疫化する。得られた抗血清の抗ペプチド活性及び抗REMAP活性を試験するには、ペプチドまたはREMAPを基板に結合し、１％BSAを用いてブロッキング処理し、ウサギ抗血清と反応させて洗浄し、さらに放射性ヨウ素標識されたヤギ抗ウサギIgGと反応させる。

【０４０８】

１６　特異的抗体を用いる天然REMAPの精製

天然REMAP　或いは組換えREMAP　を、REMAP　に特異的な抗体を用いるイムノアフィニティークロマトグラフィにより実質的に精製する。イムノアフィニティーカラムは、CNBr-活性化SEPHAROSE（Amersham Biosciences）のような活性化クロマトグラフィー用レジンと抗REMAP　抗体とを共有結合させることにより形成する。結合後に、製造者の使用説明書に従ってこのレジンをブロックし、洗浄する。

【０４０９】

REMAP　を含む培養液をイムノアフィニティーカラムに通し、REMAP　を優先的に吸着できる条件で（例えば、界面活性剤の存在下において高イオン強度のバッファーで）そのカラムを洗浄する。そのカラムを、抗体とREMAPとの結合を切るような条件で（例えば、或るpH２～３のバッファー、あるいは高濃度の、例えば尿素またはチオシアン酸イオンなどのカオトロープで）溶出させ、REMAPを収集する。

【０４１０】

１７　REMAPと相互作用する分子の同定

REMAPまたはその生物学的に活性な断片を、^{125}I ボルトンハンター試薬で標識する（Bolton A.E.及びW.M. Hunter (1973) Biochem. J. 133:529）。マルチウェルプレートの各ウェルに予め配列しておいた候補の分子群を、標識したREMAPと共にインキュベートし、洗浄して、標識されたREMAP複合体を有する全てのウェルをアッセイする。様々なREMAP濃度で得られたデータを用いて、REMAPの数量、候補分子との親和性および会合についての値を計算する。

【０４１１】

別法では、REMAP と相互作用する分子を、Fields, S.及びO. Song(1989, Nature 340:245-246)に記載の酵母２－ハイブリッドシステムやMATCHMAKERシステム(Clontech)などの２－ハイブリッドシステムに基づいた市販のキットを用いて分析する。

【０４１２】

REMAPはまた、ハイスループット型の酵母２ハイブリッドシステムを使用するPATHCALLINGプロセス（CuraGen Corp., New Haven CT）に用いて、遺伝子の２大ライブラリによってコードされるタンパク質間の全ての相互作用を決定し得る（Nandabalan, K. 他(2000) 米国特許第6,057,101号）。

【０４１３】

１８　REMAP活性の実証

REMAP 活性に対する或るアッセイは、細胞表面におけるREMAP の発現を測定する。REMAP をコードするcDNAを、好適な哺乳動物細胞株に形質移入する。細胞表面タンパク質を、記載されているようにビオチンで標識する（de la Fuente, M. A. 他(1997) Blood 90:2398-2405)。REMAP特異抗体を用いて免疫沈降を行い、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）および免疫ブロット技術を用いて免疫沈降サンプルを分析する。標識された免疫沈降素と非標識免疫沈降素との比が、細胞表面に発現したREMAPの量に比例する。

【０４１４】

或いは、REMAP 活性のためのアッセイは、リガンド／受容体が仲介する細胞増殖の調節のための原型アッセイに基づく。このアッセイは、Swissマウス3T3細胞におけるDNA合成速度を測定する。当分野で公知の形質移入方法を用いて、REMAP をコードするポリヌクレオチドを含むプラスミドを静止状態の3T3培養細胞に加える。 一過性に形質移入された細

胞は次に、放射性DNA前駆分子である[^{3}H]チミジンの存在下でインキュベートする。次に、培養した細胞に種々の量のREMAP リガンドを加える。[^{3}H]チミジンの酸沈殿可能DNAへの取り込みは、ラジオアイソトープカウンターを用いて適切な時間間隔で測定する。 取り込み量は、新たに合成されたDNAの量に正比例する。少なくとも１００倍のREMAPリガンド濃度範囲に対する用量反応曲線がリニアであることは、受容体活性を示唆する。ミリリットルあたりの活性の１ユニットは、５０％の応答レベルを産生するREMAPの濃度として定義される。ここで、１００％の応答レベルとは、酸－沈殿可能DNAへの、［^{3}H］チミジンの最大の取り込みを表す(McKay, I. および I. Leigh, 編集(1993) Growth Factors: A Practical Approach, Oxford University Press, New York, NY, 73ページ)。

【０４１５】

あるいはREMAP活性のアッセイは、GPCRファミリ蛋白質が、G蛋白質に活性化されるセカンドメッセンジャーシグナル伝達経路を変調させる能力に基づく（例えばcAMP; Gaudin, P. 他(1998) J. Biol. Chem. 273:4990-4996)。当分野で既知の方法を用いて、完全長REMAP をコードするプラスミドを哺乳動物細胞系（例えばチャイニーズハムスター卵巣(CHO)またはヒト胎児腎臓(HEK-293)細胞系）に形質移入する。 培地中の１２穴トレイで形質移入された細胞を成長させ、培養液を廃棄して、接着した細胞をPBSで軽く洗浄する。次に細胞のインキュベートを、培地内で、リガンドと共に又はリガンド無しで30分間行い、次に培地を除去し、細胞の溶解を、1 Mの過塩素酸で処理して行う。溶解産物中のcAMPレベルは、当分野で既知の方法を用いて放射免疫アッセイにより測定する。 リガンドに曝された細胞から得た溶解産物中のcAMPレベルをリガンドなしのものと比較したときの変化は、形質移入された細胞に存在するREMAP の量に比例する。

【０４１６】

イノシトールリン酸レベルにおける変化を測定するには、細胞を24ウェルプレート内で成長させる。プレートには1×10^5細胞／ウェルを入れ、インキュベートを、イノシトールフリー培地と[^{3}H]ミオイノシトール（2 mCi／ウェル）とで48時間行う。培地を除去し、細胞の洗浄を10 mMのLiCl含有バッファで行った後、リガンドを加える。反応を、過塩素酸を加えて停止させる。イノシトールリン酸の抽出と分離とをDowex AG1-X8 (Bio-Rad)アニオン交換樹脂上で行い、標識された総イノシトールリン酸のカウントを液体シンチレーションによって行う。リガンドに曝した細胞からの標識されたイノシトールリン酸のレベルの変化（リガンド無しのものと比較）が、形質移入細胞内に在るREMAPの量に比例する。

【０４１７】

或いはREMAPのイオンコンダクタンス能力が、電気生理学的アッセイを用いて実証される。REMAPを発現させるため、哺乳動物細胞株（例えばCOS7、HeLa、若しくはCHOなど）を、REMAPをコードする真核生物発現ベクターで形質転換する。真核生物発現ベクターは市販されており、それらを細胞内に導入する技術は当業者には周知である。β－ガラクトシダーゼなど多数のマーカー遺伝子のいずれか１つを発現させる少量の第二プラスミドをこれら細胞へと同時形質転換することにより、外来DNAを取り込んで発現させた細胞群の迅速な同定が可能となる。細胞は形質転換の後、株化細胞がREMAP 及び１３－ガラクトシダーゼを発現し蓄積するのに適した条件下で、４８～７２時間に渡ってインキュベートされる。β－ガラクトシダーゼを発現する形質転換細胞は、好適な比色用基質が本技術分野で公知の条件下で培地へ添加されると、青く染色される。染色した細胞は、本技術分野で公知の電気生理技術を用いて膜コンダクタンスの違いを試験する。形質転換していない細胞、および／または、形質転換に、ベクター配列群のみ、またはβ－ガラクトシダーゼ配列群のみを用いた細胞を対照として用い、平行して試験する。カチオンまたはアニオンのコンダクタンスに対するREMAPの寄与は、REMAPに特異的な抗体類を用いて細胞をインキュベートすることで示され得る。それぞれの抗体は、REMAPの細胞外側に結合することにより、イオンチャネル内のポアと、それに伴うコンダクタンスとをブロッキングすることとなる。

【０４１８】

更なる実施例において、REMAP の輸送活性は、アフリカツメガエル卵母細胞への標識された基質の取り込みを測定することによって検査される。ステージ５及び６における卵母細胞が、REMAP mRNA (卵母細胞あたり10 ng)を注入され、OR2培地(82．5mMのNaCl、2.5 mMのKCl、1mMの$CaCl_2$、1mMの$MgCl_2$、1mM Na_2HPO_4、5 mMのHepes、3.8 mMのNaOH、50μg/mlゲンタマイシン、pH 7.8)内、18℃で3日間インキュベートされ、REMAPタンパク質の発現を可能とする。卵母細胞は次に、標準取り込み培地(100mMのNaCl、2 mMのKCl、1mMの$CaCl_2$、1mMの$MgCl_2$、10 mMのHepes/Tris、pH 7.5)へと移される。種々の基質（例えばアミノ酸、糖、薬物、および神経伝達物質）の取り込みは、卵母細胞に^{3}H基質を加えることによって開始される。30分間のインキュベートの後、取り込みの終了を、卵母細胞をNa^+の無い培地内で３回洗浄して行い、取り込まれた^{3}Hの量を測定し、対照と比較する。REMAP活性は、内部移行された^{3}H基質のレベルに比例する。

【０４１９】

さらなる実施例において、REMAP プロテインキナーゼ(PK)活性は、γ標識の[^{32}P]ATPを用いたタンパク質基質のリン酸化と組み込まれた放射活性を定量する。REMAPは、タンパク質基質、[^{32}P]-ATP、及び適切なキナーゼバッファと共にインキュベートされる。生成物に取り込まれた^{32}Pを電気泳動で遊離[^{32}P]-ATPから分離し、取り込まれた^{32}Pをカウントする。このアッセイでは、回収された^{32}Pの量が、REMAPのPK活性に比例する。リン酸化した特異的アミノ酸残基の判定を、加水分解したタンパク質のホスホアミノ酸解析で行う。

【０４２０】

REMAP の転写調節活性の測定を、レポーター遺伝子の転写を刺激するその能力によって行う（Liu, H. Y. 他(1997) EMBO J. 16:5289-5298)。このアッセイは、十分に特徴付けられたレポーター遺伝子作成物である$LexA_{op}$-LacZを用いる。この$LexA_{op}$-LacZは、大腸菌LacZ酵素をコードする配列に融合されたLexA DNA転写調節エレメント（$LexA_{op}$）からなる。融合遺伝子の作成及び発現、細胞への融合遺伝子の導入、及び、LacZ酵素活性の測定方法は、当業者に周知である。REMAPをコードする配列を、LexA転写因子に由来するDNA結合ドメインとREMAPとからなる融合タンパク質、LexA-REMAPの合成を指示するプラスミドにクローニングする。得られたLexA-REMAP融合タンパク質をコードするプラスミドを、$LexA_{op}$-LacZレポーター遺伝子を含むプラスミドと共に酵母細胞内に導入する。対照細胞と比較したLexA-NuREC 形質移入細胞に関連するLacZ酵素活性の量が、REMAPによって刺激された転写の量に比例する。

【０４２１】

REMAP のホルボールエステル結合活性の測定に、蛍光ホルボールエステルサピノトキシン(sapinotoxin)D(SAPD)ベースのアッセイを用いる。REMAP とSAPDとの結合の定量には、REMAP トリプトファンからホルボールエステルの2-(N-メチルアミノ)ベンゾイルフルオロフォアへの共鳴エネルギー移動をSlater他((1996) J. Biol. Chem. 271:4627-4631)の記載どおり測定する。

【０４２２】

REMAP の輸送活性は、アフリカツメガエル卵母細胞への標識された基質の取り込みによって検査される。第５期及び第６期における卵母細胞を、REMAP mRNA (卵母細胞あたり10 ng)と共に注入し、OR2培地(82．5mMのNaCl、2．5 mMのKCl、1mMの$CaCl_2$、1mMの$MgCl_2$、1mM Na_2HPO_4、5 mMのHepes、3．8 mMのNaOH、 50μg/ml ゲンタマイシン、pH 7．8) 内で１８℃で３日間インキュベートし、REMAP を発現させる。卵母細胞は、次に標準取り込み培地(100mMのNaCl、2mMのKCl、1mMの$CaCl_2$、1mMの$MgCl_2$、10mMのHepes/Tris、pH7.5)へと移される。様々な基質（例えばアミノ酸、糖、薬剤、イオン、及び神経伝達物質）の取り込みは、標識された基質(例えば^{3}Hで放射標識されていたり、ローダミンで蛍光標識されている)を添加することで開始される。30分間のインキュベートの後、取り込みは、卵母細胞を３回、Na^+のない培養液で洗浄することで終了し、取り込まれた標識を測定して、対照と比較する。REMAP 活性は、内部移行された標識基質のレベルに比例する。

【０４２３】

REMAP に関連するATPase活性は、放射性ラベルされたATP-[γ-^{32}P]の加水分解、クロマトグラフィー法による加水分解生成物の分離、及び、シンチレーションカウンターを用いる回収した^{32}Pの定量化によって測定できる。反応混合物には、ATP-[g-^{32}P]が含まれ、好適なバッファ中、様々な量のREMAP を好適な時間、３７℃でインキュベートする。反応は、トリクロロ酢酸での沈殿によって終了し、次に塩基で中和され、反応混合物のアリコットは、反応産物を分離するべく、膜若しくはろ紙ベースのクロマトグラフィーにかけられる。遊離された^{32}Pの量は、シンチレーション計数器でカウントされる。このアッセイでは、回収した放射活性の量がREMAP のATP分解酵素活性に比例する。

【０４２４】

REMAP のイオンチャネル活性は、イオンコンダクタンスの電気生理学的アッセイを用いて実証される。哺乳動物細胞株、（例えばCOS7、HeLa、若しくはCHOなど）を、REMAPをコードする真核生物発現ベクターで形質転換させて、REMAPを発現できる。真核生物発現ベクターは市販されており、それらを細胞内に導入する技術は当業者には周知である。 β－ガラクトシダーゼのような多数の標識遺伝子いずれか一つを発現させる第二のプラスミドが細胞へと同時形質転換され、外来DNAを取り込み発現させるそれら細胞の迅速な同定を可能とする。形質転換の後、この細胞株がREMAPおよびβ－ガラクトシダーゼを発現し蓄積するのに適した条件下で、これらの細胞を４８～７２時間、インキュベートする。

【０４２５】

β－ガラクトシダーゼを発現させる形質転換細胞は、好適な比色用基質が本技術分野で公知の条件下で培地へ添加されると、青く染色される。染色された細胞は、本技術分野で既知の電気生理学技術を用いて膜電気伝導度の違いを試験される。形質転換されていない細胞、及び/又はベクター配列だけ、若しくはβ－ガラクトシダーゼ配列だけのいずれかで形質転換された細胞は、対照として用いられ、並行に試験される。REMAPを発現する細胞は、対照細胞よりも高いアニオンコンダクタンスまたはカチオンコンダクタンスを持つこととなる。コンダクタンスに対するREMAPの寄与は、REMAPに特異的な抗体類を用いて細胞をインキュベートすることで確認し得る。抗体は、REMAPの細胞外側に結合することにより、イオンチャネル内のポアと、それに伴うコンダクタンスとをブロックする。

【０４２６】

別法では、REMAP のイオンチャネル活性は、二電極電位クランプ技術(Ishi 他 前出、Jegla, T. 及び L. Salkoff (1997) J. Neurosci. 17 : 32-44)を用いて、REMAP 含有アフリカツメガエル卵母細胞膜を通る電流として測定される。REMAP は、pBFのような適切なアフリカツメガエル卵母細胞発現ベクターへとサブクローニングされ、また0.5～5ngのmRNAが成熟段階４の卵母細胞へ注入される。注入された卵母細胞は１８℃で１～５日間インキュベートされる。インサイド－アウトマクロパッチが切り取られて、116mMのK-グルコン酸、4mMのKCl、および10 mMのHepes (pH 7.2)を含む細胞内溶液へと移される。細胞内溶液には、cAMP、cGMP、またはCa^{+2} ($CaCl_2$の形態)のような様々な濃度のREMAP 媒介物質が適切に補充される。電極の抵抗は２～５MΩにセットされ、電極は媒介物質のない細胞内溶液で満たされる。実験は、室温で0mVの保持電位から実行される。-100mVから100mVまでの電圧ランプ(voltage ramps) (2.5 秒)が、サンプリング周波数500Hzで得られる。測定される電流はアッセイに於けるREMAP の活性に比例する。

【０４２７】

19 REMAPリガンドの同定

REMAP は、CHO（チャイニーズハムスター卵巣）またはHEK（ヒト胎児腎臓）293などの真核細胞株において発現する。 これらの細胞株は、GPCR発現過程が良好であり、発現したREMAP が下流エフェクターに機能的に共役できるような広範囲のＧタンパク質を含む。候補リガンドの存在下で発現した受容体の活性化に対し、形質転換した細胞をアッセイする。活性を、cAMPまたはCa^{2+} など細胞内セカンドメッセンジャーの変化によって測定する。これらは、当分野で公知の標準的な方法を用いるか、発光タンパク質（例えばホタルルシフェラーゼまたは緑色蛍光タンパク質）が或るプロモーター(活性化した受容体によるタンパク質キナーゼCの刺激に応答)の転写調節下にあるようなレポーター遺伝子アッセ

イを用いて直接測定しうる（Milligan, G. 他(1996) Trends Pharmacol. Sci. 17:235-237)。アッセイ技術は、これら二次メッセンジャー系の両方に利用可能であり、アデニリルシクラーゼ活性化FlashPlate Assay（NEN Life Sciences Products）などのマルチウェルプレートフォーマットでの、またはFluo-4 AM（Molecular Probes）などの蛍光Ca^{2+}指示薬にFLIPR蛍光定量的プレート読出しシステム（Molecular Devices）を併用しての高処理読出しを可能にする。アッセイのさらに一般的な別法では、原形質膜を通るイオンの流れによって生じる膜電位の変化は、$DiBAC_4$(Molecular Probes)のようなoxonyl色素を用いて測定される。$DiBAC_4$は、細胞膜電位に従って細胞外溶液と細胞部位との間で平衡となる。色素の蛍光強度は、疎水性の細胞内部位に結合すると20倍に大きくなり、細胞内への$DiBAC_4$の流入が検出可能となる（Gonzalez, J. E.及び P. A. Negulescu (1998) Curr. Opin. Biotechnol. 9:624-631）。候補アゴニスト若しくはアンタゴニストは、既知のイオンチャネルアゴニスト若しくはアンタゴニスト、ペプチドライブラリ、若しくは組み合わせの化学ライブラリより選択されてもよい。生理的関連性のあるセカンドメッセンジャー経路が知られていない場合、REMAP は、ホスホリパーゼC及びCa^{2+}可動化に関与する経路を介してREMAP のシグナル伝達を通すために、広範囲のGタンパク質と共役することが実証されているようなGタンパク質$G_{\alpha 15/16}$と同時発現し得る（Offerrnanns, S. and M.I. Simon (1995) J. Biol. Chem. 270:15175-15180）。或いは、REMAP は内因性GPCRが不足しているような操作された酵母系に発現し、それによってREMAP 活性化スクリーニングに対してバックグラウンドが存在しない利点を提供し得る。これらの酵母系は、ヒトGPCR及びG_{α}タンパク質を内因性酵母フェロモン受容体経路の対応する構成要素に対して置換する。シグナルに対する正常な酵母応答を、選択的培地上の正の成長に、またはレポーター遺伝子発現に変換するように、下流シグナル伝達経路も変更される（Broach, J.R.およびJ. Thorner (1996) Nature 384 (supp.):14-16）。既知のGPCRリガンド及びその他天然の生理活性分子を含む推定上のリガンドに対して受容体をスクリーニングする。組織、生物学的流体及び細胞上澄みから抽出した生物学的抽出物もスクリーニングする。

【０４２８】

当業者には、本発明の要旨および精神から逸脱しない範囲での、本発明の記載した組成物、方法およびシステムの種々の修正および変更の手段は自明であろう。本発明が新規であり、有用なタンパク質およびそのコードするポリヌクレオチドを提供することは高く評価されるであろう。また、これらは薬物発見および疾患および症状の検出、診断および治療にこれらの組成物を使用する方法に用いられ得る。本発明について説明するにあたり幾つかの実施例に関連して説明を行ったが、本発明の請求の範囲が、そのような特定の実施例に不当に制限されるべきではないことを理解されたい。また、本発明をこのような実施態様の説明によって、開示した形態だけに網羅されるか、あるいは、制限されるものと見なされるべきでもない。さらに、一実施態様の要素は他の実施態様の一つ以上の要素と容易に組み合わされ得る。このような組合わせによって本発明の範囲内で多数の実施態様が形成され得る。本発明の範囲は下記の請求項およびそれに相当するものによって定義することを意図するものである。

【０４２９】

(表の簡単な説明)

表１は、本発明の完全長ポリヌクレオチドおよびポリペプチド実施様態の命名の概略である。

【０４３０】

表２は、GenBank識別番号と、本発明のポリペプチド実施態様に最も近いGenBank相同体の注釈とを示す。各ポリペプチドとそのGenBank相同体が一致する確率スコアも併せて示す。

【０４３１】

表３は、予測されるモチーフ及びドメインを含む本発明のポリペプチド実施様態の構造的特徴を、ポリペプチドの分析に用いるための方法、アルゴリズム及び検索可能なデータベースと共に示す。

【０４３２】
表４は、ポリヌクレオチド実施様態をアセンブリするために用いたcDNAやゲノムDNA断片を、ポリヌクレオチドの選択した断片と共に示す。
【０４３３】
表５は、ポリヌクレオチド実施様態の代表的なcDNAライブラリを示す。
【０４３４】
表６は、表５に示したcDNAライブラリの作製に用いた組織及びベクターを説明する付表である。
【０４３５】
表７は、ポリヌクレオチドとポリペプチドの分析に用いたツール、プログラム、アルゴリズムを、適用可能な説明、引用文献及び閾値パラメータと共に示す。
【０４３６】

【表１】

表 1

Incyte プロジェクト ID	ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリヌクレオチド ID	Incyte 完全長
5771933	1	5771933CD1	24	5771933CB1	90215359CA2
70475510	2	70475510CD1	25	70475510CB1	
566361	3	566361CD1	26	566361CB1	
71969340	4	71969340CD1	27	71969340CB1	
6772808	5	6772808CD1	28	6772808CB1	
60137669	6	60137669CD1	29	60137669CB1	90110422CA2
1987928	7	1987928CD1	30	1987928CB1	90110123CA2, 90110131CA2, 90110139CA2, 90110147CA2
7268131	8	7268131CD1	31	7268131CB1	90108068CA2
7285339	9	7285339CD1	32	7285339CB1	
7495197	10	7495197CD1	33	7495197CB1	
3954126	11	3954126CD1	34	3954126CB1	
7499693	12	7499693CD1	35	7499693CB1	
2187465	13	2187465CD1	36	2187465CB1	
3718011	14	3718011CD1	37	3718011CB1	
7500509	15	7500509CD1	38	7500509CB1	90175928CA2
7497865	16	7497865CD1	39	7497865CB1	90197602CA2
3116578	17	3116578CD1	40	3116578CB1	
2797803	18	2797803CD1	41	2797803CB1	
5433453	19	5433453CD1	42	5433453CB1	2600495CA2, 3533193CA2
6246071	20	6246071CD1	43	6246071CB1	6246071CA2
7500557	21	7500557CD1	44	7500557CB1	
6978182	22	6978182CD1	45	6978182CB1	90111161CA2
1985321	23	1985321CD1	46	1985321CB1	

【０４３７】

表２－１

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	GenBank ID NO: または PROTEOME ID NO:	確率スコア	注釈
1	5771933CD1	g4335933	1.0E-70	[ニワトリ] ChT1 Chretien,I., 他 (1998) Eur. J. Immunol. 28:4094-4104
2	70475510CD1	g17864081	0.0	[fl][マウス] PPAR ガンマコアクティベータ-1 ベータタンパク質 Kakuma,T., 他 (2000) Endocrinology 141:4576-4582
3	566361CD1	g178252	5.0E-38	[ヒト]上皮細胞成長因子受容体関連タンパク質 Kielman, M. F.、他 (1993) Homology of a 130-kb region enclosing the alpha-globin gene cluster, the alpha-locus controlling region, and two non-globin genes in human and mouse. Mamm. Genome 4:314-323.
4	71969340CD1	g4049585	2.0E-18	[fl][ヒト] Slit-1 タンパク質 Itoh, A. 他 (1998) Cloning and expressions of three mammalian homologues of Drosophila slit suggest possible roles for Slit in the formation and maintenance of the nervous system. Brain Res. Mol. Brain Res. 62:175-186.
5	6772808CD1	g7715916	0.0	[マウス] VPS10 ドメイン受容体 SorCS の SorCS b スプライス変異体 Hermey, G. および Schaller, H.C. (2000) Biochim. Biophys. Acta 1491:350-354 Alternative splicing of murine SorCS leads to two forms of the receptor that differ completely in their cytoplasmic tails
6	60137669CD1	g311817	2.2E-28	[マウス] 赤血球系アンキリン Birkenmeier,C.S. 他 (1993) J. Biol. Chem. 268 (13), 9533-9540
7	1987928CD1	g13649390	1.2E-28	[ヒト]MS4A8B タンパク質 Liang,Y. 他 (2001) Genomics 72 (2), 119-127

【表２－２】

表２－２

8	7268131CD1	g7861753	2.2E-13	[マウス] GABA-A 受容体イプシロン様サブユニット Sinkkonen, S.T. 他 (2000) GABA(A) receptor epsilon and theta subunits display unusual structural variation between species and are enriched in the rat locus ceruleus. J. Neurosci. 20:3588-3595.
9	7285339CD1	g7861753	5.1E-14	[マウス] GABA-A 受容体イプシロン様サブユニット Sinkkonen, S.T. 他 (2000) GABA(A) receptor epsilon and theta subunits display unusual structural variation between species and are enriched in the rat locus ceruleus. J. Neurosci. 20:3588-3595.
10	7495197CD1	g20269724	0.0	[ﬂ][マウス]ニューロピリンおよび tolloid 様 1 Stohr, H. 他 A novel gene encoding a putative transmembrane protein with two extracellular CUB domains and a low-density lipoprotein class A module: isolation of alternatively spliced isoforms in retina and brain. Gene 286 (2), 223-231 (2002).
		g2367641	2.9E-23	[ラット]ニューロピリン-2 Kolodkin, A.L. (1997) Neuropilin is a semaphorin III receptor.Cell 90:753-762.
11	3954126CD1	g1763306	0.0	[ラット]Munc13-3
12	7499693CD1	g20269724	5.0E-163	[ﬂ][マウス]ニューロピリンおよび tolloid 様 1 Stohr, H. 他 A novel gene encoding a putative transmembrane protein with two extracellular CUB domains and a low-density lipoprotein class A module: isolation of alternatively spliced isoforms in retina and brain. Gene 286 (2), 223-231 (2002).
		g11907926	4.5E-25	[ヒト]ニューロピリン-2b(O) Rossignol, M. 他 Genomic organization of human neuropilin-1 and neuropilin-2 genes: identification and distribution of splice variants and soluble isoforms. Genomics 70 (2), 211-222 (2000).

【０４３９】

【表２－３】

表２－３

13	2187465CD1	g5453324	3.1E-112	[マウス]シンタキシン4-相互作用タンパク質 synip Min, J. 他 (1999) Synip: a novel insulin-regulated syntaxin 4-binding protein mediating GLUT4 translocation in adipocytes. Mol. Cell 3:751-760.
15	7500509CD1	g298665	4.4E-168	[ヒト] CD68=110kda 膜貫通糖タンパク質 [ヒト、前単球細胞株 U937、ペプチド、 354 aa] Holness, C.L. 及び Simmons, D.L. (1993) Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins. Blood. 81:1607-1613.
16	7497865CD1	g339762	2.3E-235	[ヒト]腫瘍壊死因子受容体 2 関連タンパク質 Baens, M. 他 (1993) Construction and evaluation of a hncDNA library of human 12p transcribed sequences derived from a somatic cell hybrid. Genomics. 16:214-218.
		g600223	1.0E-159	[f][マウス] リンホトキシン-ベータ受容体 Nakamura, T. 他 The murine lymphotoxin-beta receptor cDNA: isolation by the signal sequence trap and chromosomal mapping. Genomics 30 (2), 312-319 (1995).
22	6978182CD1	g9858571	7.0E-45	[f][ヒト] コクサッキーウイルスおよびアデノウイルス受容体

【０４４０】

表３－１

SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	アミノ酸残基数	潜在的リン酸化部位	潜在的グリコシル化部位	シグネチャ配列、ドメインおよびモチーフ	分析方法及びデータベース
1	5771933CD1	423	S256 S265 S342 S392 S414 T25 T238 T308 T333 T346 T350 T390	N32 N38 N134 N169 N236 N255	シグナル切断: M1-V21	SPSCAN
					シグナルペプチド: M1-A16 シグナルペプチド: M1-S20 シグナルペプチド: M1-V21 シグナルペプチド: M1-V24	HMMER
					非サイトゾル内ドメイン：M1-V269 膜貫通領域:G270-F292 細胞質ゾルドメイン A293-A423	TMHMMER
					免疫グロブリン ドメイン: G190-A249, G36-V154	HMMER_PFAM
					細胞表面 A33 抗原 前駆体 免疫グロブリンフォールド リポタンパク質 パルミチン酸 糖タンパク質 PD155626: G162-E330	BLAST_PRODOM

表3－2

2	70475510CD1	972	S18 S33 S38 S56 S64 S75 S142 S146 S161 S188 S212 S229 S285 S338 S339 S348 S357 S428 S473 S479 S496 S519 S528 S592 S637 S731 S747 S830 S835 S863 S941 S950 S953 T87 T319 T440 T475 T564 T722 T739 T779 T817 T896 T937	N857	PPAR ガンマ活性化補助因子 1 PD145040： G19-S132, C502-G718, S305-P360, Q158-P227, D506-D518, S348-E396	BLAST_PRODOM
					ATP/GTP 結合部位モチーフ A(P-loop)： A946-S953	MOTIFS
3	566361CD1	827	S16 S21 S61 S73 S88 S119 S148 S195 S210 S227 S247 S266 S272 S352 S370 S419 S433 S516 S767 T482 T526 T582 T813 Y422	N26 N350 N555 N722	Rhomboid ファミリ: P619-Y761	HMMER_PFAM

【表３－３】

表３－３

				サイトゾル内ドメイン：1-374, 648-658, 714-719, 763-774 膜貫通ドメイン：375-397, 625-647, 659-681, 691-713, 720-739, 743-762, 775-797 非サイトゾル内ドメイン： 398-624, 682-690, 740-742, 798-827	TMHMMER
4	71969340CD1	828	S151 S183 S267 S461 S524 S551 S592 S645 S648 S735 S764 S775 S783 T61 T92 T311 T465 T517 T769 Y471 Y750	N59 N85 N90 N122 N210 N349 N376 N391	シグナルペプチド: M1-A21, M1-A25, M1-A27	HMMER
					シグナルペプチド: M1-A21, M1-A25, M1-A27	HMMER
					ロイシンリッチリピート:N85-F108, N157-A180, K133-P156, T61-G84, N109-G132	HMMER_PFAM
					ロイシンリッチリピートＣ末端ドメイン： N190-G235	HMMER_PFAM
					非サイトゾル内ドメイン：1-417 膜貫通ドメイン:418-440 サイトゾル内ドメイン: 441-828	TMHMMER

【０４４３】

表3－4

5	6772808CD1	1168	S105 S111 S127 S201 S258 S298 S325 S393 S417 S457 S562 S613 S653 S667 S685 S703 S849 S850 S942 S978 S1008 S1049 S1142 S1161 T52 T215 T238 T247 T347 T577 T724 T786 T901 T1030 T1050 T1156 Y536 Y678	N184 N352 N433 N765 N776 N816 N847 N908 N929	Signal_cleavage: M1-G33	SPSCAN
					シグナルペプチド: M1-G33, M1-G34, Q11-G33, Q11-G34, A12-G33	HMMER
					非サイトゾル内ドメイン：M1-T1097 膜貫通ドメイン: H1098-Y1120 サイトゾル内ドメイン: K1121-I1168	TMHMMER
					BNR リピート F569-Q580, W208-K219, L256-K267, F492-L503, W611-K622	HMMER_PFAM
					PKD (多発性嚢胞腎症タンパク質)ドメイン：K795-T887	HMMER_PFAM
					糖タンパク質 タンパク質 前駆体 シグナル 膜貫通 LR11 推定上の 膜 液胞 受容体 PD007682: W658-K795	BLAST_PRODOM

表3－5

					YIL173W; 膜; DM02204 P40438|562-714: V663-E812 S50354|562-714: V663-E812 P40890|562-714: V663-E812 P53751|123-281: V663-E812	BLAST_DOMO
					細胞接着配列：R512-D514	MOTIFS
6	60137669CD1	300	S172 S241 T6 T52 T188 Y139	N246	Ankリピート: T212-E244, C143-S176, A42-K74, I109-N142, D9-K41, K245-I276, L177-T210, D75-T105	HMMER_PFAM
7	1987928CD1	240	T51 T164 T180 Y172	N18 N130	サイトゾル内ドメイン: R96-G101, M159-R170 膜貫通ドメイン: V73-V95, I102-S124, S139-L158, G171-F193 非サイトゾル内ドメイン：M1-K72, V125-S138, G194-V240	TMHMMER
					受容体 高親和性 免疫グロブリンε βサブユニット FCERI IGE FC IGE 結合 PD023556: E43-D160	BLAST_PRODOM
					抗原 CD20 表面 B 細胞 膜貫通 リン酸化 B リンパ球 B1 LEU16 BP35 PD039784: P62-D160	BLAST_PRODOM
					B 細胞表面抗原 CD20 DM08044|P11836|1-296: P62-D160 DM08044|P19437|1-290: P62-D160	BLAST_DOMO
					β、免疫グロブリン、ε、親和性 DM03973|P20490|1-234: P30-N165 DM03973|Q01362|1-243: L29-D160	BLAST_DOMO

表3－6

				免疫グロブリンと主要組織適合性複合体タンパク質シグネチャ: F193-H199	MOTIFS
8	7268131CD1	394	S4, S17, S28, S100, S110, S124, S174, S205, S238, T151, T162, T262, T344 N53		
9	7285339CD1	340	S4, S17, S28, S100, S110, S124, S174, S205, S238, T151, T162, T262 N53		
10	7495197CD1	525	S121, S141, S233, S234, S278, S325, S369, S416, S431, S440, S494, S498, S514, T15, T19, T23, T27, T187, T324, T389, T522 N298, N332, N438, N473, N521	シグナル切断: M1-A14	SPSCAN
				CUB ドメイン: C33-Y144, C164-F276	HMMER-PFAM
				CUB ドメイン タンパク質プロファイル: BL01180: C88-G98, G107-S120 (p=0.0012)	BLIMPS-BLOCKS
				LDL 受容体クラス A: BL01209: C303-E319	BLIMPS-BLOCKS
				低密度リポタンパク質受容体ドメイン: P282-E320	HMMER-PFAM
				糖タンパク質 ドメイン EGF 様タンパク質 前駆体 シグナル 受容体 内在因子 B12 リピート: PD000165: C33-Y144	BLAST-PRODOM

40 30 20 10

【表３－７】

表３－７

C1R/C1S リピート: DM00162|I49540|748-862: BLAST-DOMO
G43-N145;
DM00162|P98063|755-862: G43-N145;
DM00162|I49540|438-552: C33-Y144;
DM00162|P98063|438-549: C33-Y144

11	3954126CD1	2214	S52 S76 S93	N74 N325 N493 C2 ドメイン: I1222-I1313, V2063-V2153	HMMER_PFAM
			S111 S121 S126	N497 N503	
			S130 S136 S157	N574 N813	
			S167 S196 S254	N842 N874	
			S273 S279 S286	N891 N939	
			S298 S320 S394	N1277 N1741	
			S435 S448 S452	N1873 N2115	
			S469 S483 S488	N2174	
			S498 S502 S505		
			S537 S547 S549		
			S559 S580 S582		
			S600 S649 S671		
			S682 S762 S788		
			S806		
			S820 S894 S971	ホルボールエステル/ジアシルグリセロール結合ドメイン	HMMER_PFAM
			S997 S998 S1007	(C1 ドメイン): H1098-C1147	
			S1034 S1155		
			S1196 S1210		
			S1219 S1305		
			S1429 S1464		
			S1466 S1489		
			S1504 S1514		
			S1572 S1732		
			S1786 S1876		
			S1891 S1903		

【０４４７】

【表３－８】

表３－８

S2009 S2038 S2111 S2136 S2176 S2189 S2209 T23 T29 T58 T62 T77 T109 T202 T217 T302 T479 T543 T596 T617 T715 T840 T846 T896 T912 T916 T941 T1043 T1215 T1256 T1279 T1312 T1333 T1506 T1553 T1585 T1601 T1845 T1971 T1984 T2064 T2192 Y308 Y867 Y1419 Y1554	ホルボールエステル/ジアシルグリセロール結合ドメインタ BLIMPS_BLOCKS ンパク質 BL00479: H1098-G1120, Q1124-C1139 ホルボールエステル/ジアシルグリセロール結合ドメイン: PROFILESCAN Y1110-R1174 C2 ドメインシグネチャおよびプロフィール: S1196-T1258 PROFILESCAN C2 ドメイン シグネチャ PR00360: K1237-V1249, BLIMPS_PRINTS G1261-E1274, I1282-D1290 ホルボールエステル結合タンパク質 UNC13 MUNC13 BLAST_PRODOM MUNC132 MUNC131 MUNC133 PD010159: T1312-T1940, P1934-L2073,K2040-K2062, N745- L819, H780-V811, N754-S820 MUNC133 ホルボールエステル結合 PD141195: BLAST_PRODOM N493-T916

【０４４８】

【表３－９】

表３－９

				ホルボールエステル結合 MUNC132 MUNC133 PD042959: N110-T406	BLAST_PRODOM
				ホルボールエステル結合 UNC13 タンパク質 MUNC13 MUNC131 MUNC133 MUNC132 ホルボールエステル/ジアシルグリセロール結合 PD016836: P917-P1097	BLAST_PRODOM
				MUNC13 DM08803|61776|1013-1154: K1257-D1399 DM08803|A57607|726-867: K1257-D1399	BLAST_DOMO
				C2-ドメイン DM00150|P27715|801-928: K1205-K1331 DM00150|61776|1811-1943: D2041-L2171	BLAST_DOMO
				C2 ドメイン シグネチャ: A1229-Y1244	MOTIFS
				ホルボールエステル/ジアシルグリセロール結合ドメイン: H1098-C1147	MOTIFS
12	7499693CD1	487	S142 S143 S182 N347 N415 S191 S246 S291 N437 S364 S391 S408 S417 S444 T87 T133 T210 T214 T439 T446	Signal_cleavage:M1-A26, M1-G33	SPSCAN
				シグナルペプチド: M1-G22, M1-A26, M1-A24	HMMER
				細胞外ドメイン:M1-K307	TMHMMER
				膜貫通ドメイン:T308-V330	
				細胞内ドメイン:Q331-F487	
				CUB ドメイン: C45-Y156, C177-F289	HMMER_PFAM
				糖タンパク質 ドメイン EGF 様タンパク質 前駆体 シグナル 受容体 内在因子 B12 リピート PD000165: T51-Y156	BLAST_PRODOM

【０４４９】

【表３－１０】

表３－１０

				C1R/C1S リピート		BLAST_DOMO
				DM00162|I49540|748-862: T51-S157		
				DM00162|P98063|755-862: T51-S157		
				DM00162|I49540|438-552: C45-Y156		
				DM00162|P98063|438-549: C45-Y156		
13	2187465CD1	405	S12 S82 S99 S122 S142 S163 S189 S212 S252 S292 T154 T157 T313	N4 N117 N172 N183	PDZ ドメイン(DHR または GLGF とも呼ばれる)： Q21-E102	HMMER_PFAM
					サイトソルドメイン:M1-S381	TMHMMER
					膜貫通ドメイン:S382-L404	
					非サイトソル内ドメイン:N405-N405	
					PDZ ドメインタンパク質(ALS PF00595: L64-N74	BLIMPS_PFAM
					タンパク質 SH3 ドメインリピート PD00289: G67-G80	BLIMPS_PRODOM
					タンパク質ドメイン プロテアーゼ ホスファターゼ SH3 リピート PDZ チロシン 前駆体 加水分解酵素	BLAST_PRODOM
					PD000073: I23-A93	
					GLGF ドメイン DM00224|P55196|980-1073: L14-R92	BLAST_DOMO

【０４５０】

表3－11

14	3718011CD1	910	S5 S41 S79 S115 S169 S256 S366 S367 S485 S640 S642 S847 S860 T83 T88 T135 T435 T525 T535 T542 T544 T551 T646 T805 T874 Y405 Y813	N153 N226 N329 N361 N493 N777 N790 N802	サイトゾル内ドメイン:M1-K294 L393-S457 E528-M554 N694-D720 V848-E910 膜貫通ドメイン:I295-V317 L370-F392 A458-V480 Q505-Y527 F555-F572 I671-V693 I721-I743 I825-S847 非サイトゾル内ドメイン:A318-K369 F481-P504 K573-M670 A744-N824	TMHMMER
					タンパク質 AAC3RFC5 遺伝子間領域 膜貫通 F56A8.1 PD025564: F373-S747, M741-D766	BLAST_PRODOM
					成長因子およびサイトカイン受容体ファミリーシグネチャ 1: C319-W332	MOTIFS
15	7500509CD1	327	S23 S29 S236 S267 S289 S322 T26 T34 T125 T129	N61 N69 N91 N99 N137 N172 N219 N234 N252	signal_cleavage: M1-A16	SPSCAN
					シグナルペプチド: M1-S18, M1-G20, M1-T21, M1-T22, M1-S23, M1-R25	HMMER
					リソソーム結合 膜糖タンパク質(Lamp): M1-L327	HMMER_PFAM
					サイトゾル内ドメイン: R318-L327 膜貫通ドメイン: L295-I317 非サイトゾル内ドメイン：M1-L294	TMHMMER
					リソソーム結合 膜糖タンパク質 重複ドメイン タンパク質 BL00310: T38-T73, L240-S286, E128-M154, F230-S254, D264-R318	BLIMPS_BLOCKS

【表３－１２】

表３－１２

				リソソーム結合 膜糖タンパク質シグネチャ PR00336: G131-Y155, A242-I256, G279-R291, S292-F314, F314-A326	BLIMPS_PRINTS
				前駆体 膜貫通 糖タンパク質 シグナル リソソーム 膜 リソソーム結合性 LAMP-2 抗原 リソソーム選択スプライシング PD005775: S29-L327	BLAST_PRODOM
				タンパク質 前駆体 糖タンパク質 シグナル リピート 抗原 表面 メロゾイト 細胞 膜貫通 PD000546: S18-G131	BLAST_PRODOM
				LAMP 糖タンパク質 膜貫通および細胞質内ドメイン DM01644 |P34810|36-353: L15-L327 |P31996|27-325: T38-L327 |P05300|71-413: H59-L327 |A60534|76-405: A85-Q325	BLAST_DOMO
				LAMP 糖タンパク質膜貫通および細胞質内ドメイン シグネチャ: C287-Q325	MOTIFS
16	7497865CD1	416	S50 S68 S99 S163 S304 S404 T23 T63 T98 T103 T121 T133 T170 T190 Y31	N21 N158	TNFR/NGFR システインリッチ領域: C24-C61, C151-C191, C107-L137, C64-C105	HMMER_PFAM
					サイトゾル内ドメイン:K230-D416 膜貫通ドメイン： L207-W229 非サイトゾル内ドメイン： M1-M206	TMHMMER
					TNFR/NGFR ファミリー システインリッチ領域タンパク質 BL00652: C39-V49, C97-C107	BLIMPS_BLOCKS

【０４５２】

【表３－１３】

表３－１３

			シアシルグリセロールキナーゼ ca PF00781: H147-K152, P194-F225, I278-Q301, T382-L393	BLIMPS_PFAM	
			リンホトキシン ベータ受容体 前駆体 膜貫通 糖タンパク質 リピート シグナル 腫瘍壊死因子 PD037872: R106-G400 PD028432: G5-T63	BLAST_PRODOM	
			リンホトキシン ベータ受容体鎖 DM06944 |P36941|204-434: A185-D416 |P50284|206-414: S187-G400	BLAST_DOMO	
			TNFR/NGFR ファミリシステインリッチ領域 DM00218 |P36941|119-202: K100-T184 |P36941|39-117: E20-S99	BLAST_DOMO	
			TNFR/NGFR ファミリー システインリッチ領域シグネチャ: C24-C61, C64-C105	MOTIFS	
17	3116578CD1	635	S29 S90 S188 S201 S217 S376 S382 S525 S604 T116 T205 T230 T245 T276 Y135	N66 N114 N134 N433 N602	signal_cleavage: M1-S19	SPSCAN
			シグナルペプチド: M1-S19, M1-A20, M1-A24, M1-P25, M1-S28, M1-G30, M1-D32			HMMER

【０４５３】

【表３－１４】

表３－１４

				サイトソル内ドメイン：M1-R6, L189-R247, Q302-K313, P371-S389, K497-D502, V560-G565, R628-I635 膜貫通ドメイン：A7-S29, V166-S188, G248-F267, F282-L301, I314-Y333, V348-V370, W390-V412, L474-Y496, I503-T522, L537-P559, L566-V588, H608-Y627 非サイトソル内ドメイン：G30-P165, K268-V281, C334-G347, P413-I473, K523-N536, F589-E607	TMHMMER
18	2797803CD1	478	S42 S134 S204 N456 S331 S438 S449 T76 T109 T111 T325 T355 T379 T419 Y212 Y246	SAM ドメイン(ステライルαモチーフ)：R73-Q139	HMMER_PFAM
				サイトソル内ドメイン：M1-K214, L283-R294, S362-R381, N431-G478 膜貫通ドメイン：T215-H237, I260-L282, L295-V317, A339-F361, S382-A404, Y408-A430 非サイトソル内ドメイン：E238-R259, P318-R338, H405-H407	TMHMMER
				ロイシンジッパーパターン：L284-L305	MOTIFS
19	5433453CD1	634	S124 S162 S177 S289 S452 S551 T30 T570 T631	サイトソル内ドメイン：M1-R189, G250-Y343 膜貫通ドメイン：Y190-A212, G227-A249, T344-I366 非サイトソル内ドメイン：P213-A226, D367-D634	TMHMMER
				鉄依存性レブレッサ PF01325: E157-E169	BLIMPS_PFAM
				ロイシンジッパーパターン：L311-L332	MOTIFS
				細胞接着配列：R461-D463	MOTIFS

【０４５４】

【表３－１５】

表３－１５

20	6246071CD1	152		サイトゾル内ドメイン：M1-R60, T121-T121 膜貫通ドメイン：L61-T83, A98-F120, A122-P144 非サイトゾル内ドメイン：T84-A97, G145-Q152	TMHMMER
				真核生物 チオール（システイン） プロテアーゼ類 ヒスチジン活性部位：L77-H87	MOTIFS
21	7500557CD1	308	S42 S134 S204 T76 T109 T111 Y212 Y246	SAM ドメイン（ステライル α モチーフ）：R73-Q139	HMMER_PFAM
				サイトゾル内ドメイン：M1-K214, H285-V308 膜貫通ドメイン：T215-H237, W262-L284 非サイトゾル内ドメイン：E238-P261	TMHMMER
22	6978182CD1	431	S3 S166 S295 S304 S393 T184 T201	N102 N108 N204 N308 N360 N389	signal_cleavage: M1-A21	SPSCAN
					シグナルペプチド：M1-A21, Q4-A21, M1-S22, M1-L23, M1-E24, M1-S26, M1-S28, M1-P29	HMMER
					免疫グロブリン ドメイン：G37-V122, G158-A217	HMMER_PFAM
					サイトゾル内ドメイン：R269-V431 膜貫通ドメイン：A246-W268 非サイトゾル内ドメイン：M1-G245	TMHMMER
					ミエリン P0 タンパク質シグネチャ PR00213: A85-L112, D114-P143	BLIMPS_PRINTS
					細胞表面 A33 抗原 前駆体 免疫グロブリンフォールド リポタンパク質 パルミチン酸 糖タンパク質 PD155626: G130-P291	BLAST_PRODOM

【０４５５】

【表３－１６】

表３－１６

前駆体 糖タンパク質 シグナル チャネル 膜貫通					BLAST_PRODOM
免疫グロブリン フォールド タンパク質 ミエリンナトリウム					
PD013099: I32-S145					
23	1985321CD1	93	T17 T33 Y25	Signal_cleavage: M1-A50	SPSCAN
				非サイトゾル内ドメイン: M1-R23	TMHMMER
				膜貫通ドメイン: G24-F46	
				サイトゾル内ドメイン: G47-V93	
				免疫グロブリンと主要組織適合性複合体タンパク質シ	MOTIFS
				グネチャ: F46-H52	

【０４５６】

【表４－１】

表４－１

ポリヌクレオチド SEQ ID NO/ Incyte ID/配列長	配列断片
24/5771933CB1/1748	1-601, 1-1442, 325-592, 335-536, 494-1193, 494-1253, 494-1254, 494-1260, 494-1341, 494-1391, 494-1416, 496-1315, 498-1422, 500-1371, 520-1393, 592-1388, 624-1389, 646-1397, 691-795, 697-1442, 752-809, 756-1393, 770-1393, 974-1389, 1099-1606, 1484-1748, 1518-1619, 1666-1748
25/70475510CB1/4028	1-429, 41-538, 43-127, 50-211, 51-245, 53-275, 79-550, 81-329, 84-538, 84-554, 87-1000, 89-127, 125-752, 210-847, 210-878, 359-769, 371-889, 430-770, 518-1131, 531-1103, 535-1138, 571-1134, 583-1211, 609-1243, 615-1196, 742-1320, 748-1195, 806-1422, 851-1065, 931-1583, 946-1623, 1092-1643, 1104-1722, 1132-1706, 1212-1492, 1237-1483, 1243-1717, 1251-1724, 1252-1808, 1281-1556, 1296-1529, 1327-1793, 1333-1925, 1421-2001, 1455-1971, 1573-1846, 1573-1945, 1573-2136, 1592-2165, 1606-2210, 1607-2140, 1607-2247, 1608-2107, 1609-2184, 1612-2049, 1634-2156, 1651-1794, 1655-2049, 1664-2232, 1743-2359, 1783-2424, 1792-1951, 1793-2071, 1800-2387, 1803-2359, 1805-2445, 1808-2285, 1830-2482, 1846-2423, 1902-2230, 1922-2393, 1929-2067, 1930-2499, 1953-2584, 1962-2079, 1966-2459, 1968-2326, 1968-2345, 1970-2597, 1987-2559, 2000-2571, 2013-2598, 2014-2617, 2021-2508, 2021-2531, 2035-2687, 2042-2603, 2042-2604, 2049-2686, 2065-2701, 2074-2557, 2076-2666, 2108-2548, 2155-2662, 2156-2718, 2169-2805, 2185-2749, 2203-2751, 2209-2757, 2253-2799, 2254-2652, 2260-2678, 2294-2816, 2316-2736, 2328-2805, 2330-2945, 2355-3037, 2364-2714, 2389-2907, 2440-2631,
26/566361CB1/3320	2456-2835, 2571-3079, 2614-3065, 2637-2887, 2637-3202, 2662-3079, 2671-2919, 2699-2899, 2705-3333, 2818-3298, 2934-3385, 2935-3081, 2990-3392, 3047-3241, 3049-3223, 3082-4028 1-260, 1-444, 1-553, 2-260, 8-607, 159-688, 161-688, 237-732, 271-732, 339-611, 395-875, 659-1198, 686-1129, 714-1460, 744-1353, 828-1098, 852-1414, 1081-1678, 1083-1245, 1156-1622, 1230-1719, 1285-1568, 1354-1636, 1354-1718, 1409-1660, 1449-1690, 1451-1753, 1551-1787, 1760-2320, 1865-2321, 1986-2279, 1991-2648, 2022-2253, 2037-2474, 2105-2367, 2105-2565, 2137-2322, 2137-2542, 2169-2496, 2191-2743, 2201-2674, 2209-2723, 2253-2879, 2294-2320, 2299-2880, 2308-2356, 2343-2890, 2487-2796, 2581-2847, 2581-3132, 2598-2688, 2615-3141, 2622-3209, 2626-2874, 2635-2858, 2639-3311, 2666-3169, 2728-3043, 2744-3252, 2744-3320, 2749-3000, 2749-3274

【０４５７】

【表４－２】

表４－２

27/71969340CB1/2914	1-772, 1-2609, 100-760, 125-774, 207-694, 211-474, 211-480, 211-657, 211-688, 211-735, 211-742, 211-775, 211-815, 211-850, 211-993, 215-784, 215-882, 215-923, 216-798, 235-756, 285-689, 357-1024, 381-1024, 383-1024, 430-1024, 485-1131, 488-754, 488-1014, 526-1024, 529-1213, 584-1252, 589-1024, 604-1197, 607-1208, 631-1291, 690-1367, 714-1172, 739-958, 753-1148, 767-1281, 772-994, 831-1171, 831-1172, 887-1331, 890-1173, 919-1132, 965-1628, 1003-1588, 1025-1268, 1072-1693, 1108-1422, 1112-1361, 1113-1364, 1120-1748, 1134-1715, 1152-1794, 1191-1461, 1239-1399, 1262-1579, 1267-1504, 1286-1518, 1317-1583, 1350-1586, 1380-1524, 1387-1795, 1502-2155, 1505-1707, 1514-2150, 1561-1962, 1606-1905, 1692-2161, 1707-1874, 1718-2115, 1749-2143, 1757-1993, 1759-2120, 1812-2609, 2196-2860, 2229-2431, 2231-2431, 2320-2914, 2625-2886
28/6772808CB1/3990	1-614, 1-619, 1-621, 152-622, 550-688, 550-992, 550-1172, 550-1189, 550-1264, 642-781, 878-1267, 878-3660, 1622-1859, 1622-1939, 1622-2216, 1668-2259, 1776-2259, 1898-2259, 2046-2259, 2209-2342, 2284-2699, 2553-3083, 2553-3108, 2553-3113, 2553-3114, 2556-3114, 2579-3114, 2586-3114, 3523-3990
29/60137669CB1/1198	1-269, 1-709, 119-385, 175-606, 210-430, 242-808, 268-863, 309-891, 328-791, 329-909, 337-909, 349-1034, 393-793, 403-893, 434-909, 573-1153, 609-1159, 620-870, 643-1106, 643-1133, 644-1198, 666-923, 671-1140, 688-864, 693-1159, 696-762, 702-933, 702-1129, 702-1133, 703-1140, 704-802, 704-1158, 705-1144, 713-1159, 745-1140, 757-1140, 759-1140, 774-1147, 796-1035, 862-1140
30/19879928CB1/1297	1-535, 24-235, 166-700, 329-701, 384-700, 459-1123, 472-1098, 497-1205, 541-1198, 555-1297, 569-1271, 592-856, 603-1188, 621-876, 621-1290, 651-1271
31/7268131CB1/2482	1-471, 1-549, 1-599, 5-597, 6-547, 6-653, 9-562, 14-515, 20-434, 20-512, 22-618, 24-731, 27-555, 30-601, 32-610, 40-587, 51-876, 64-429, 68-422, 77-693, 100-391, 104-607, 104-782, 105-619, 105-697, 106-631, 107-693, 135-578, 135-622, 149-876, 154-585, 160-747, 171-437, 173-876, 183-424, 187-876, 190-876, 207-642, 217-659, 259-876, 264-758, 303-748, 304-876, 313-605, 321-876, 323-876, 332-876, 348-876, 384-876, 392-1003, 397-1153, 400-1096, 445-876, 447-722, 464-1014, 466-876, 471-876, 494-1080, 563-814, 571-1100, 602-867, 659-1136, 726-1074, 776-1081, 801-1212, 801-1347, 845-1212, 871-1137, 871-1481, 875-1515, 888-1145, 935-1212, 1075-1693, 1079-1222, 1079-1679, 1142-1281, 1164-1321, 1165-1808, 1165-2027, 1166-1877, 1168-1777, 1181-1815, 1204-1643, 1225-1906, 1226-1330, 1226-1351, 1226-1538, 1226-1600, 1226-1632, 1226-1643, 1226-1667, 1226-1677, 1226-1684, 1226-1687, 1226-1690, 1226-1700, 1226-1710, 1226-1766, 1226-1848, 1226-1866, 1226-1873, 1226-1913, 1226-1943, 1226-2013, 1226-2095, 1226-2154, 1229-1963, 1266-1477, 1266-1787, 1281-1787, 1300-1765,

【０４５８】

【表４－３】

表４－３

	1305-1932, 1312-1949, 1316-1915, 1324-1588, 1364-2127, 1383-2170, 1387-1639, 1410-1887, 1439-1960, 1450-2055, 1463-2174, 1464-2424, 1501-2106, 1519-1856, 1524-2152, 1534-2109, 1556-2353, 1558-2353, 1572-2010, 1572-2013, 1572-2117, 1572-2147, 1573-2261, 1573-2415, 1616-1898, 1621-1860, 1638-2256, 1640-2371, 1641-1961, 1656-2128, 1657-1898, 1665-1896, 1669-1757, 1676-2350, 1680-2179, 1756-2384, 1777-2459, 1790-2482, 1791-2407, 1792-2437, 1792-2482, 1798-2386, 1832-2459, 1837-2406, 1848-2476, 1851-2482, 1854-2479, 1859-2482, 1864-2386, 1873-2474, 1881-2431, 1882-2453, 1891-2469, 1893-2481, 1893-2482, 1894-2443, 1895-2460, 1896-2451, 1900-2422, 1900-2460, 1912-2480, 1913-2453, 1936-2450, 1938-2478, 1947-2479, 1968-2479, 1973-2482, 1977-2482, 1983-2407, 1998-2482, 2014-2482, 2016-2482, 2025-2480, 2063-2482, 2067-2458, 2068-2459, 2079-2482, 2104-2457, 2108-2446, 2108-2481, 2109-2395, 2113-2459, 2133-2407, 2176-2459, 2178-2482, 2195-2459, 2203-2459, 2228-2453, 2384-2480, 2386-2481
32/7285339CB1/2323	1-554, 1-604, 19-520, 25-517, 69-434, 105-396, 110-702, 137-583, 165-752, 269-763, 318-610, 499-1085, 607-872, 781-1086, 806-1216, 850-1216, 851-1446, 876-1142, 903-1187, 904-1800, 940-1216, 1062-1333, 1115-1406, 1224-1494, 1230-1482, 1230-1722, 1269-1577, 1271-1752, 1273-1537, 1282-1803, 1293-1898, 1355-1414, 1358-2014, 1377-1952, 1442-2279, 1484-1804, 1500-1741, 1508-1739, 1519-2193, 1675-2302, 1725-2296, 1736-2323, 1737-2286, 1738-2303, 1739-2294, 1743-2303, 1755-2323, 1947-2300, 2227-2323, 2229-2323
33/7495197CB1/2232	1-278, 1-291, 1-292, 209-652, 211-651, 497-700, 611-854, 618-1324, 618-1335, 618-1336, 618-1337, 618-1363, 618-1377, 618-1410, 618-1411, 618-1527, 618-1545, 618-1577, 618-1595, 628-1174, 659-1279, 693-913, 705-1116, 807-1784, 823-1784, 829-1778, 831-1784, 839-1407, 857-1780, 891-1784, 970-1784, 975-1786, 976-1784, 978-1784, 983-1224, 983-1494, 983-1724, 1003-1784, 1019-1784, 1051-1195, 1111-1723, 1163-1762, 1166-1446, 1166-1682, 1166-1717, 1166-1722, 1168-1784, 1208-1792, 1220-1792, 1241-1768, 1263-1882, 1308-1802, 1334-1780, 1340-1626, 1340-1882, 1407-1978, 1409-2102, 1440-1981, 1446-1904, 1542-1798, 1557-1755, 1576-2213, 1598-2232, 1601-1939, 1725-2225, 1736-2231, 1758-2232, 1884-2111, 1987-2231, 1987-2232, 2022-2231, 2022-2232
34/3954126CB1/7590	1-566, 336-795, 536-3426, 3210-3396, 3210-3427, 3212-3291, 3342-3496, 3342-3733, 3342-3761, 3342-3845, 3342-3846, 3342-3848, 3342-3850, 3342-3926, 3342-3951, 3342-3962, 3342-3970, 3342-3975, 3342-4001, 3342-4015, 3342-4043, 3342-4259, 3357-4244, 3387-4351, 3452-4348, 3703-4086, 3895-4016, 3895-4071, 3895-4103, 3895-4218, 3895-4221, 3895-4292, 3895-4308, 3895-4317, 3895-4321, 3895-4325, 3895-4328, 3895-4382, 3895-4394, 3895-4407, 3895-4497, 3895-4502, 3895-4522, 3895-4537, 3895-4550, 3895-4563, 3895-4641, 3895-4658, 3895-4670, 3895-4686, 3905-4906, 3921-4424, 3946-4504, 3949-4705, 4000-4850, 4190-5177, 4191-5276, 4203-4907, 4236-4487, 4292-4818, 4294-4903, 4377-5050, 4425-5099, 4437-5259, 4472-5200, 4477-5034, 4483-5085, 4498-5274, 4516-5259, 4535-5374, 4550-5146, 4554-5377, 4561-5263, 4564-5259, 4569-5262, 4571-5377, 4587-5377, 4588-5259, 4612-5377, 4613-5259, 4617-5259, 4636-5377, 4643-5377, 4656-5377, 4674-5377, 4681-5377, 4683-5377, 4685-5377, 4694-5377, 4697-5377, 4700-5377, 4706-5377, 4712-5245, 4714-5377, 4743-5259, 4766-5377, 4833-5376, 4839-5377, 4864-5377, 4867-5377, 4990-5254, 5074-5377, 5177-

【０４５９】

【表４－４】

表４－４

5743, 5652-6404, 5652-6441,	5666-6436, 5769-6436, 6352-6762, 6352-6943, 6521-6943, 6530-7046, 6551-6733, 6551-7121, 6836-7100, 6836-7428, 6885-7146, 6963-7384, 6969-7322, 7008-7365, 7176-7424, 7320-7590
35/7499693CB1/3285	1-814, 1-2257, 700-967, 841-1231, 879-1097, 879-1238, 879-1289, 879-1311, 879-1321, 879-1337, 879-1370, 879-1374, 879-1376, 879-1392, 879-1396, 879-1406, 879-1411, 879-1413, 879-1418, 879-1438, 879-1439, 879-1442, 879-1443, 879-1445, 879-1448, 879-1451, 879-1459, 879-1463, 879-1464, 879-1470, 879-1480, 879-1484, 879-1486, 879-1489, 879-1498, 879-1547, 879-1673, 887-1554, 893-1416, 908-1519, 909-1474, 910-1518, 913-1414, 924-1294, 927-1036, 940-1532, 942-1464, 951-1479, 955-1489, 991-1564, 998-1596, 1001-1404, 1007-1649, 1011-1516, 1019-1598, 1038-1659, 1050-1686, 1055-1740, 1061-1716, 1073-1707, 1078-1500, 1088-1645, 1092-1703, 1099-1680, 1106-1617, 1106-1644, 1111-1686, 1113-1643, 1113-1726, 1135-1640, 1135-1731, 1142-1703, 1142-1707, 1143-1630, 1143-1760, 1147-1779, 1158-1399, 1158-1402, 1168-1740, 1168-1797, 1169-1835, 1179-1421, 1180-1596, 1201-1705, 1212-1642, 1225-1852, 1232-1853, 1249-1791, 1249-1889, 1252-1769, 1262-1883, 1269-1835, 1289-1421, 1295-1747, 1304-1756, 1314-1855, 1320-1609, 1331-1616, 1337-1595, 1371-1908, 1373-1734, 1375-1839, 1411-2141, 1484-2064, 1484-2065, 1509-2077, 1567-2104, 1579-2085, 1594-2256, 1604-2184, 1616-1911, 1618-2128, 1621-2131, 1629-2250, 1645-2256, 1664-2256, 1683-2258, 1693-2243, 1706-2222, 1712-2248, 1714-2495, 1733-2009, 1738-2170, 1742-2095, 1748-2495, 1751-2214, 1751-2218, 1759-2298, 1771-2319, 1793-2256, 1806-2189, 1807-2209, 1809-2256, 1811-2258, 1813-2256, 1820-2256, 1852-2252, 1856-2255, 1877-2257, 1892-2495, 1893-2495, 1935-2188, 1954-2593, 1971-2494, 1987-2495, 2007-2298, 2022-2295, 2034-2298, 2042-2544, 2075-2506, 2077-2337, 2100-2348, 2114-2257, 2126-2938, 2126-2969, 2129-2415, 2159-2212, 2212-2533, 2293-2560, 2322-2632, 2355-2996, 2356-2645, 2433-2994, 2522-2855, 2568-2852, 2574-2816, 2574-3068, 2618-3285, 2623-2693

【０４６０】

【表４－５】

表４－５

36/2187465CB1/1825	1-230, 1-480, 1-572, 1-591, 1-599, 1-629, 21-141, 21-525, 47-262, 92-695, 95-739, 302-913, 335-963, 336-915, 385-966, 405-963, 473-1107, 510-1181, 511-1059, 545-1183, 547-960, 550-1183, 573-1183, 609-1183, 610-1183, 642-1183, 691-1183, 905-1361, 933-1118, 1103-1183, 1184-1430, 1184-1598, 1184-1697, 1184-1704, 1184-1825, 1230-1721
37/3718011CB1/3214	1-212, 2-245, 6-208, 50-120, 156-447, 217-581, 237-850, 245-335, 245-814, 326-523, 326-3126, 460-523, 525-808, 525-922, 551-837, 551-1078, 562-1151, 715-1326, 791-1067, 791-1301, 791-1567, 809-1038, 923-1173, 964-1264, 1007-1466, 1039-1173, 1070-1677, 1082-1566, 1093-1652, 1141-1734, 1148-1675, 1174-1340, 1211-1624, 1220-1591, 1280-1483, 1301-1789, 1341-1483, 1341-1561, 1383-1906, 1395-1664, 1395-1935, 1423-1666, 1483-1724, 1483-2157, 1484-1787, 1503-2066, 1545-1825, 1545-2045, 1927-2554, 1956-2055, 2056-2186, 2066-2556, 2187-2589, 2242-2492, 2242-2506, 2290-2861, 2331-2986, 2342-2760, 2350-2556, 2384-3111, 2393-2589, 2393-2701, 2596-2905, 2680-2961, 2693-2916, 2693-3214, 2702-2905, 2752-2968, 2754-2965, 2881-3097
38/7500509CB1/1597	1-1477, 19-301, 46-296, 46-588, 48-271, 49-293, 51-327, 51-712, 53-279, 53-312, 58-497, 59-373, 63-301, 63-350, 63-395, 64-614, 65-334, 67-315, 70-334, 70-497, 121-533, 121-700, 122-775, 125-356, 126-383, 133-372, 139-413, 147-841, 161-709, 165-670, 170-988, 171-449, 184-393, 184-421, 191-454, 191-674, 191-796, 199-231, 199-244, 199-256, 199-266, 199-280, 199-290, 199-293, 199-297, 203-578, 206-297, 207-798, 210-297, 212-297, 216-519, 219-297, 222-297, 238-297, 241-487, 243-552, 245-479, 249-793, 250-297, 251-489, 251-495, 252-297, 260-297, 264-297, 264-300, 270-297, 271-804, 276-563, 276-916, 282-533, 283-525, 283-774, 283-803, 288-536, 289-361, 289-369, 289-383, 289-386, 289-387, 290-387, 293-387, 295-974, 296-572, 296-816, 297-817, 298-567, 299-985, 300-387, 300-568, 302-817, 302-922, 304-460, 304-507, 305-557, 305-933, 309-387, 312-1002, 317-1043, 318-458, 322-547, 331-387, 339-387, 340-886, 340-960, 341-387, 342-540, 347-912, 353-587, 353-635, 353-832, 360-939, 361-387, 361-568, 369-944, 369-1215, 380-620, 383-788, 387-709, 387-714, 390-551, 392-526, 400-1054, 401-1079, 407-974, 410-860, 417-1039, 417-1114, 418-548, 418-987, 422-932, 422-1065, 431-970, 432-853, 432-1036, 432-1037, 436-915, 442-678, 442-703, 443-852, 455-743, 456-1117, 462-743, 466-1092, 468-707, 476-975, 496-1139, 513-765, 513-803, 533-783, 533-791, 536-789, 538-780, 538-1208, 539-659, 540-827, 544-779, 550-1057, 550-1114, 555-824, 558-809, 560-816, 560-831, 561-807, 562-884, 565-1193, 565-1354, 566-1116, 574-842, 574-1186, 575-794, 589-840, 594-1272, 595-1202, 597-887, 600-856, 601-1323, 603-857, 605-872, 606-862, 606-865, 606-892, 606-1271, 610-1014, 611-855, 611-901, 612-864, 617-1176, 621-772, 629-1371, 646-1112, 647-1337, 649-901, 655-1114, 655-1117, 655-1133, 657-1090, 659-842, 659-883, 659-897, 659-1310, 659-1332, 659-1381, 660-910, 661-928, 662-919, 665-1292, 674-898, 677-920, 677-928, 677-1175, 680-892, 682-1261, 689-904, 689-990, 689-1213, 695-946, 703-964, 705-946, 705-997, 706-1133, 706-1253, 707-994, 711-1110, 715-961, 725-934, 727-953, 738-1298, 745-925, 749-938, 749-1032, 750-1369, 750-1395, 756-1349, 764-1004, 765-1026, 767-1003, 777-1021, 781-1049, 781-1494, 785-1372, 785-1468, 787-1074, 789-1036, 789-1044, 793-1052, 804-996,

【０４６１】

【表４－６】

表4－6

	805-1093, 806-1064, 806-1457, 826-1070, 827-1060, 837-1137, 837-1434, 839-1129, 855-1102, 856-1071, 860-1488, 863-1126, 863-1504, 872-1114, 904-1360, 905-1169, 905-1552, 908-1447, 911-1597, 929-1206, 929-1503, 933-1225, 940-1197, 940-1203, 940-1553, 946-1212, 946-1525, 947-1180, 947-1535, 952-1199, 952-1506, 952-1545, 956-1222, 956-1409, 956-1568, 963-1145, 964-1201, 969-1234, 975-1568, 979-1235, 980-1204, 981-1450, 984-1217, 986-1442, 986-1530, 999-1292, 1007-1545, 1018-1271, 1018-1569, 1022-1278, 1037-1272, 1039-1114, 1041-1568, 1049-1562, 1059-1307, 1067-1321, 1067-1327, 1083-1336, 1088-1381, 1107-1376, 1120-1373, 1207-1227, 1207-1240, 1207-1241, 1348-1378, 1348-1382
39/7497865CB1/1923	1-529, 1-1883, 50-339, 245-724, 249-724, 323-362, 381-614, 382-672, 411-597, 416-1093, 426-661, 432-1062, 433-835, 442-858, 446-998, 461-737, 461-793, 473-789, 474-1137, 482-789, 483-744, 504-1106, 509-636, 513-660, 535-1100, 535-1165, 538-782, 542-1532, 557-1095, 563-1202, 583-828, 589-712, 592-867, 594-871, 599-841, 600-913, 601-789, 601-861, 601-883, 609-1235, 612-877, 618-1249, 624-1247, 633-766, 636-1238, 643-798, 658-723, 662-916, 664-916, 684-789, 704-1243, 711-1293, 720-1237, 721-1162, 726-1227, 740-1517, 747-1472, 748-1432, 774-1432, 778-1427, 782-1437, 783-1312, 787-1461, 788-1195, 791-1467, 813-1408, 821-1487, 827-1233, 838-1163, 844-1156, 844-1395, 850-1571, 855-1585, 856-1372, 857-1184, 863-1672, 888-1393, 894-1477, 897-1183, 904-1421, 910-1417, 913-1158, 913-1200, 926-1600, 950-1693, 959-1204, 959-1495, 962-1209, 976-1669, 986-1192, 988-1383, 988-1464, 994-1248, 1001-1228, 1001-1362, 1001-1508, 1001-1539, 1001-1554, 1001-1565, 1001-1596, 1001-1610, 1001-1616, 1002-1536, 1002-1678, 1005-1345, 1008-1621, 1010-1227, 1011-1617, 1012-1197, 1019-1286, 1022-1736, 1026-1575, 1029-1749, 1030-1310, 1030-1545, 1030-1553, 1039-1607, 1045-1497, 1045-1524, 1046-1630, 1047-1672, 1049-1290, 1058-1637, 1066-1561, 1066-1654, 1067-1193, 1068-1330, 1068-1608, 1070-1721, 1071-1923, 1072-1284, 1072-1713, 1076-1710, 1078-1728, 1079-1403, 1082-1645, 1084-1348, 1091-1346, 1091-1357, 1104-1656, 1104-1673, 1111-1616, 1116-1372, 1119-1399, 1121-1796, 1128-1384, 1128-1573, 1130-1518, 1132-1355, 1140-1423, 1153-1378, 1727-1823
40/3116578CB1/3025	1-389, 1-418, 28-658, 65-766, 82-808, 83-808, 100-517, 100-555, 100-651, 100-658, 100-690, 101-370, 131-604, 131-606, 146-539, 153-697, 169-627, 192-623, 192-625, 192-645, 192-662, 197-809, 200-809, 238-808, 258-1035, 284-863, 412-975, 417-931, 423-1112, 553-1142, 620-866, 685-900, 763-1278, 808-1342, 899-1496, 958-1268, 1083-1643, 1152-3025, 1162-1431, 1162-1644, 1162-1702, 1192-1671, 1195-1629, 1236-1868, 1268-1621, 1332-1540, 1408-1989, 1464-1970, 1469-1746, 1477-1977, 1485-2077, 1486-1709, 1486-1881, 1516-2019, 1523-2073, 1589-1882, 1673-2200, 1673-2315, 1689-2291, 1721-2331, 1731-2331, 1761-2121, 1773-1988, 1773-2026, 1776-2320, 1790-2329, 1822-2094, 1849-2479, 1913-2155, 1921-2391, 1940-2787, 2136-2912, 2436-3012
41/2797803CB1/1870	1-864, 126-391, 126-601, 150-402, 173-628, 264-834, 626-1062, 684-1448, 699-862, 803-1484, 943-1238, 954-1636, 961-1518, 1026-1730, 1035-1472, 1126-1395, 1133-1373, 1205-1870

【０４６２】

【表４－７】

表４－７

42/5433453CB1/2628	1-653, 38-580, 71-609, 86-1452, 88-288, 88-502, 120-775, 157-617, 157-620, 157-745, 158-695, 341-722, 428-1010, 491-1208, 773-1415, 1029-1570, 1145-1767, 1301-1703, 1321-1643, 1351-1725, 1381-1887, 1409-1844, 1417-2378, 1419-2272, 1484-1786, 1493-1740, 1529-1992, 1561-2061, 1571-1836, 1571-1890, 1686-2628, 1688-2628, 1890-2620, 1898-2628
43/6246071CB1/694	1-523, 13-694, 111-565, 191-568, 214-563, 298-694
44/7500557CB1/1359	1-863, 126-391, 126-601, 150-402, 173-628, 174-863, 174-1359, 242-703, 264-702, 264-834, 265-894, 304-722, 308-722, 317-825, 417-787, 450-744, 450-787, 450-820, 450-834, 450-897, 450-970, 451-897, 451-916, 451-969, 471-897, 478-742, 479-835, 516-897, 517-896, 517-897, 517-912, 517-916, 517-969, 517-970, 517-979, 518-897, 518-970, 521-1027, 532-897, 532-916, 532-970, 553-969, 560-1170, 699-862, 747-1344, 788-897, 788-1170, 917-1354
45/6978182CB1/1585	1-739, 1-1091, 31-733, 95-742, 134-742, 145-738, 145-742, 145-746, 146-745, 178-746, 442-1013, 550-940, 551-940, 574-940, 638-1039, 646-1118, 969-1584, 969-1585, 970-1585, 971-1504, 974-1585, 978-1585, 994-1584, 995-1585, 1091-1252
46/1985321CB1/1495	1-88, 1-263, 20-556, 33-719, 33-739, 37-271, 37-511, 37-517, 37-528, 37-554, 37-569, 37-575, 37-583, 37-588, 37-612, 37-625, 37-638, 37-642, 37-648, 37-649, 37-695, 37-704, 37-715, 37-727, 37-743, 37-755, 37-926, 41-787, 44-717, 69-870, 88-821, 91-611, 94-760, 109-735, 134-842, 153-246, 178-835, 192-930, 206-905, 229-493, 240-825, 255-785, 258-513, 258-927, 280-724, 287-1158, 288-905, 298-950, 417-1068, 428-1046, 445-1227, 450-1149, 456-892, 530-1335, 615-1157, 619-1163, 622-1491, 651-1167, 672-1383, 686-1302, 687-1248, 730-973, 743-1494, 757-1438, 781-1350, 846-1489, 852-1456, 863-1484, 863-1486, 870-1101, 936-1291, 973-1495, 988-1474, 997-1495, 1016-1420, 1016-1482, 1044-1482, 1180-1438, 1191-1495, 1214-1495, 1238-1495, 1243-1445

【０４６３】

【表５】

表5

ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte プロジェクト ID:	代表的ライブラリ
24	5771933CB1	OVARTUT01
25	70475510CB1	THP1AZS08
26	566361CB1	BRAHTDR04
27	71969340CB1	BRAIFER05
28	6772808CB1	BRAUNOR01
29	60137669CB1	KIDEUNE02
30	1987928CB1	LUNGNON07
31	7268131CB1	BRAXDIC01
32	7285339CB1	BONTNOT01
33	7495197CB1	BRAMNOT01
34	3954126CB1	BRAWTDR02
35	7499693CB1	KIDETXF05
36	2187465CB1	HIPOAZT01
37	3718011CB1	PLACFER01
38	7500509CB1	LUNGTUT08
39	7497865CB1	SPLNTUE01
40	3116578CB1	MIXDTME01
41	2797803CB1	NPOLNOT01
42	5433453CB1	BRSTTMC01
43	6246071CB1	TESTNOT17
44	7500557CB1	NPOLNOT01
45	6978182CB1	BRAHTDR03
46	1985321CB1	LUNGAST01

【０４６４】

表6－1

ライブラリ	ベクター	ライブラリの説明
BONTNOT01	pINCY	ライブラリは20才の白人男性の膝上切断を伴う片側骨盤切除術時に切除した脛骨骨膜から単離されたRNAを用いて作製した。随伴する腫瘍組織の病理は部分的壊死性および嚢胞性骨芽細胞グレード3の骨肉腫(化学療法後)を示した。家族歴には骨形成不完全症、閉鎖性骨折および、II型糖尿病が含まれる。
BRAHTDR03	PCDNA2.1	このランダムプライムしたライブラリは、胆管癌で死亡した55才白人女性から切除した旧皮質、前海馬組織から単離したRNAを用いて作製された。病理は、円蓋部全体に優勢な軽度の髄膜線維形成があり、帯状皮質白質および視床に軸索球状体が散在し、嗅内皮質および中脳水道灰白質領域に、少数の神経原繊維変化が散在した。随伴する腫瘍組織の病理は、残存腫瘍または再発性腫瘍を持つ高分化型の肝臓胆管癌を示した。患者の病歴には、胆管癌、術後バッド・キアーリ症候群、胆汁性腹水、水胸症、脱水症、栄養不良、乏尿、および急性腎不全がある。過去の手術には、胆嚢切除術および、肝臓の85％の摘除がある。
BRAHTDR04	PCDNA2.1	このランダムプライムされたライブラリは、胆管癌で死亡した55才白人女性から切除した旧皮質、前海馬組織から単離したRNAを用いて作製した。病理は、円蓋部全体に優勢な軽度の髄膜線維形成があり、帯状皮質白質および視床に軸索球状体が散在し、嗅内皮質および中脳水道灰白質領域に、少数の神経原繊維変化が散在した。随伴する腫瘍組織の病理は、残存腫瘍または再発性腫瘍を持つ高分化型の肝臓胆管癌を示した。患者の病歴には、胆管癌、術後バッド・キアーリ症候群、胆汁性腹水、水胸症、脱水症、栄養不良、乏尿、および急性腎不全がある。過去の手術には、胆嚢切除術および、肝臓の85％の摘除がある。
BRAIFER05	pINCY	ライブラリは妊娠23週目で死産の左心低形成症胎児(白人男子)から採取した脳組織から単離したRNAを用いて作製した。

【表６－２】

表６－２

BRAMNOT01 pINCY	ライブラリは、心不全で死亡した35才白人男性の脳から採取した髄質組織から単離されたRNAを用いて作製された。病理検査では、中程度の軟膜線維症と大脳新皮質の複数微小梗塞が見られた。顕微的に、大脳半球は、焦点石灰沈着を伴う、中程度の軟膜繊維症と判明した。大脳半球全体に、縮んだわずかに好酸性の錐体ニューロンの形跡があった。さらに、大脳皮質全体に散々して、周辺神経膠性を伴う複数の小さな空洞発生があった。当患者の病歴には、拡張型心筋症，鬱血性心不全、心肥大、及び肥大した脾臓と肝臓が含まれる。
BRAUNOR01 pINCY	このランダムプライムされたライブラリは、アテローム性動脈硬化症により胸部大動脈破裂と大動脈出血で死亡の81才白人女性から得た線条体，淡蒼球および被殻組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学検査では、双方の内部頚動脈に中程度のアテローム性動脈硬化，前頭皮質および海馬に微視的な梗塞，および散在広汎性のアミロイド斑，および神経原線維濃縮体変化が見られたが、これは年齢と矛盾しない。肉眼で見て、軟膜は上矢状静脈洞に沿った軽度の硝子質化と厚化が見られるのみであった。残りの軟膜は薄く、充血した血管がいくらか見られた。主に前頭極および前頭葉，及び側頭葉（双方）に軽度の萎縮が見られた。微視的には，アルツハイマータイプII星状細胞のペアが新皮質の深層にあった。中央前頭皮質の灰白質の奥深くのニューロンの周りでサテリトーシス（satellitosis）が増大していた。扁桃はまれなびまん性斑と神経原線維濃縮体を含んでいた。**後部海馬は反応性神経膠症に囲まれた，ヘモジデリン含有マクロファージを伴う微視的な嚢胞性の空洞化領域を含んでいた。** 患者の病歴は、敗血症、胆管炎，術後無気肺，肺炎冠動脈疾患（CAD），左心室肥大に起因する心肥大，巨脾症，細動脈性腎硬化，結節性コロイド甲状腺腫，気腫，鬱血心不全（CHF），甲状腺機能低下症および抹消血管疾患を含んでいた。

【０４６６】

表６－３

BRAWTDR02 PCDNA2.1	このランダムプライムしたライブラリは、胆管癌で死亡した55才白人女性から切除した歯状核組織から単離したRNAを用いて作製した。病理は、円蓋部全体に優勢な軽度の髄膜線維形成があり、帯状皮質白質および視床に軸索球状体が散在し、嗅内皮質および中脳水道灰白質領域に、少数の神経原繊維変化が散在した。随伴する腫瘍組織の病理は、残存腫瘍または再発性腫瘍を持つ高分化型の肝臓胆管癌を示した。患者の病歴には、胆管癌、術後バッド・キアーリ症候群、胆汁性腹水、水胸症、脱水症、栄養不良、乏尿、および急性腎不全がある。過去の手術には、胆嚢切除術および、肝臓の85％の摘除がある。
BRAXDIC01 pINCY	この大型分画ライブラリは２人のドナーからのcDNAのプールされたものを用いて作製した。cDNAは27才白人男子(ドナーA)の脳葉切除時に前頭葉左葉から摘出した罹患脳組織、および心不全で死亡した35才白人男子(ドナーB)の脳から摘出された上側頭皮質組織から単離されたmRNAを用いて作製された。病理学検査(A)では、顕著なグリーシス、石灰化、およびヘモジデリン含有マクロファージを特徴とする、限局性の深い白質での病変が見られ、これは遠隔周産期傷害(remote perinatal injury)と合致する。この組織はまた、主に軟膜下および皮質下に軽度から中度の全般性グリオーシスを示していて、これは慢性の発作疾患と合致する。近心側頭構造（mesial temporal structures）を含む左側頭葉は、海馬セクターCA1において限局性の顕著な錐体細胞の喪失とグリオーシスを示していたが、これは近心側頭硬化と合致する。グリア酸性線維素タンパク質は星状細胞において陽性であった。病理検査(B)では、中等度の軟膜線維症と大脳新皮質の複数微小梗塞が見られた。大脳半球全体に、縮んだわずかに好酸性の錐体ニューロンの形跡があった。 ドナーAは難治性てんかん、部分てんかん、半身不随および不特定性脳損傷を示した。患者の病歴(A)には、脳性麻痺、歩行異常、および抑鬱性障害が含まれていた。患者の病歴(B)には、拡張型心筋症、鬱血性心不全および心臓肥大が見られた。患者の使用薬剤は、(A)は、ミノサイクリンハイドロクロライド、テグレトール、フェノバルビタール、ペプシドおよびPevaryl、(B)はシメチコン、ラシックス、ジゴキシン、Colace、ザンタック、Captoprilおよびバゾテックであった。

表６－４

BRSTTMC01	pINCY	この大型分画ライブラリは４人の供与者からのプールされたｃDNAを用いて作製した。ｃDNAは40才白人女性(供与者A)の両側縮小乳房形成術時に切除した病変した乳房組織、および４６才白人女性(供与者B)の乳房復元を伴う片側性拡大単純乳房切除術時に摘出された乳房組織、５６才白人女性(供与者Ｃ)の乳房復元を伴う片側性拡大単純乳房切除術及び直視下乳房生検時に切除した乳房組織、および５７才白人女性(供与者Ｄ)の片側性拡大単純乳房切除術時に摘出された乳房組織から単離されたmRNAを用いて作製した。病理学検査では、両側性軽度繊維嚢胞性変化及び増殖性変化（Ａ）、深部筋膜は腫瘍について陰性（Ｂ）、非増殖性線維嚢胞性変化、良性脂肪で置換された乳房実質（Ｄ）を示した。一致する腫瘍組織(B)の病理はアポクリン特徴を有する侵襲度３の腺癌、管型を示した。一致する腫瘍組織（Ｃ）の病理は、侵襲度３の管内腺癌を示した。**対応する腫瘍組織(D)の病理は残留性微視的浸潤度3の腺管癌および拡張度(extensive grade)2の腺管内癌を示した。** .患者の病歴には、乳房肥大と純粋高コレステロール血症（Ａ）；乳癌（Ｂ）；慢性の気道閉塞と気腫（Ｃ）；良性高血圧症、高脂質血症、不整脈、良性の直腸腫瘍、孤立乳房嚢胞、不明な性質の乳房腫瘍がある。以前に受けた手術には、直視下乳房生検がある（Ｂ）．提供者Ｂの服用薬剤には、Cytoxan、Adriamycinがある。
HIPOAZT01	PSPORT1	**ライブラリはアルツハイマー病で死亡した74才の白人男性の脳から除去した罹患海馬組織から単離したRNAを用いて作製した。**
KIDETXF05	PCMV-ICIS	**ライブラリは腎臓上皮組織由来の処理された、形質転換胚性細胞株(293-EBNA)から単離したRNAを用いて作製した。この細胞は**5-アザ-2'-デオキシシチジン(5AZA)で72時間、Trichostatin Aで24時間処理して、アデノウイルス５DNAで形質転換した。
KIDEUNE02	pINCY	この5'に偏向したランダムプライム法で得たライブラリは、腎臓上皮組織に由来する、無処理の形質転換した胎児細胞株(293-EBNA)(Invitrogen)から単離したRNAを用いて作製した。これら細胞はアデノウイルス５DNAで形質転換した。
LUNGAST01	PSPORT1	ライブラリは、脳外傷で死亡した17才白人男子の肺組織から単離されたRNAを用いて作製された。患者の病歴には、喘息がある。

表6－5

LUNGNON07 pINCY	この標準化した肺組織ライブラリは、或る肺組織ライブラリの510万個の独立クローンから作製した。開始RNAの作製は、肺組織から単離したRNAから行った。このライブラリは、極めて長時間(48時間/1回)の再アニーリングによるハイブリダイゼーションを用いた他は、Soares 他, PNAS (1994) 91:9228-9232及びBonaldo 他, Genome Research (1996) 6:791を適用した条件を用いて2回にわたりノーマライズした。
LUNGTUT08 pINCY	ライブラリは、右上肺葉切除（光ファイバー気管支鏡検査を併行）時に63才白人男性から除去した肺腫瘍組織から単離されたRNAを用いて作製された。病理はグレード3の腺癌を示した。家族歴には、アテローム性冠動脈疾患、急性心筋梗塞、結腸癌、無症候性腹部大動脈瘤、タバコ濫用、および不整脈がある。家族歴には、鬱血性心不全、胃癌、肺癌、II型糖尿病、アテローム硬化型冠動脈疾患、および急性心筋梗塞がある。
MIXDTME01 PBK-CMV	この5'に偏ってランダムにプライムされたライブラリは5人のドナーのcDNAのプールされたものを用いて作製した。cDNAは、妊娠23週で早産死亡の白人男子胎児(ドナーA)から摘出した小腸組織、自動車事故で死亡の13歳白人女子(ドナーB)から摘除した大腸上皮組織、胆嚢切除および部分的副甲状腺切除時に58才白人女性(ドナーC)から摘出された罹患胆嚢、部分的胃切除時に68才白人女性(ドナーD)から摘出された胃組織、および片側性拡張型単純乳房切除術時に71才白人女性(ドナーE)から摘除された乳房皮膚から単離したmRNAを用いて作製した。ドナーCの病理は慢性胆嚢炎、および胆石症を示した。患者は腹部痛および良性副甲状腺腫瘍があった。患者の使用薬剤にはCapoten、Catapres、Norvasc、シンスロイド(Synthroid)およびXanaxが含まれる。ドナーDの病理は軽度の慢性胃炎を示す単純な胃組織を示した。使用薬剤にはPrilosec、zidoxin、Metamucil、カルシウムおよびビタミン類がある。 ドナーEは悪性乳房腫瘍および硬結を示した。患者の服用薬剤には、インスリン、アスピリンおよびベータカロテンが含まれる。
NPOLNOT01 pINCY	ライブラリは、鼻ポリープ切除中の78才白人男性から取り除かれた鼻ポリープ組織から単離されたRNAを用いて作製された。病理は鼻ポリープと著しい好酸球増加症を示した。患者の病歴には、喘息と鼻ポリープがある。

表６－６

OVARTUT01	PSPORT1	ライブラリは、卵管と卵巣を切除した43歳の白人女性から採取した卵巣腫瘍組織の分離RNAを使用して作製された。病理学検査では、左卵巣全体を含むグレード2のムチン性嚢胞腺癌が見られた。患者の病歴には、僧帽弁疾患、肺炎およびウィルス性肝炎があった。家族の病歴には、アテローム硬化性冠動脈疾病、膵臓癌、ストレス反応、脳血管疾患、乳癌および子宮癌が見られた。
PLACFER01	pINCY	ライブラリは胎児性死亡および水頭症で妊娠16週目に死亡した白人胎児から採取した胎盤組織から単離したRNAを用いて作製した。患者の病歴としては、頭(３回)および肩(1回)に臍帯が巻きついていた。血清学は抗CMVに陽性であった。家族歴には複数の妊娠、生児出産および妊娠中絶がある。
SPLNTUE01	PCDNA2.1	この5'に偏向してランダムプライムされたライブラリは28歳白人男性の脾臓全摘出術時に切除された脾臓腫瘍組織から単離したRNAを用いて作製した。病理は悪性リンパ腫、びまん性大細胞タイプ、Ｂ細胞表現型を示し、ほぼ４５個の小結節形成がある脾臓、肝臓および多数のリンパ節にわたって多くの反応性Ｔ細胞および著しい肉芽腫反応が示された。
TESTNOT17	pINCY	ライブラリは、自動車事故による頭部傷害で死亡した２６歳の白人男性の精巣組織から作製された。血清検査は陰性だった。患者の病歴には、誕生時のヘルニア、タバコの使用（１日１．５箱）、マリファナの使用および毎日のアルコール飲用（ビールと蒸留酒）があった。
THP1AZS08	PSPORT1	このサブトラクションしたTHP-1前単球細胞株ライブラリは、5-アザ-2'-デオキシシチジン(AZ)処理されたTHP-1細胞ライブラリから得た576万のクローンを用いて作製した。開始RNAは0.8ミクロモルのAZで３日間処理したTHP-1前単球細胞から作製した。ドナーは急性単球性白血病であった。サブトラクションハイブリダイゼーション用プローブは無処理THP-1細胞から単離したポリＡ RNA、１ミクログラムから作製し、同様にして作製したライブラリに由来する。AZ処理したTHP-1細胞ライブラリからの576万のクローンは次に、無処理THP-1細胞ライブラリからの500万のクローンとのサブトラクションハイブリダイゼーションに２回かけた。サブトラクションハイブリダイゼーションの条件はSwaroopら, NAR(1991)19:1954およびBonaldoらのGenome Research (1996)6:791の方法論に基づいた。

表７－１

プログラム	説明	参照文献	パラメータ閾値
ABI FACTURA	核酸配列においてベクター配列を除去して、あいまいな塩基をマスクするプログラム	Applied Biosystems, Foster City, CA.	
ABI/PARACEL FDF	Fast Data Finder。アミノ酸配列または核酸配列の比較および注釈付けに有用である。	Applied Biosystems, Foster City, CA. Paracel Inc., Pasadena, CA.	不一致<50%
ABI AutoAssembler	核酸配列をアセンブリするプログラム。	Applied Biosystems, Foster City, CA.	
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool。アミノ酸配列および核酸配列の配列類似性検索に有用である。BLASTにはblastp、blastn、blastx,、tblastnおよびtblastxの５つの機能がある。	Altschul, S.F. 他 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Altschul, S.F. 他 (1997) (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.	ESTs: 確率値=1.0E-8以下 完全長配列：確率値=1.0E-10 以下
FASTA	問合せ配列と同種の配列群との類似性を検索するPearson およびLipman アルゴリズム。FASTAには最少5つの機能(fasta、 tfasta、 fastx, tfastxおよびssearch)がある。	Pearson, W.R.及びD.J. Lipman (1988) Proc. Natl. Acad Sci.USA 85:2444-2448、Pearson, W.R. (1990) Methods Enzymol.183:63-98、Smith, T.F.及びM.S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489.	ESTs: fasta E 値=1.06E-6 アセンブリされたESTs: fasta 同一性= 95%以上 一致した長さ=200塩基以上 fastx E 値=1.0E-8 以下 *完全長配列:* fastx スコア=100以上
BLIMPS	配列をBLOCKS、PRINTS、DOMO、 PRODOMおよびPFAM データベースの配列と対応させて遺伝子ファミリー、配列相同性および構造的フィンガープリント領域を検索するBLocks IMProved Searcher。	Henikoff, S.及びJ.G. Henikoff (1991) Nucleic Acids Res.19:6565-6572、Henikoff, J.G.及びS. Henikoff (1996) Methods Enzymol.266:88-105、Attwood, T.K. 他.(1997) J. Chem. Inf. Comput. Sci. 37:417-424.	確率値= 1.0E-3以下
HMMER	PFAMのようなタンパク質ファミリーコンセンサス配列の隠れマルコフモデル(HMM)に基づいたデータベースに対して問合せ配列を検索するアルゴリズム。	Krogh, A. 他.(1994) J. Mol. Biol. 235:1501-1531; Sonnhammer, E.L.L. 他 (1988) Nucleic Acids Res. 26:320-322; Durbin, R. 他。(1998) Our World View, in a Nutshell, Cambridge Univ.Press, 1-350 ページ	PFAM ヒット: 確率値 = 1.0E-3 以下 *シグナル ペプチド ヒット:*スコア=0以上

表７－２

プログラム	説明	参照文献	パラメータ閾値
ProfileScan	Prositeで定義された配列パターンと一致するタンパク質配列内の構造的モチーフおよび配列モチーフを検索するアルゴリズム。	Gribskov, M. 他(1988) CABIOS 4:61-66、Gribskov, M. 他(1989) Methods Enzymol.183:146-159、Bairoch, A. 他.(1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221.	ノーマライズされた質スコア≧その特定のProsite モチーフに対するGCG指定「HIGH」値 通常、スコア=1.4～2.1.
Phred	高い感度と確率で自動配列決定機トレースを調べるベースコーリングアルゴリズム。	Ewing, B. 他(1998) Genome Res. 8:175-185、Ewing, B及びP. Green (1998) Genome Res. 8:186-194.	
Phrap	Smith-Waterman アルゴリズムの効率的なインプリメンテーションに基づくSWATやCrossMatchを含むPhils Revised Assembly プログラムで、配列相同性の検索やDNA配列のアセンブリに有用である。	Smith, T.F. 及び M.S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489; Smith, T.F. 及び M.S. Waterman (1981) J. Mol. Biol. 147:195-197; および Green, P., University of Washington, Seattle, WA.	スコア=120以上 一致した長さ=56以上
Consed	Phrapアセンブリの表示および編集用グラフィカルツール。	Gordon, D. 他(1998) Genome Res. 8:195-202.	
SPScan	タンパク質配列をスキャンして、分泌シグナルペプチドの存在を調べる重み行列解析プログラム。	Nielson, H. 他 (1997) Protein Engineering 10:1-6; Claverie, J.M. 及び S. Audic (1997) CABIOS 12:431-439.	スコア=3.5以上
TMAP	重み行列を用いて蛋白配列での膜貫通セグメントを描写し配向を決定するプログラム。	Persson, B. およびP. Argos (1994) J. Mol. Biol. 237:182-192; Persson, B. 及びP. Argos (1996) Protein Sci. 5:363-371.	
TMHMMER	隠れMarkov モデル(HMM) を使ってタンパク質配列上の膜貫通セグメントを描写し、配向を決定するプログラム。	Sonnhammer, E.L. 他(1998) Proc.Sixth Intl. Conf. on Intelligent Systems for Mol.,Biol., Glasgow 他, 編集, The Am. Assoc. for Artificial Intelligence Press, Menlo Park, CA, 175-182ページ	
74Motifs	Prositeで定義された配列と一致したパターンのアミノ酸配列を検索するプログラム。	Bairoch, A. 他(1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221; Wisconsin Package Program Manual, 第9版、M51-59ページ, Genetics Computer Group, Madison, WI	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.[7]	FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ 3/00	Ａ６１Ｐ 3/06		４Ｂ０６５
Ａ６１Ｐ 3/06	Ａ６１Ｐ 5/00		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｐ 5/00	Ａ６１Ｐ 9/00		４Ｃ０８５
Ａ６１Ｐ 9/00	Ａ６１Ｐ 13/12		４Ｈ０４５
Ａ６１Ｐ 13/12	Ａ６１Ｐ 21/00		
Ａ６１Ｐ 21/00	Ａ６１Ｐ 25/00		
Ａ６１Ｐ 25/00	Ａ６１Ｐ 29/00		
Ａ６１Ｐ 29/00	Ａ６１Ｐ 31/12		
Ａ６１Ｐ 31/12	Ａ６１Ｐ 35/00		
Ａ６１Ｐ 35/00	Ａ６１Ｐ 37/06		
Ａ６１Ｐ 37/06	Ｃ０７Ｋ 1/22		
Ｃ０７Ｋ 1/22	Ｃ０７Ｋ 14/705		
Ｃ０７Ｋ 14/705	Ｃ０７Ｋ 16/18		
Ｃ０７Ｋ 16/18	Ｃ０７Ｋ 16/28		
Ｃ０７Ｋ 16/28	Ｃ０７Ｋ 16/46		
Ｃ０７Ｋ 16/46	Ｃ１２Ｍ 1/00	Ａ	
Ｃ１２Ｍ 1/00	Ｃ１２Ｍ 1/34	Ｚ	
Ｃ１２Ｍ 1/34	Ｃ１２Ｎ 1/15		
Ｃ１２Ｎ 1/15	Ｃ１２Ｎ 1/19		
Ｃ１２Ｎ 1/19	Ｃ１２Ｎ 1/21		
Ｃ１２Ｎ 1/21	Ｃ１２Ｐ 21/02	Ｃ	
Ｃ１２Ｎ 5/10	Ｃ１２Ｑ 1/68	Ａ	
Ｃ１２Ｐ 21/02	Ｇ０１Ｎ 33/15	Ｚ	
Ｃ１２Ｑ 1/68	Ｇ０１Ｎ 33/50	Ｚ	
Ｇ０１Ｎ 33/15	Ｇ０１Ｎ 33/53	Ｄ	
Ｇ０１Ｎ 33/50	Ｇ０１Ｎ 33/53	Ｍ	
Ｇ０１Ｎ 33/53	Ｇ０１Ｎ 37/00	１０２	
Ｇ０１Ｎ 37/00	Ｃ１２Ｎ 15/00	Ｆ	
// Ｃ１２Ｐ 21/08	Ｃ１２Ｎ 5/00	Ａ	
	Ａ６１Ｋ 37/02		
	Ｃ１２Ｐ 21/08		

(31)優先権主張番号 60/311,476
(32)優先日 平成13年8月10日(2001.8.10)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/311,718
(32)優先日 平成13年8月10日(2001.8.10)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/311,551
(32)優先日 平成13年8月10日(2001.8.10)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/314,798
(32)優先日 平成13年8月24日(2001.8.24)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/316,639
(32)優先日 平成13年8月31日(2001.8.31)
(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/317,996
(32)優先日 平成13年9月7日(2001.9.7)
(33)優先権主張国 米国(US)

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

(72)発明者 ホンチェル、シンシア・ディー
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４０７０・サンカルロス・ローレルストリート １５８
(72)発明者 フォーサイス、イアン・ジェイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４０６１・レッドウッドシティ・ローブルアベニュー ３０８
(72)発明者 チョーラ、ナリンダー・ケイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４５８７・ユニオンシティ・＃７１２・ユニオンスクエア ３３
(72)発明者 タング、トム・ワイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５１１８・サンノゼ・ランウィックコート ４２３０
(72)発明者 ボロースキー、マーク・エル
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４０６１・レッドウッドシティ・オーチャードアベニュー １２２
(72)発明者 バロッソ、イネス
イギリス国シービー１ １イーエル・ケンブリッジ・エデンストリート ３８
(72)発明者 ユエ、ヘンリー
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４０８７・サニーベイル・ルイスアベニュー ８２６
(72)発明者 ワレン、ブリジット・エイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４０２４・ロスアルトス・＃２・ホームステッドコート ２２５０
(72)発明者 サンガベル、カビサ
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４０４３・マウンテンビュー・＃２３・モンテシトアベニュー １９５０
(72)発明者 ギーツェン、キンバリー・ジェイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５１２３・サンノゼ・ロスウエコスドライブ ６９１
(72)発明者 アジムザイ、ヤルダ
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４５５２・カストロバレー・ボールダーキャニオンドライブ ５５１８
(72)発明者 リー、アーンスティーン・エイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４５５２・カストロバレー・クロウクリークロード ２０５２３
(72)発明者 ボーグン、マライア・アール
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４５７７・サンレアンドロ・サンティアゴロード １４２４４
(72)発明者 ゴーバッド、アン・イー
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４５５０・リバモア・マリーコモン ３６９
(72)発明者 ダガン、ブレンダン・エム
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４０８６・サニーベイル・＃３０６・ブエナビスタアベニュー ２４３
(72)発明者 トラン、バオ
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５０５１・サンタクララ・サルバーグアベニュー ７５０
(72)発明者 リー、ジョアナ・エックス

アメリカ合衆国カリフォルニア州９４１１２・サンフランシスコ・ジュネーブアベニュー　１２６４
(72)発明者　リチャードソン、トマス・ダブリュ
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４０６２・レッドウッドシティ・＃１０７・キャニオンロード　６１６
(72)発明者　エリオット、ビッキー・エス
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５１２１・サンノゼ・ポルトンプレイスウェイ　３７７０
(72)発明者　ゼバージャディアン、イェガネー
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４１２７・サンフランシスコ・ジュニペロセラブールバード　８３０
(72)発明者　トラン、ユエン・ケイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５１３３・サンノゼ・メイブリースクエア　２６３８
(72)発明者　ヤオ、モニーク・ジー
アメリカ合衆国インディアナ州４６０３３・カーメル・ウッドゲートドライブ　１１８９
(72)発明者　ピーターソン、デイビッド・ピー
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５１２６・サンノゼ・チェリーアベニュー　９７０
(72)発明者　ルオ、ウェン
アメリカ合衆国カリフォルニア州９２１３０・サンディエゴ・ルエットドメール　５００３
(72)発明者　レーアーメイソン、パトリシア・エム
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５０１４・モーガンヒル・クラークレーン　３６０

Ｆターム(参考) 2G045 AA40 BB03 BB20 CB01 DA12 DA13 DA14 DA36 FB02 FB03
FB15
4B024 AA01 AA11 AA19 BA63 CA04 CA05 CA06 CA07 CA09 CA10
CA11 DA02 DA06 EA02 EA04 FA02 FA10 GA05 GA11 GA18
GA19 HA03 HA08 HA12 HA14 HA19
4B029 AA07 AA21 AA23 BB20 CC03 CC08 FA12
4B063 QA01 QA18 QA19 QA20 QQ20 QQ42 QQ53 QR08 QR32 QR42
QR55 QR62 QR63 QR66 QR82 QS12 QS16 QS25 QS34 QS36
QS39 QX02
4B064 AG20 AG27 CA02 CA10 CA19 CA20 CC24 CE12 DA01 DA13
4B065 AA26X AA90X AA93Y AB01 AC14 BA02 BA24 CA24 CA44 CA46
4C084 AA02 AA17 DC50 NA14 ZA011 ZA361 ZA661 ZA811 ZA941 ZB081
ZB111 ZB261 ZB331 ZC031 ZC211 ZC331
4C085 KA01 KA05 KA26 LL03 LL05 LL07 LL09 LL13 LL15 LL18
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 AA40 BA10 BA41 CA40 DA50 DA75
DA76 DA86 EA20 EA50 EA61 FA72 FA74 GA26

专利名称(译)	受体和膜结合蛋白		
公开(公告)号	JP2005508631A	公开(公告)日	2005-04-07
申请号	JP2003530800	申请日	2002-07-16
[标]申请(专利权)人(译)	洞察Genomics公司		
申请(专利权)人(译)	洞察基因组公司		
[标]发明人	ラルプリーティジー ホンチェルシンシアディー フォーサイスイアンジェイ チョーラナリンダーケイ タングトムワイ ボロースキーマークエル バロッソイネス ユエヘンリー ワレンブリジットエイ サンガベルカビサ ギーツェンキンバリージェイ アジムザイヤルダ リーアーンスティーンエイ ボーグンマライアアール ゴーバッドアンイー ダガンブレンダンエム トランバオ リージョアナエックス リチャードソントマスダブリュ エリオットビッキーエス ゼバージャディアンイェガネー トランユエンケイ ヤオモニークジー ピーターソンデイビッドピー ルオウェン レーアメイソンパトリシアエム		
发明人	ラル、プリーティ·ジー ホンチェル、シンシア·ディー フォーサイス、イアン·ジェイ チョーラ、ナリンダー·ケイ タング、トム·ワイ ボロースキー、マーク·エル バロッソ、イネス ユエ、ヘンリー ワレン、ブリジット·エイ サンガベル、カビサ ギーツェン、キンバリー·ジェイ アジムザイ、ヤルダ リー、アーンスティーン·エイ ボーグン、マライア·アール ゴーバッド、アン·イー ダガン、ブレンダン·エム トラン、バオ リー、ジョアナ·エックス		

	リチャードソン、トマス·ダブリュ エリオット、ビッキー·エス ゼバージャディアン、イェガネー トラン、ユエン·ケイ ヤオ、モニーク·ジー ピーターソン、デイビッド·ピー ルオ、ウェン レーア-メイソン、パトリシア·エム
IPC分类号	G01N33/50 A01K67/00 A01N37/00 A61K38/00 A61K38/17 A61K39/00 A61K39/395 A61K45/00 A61K49/00 A61P1/00 A61P3/00 A61P3/06 A61P5/00 A61P9/00 A61P13/12 A61P21/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/12 A61P35/00 A61P37/06 C07H21/04 C07K1/22 C07K14/00 C07K14/705 C07K16/18 C07K16/28 C07K16/46 C12M1/00 C12M1/34 C12N C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1/68 G01N15/00 G01N33/15 G01N33/53 G01N37/00
CPC分类号	A61P1/00 A61P3/00 A61P3/06 A61P5/00 A61P9/00 A61P13/12 A61P21/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/12 A61P35/00 A61P37/06 C07K14/705
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K45/00 A61K49/00.Z A61P1/00 A61P3/00 A61P3/06 A61P5/00 A61P9/00 A61P13/12 A61P21/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/12 A61P35/00 A61P37/06 C07K1/22 C07K14/705 C07K16/18 C07K16/28 C07K16/46 C12M1/00.A C12M1/34.Z C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N37/00.102 C12N15/00.F C12N5/00.A A61K37/02 C12P21/08
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/BB03 2G045/BB20 2G045/CB01 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB15 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/AA19 4B024/BA63 4B024/CA04 4B024/CA05 4B024/CA06 4B024/CA07 4B024/CA09 4B024/CA10 4B024/CA11 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/EA02 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024/FA10 4B024/GA05 4B024/GA11 4B024/GA18 4B024/GA19 4B024/HA03 4B024/HA08 4B024/HA12 4B024/HA14 4B024/HA19 4B029/AA07 4B029/AA21 4B029/AA23 4B029/BB20 4B029/CC03 4B029/CC08 4B029/FA12 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QA20 4B063/QQ20 4B063/QQ42 4B063/QQ53 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR42 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR63 4B063/QR66 4B063/QR82 4B063/QS12 4B063/QS16 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QS39 4B063/QX02 4B064/AG20 4B064/AG27 4B064/CA02 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/CE12 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA26X 4B065/AA90X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/BA24 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA17 4C084/DC50 4C084/NA14 4C084/ZA011 4C084/ZA361 4C084/ZA661 4C084/ZA811 4C084/ZA941 4C084/ZB081 4C084/ZB111 4C084/ZB261 4C084/ZB331 4C084/ZC031 4C084/ZC211 4C084/ZC331 4C085/KA01 4C085/KA05 4C085/KA26 4C085/LL03 4C085/LL05 4C085/LL07 4C085/LL09 4C085/LL13 4C085/LL15 4C085/LL18 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/AA40 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/EA61 4H045/FA72 4H045/FA74 4H045/GA26
优先权	60/306020 2001-07-17 US 60/308179 2001-07-27 US 60/309702 2001-08-02 US 60/311476 2001-08-10 US 60/311718 2001-08-10 US 60/311551 2001-08-10 US 60/314798 2001-08-24 US 60/316639 2001-08-31 US 60/317996 2001-09-07 US
外部链接	Espacenet

摘要(译)

本发明的各种实施方案提供了鉴定和编码REMAP的人受体和膜相关蛋白（REMAP）以及多核苷酸。 本发明的实施方案还提供表达载体，宿主细胞，抗体，激动剂和拮抗剂。 其他实施方案提供了用于诊断，治疗或预防与REMAP异常表达有关的疾病的方法。

Incyte プロジェクト ID	ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリペプチド ID	ポリペプチド SEQ ID NO:	Incyte ポリヌクレオチド ID	Incyte 完全長
5771933	1	5771933CD1	24	5771933CB1	90215359CA2
70475510	2	70475510CD1	25	70475510CB1	
566361	3	566361CD1	26	566361CB1	
71969340	4	71969340CD1	27	71969340CB1	
6772808	5	6772808CD1	28	6772808CB1	
60137669	6	60137669CD1	29	60137669CB1	90110422CA2
1987928	7	1987928CD1	30	1987928CB1	90110123CA2, 90110131CA2, 90110139CA2, 90110147CA2
7268131	8	7268131CD1	31	7268131CB1	90108068CA2
7285339	9	7285339CD1	32	7285339CB1	
7495197	10	7495197CD1	33	7495197CB1	
3954126	11	3954126CD1	34	3954126CB1	
7499693	12	7499693CD1	35	7499693CB1	
2187465	13	2187465CD1	36	2187465CB1	
3718011	14	3718011CD1	37	3718011CB1	
7500509	15	7500509CD1	38	7500509CB1	90175928CA2
7497865	16	7497865CD1	39	7497865CB1	90197602CA2
3116578	17	3116578CD1	40	3116578CB1	
2797803	18	2797803CD1	41	2797803CB1	
5433453	19	5433453CD1	42	5433453CB1	2600495CA2, 3533193CA2
6246071	20	6246071CD1	43	6246071CB1	6246071CA2
7500557	21	7500557CD1	44	7500557CB1	
6978182	22	6978182CD1	45	6978182CB1	90111161CA2
1985321	23	1985321CD1	46	1985321CB1	