

(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2004-531238**(P2004-531238A)**

(43) 公表日 平成16年10月14日(2004.10.14)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	A 4 B O 2 4
A O 1 K 67/027	A O 1 K 67/027	4 B O 6 3
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 39/395	D 4 B O 6 4
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395	N 4 B O 6 5
A 6 1 K 48/00	A 6 1 K 48/00	4 C O 8 4
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 70 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2002-567980 (P2002-567980)	(71) 出願人	502210552
(86) (22) 出願日	平成14年2月26日 (2002.2.26)		ファーマ パシフィック プロプライエタリー リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成15年8月25日 (2003.8.25)		オーストラリア国、ビクトリア、レイバートン ノース、パイプ ロード 103-105
(86) 国際出願番号	PCT/GB2002/000830		
(87) 国際公開番号	W02002/068470	(74) 代理人	100066692
(87) 国際公開日	平成14年9月6日 (2002.9.6)		弁理士 浅村 皓
(31) 優先権主張番号	0104706.7	(74) 代理人	100072040
(32) 優先日	平成13年2月26日 (2001.2.26)		弁理士 浅村 肇
(33) 優先権主張国	英国 (GB)	(74) 代理人	100088926
(31) 優先権主張番号	0200619.5		弁理士 長沼 暉夫
(32) 優先日	平成14年1月11日 (2002.1.11)	(74) 代理人	100102897
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		弁理士 池田 幸弘
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 インターフェロン-α誘導遺伝子

(57) 【要約】

本発明はインターフェロン-α投与により上方調節され、SEQ.ID.No.1及びSEQ.ID.No.3で記述されるcDNA配列に対応する遺伝子に関するものである。この遺伝子の発現生成物の測定は1型インターフェロン受容体に作用するインターフェロン-α及びその他のインターフェロンによる治療に対する反応性を予測するのに有用であると提案されている。同遺伝子によりコードされているタンパクを治療に使用することも企画されている。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(i) SEQ ID NO:2または SEQ ID NO:4のアミノ酸配列；
(ii) 免疫調節作用及び/または抗ウイルス作用及び/または抗腫瘍作用から選択された実質的に同じ機能を持つその変異体；または
(iii) 免疫調節作用及び/または抗ウイルス作用及び/または抗腫瘍作用から選択された実質的に同じ機能を保持している(i)または(ii)のフラグメント、
を含む単離ポリペプチド。

【請求項 2】

該ポリペプチド及び/または天然に存在するその変異体に対する特異的抗体を作るためのS 10
SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:4に記述されるアミノ酸配列によって規定されるポリペプチ
ドの変異体またはフラグメント。

【請求項 3】

請求項1または2に記載されたポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【請求項 4】

cDNAである請求項3に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 5】

ポリヌクレオチドが：

(a) SEQ ID NO:1または SEQ ID NO:3の核酸配列またはそのコード配列及び/またはそ
れに相補的配列； 20

(b) (a)に規定した配列にハイブリッド形成する配列；

(c) (a)及び(b)に規定した配列に対する遺伝子コードの結果として縮重している
配列；

(d) (a)、(b)及び(c)に規定した配列に対して少なくとも60%相同性を有する配
列、
を含む請求項1に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【請求項 6】

請求項1または2に記載のポリペプチドを発現することができる請求項3から5のいずれか一
つに記載のポリヌクレオチド配列を含む発現ベクター。

【請求項 7】

請求項6に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。 30

【請求項 8】

請求項1または2に記載のポリペプチドに特異的な抗体。

【請求項 9】

請求項1に記載のポリペプチドのインピボにおける発現を指令する単離ポリヌクレオチド
。

【請求項 10】

ヒトまたは非ヒト動物の治療処置に使用するための請求項1に記載のポリペプチドまたは
請求項9に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 11】

請求項1に記載のポリペプチドまたは請求項9に記載のポリヌクレオチド及び医薬として許
容し得る担体または希釈剤を含む医薬組成物。 40

【請求項 12】

抗ウイルス、抗腫瘍または免疫調節薬として治療に使用する薬剤の調製に請求項1に記載
のポリペプチドまたは請求項9に記載のポリヌクレオチドの使用。

【請求項 13】

請求項1に記載のポリペプチドまたは請求項9に記載のポリヌクレオチドの有効量を該患者
に投与することからなる1型インターフェロンで治療し得る疾患を持つ患者の治療方法。

【請求項 14】

ポリペプチドの発現に適した条件下に請求項7に記載の宿主細胞を培養しそして該ポリペ 50

プチドを単離することからなる請求項1または2に記載のポリペプチド製造方法。

【請求項15】

SEQ.ID.No.2またはSEQ.ID.No.4のポリペプチドまたはその天然に存在する変異体を発現することができる細胞を用意し、該細胞を被検化合物とインキュベートしそして該ポリペプチドまたは変異体をコードする遺伝子の上方調節を監視することからなる免疫調節作用及び/または抗ウイルス作用及び/または抗腫瘍作用を有する化合物の同定方法。

【請求項16】

ヒトまたは非ヒト動物の治療処置に使用するためのSEQ.ID.No.2またはSEQ.ID.No.4によって規定されるアミノ酸配列のコード配列または該コード配列の天然に存在する変異体に対するアンチセンス配列をインビボにおいて発現することができるポリヌクレオチド。

10

【請求項17】

治療的処置に使用するための請求項8に記載の抗体。

【請求項18】

請求項4に記載のcDNA内の配列を標的とする核酸増幅のためのプライマーのセット。

【請求項19】

請求項3から5のいずれか一つに記載のポリヌクレオチドから誘導した核酸プローブ。

【請求項20】

固体支持体に接着した請求項19に記載のプローブ。

【請求項21】

該検体を1型インターフェロンの投与後に該患者から得るかまたは該測定の前に1型インターフェロンでインビトロ処理して、該患者の細胞検体におけるSEQ.ID.No.2またはSEQ.ID.No.4に記述されているアミノ酸配列により規定されるタンパクまたはその天然に存在する変異体、または対応するmRNAのレベルを測定することからなる1型インターフェロンによる治療に対する患者の反応性を予測する方法。

20

【請求項22】

該検体を得る前に投与するかまたは該検体をインビトロで処理するために使用するインターフェロンが該患者の治療に提案しているインターフェロンである請求項21に記載の方法。

【請求項23】

患者の血液検体から単離した末梢血単核細胞を含む検体を1型インターフェロンでインビトロ処理する請求項21または請求項22に記載の方法。

30

【請求項24】

該測定がSEQ.ID.No.2またはSEQ.ID.No.4に記述されているアミノ酸配列により規定されるタンパクまたは該タンパクの天然に存在する変異体をコードするmRNAのレベルを測定することからなる請求項21から23のいずれか一つに記載の方法。

【請求項25】

請求項1に記載のポリペプチドを発現することができる非ヒト遺伝子導入動物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

40

本発明は、インターフェロン- α (INF- α) 投与により上方調節される遺伝子の同定に関するものであり、そのコード配列は以前は不明と考えられていた。この遺伝子の発現生成物の検出は、INF- α 及び1型インターフェロン受容体に作用するその他のインターフェロンに対する反応性を予測するために使用することができる。この遺伝子によりコードされる新規の単離タンパクを治療に使用することも企画されている。

【背景技術】

【0002】

INF- α は多くの病気の治療に広く使用されている。INF- α を使用して治療し得る病気には、白血病、リンパ腫、及び固形腫瘍、AIDS-随伴カポジ肉腫のような新生物疾患及び慢性肝炎のようなウイルス感染が含まれる。またINF- α は、自己免疫、マイコバクテリア、神

50

経変性、寄生虫及びウイルスなどによる病気の治療に経口腔粘膜投与が提案されてきた。特に、IFN- α は、例えば、多発性硬化症、癩、結核、脳炎、マラリア、頸癌、性器ヘルペス、B型及びC型肝炎、HIV、HPV及びHSV-1及び2の治療に推奨されてきた。また関節炎、狼瘡及び糖尿病の治療も示されている。新生物疾患、例えば多発性骨髄腫、有毛細胞白血病、慢性骨髄性白血病、低度リンパ腫、皮膚T-細胞リンパ腫、類癌腫瘍、頸癌、カポジ肉腫を含む肉腫、腎腫瘍、腎細胞癌を含む癌腫、肝細胞癌、鼻咽頭癌、血液癌、結腸・直腸癌、グリオブラストーマ、喉頭乳頭腫、肺癌、結腸癌、悪性黒色腫及び脳腫瘍、もまた経口腔粘膜、すなわち経口または経鼻、によるIFN- α の投与により治療し得ることが示されている。

【0003】

10

IFN- α は1型インターフェロンファミリーの1員であり、1型インターフェロン受容体と相互作用することによりその特異的生物活性を発現する。その他の1型インターフェロンとしてはIFN- β 、IFN- ω 及びIFN- τ がある。

【0004】

残念ながら、インターフェロン- α のような1型インターフェロンの潜在的治療対照である患者、例えば、慢性ウイルス性肝炎、新生物疾患及び再発多発性硬化症、が全て1型インターフェロンの治療に良好に反応することではなく、反応して長期の有用性を示すのは一部に過ぎない。医師が1型インターフェロンによる治療結果に信頼を置けないために、高価な生物製剤の浪費及び治療時間の喪失という点のみならず深刻な副作用に患者を曝すという点においても、この治療の費用-効用比に関して重大な問題が生じる。さらに、IFN- α の異常生産は多数の自己免疫疾患に関連することが示されている。このような理由から、1型インターフェロンは多数の遺伝子の発現を調節することによりその治療作用を発生しているので、1型インターフェロンが作用する遺伝子を同定することに非常に関心がある。事実、患者が治療に良好に反応するか否かを決定する、1型インターフェロンに誘導される遺伝子発現のパターンが存在する。

20

発明の要約

【0005】

経口腔粘膜または腹腔内投与したIFN- α により上方調節されたマウス遺伝子に対応するヒト遺伝子cDNAが今同定され、そして新規DNAであると考えられる。またこの対応ヒト遺伝子を今IFN- α 上方調節遺伝子と命名する。

30

【0006】

その遺伝子によってコードされるタンパクを以降HuIFRG 68.1タンパクと呼ぶ。このタンパク及びその機能的変異体は現在治療薬、特に抗ウイルス薬、抗腫瘍薬または免疫調節薬として使用することが企画されている。例えば、自己免疫、マイコバクテリア、神経変性、寄生虫またはウイルス性疾患、関節炎、糖尿病、狼瘡、多発性硬化症、癩、結核、脳炎、マラリア、頸癌、性器ヘルペス、B型またはC型肝炎、HIV、HPV及びHSV-1及び2、または新生物疾患、例えば多発性骨髄腫、有毛細胞白血病、慢性骨髄性白血病、低度リンパ腫、皮膚T-細胞リンパ腫、類癌腫瘍、頸癌、カポジ肉腫を含む肉腫、腎腫瘍、腎細胞癌を含む癌腫、肝細胞癌、鼻咽頭癌、血液癌、結腸・直腸癌、グリオブラストーマ、喉頭乳頭腫、肺癌、結腸癌、悪性黒色腫及び脳腫瘍、の治療に使用することができる。言い換えると、そのタンパクは1型インターフェロンで治療し得る疾患の治療に使用することができる。

40

【0007】

1型インターフェロンで治療された患者、例えばIFN- α を、例えば経口腔粘膜または静脈内投与により投与された患者、の細胞検体中の、HuIFRG 68.1タンパクまたは天然に存在するその変異体、または対応するmRNAのレベルを測定することはその治療に対する反応性を予測するのに使用できるであろう。さらに、それとは別に、より望ましくは、例えばヒト末梢血単核細胞の検体を1型インターフェロンでインビトロ処理し、そしてHuIFRG 68.1遺伝子に対応する発現生成物、望ましくはmRNA、の上方調節または下方調節を調べることによりその反応性を判断できることが判明した。

【0008】

50

本発明の第一の態様によると、以下を含む単離ポリペプチドが提供される；

- (i) SEQ ID NO:2のアミノ酸配列；
- (ii) 実質的に同じ機能、例えば、免疫調節活性及び/または抗ウイルス活性及び/または抗腫瘍活性を有するその変異体；または
- (iii) 実質的に同じ機能、例えば、免疫調節活性及び/または抗ウイルス活性及び/または抗腫瘍活性を保持する (i) または (ii) のフラグメント。

【0009】

本発明の最初の態様の望ましい態様において、その単離ポリペプチドは以下を含む；

- (i) SEQ ID NO:4のアミノ酸配列；
- (ii) 実質的に同じ機能を持つその変異体；または
- (iii) 実質的に同じ機能を持つ (i) または (ii) のフラグメント。

10

本発明はまたヒトまたは非ヒト動物の治療処置に使用するための、特に抗ウイルス、抗腫瘍または免疫調節薬として使用するためのそのようなタンパクを提供する。上述のように、その使用は1型インターフェロンで治療し得る疾患に拡張することができる。

【0010】

本発明のその他の態様により、上記に定義した本発明のポリペプチドをコードしている単離ポリヌクレオチドまたはその相補体が供給される。そのポリヌクレオチドは典型的に下記からなる配列を含んでいる；

- (a) SEQ ID No.1の核酸またはそのコード配列及び/またはその相補的配列；
- (b) (a)に定義した配列の相補的配列に、例えば厳密な条件の下に、ハイブリッド形成する配列；
- (c) (a) または (b) に定義した配列に対する遺伝子コードの結果として縮重している配列；
- (d) (a), (b) または (c) に定義した配列と少なくとも60%の相同性を持つ配列。

20

【0011】

望ましい態様において、そのポリヌクレオチドは以下を含む配列を含むであろう；

- (a) SEQ ID NO:3の核酸またはそのコード配列及び/またはその相補的配列；
- (b) (a)に定義した配列に相補的な配列に、例えば厳密な条件下に、ハイブリダイズする配列；
- (c) (a) または (b) に定義した配列に対する遺伝子コードの結果として縮重している配列；
- (d) (a), (b) または (c) に定義した配列と少なくとも60%の相同性を持つ配列。

30

【0012】

本発明はまた以下を供給する；

- 本発明のポリヌクレオチドを含み、本発明のポリペプチドを発現することができる発現ベクター；
- 本発明の発現ベクターを含む宿主細胞；
- 本発明のポリペプチドに特異的な抗体；
- HuIFRG 68.1タンパクまたはその機能的変異体の有効量を該患者に投与することを含む、1型インターフェロンで治療し得る病気の患者を治療する方法；
- 抗ウイルスまたは抗腫瘍または免疫調節剤、特に1型インターフェロンで治療し得る病気の治療に使用する医薬品の製造にそのペプチドの使用；
- 本発明のポリペプチド及び医薬として受容し得る担体または希釈剤からなる医薬組成物；
- ポリペプチドを発現させるのに適した条件下に本発明の宿主細胞を維持し、そして該ポリペプチドを単離することからなる、本発明のポリペプチドを製造する方法；
- 例えば、ヒトまたは非ヒト動物の治療処置、特に抗ウイルス薬、抗腫瘍剤または免疫調節剤として使用するために上記のポリペプチドをインビボにおける発現を指令する発現ベクターの形の本発明のポリヌクレオチド；
- そのポリヌクレオチド及び医薬として受容し得る担体または希釈剤からなる医薬組成

40

50

物；

- そのポリヌクレオチドの有効量を該患者に投与することからなる、1型インターフェロンで治療し得る病気の患者の治療方法；

- 抗ウイルスまたは抗腫瘍または免疫調節剤、特に1型インターフェロンで治療し得る病気の治療に使用する医薬品、例えばベクター製剤、の製造にそのポリヌクレオチドの使用；及び

- HuIFRG 68.1タンパクまたは天然に存在するその変異体を発現し得る細胞を供給し、該細胞を被検化合物とインキュベートし、HuIFRG 68.1遺伝子発現の上方調節を監視することからなる、免疫調節作用及び/または抗ウイルス作用及び/または抗腫瘍作用を有する化合物の同定方法。

10

【0013】

さらにその他の態様において、本発明は、1型インターフェロン、例えばIFN- α 、を経口腔粘膜または静脈内投与した該患者から得たかまたは該測定の前にIFN- α のような1型インターフェロンでインビトロ処理した患者の細胞検体中の、例えば血液検体中の、HuIFRG 68.1タンパクまたは天然に存在するその変異体、例えば対立変異体、または対応するmRNAの濃度を測定することからなる、1型インターフェロンによる治療、例えばIFN- α 治療（例えば経口腔粘膜または非経口、例えば静脈内、皮下、または筋肉内投与によるIFN- α ）に対する患者の反応性を予測する方法を提供する。本発明はその試験を行なうためのキットにも及ぶ。

配列の簡単な説明

20

【0014】

SEQ.ID.No.1はヒトタンパクHuIFRG 68.1のアミノ酸配列及びそれをコードするcDNAである。

【0015】

SEQ.ID.No.2はHuIFRG 68.1タンパクのアミノ酸配列のみである。

【0016】

SEQ.ID.No.3はHuIFRG 68.1タンパクのアミノ末端を延長した変異体のアミノ酸配列及びそのコード配列である。

【0017】

SEQ.ID.No.4はHuIFRG 68.1タンパクのアミノ末端を延長した変異体のアミノ酸配列のみである。

30

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0018】

上記に示したように、ヒトタンパクHuIFRG 68.1及びその機能的変異体は治療上有用な薬物、より特異的には抗ウイルス薬、抗腫瘍薬または免疫調節薬に使用することが今企画されている。

【0019】

この目的のヒトタンパクHuIFRG 68.1の変異体は天然に存在する変異体、対立変異体または種変異体であり、これらはヒトタンパクHuIFRG 68.1と本質的に同じ機能活性を有しており、またINF- α の投与に反応して上方調節される。その他に、治療用のヒトタンパクHuIFRG 68.1の変異体はSEQ.ID.No.2または非天然突然変異体であるSEQ.ID.No.4から変化した配列を持つことがある。

40

【0020】

用語「機能的変異体」とは、HuIFRG 68.1タンパクと同じ本質的性質または基本的機能を有するポリペプチドのことである。HuIFRG 68.1タンパクの本質的性質は免疫調節ペプチドと見なすことができる。機能的変異体ポリペプチドはさらにまたはその他に抗ウイルス作用及び/または抗腫瘍作用を示すことがある。

【0021】

望ましい抗ウイルス作用は、例えば、次のように試験あるいは監視することができる。試

50

験する変異体をコードする配列を、ウイルスパッケージシグナル中及び薬剤耐性マーカを含むモロニーネズミ白血病ウイルス (MoMuLV) のようなレトロウイルスベクター中にクローニングする。ウイルスgag及びpol遺伝子を含む汎親和性パッケージ細胞系に組換えレトロウイルスベクター及び高力価感染性複製が不可能なウイルスを作るために水疱性口内炎ウイルスのエンベロープグリコタンパクを含むプラスミド、pVSV-Gと共に遺伝子導入する (Burns et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 5232-5236)。感染性組換えウイルスを次いでインターフェロン感受性繊維芽細胞またはリンパ芽球細胞に遺伝子導入するために使用し、そして変異タンパクを安定して発現する細胞を選別して、そして標準的インターフェロン生物検定 (Tovey et al., Nature, 271, 622-625, 1978) においてウイルス感染抵抗性を試験する。標準的増殖検定 (Mosmann, T., J. Immunol. Methods, 65, 55-63, 1983) を使用した増殖抑制及び標準的技術を使用したMHCクラスI及びクラスII抗原の発現を測定する。

10

【0022】

HuIFG 68.1の望ましい機能的変異体は本質的にはSEQ.ID.No.2またはSEQ.ID. No.4から構成される。SEQ.ID.No.2またはSEQ.ID.No.4の機能的変異体は、SEQ.ID. No.2またはSEQ.ID. No.4の少なくとも20、望ましくは少なくとも30、例えば少なくとも100連続アミノ酸または全長に亘って、SEQ.ID.No.2またはSEQ.ID.No.4のアミノ酸配列と少なくとも60%から70%相同、望ましくは少なくとも80%または少なくとも90%そして特に望ましいのは少なくとも95%、少なくとも97%または少なくとも99%相同であるポリペプチドである。タンパク相同性の測定方法は既知技術である。

20

【0023】

アミノ酸置換は、例えば、1、2、または3から10、20または30置換を行なうことができる。保存的置換も、例えば次ぎの表に従って行なうことができる。第2欄の同じブロックにあるアミノ酸及び望ましくは第3欄の同じ行にあるアミノ酸は互いに置換することができる。

脂 肪 族	非 極 性	G A P
		I L V
	極性－非荷電	C S T M
		N Q
	極性－荷電	D E
		K R
芳 香 族		H F W Y

30

40

【0024】

本発明による治療用変異ポリペプチド配列はより短いポリペプチド配列であってもよく、例えば、少なくとも20アミノ酸または50、60、70、80、100、150または200アミノ酸の長さまでのペプチドは、HuIFG 68.1タンパクの適切な生物学的作用を保持している限り本発明の範囲内に入ると考えられる。特に、限定はしないが、本発明のこの態様は変異体が完全な天然に存在するタンパク配列のフラグメントである場合を包含している。

【0025】

また抗-HuIFG 68.1タンパク抗体を作製するために使用することができるHuIFG 68.1の修

50

飾型及びそのフラグメントは本発明に包含される。そのような変異体はHuIFG 68.1タンパクの抗原決定基を含んでいるであろう。

【0026】

本発明のポリペプチドは化学的に修飾することができる、例えば、翻訳後修飾。例えば、それらをグリコシル化することができ及び/または修飾したアミノ酸残基を含むこともできる。またN-末端及び/またはC-末端に配列を加えることによる修飾をすることもできる、例えば、精製を容易にするヒスチジン残基またはT7タグの追加または細胞膜への侵入を促進するシグナル配列の追加。そのような修飾ポリペプチドは本発明の用語「ポリペプチド」の範囲内に入る。

【0027】

本発明のポリペプチドは表示ラベルで標識することができる。表示ラベルはポリペプチドを検出できるようにする適切なラベルは何でも良い。適当なラベルには¹²⁵I、³⁵Sのような放射性同位元素または酵素、抗体、ポリヌクレオチド及びビオチンのようなリンカーが含まれる。本発明の標識ポリペプチドは検定に使用することができる。その検定において、固体支持体に接着したポリペプチドを用意することが望ましい。本発明はまた容器中にキットの形で収めたその標識及び/または固定化ポリペプチドにも関係している。キットは追加して適当な試薬、対照または説明書などを含んでいる。

10

【0028】

本発明のポリペプチドは合成的にまたは組換え法により作ることができる。本発明のそのポリペプチドは修飾により天然に存在しないアミノ酸、例えば、Dアミノ酸を含むことができる。本発明の変異ポリペプチドは修飾によりインビトロ及び/またはインビボにおける安定性を増加させることができる。ポリペプチドが合成的手段により作られる場合には、その修飾は製造中に導入される。ポリペプチドは合成または組換えによる製造の後に修飾することもできる。

20

【0029】

多数の側鎖修飾がタンパク修飾技術では知られており、本発明のポリペプチドにも存在する。その修飾には、例えば、アルデヒドと反応させ次いでNaBH₄で還元する還元的アルキル化、メチルアセチミデートによるアミジン化または無水酢酸によるアセチル化、が含まれる。

【0030】

本発明のポリペプチドは実質的に単離された形であろう。ポリペプチドはそのポリペプチドの使用目的を妨害しない担体または希釈剤と混合することができるがそれでも実質的には単離されていると見なされることは理解されるであろう。本発明のポリペプチドは実質的に精製された形であり、その場合に一般的に標品中に本発明のポリペプチドを重量で90%以上、例えば、95%、98%または99%を含んでいる。

30

【0031】

ポリヌクレオチド

本発明はまたHuIFRG 68.1タンパクまたはその変異体をコードする単離ヌクレオチド配列並びにそれらに相補的な単離ヌクレオチド配列を含んでいる。ヌクレオチド配列はゲノムDNA、合成DNAまたはcDNAを含むDNAまたはRNA、1本鎖または2本鎖、であり得る。望ましいヌクレオチド配列はDNAであり、最も望ましいのはcDNA配列である。

40

【0032】

上記に示したように、そのポリヌクレオチドは典型的に下記配列を含んでいる：

(a) SEQ.ID.No.1またはSEQ.ID.No.3の核酸またはそのコード配列及び/またはそれに相補的な配列；

(b) 例えば、厳密な条件下に、(a)に規定した配列に相補的な配列にハイブリッド形成する配列；

(c) (a)または(b)に規定した配列を遺伝的にコードした結果として縮重している配列；

(d) (a)、(b)または(c)に規定した配列に少なくとも60%相同性を持つ配列。

50

【0033】

適当なコード配列を含むポリペプチドは既知技術の方法、例えばSambrook et al. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Pressに記載されている、に従ってヒト細胞から抽出するかまたは合成することができる。

【0034】

本発明のポリヌクレオチドはその中に合成または修飾ヌクレオチドを含むことができる。種々の形のポリヌクレオチドの修飾は既知技術である。これにはメチルホスフォネート及びホスフォチオエート骨格、分子の3'及び/または5'末端へのアクリジンまたはポリリジン鎖の付加が含まれる。そのような修飾は本発明のポリヌクレオチドのインビボ活性の増強または寿命の延長のために行われることがある。

10

【0035】

本発明のポリヌクレオチドは典型的に、SEQ.ID.No.1またはSEQ.ID.No.3のコード配列またはそれに相補的配列に選択的な条件下にハイブリッド形成することができるヌクレオチドの連続配列であることが望ましいヌクレオチド配列を含むであろう。そのハイブリッド形成はバックグランドより有意に高いレベルで生じるであろう。バックグランドハイブリッド形成は、例えば、cDNAライブラリー中に存在する他のcDNAのために生じ得る。本発明のポリヌクレオチドとSEQ.ID.No.1及びSEQ.ID.No.3のコード配列またはそれに相補的配列の間の相互作用により発生するシグナルレベルは典型的に、他のポリヌクレオチドとSEQ.ID.No.1またはSEQ.ID.No.3のコード配列の間の相互作用の強度の少なくとも10倍、望ましくは少なくとも100倍であろう。その相互作用の強度は、例えば、プローブを、例えば、³²Pで放射標識することにより測定することができる。選択的なハイブリッド形成は典型的に、低ストリンジェンシー（0.3 M塩化ナトリウム及び0.03 Mクエン酸ナトリウム、40℃）、中間ストリンジェンシー（例えば、0.3 M塩化ナトリウム及び0.03 Mクエン酸ナトリウム、50℃）または高ストリンジェンシー（例えば、0.03 M塩化ナトリウム及び0.03 Mクエン酸ナトリウム、60℃）で行なうことができる。

20

【0036】

SEQ ID No:1またはSEQ ID No:3のコード配列はヌクレオチド置換、例えば1、2または3から10、25、50または100置換により修飾することができる。縮重置換が行われが行われることもありそして/または修飾された配列が翻訳、例えば上記表に示したように、保存的アミノ酸置換を生じる置換が行われることもある。SEQ ID NO:1またはSEQ ID No:3のコード配列はその他にまたはさらに複数の挿入及び/または欠失及び/または1端または両端への延長による修飾をすることもできる。

30

【0037】

SEQ ID No.1または3、そのコード配列及びそれらに相補的なDNA配列から選択したDNA配列に選択的にハイブリッド形成できる本発明のポリヌクレオチドは、一般的に標的配列に対して少なくとも70%、望ましくは少なくとも80または90%そしてより望ましくは少なくとも95%または97%相同であろう。この相同性は典型的に少なくとも20、望ましくは少なくとも30、例えば少なくとも40、60または100またはそれ以上の連続ヌクレオチドに亘ることができる。

40

【0038】

上記の相同性の程度及び最小サイズのいずれの組合せも本発明のポリヌクレオチドを規定するために使用することができる、より厳密な組合せ（すなわち、より長い長さに亘るより高い相同性）が望ましい。例えば25、望ましくは30ヌクレオチドに亘って少なくとも80%相同であるポリヌクレオチドは、40ヌクレオチドに亘って少なくとも90%相同であるポリヌクレオチドと同様に適当であることが判明するであろう。

【0039】

ここに記述したようなポリヌクレオチドまたはタンパク配列の同族体は既知の相同性計算方法に従って測定することができる、例えば、タンパク相同性はアミノ酸同一性（時には「ハードホモロジー」と言われることもある）に基づいて計算することができる。例えば

50

UWCGCパッケージは、例えばデフォルトセッティングで使用する相同性計算のために使用することができるBESTFITプログラムを提供する (Devereux et al. (1984) *Nucleic Acids Research* 12, 387-395)。例えばAltschul S.F. (1993) *J. Mol. Evol.* 36, 290-300; Altschul, S.F. et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215, 403-10に記述されているように、PILEUP及びBLASTアルゴリズムを典型的にはデフォルトセッティングで相同性を計算したり、配列を整列したり、または同一または対応配列を同定したりするために使用することができる。

【0040】

BLAST分析を実行するためのプログラムはNational Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)を経由して誰でも入手できる。このアルゴリズムは、最初データベースの配列中の同じ長さの文字列と整列した時にマッチするかまたはある正の閾値スコア T を満足する問題の配列中の短い長さ W の文字列を同定することにより高スコア配列対 (HSP) を同定することが必要である。 T を近隣文字列スコア閾値という (Altschul et al., 上記)。このような最初の近隣文字列発見がそれを含むHSPを発見するための調査を開始する種として作用する。この文字列発見は各配列に沿って両方向に、累積整列スコアが増加する限り、拡張される。各方向における文字列発見の拡張は次の場合に中止される：累積整列スコアが最大に達した値から数値 X 低下する；1以上の負スコア残基の整列の累積のために累積スコアが零かそれ以下になる；または配列の端に達する。BLASTアルゴリズムパラメータ W 、 T 及び X は整列の感度及び速度を決定する。BLASTプログラムはデフォルトとして文字列長 (W) を11、BLOSUM62スコアリングマトリックス (Henikoff and Henikoff (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 10915-10919を参照) 整列 (B) を50、期待値 (E) を10、 $M=5$ 、 $N=4$ 及び両鎖の比較を使用する。

10

20

【0041】

BLASTアルゴリズムは二つの配列間の類似性について統計解析を行なう：例えば、Karlin and Altschul (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 5873-5787を参照。BLASTアルゴリズムにより提供される類似性の一つの尺度は最小合計確率 ($P(N)$) であり、これは二つのヌクレオチドまたはアミノ酸配列間の一致が偶然に生じる確率の指標を提供する。例えば、もし第一の配列を第二の配列と比較した際の最小合計確率が約1以下、望ましくは約0.1以下、より望ましくは約0.01以下、そして最も望ましいのは0.001以下であるならば、その配列はもう一つの配列と類似している。

30

【0042】

本発明によるポリヌクレオチドは、インビトロ、インビボまたはエクスビボにおいて行われる本発明によるタンパクの生成に有用である。そのポリヌクレオチド中において、本発明の求めるタンパクのためのコード配列は、選ばれた宿主細胞中において求めるタンパクの発現を指令することができるプロモーター配列に作動的に結合しているであろう。そのようなポリヌクレオチドは一般的に発現ベクターの形になっているであろう。本発明のポリヌクレオチドは、例えば、免疫調節作用及び/または抗ウイルス作用及び/または抗腫瘍作用を有する本発明のポリペプチドのインビボ発現を指令する発現ベクターの形で、治療用薬剤として使用することができる。

【0043】

その目的の発現ベクターは組換えDNA技術の通常の作業により構築することができる。それらは、例えば、プラスミドDNAの使用を必要とする。それらには複製の起点が準備されている。そのベクターは1以上の選別を容易にするマーカー遺伝子、例えば細菌プラスミドの場合にはアンピシリン耐性遺伝子を含むことができる。本発明のベクターのその他の特徴は適当なイニシエーター、エンハンサー及びその他の配列、例えばタンパク発現のために望ましくそして正しい方向に位置しているポリアデニル化シグナルを含んでいる。その他の適当な非プラスミドベクターは当業者には明白であろう。これに関するその他の例は再度 Sambrook et al., 1989 (上記)を参照。そのベクターはさらに、例えば、ウイルスベクターを含む。適当なウイルスベクターの例としては、単純疱疹ウイルスベクター、レンチウイルスを含む複製不能レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、HP

40

50

Vウイルス（HPV-16及びHPV-18のような）、及び弱毒インフルエンザウイルスがある。

【0044】

プロモーター及びその他の発現調節シグナルは発現用に設計されている宿主細胞に適合するように選択することができる。例えば、イーストプロモーターには*S. cerevisiae* GAL4及びADHプロモーター、*S. pombe* nmtI及びadhプロモーターがある。哺乳動物プロモーターにはカドミウムのような重金属に反応して導入することができるメタロチオネインプロモーター及びβ-アクチンプロモーターがある。SV40ラージT抗原プロモーターまたはアデノウイルスプロモーターのようなウイルスプロモーターも使用することができる。使用し得るウイルスプロモーターのその他の例としてはモロニーネズミ白血病ウイルスの長い末端反復配列（MLLV LTR）、ラウス肉腫ウイルス（RSV）LTRプロモーター、ヒトサイトメガロウイルス（CMV）IEプロモーター、及びHPVプロモーター、特にHPV上流調節領域（URR）がある。その他の適当なプロモーターは組換えDNA技術において同業者にはよく知られているであろう。

10

【0045】

本発明のベクターはさらに本発明の求めるポリペプチドに対するコード配列を挟む真核ゲノム配列、望ましくは哺乳動物ゲノム配列またはウイルスゲノム配列、に相同な配列を提供する配列を含むことができる。これにより本発明のそのポリヌクレオチドを真核細胞またはウイルスのゲノム中へ相同組換えにより導入することができる。特に、ウイルス配列に挟まれた発現カセットを含むプラスミドベクターは本発明のポリヌクレオチドを哺乳動物細胞に導入するのに適したウイルスベクターを調製するために使用することができる。

20

【0046】

本発明は、HuIFRG 68.1タンパクまたはその変異体を発現するように修飾されたインビトロの細胞、例えば原核細胞または真核細胞、も含んでいる。その細胞は、例えば、HuIFRG 68.1タンパクまたはその変異体をコードしたポリヌクレオチドを宿主ゲノム中に取込んで安定した真核細胞系を含んでいる。本発明の宿主細胞は哺乳動物細胞または昆虫細胞、イーストのような下等真核細胞または細菌細胞のような原核細胞であり得る。本発明のポリペプチドをコードするベクターの挿入により修飾することができる細胞の個別例としては哺乳動物HEK293T、CHO、HeLa及びCOS細胞がある。望ましくは細胞系は安定であるだけでなく、ポリペプチドの十分なグリコシル化もできるものが選択される。発現は、例えば、形質転換卵母細胞において行なうことができる。

30

【0047】

本発明のポリペプチドは遺伝子導入非ヒト動物、望ましくはマウスの細胞においても発現することができる。本発明のポリペプチドを発現することができる遺伝子導入非ヒト動物は本発明の範囲内に含まれる。

【0048】

本発明によるポリヌクレオチドは、アンチセンス配列の生産に提供するためにアンチセンスの方向に上記のようにベクター中に挿入することもできる。アンチセンスRNA及びその他のアンチセンスポリヌクレオチドは合成的方法によっても生産できる。

【0049】

例えば、発現ベクターの形で、SEQ ID No.2または、例えばSEQ ID No.4で定義される天然に存在するその変異体により定義されるアミノ酸配列のコード配列に対するアンチセンス配列をインビトロで発現することができ、ヒトまたは非ヒト動物の治療に使用するためのポリヌクレオチド、も本発明の追加の態様を構成すると考えられる。そのポリヌクレオチドはHuIFRG 68.1タンパクの上方調節が原因の病気の治療に使用できるであろう。

40

【0050】

本発明のポリヌクレオチドは、本発明のポリペプチドcDNA内の配列を標的とする核酸増幅用のプライマーの組合せ、例えば、PCR増幅用のプライマー対に拡張する。本発明はまた、明示標識、例えば、放射活性標識または酵素またはビオチンのような非放射性標識で標識することができる本発明のポリペプチドに対するcDNAまたはRNA内の配列を標的とするに適したプローブを提供する。そのプローブは固相に接着することができる。その固相は

50

、その他の核酸、例えば、他の1型インターフェロン上方調節遺伝子、例えば、IFN- α の経口腔粘膜または静脈内投与に反応して上方調節されることが同定されているような遺伝子に対応するmRNAまたはその増幅生産物に対するプローブを含むマイクロアレイ（一般的には核酸に関しては、プローブまたはDNAチップとも呼ばれている）であり得る。そのようなマイクロアレイの構築方法はよく知られている（例えば、EP-B 0476014 and 0619321 of Affymax Technologies N. V. and Nature Genetics Supplement January 1999 entitled "The Chipping Forecast"を参照）。

【0051】

そのプライマーまたはプローブの核酸配列は望ましくは少なくとも10、望ましくは少なくとも15または少なくとも20、例えば少なくとも25、少なくとも30または少なくとも40のヌクレオチドの長さである。しかし、40、50、60、70、100または150ヌクレオチドの長さまたはそれ以上長くてもよい。

【0052】

本発明のその他の態様は、HuIFRG 68.1遺伝子における突然変異、例えば一塩基多形（SNP）の同定に本発明のプローブまたはプライマーを使用することである。

【0053】

上記に示したように、その他の態様において本発明は、HuIFRG 68.1タンパクまたは天然に存在するその変異体を発現することができる細胞を準備し、被検化合物と共に該細胞を培養し、HuIFRG 68.1遺伝子発現の上方調節を監視することからなる、免疫調節作用及び/または抗ウイルス作用及び/または抗腫瘍作用を有する化合物を同定する方法を提供する。その監視はHuIFRG 68.1タンパクまたは天然に存在するその変異体をコードするmRNAに対するプローブにより行われる。その他にはHuIFRG 68.1及び天然に存在する変異体の1つ以上と特異的に結合することができる抗体または抗体フラグメントを使用することができる。

【0054】

抗体

その他の態様によると、本発明はまた、通常の技術により得られ、そして本発明のポリペプチドに対して特異的である抗体（例えばポリクロナールまたは望ましくはモノクロナール抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体及び抗原結合能力を保持するそのフラグメント）にも関係している。その抗体は、例えば、精製、単離または免疫沈降を含むスクリーニング法に使用することができ、またHuIFRG 68.1タンパクまたはその変異体の機能を更に解明するための道具として使用できる。それら自身が治療薬になり得る資格を有している。その抗体は本発明によるタンパクの抗原決定基に対して作ることができる。抗体は、それが特異的であるタンパクとは高親和性でそのタンパクに結合するが他のタンパクには結合しないかまたは低親和性で結合する場合に、特異的にタンパクに結合する。抗体の特異的結合能力を測定するための競合結合または免疫放射検定のための種々のプロトコールはよく知られている。

【0055】

医薬組成物

本発明のポリペプチドは典型的に医薬として受容し得る担体または希釈剤と共に投与するために製剤化される。医薬用担体または希釈剤は、例えば、等張溶液であり得る。例えば、固体の経口用形態は活性化合物と共に、次の希釈剤を含むことができる、例えば、ラクトース、デキストロース、サッカロース、セルロース、コーンスターチ、またはジャガイモデンプン；潤滑剤、例えば、シリカ、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウムまたはカルシウム、及び/またはポリエチレングリコール；結合剤、例えば、デンプン類、アラビアゴム、ゼラチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースまたはポリビニルピロリドン；分離防止剤、例えば、デンプン、アルギン酸、アルギン酸塩またはデンプングリコール酸ナトリウム；発泡混合物；色素；甘味剤；レシチン、ポリソルベート、ラウリル硫酸のような湿潤剤；及び、一般的には、医薬製剤に使用される毒性のない薬理的に不活性の物質。そのような医薬製剤は既知方法、例えば、混合、顆粒化、錠剤

化、糖-コーティング、またはフィルムコーティングの操作により製造することができる。

【0056】

経口投与用の液体分散体はシロップ、乳剤及び懸濁剤のことがある。シロップは担体として、例えば、サッカロースまたはサッカロースとグリセリン及び/またはマンニトール及び/またはソルビトールを含むこともある。

【0057】

懸濁剤及び乳剤は担体として、例えば天然ゴム、寒天、アルギン酸ナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、またはポリビニルアルコールを含むことがある。筋肉内注射用の懸濁剤または溶液は、活性化合物と共に、医薬品として受容し得る担体、例えば、滅菌水、オリーブ油、オレイン酸エチル、グリコール類、例えば、プロピレングリコール、及びもし必要であれば、適当な量の塩酸リドカインを含むことができる。

10

【0058】

静脈内投与または点滴用の溶液は担体として、例えば、滅菌水を含むか、または望ましくは滅菌等張食塩水溶液の形態になっている。

【0059】

本発明に従って使用するためのHuIFRG 68.1タンパクまたはその機能的同族体の適切な用量は、種々のパラメータ、特に使用される物質；年齢、体重及び治療する患者の状態；投与経路；及び必要な治療法によって決定することができる。さらに、医師は個別の患者に必要な投与経路及び投与量を定めることができるであろう。典型的な1日用量は、特異的阻害剤の活性、年齢、体重及び治療する患者の状態、及び投与の回数及び経路により、約0.1から50 mg/kg、望ましくは0.1 mg/kgから10 mg/kg体重であり得る。望ましくは、1日用量レベルは5 mgから2 gであろう。

20

【0060】

治療に適した本発明のポリヌクレオチドはまた典型的に医薬として受容し得る担体または希釈剤と共に投与するために製剤化されるであろう。そのようなポリヌクレオチドは、求めるポリペプチドの発現をインビボで達成することができる既知の技術のいずれかにより投与することができる。例えば、ポリヌクレオチドは、望ましくは皮内、皮下または筋肉内注射により導入することができる。その他には、核酸は粒子介在投与器を使用して皮膚を通して直接投与することができる。治療用核酸に適した本発明のポリヌクレオチドはその他に、例えば鼻腔内または口腔内投与より口腔粘膜表面に投与することもできる。

30

【0061】

治療に適した本発明の非ウイルスベクターは、例えば、リポソーム中にまたは界面活性剤含有ベクター輸送粒子に詰め込むこともできる。本発明の核酸構築の取り込みは、例えば導入試薬の使用を含む既知の導入技術により促進することができる。これらの試薬の例としては、カチオン性試薬、例えばリン酸カルシウム及びDEAEデキストラン及びリポフェクタント、例えばリポフェクタム及びトランスフェクタムがある。投与すべき核酸の投与量は変動し得る。典型的に、核酸は粒子介在遺伝子投与では1 pgから1 mg、望ましくは1 pgから10 µg、そしてその他の経路では10 µgから1 mgの範囲で投与されるであろう。

40

【0062】

1型インターフェロン反応性の予測

上記に示したように、本発明のその他の態様において、1型インターフェロンの投与後該患者から採取したかまたは該測定前に1型インターフェロンでインビトロ処理された該患者の細胞検体中のHuIFRG 68.1タンパクまたは天然に存在するその変異体、例えばSEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:4のアミノ酸配列を持つタンパク、または対応するmRNAのレベルを測定することからなる、1型インターフェロンによる治療、例えば、経口腔粘膜または静脈内投与によるIFN-αのようなIFN-α治療に対する患者の反応性を予測する方法を提供する。

【0063】

50

望ましくは、反応性試験に使用する1型インターフェロンは治療のために選択された1型インターフェロンであろう。それは推奨投与経路及び推奨治療用量で投与することができる。望ましくは、その後の分析検体は、例えば、血液検体または血液検体から単離された末梢血単核細胞 (PBMC) であろう。

【0064】

より便利で望ましいのは、患者から採取し、血液から単離したPBMCを含む検体を1型インターフェロンで、例えば、1から10,000 IU/mlの用量範囲においてインビトロで処理することであろう。その処理は数時間、例えば、7から8時間であろう。そのインビトロ試験の望ましい処理条件は正常提供者から採取したPBMCを試験しそして適当な発現生成物の上方調節を調べることにより決定することができる。繰り返しになるが、使用する1型インターフェロンは患者の治療に提案されている1型インターフェロン、例えば、組換えIFN- α であることが望ましい。その試験に使用するPBMCはFicoll-Hypaque密度勾配を使用して血液検体から通常の方法で単離することができる。1型インターフェロン反応性のインビトロ試験に適したプロトコルの例は下記例3に示されている。

10

【0065】

1型インターフェロンでのインビトロ処理後もし適するならば、検体をHuIFRG 68.1タンパクまたは天然に存在するその変異体のレベルについて分析する。これはHuIFRG 68.1タンパクまたは天然に存在するその変異体、例えば、その対立変異体の1以上と特異的に結合することができる抗体を使用して行われる。しかし、HuIFRG 68.1タンパクまたは天然に存在するその変異体をコードするmRNAについて検体を分析することも望ましいであろう。そのmRNA分析にはmRNAを検出する既知技術のいずれか、例えば、ノーザンブロット検出またはmRNAディフェレンシャルディスプレイを使用することができる。種々の既知核酸増幅プロトコルを、検出に先立って、検体中に存在する関心のmRNA、またはその部分、の増幅に使用することができる。関心のmRNA、または対応する増幅核酸、は固相に接着した核酸プローブを使用して調べることができる。その固相支持体は上記に既に記述したような、1型インターフェロン上方調節遺伝子、例えば、IFN- α の経口腔粘膜または静脈内投与に反応して上方調節することが同定されている遺伝子、に対応するその他のmRNAまたはその増幅生成物のレベルを測定するためのプローブを有するマイクロアレイであり得る。

20

【0066】

以下の例により本発明を説明する：

30

例

【0067】

例1

以前の実験において正常成獣マウスの鼻腔へ5 μ lのクリスタルバイオレットをP20エッペンンドルフマイクロピペットを使用して適用したところ、直ちに口腔咽頭腔の全表面へ色素が分布することが認められた。口腔咽頭腔の染色は色素適用後30分でも明らかであった。この結果は¹²⁵I-標識組換えヒトIFN- α 1-8を使用して同様に適用することにより確認された。同じ投与方法は下記試験における口腔粘膜投与を行なうために使用された。

【0068】

6週齢雄DBA/2マウスをLife Technologies Incから購入した組換えネズミインターフェロン α (IFN α) 100,000 IUの入ったリン酸緩衝食塩液で、またはProtein Institute Incから購入した組換えヒトインターロイキン15 (IL-15) の10 μ g、ウシ血清アルブミン (BSA) の100 μ g/mlを含むPBSのいずれかで処置するか、または無処置とした。8時間後マウスを頸椎脱臼により屠殺し、口腔咽頭腔からリンパ組織を採取し、液体窒素で急速凍結し、-80 で保存した。RNAをChomczynski and Sacchi 1987 (Anal. Biochem. 162, 156-159) の方法によりリンパ組織から抽出し、mRNAディフェレンシャルディスプレイ分析 (Lang, P. and Pardee, A.B., Science, 257, 967-971) を行なった。

40

【0069】

ディフェレンシャルディスプレイ分析

ディフェレンシャルディスプレイ分析はGenHunter Corporationの"Message Clean"及び"R

50

NA image"キットを本質的にメーカーの説明に従って使用して行なった。簡単に言うと、RNAはRNA分解酵素を含まないDNA分解酵素で処理し、そして1 μ gを100 μ lの反応バッファ中で、3種の1塩基固定オリゴ-(dT)プライマーA, C, またはGの1つまたはその他を使用して、逆転写した。RNAはまた9種の2塩基固定オリゴ-(dT)プライマーAA, CC, GG, AC, CA, GA, AG, CG, GCの1つまたはその他を使用して逆転写した。比較すべき全検体を同一実験において逆転写し、分割して凍結した。増幅はわずか1 μ lの逆転写検体とTaq DNAポリメラーゼ及び α -³²PdATP (3,000 Ci/mmol)を含む10 μ lの増幅混合液中において実施した。80種の5'末端(HAP)ランダム配列プライマーを(HT11)A, C, G, AA, CC, GG, AC, CA, GA, AG, CGまたはGCプライマーのそれぞれと組合わせて使用した。次いで検体を7%変性ポリアクリルアミドゲルに展開し、オートラジオグラフィーを行なった。ディフェレンシャル発現と推定されるバンドを切り出し、メーカー説明に従って増幅を行ない、そしてIN Fを投与した口腔咽頭腔、IL-15処理及び賦形剤処理動物から抽出したRNAのノーザンブロットとハイブリッド形成するためのプローブとして使用した。

10

【0070】

クローニング及び配列分析

再度増幅したディフェレンシャルディスプレイスクリーニングのバンドをpPCR-Script SK (+)プラスミド(Stratagene)のSfr 1部位にクローン化し、cDNA末端の迅速増幅により増幅したcDNAをpCR3プラスミド(Invitrogen)中のTAクローニングにより単離した。DNAは自動ジデオキシシーケンサー(Perkin Elmer ABI PRISM 377)を使用して配列を分析した。

20

【0071】

ヒトcDNAの単離

ディフェレンシャルディスプレイにより同定されたディフェレンシャル発現したネズミ3'配列を、United States National Center for Biotechnology Information (NCBI)のGen BankTMのdbESTデータベース中に存在するランダムヒト発現配列タグ(EST)と比較した。ディフェレンシャルディスプレイスクリーニングから単離したネズミESTに関係しそうな配列をコンティグと組合せ、理論的cDNAに対応するヒト共通配列を構築するために使用した。そのcDNAの一つは2175ヌクレオチドの長さであることが判明した。これは、IFN- α を経口粘膜投与したマウスの口腔内リンパ組織中にその発現が約8倍増強されることが判明しているマウスの遺伝子に相当するものであった。

30

【0072】

この理論的cDNAが真正のヒト遺伝子に対応することを確認するために、共通配列の5'及び3'末端から誘導したプライマーを使用してヒト末梢血白血球(PBL)から抽出したmRNAから特異的逆転写及びPCR増幅によりcDNAを合成した。予想したサイズの単一cDNAフラグメントが得られ、クローニングしそして配列分析した(SEQ. ID. No. 1)。このヒトcDNAは、推定分子量68.45 kDaの605アミノ酸のタンパク(SEQ. ID. No. 2)をコードする1818 bp長のオープンリードフレーム(ORF)を42-1859の位置に含んでいる。

【0073】

第二cDNAは3411ヌクレオチド長であることが判明した。上記のように、予測したサイズの単一cDNAフラグメントが得られ、クローン化し、配列分析した(SEQ ID No:3)。このヒトcDNAは、推定分子量124 kDaの1098アミノ酸のタンパク(SEQ ID No:4)をコードする3297 bp長のオープンリードフレーム(ORF)を95-3391の位置に含んでいる。SEQ ID No:3のヌクレオチド配列はSEQ ID No:1のヌクレオチド配列のより長い形であり、SEQ ID No:2のHuIFRG 68.1タンパクのアミノ末端を延長した変異体をコードしている。

40

【0074】

例2

IFN- α の静脈内投与

雄DBA/2マウスにLife Technology Inc.から購入した組換えネズミIFN- α の100,000単位を200 μ lのPBSに溶解して腹腔内投与するか、または同量のPBSのみを投与した。8時間後、動物を頸椎脱臼により殺処理し、脾臓を常法により採取した。総RNAをChomczynski and S

50

acci (Anal. Biochem. (1987) 162, 156-159)の方法により抽出し、検体当たり総RNAの10.0 μ gをグリオキサールの存在下にノーザンブロット処理し、Dandoy-Dron et al. (J. Biol. Chem. (1998) 273, 7691-7697)により記述されているようにHuIFRG 68.1 mRNAに対するcDNAプローブでハイブリッド形成した。ブロットは最初オートラジオグラフを行ない、次いでメーカー説明書に従いPhosphorImagerを使用して定量化した。賦形剤のみで処置した動物に比較してHuIFRG 68.1に対するmRNAレベルの増加(約10倍)がIFN- α 処置動物の脾臓から抽出したRNA検体に検出された。

【0075】

例3

インビトロにおける1型インターフェロン反応性の検査

10

ヒトDaudi, JurkatまたはHeLa細胞をインビトロでPBSに溶解した10,000 IUの組換えヒトIFN- α 2(シェリング-プラウのイントロンA)あるいは同容量のPBSのみで処理した。8時間後遠心分離(800 xg 10分間)し、細胞ペレットを得た。総RNAをChomczynski and Sacchiの方法によりペレットから抽出し、そして検体当たり総RNAの10.0 μ gをグリオキサールの存在下にノーザンブロット処理し、例2に既に記述したようにHuIFRG 68.1 mRNAに対するcDNAプローブ及び例1に記述したHuIFRG 68.1変異体に対する対応cDNAプローブでハイブリッド形成した。PBSのみで処置した検体に比較してHuIFRG 68.1タンパクに対するmRNAレベルの増加(約5倍)がIFN- α 処置DaudiまたはHeLa細胞から抽出したRNA検体に検出された。PBSのみで処置した検体に比較してHuIFRG 68.1変異タンパクに対するmRNAレベルの増加(約5倍)がIFN- α 処置DaudiまたはJurkat細胞から抽出したRNA検体に検出された。

20

【0076】

同じ方法を1型インターフェロンによる治療を勧めている患者から得たPBMCを使用して1型インターフェロン反応性を予測するために使用することができる。

【0077】

例4

HuIFRG 68.1変異体mRNAの発現

HuIFRG 68.1変異体をコードする配列を増幅し、HuIFRG 68.1変異体mRNAの組織分布を調べるためのプローブとして使用した。HuIFRG 68.1変異体の発現を広範囲の組織について調べたところ、広範囲に発現していることが認められた。

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
6 September 2002 (06.09.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/068470 A2

- (51) International Patent Classification: C07K 14/555 (81) Designated States (national): AE, AG, AI, 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, LI, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PH, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (21) International Application Number: PCT/GB02/00830
- (22) International Filing Date: 26 February 2002 (26.02.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
0104706.7 26 February 2001 (26.02.2001) GB
0200619.5 11 January 2002 (11.01.2002) GB
- (71) Applicant (for all designated States except US):
PHARMA PACIFIC PTY LTD [AU/AU]; 103-105
Pipe Road, Laverton North, Victoria 3026 (AU).
- (72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants (for US only): **MERITET, Jean-François** [FR/FR]; 62, rue de Picpus, F-75012 Paris (FR); **DRON, Michel** [FR/FR]; 22, avenue des Cottages, F-92340 Bourg la Reine (FR); **TOVEY, Michael, Gerard** [GB/FR]; 7, rue Lagrange, F-75005 Paris (FR).
- (74) Agents: **IRVINE, Jonquil, Claire** et al.; I.A. Kemp & Co.,
14 South Square, Gray's Inn, London WC1R 5JJ (GB).
- Published:**
without international search report and to be republished
upon receipt of that report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/068470 A2

(54) Title: INTERFERON-ALPHA INDUCED GENE

(57) Abstract: The present invention relates to identification of a gene upregulated by interferon- α administration corresponding to the cDNA sequence set forth in SEQ. ID. No. 1 and SEQ. ID. No. 3. Determination of expression products of this gene is proposed as having utility in predicting responsiveness to treatment with interferon- α and other interferons which act at the Type 1 interferon receptor. Therapeutic use of the protein encoded by the same gene is also envisaged.

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

1

INTERFERON-ALPHA INDUCED GENE**Field of the Invention**

5 The present invention relates to identification of a human gene upregulated by
interferon- α (IFN- α) administration, the coding sequence of which is believed to be
previously unknown. Detection of expression products of this gene may find use in
predicting responsiveness to IFN- α and other interferons which act at the Type 1
interferon receptor. Therapeutic use of the isolated novel protein encoded by the same
10 gene is also envisaged.

Background of the Invention

IFN- α is widely used for the treatment of a number of disorders. Disorders
15 which may be treated using IFN- α include neoplastic diseases such as leukemia,
lymphomas, and solid tumours, AIDS-related Kaposi's sarcoma and viral infections such
as chronic hepatitis. IFN- α has also been proposed for administration via the oromucosal
route for the treatment of autoimmune, mycobacterial, neurodegenerative, parasitic and
viral disease. In particular, IFN- α has been proposed, for example, for the treatment of
20 multiple sclerosis, leprosy, tuberculosis, encephalitis, malaria, cervical cancer, genital
herpes, hepatitis B and C, HIV, HPV and HSV-1 and 2. It has also been suggested for the
treatment of arthritis, lupus and diabetes. Neoplastic diseases such as multiple myeloma,
hairy cell leukemia, chronic myelogenous leukemia, low grade lymphoma, cutaneous T-
cell lymphoma, carcinoid tumours, cervical cancer, sarcomas including Kaposi's
25 sarcoma, kidney tumours, carcinomas including renal cell carcinoma, hepatic cellular
carcinoma, nasopharyngeal carcinoma, haematological malignancies, colorectal cancer,
glioblastoma, laryngeal papillomas, lung cancer, colon cancer, malignant melanoma and
brain tumours are also suggested as being treatable by administration of IFN- α via the
oromucosal route, i.e. the oral route or the nasal route.

30

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

2

IFN- α is a member of the Type 1 interferon family, which exert their characteristic biological activities through interaction with the Type 1 interferon receptor. Other Type 1 interferons include IFN- β , IFN- ω and IFN- τ .

5 Unfortunately, not all potential patients for treatment with a Type 1 interferon such as interferon- α , particularly, for example, patients suffering from chronic viral hepatitis, neoplastic disease and relapsing remitting multiple sclerosis, respond
10 favourably to Type 1 interferon therapy and only a fraction of those who do respond exhibit long-term benefit. The inability of the physician to confidently predict the therapeutic outcome of Type 1 interferon treatment raises serious concerns as to the cost-benefit ratio of such treatment, not only in terms of wastage of an expensive
15 biopharmaceutical and lost time in therapy, but also in terms of the serious side effects to which the patient is exposed. Furthermore, abnormal production of IFN- α has been shown to be associated with a number of autoimmune diseases. For these reasons, there is much interest in identifying Type 1 interferon responsive genes since Type 1
interferons exert their therapeutic action by modulating the expression of a number of genes. Indeed, it is the specific pattern of gene expression induced by Type 1 interferon treatment that determines whether a patient will respond favourably or not to the
treatment.

20

Summary of the Invention

A human gene cDNA has now been identified as corresponding to a mouse gene
25 upregulated by administration of IFN- α by an oromucosal route or intraperitoneally and is believed to represent a novel DNA. The corresponding human gene is thus now also designated an IFN- α upregulated gene.

The protein encoded by the same gene is referred to below as HuIFRG 68.1
30 protein. This protein, and functional variants thereof, are now envisaged as therapeutic agents, in particular for use as an anti-viral, anti-tumour or immunomodulatory agent. For example, they may be used in the treatment of autoimmune, mycobacterial, neurodegenerative, parasitic or viral disease, arthritis, diabetes, lupus, multiple sclerosis,

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

3

leprosy, tuberculosis, encephalitis, malaria, cervical cancer, genital herpes, hepatitis B or C, HIV, HPV, HSV-1 or 2, or neoplastic disease such as multiple myeloma, hairy cell leukemia, chronic myelogenous leukemia, low grade lymphoma, cutaneous T-cell lymphoma, carcinoid tumours, cervical cancer, sarcomas including Kaposi's sarcoma, kidney tumours, carcinomas including renal cell carcinoma, hepatic cellular carcinoma, nasopharyngeal carcinoma, haematological malignancies, colorectal cancer, glioblastoma, laryngeal papillomas, lung cancer, colon cancer, malignant melanoma or brain tumours. In other words, such a protein may find use in treating any Type 1 interferon treatable disease.

10

Determination of the level of HuIFRG 68.1 protein or a naturally-occurring variant thereof, or the corresponding mRNA, in cell samples of Type 1 interferon-treated patients, e.g. patients treated with IFN- α , e.g. such as by the oromucosal route or intravenously, may also be used to predict responsiveness to such treatment. It has additionally been found that alternatively, and more preferably, such responsiveness may be judged, for example, by treating a sample of human peripheral blood mononuclear cells *in vitro* with a Type 1 interferon and looking for upregulation or downregulation of an expression product, preferably mRNA, corresponding to the HuIFRG 68.1 gene.

20

According to a first aspect of the invention, there is thus provided an isolated polypeptide comprising;

- (i) the amino acid sequence of SEQ ID NO: 2;
- (ii) a variant thereof having substantially similar function, e.g. an immunomodulatory activity and/or an anti-viral activity and/or an anti-tumour activity; or
- (iii) a fragment of (i) or (ii) which retains substantially similar function, e.g. an immunomodulatory activity and/or an anti-viral activity and/or an anti-tumour activity.

25

In a preferred embodiment of the first aspect of the invention, such an isolated polypeptide may comprise:

30

- (i) the amino acid sequence of SEQ ID NO: 4;
- (ii) a variant thereof having substantially similar function; or

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

4

(iii) a fragment of (i) or (ii) which retains substantially similar function.

The invention also provides such a protein for use in therapeutic treatment of a human or non-human animal, more particularly for use as an anti-viral, anti-tumour or immunomodulatory agent. As indicated above, such use may extend to any Type 1

5 interferon treatable disease.

According to another aspect of the invention, there is provided an isolated polynucleotide encoding a polypeptide of the invention as defined above or a complement thereof. Such a polynucleotide will typically include a sequence comprising:

- 10 (a) the nucleic acid of SEQ. ID. No. 1 or the coding sequence thereof and/or a sequence complementary thereto;
- (b) a sequence which hybridises, e.g. under stringent conditions, to a sequence complementary to a sequence as defined in (a);
- 15 (c) a sequence which is degenerate as a result of the genetic code to a sequence as defined in (a) or (b);
- (d) a sequence having at least 60% identity to a sequence as defined in (a), (b) or (c).

In a preferred embodiment, such a polynucleotide will include a sequence comprising:

- 20 (a) the nucleic acid of SEQ ID No: 3 or the coding sequence thereof and/or a sequence complementary thereto;
- (b) a sequence which hybridises, e.g. under stringent conditions, to a sequence complementary to a sequence complementary to a sequence as defined in (a);
- 25 (c) a sequence which is degenerate as a result of the genetic code to a sequence as defined in (a) or (b); or
- (d) a sequence having at least 60% identity to a sequence as defined on (a), (b) or (c).

The invention also provides;

- 30 - an expression vector which comprises a polynucleotide of the invention and which is capable of expressing a polypeptide of the invention;
- a host cell containing an expression vector of the invention;
- an antibody specific for a polypeptide of the invention;

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

5

- a method of treating a subject having a Type 1 interferon treatable disease, which method comprises administering to the said patient an effective amount of HuIFRG 68.1 protein or a functional variant thereof
- use of such a polypeptide in the manufacture of a medicament for use in therapy as an anti-viral or anti-tumour or immunomodulatory agent, more particularly for use in treatment of a Type 1 interferon treatable disease;
- a pharmaceutical composition comprising a polypeptide of the invention and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent;
- a method of producing a polypeptide of the invention, which method comprises maintaining host cells of the invention under conditions suitable for obtaining expression of the polypeptide and isolating the said polypeptide;
- a polynucleotide of the invention, e.g. in the form of an expression vector, which directs expression *in vivo* of a polypeptide as defined above for use in therapeutic treatment of a human or non-human animal, more particularly for use as an anti-viral, anti-tumour or immunomodulatory agent;
- a pharmaceutical composition comprising such a polynucleotide and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent;
- a method of treating a subject having a Type 1 interferon treatable disease, which method comprises administering to said patient an effective amount of such a polynucleotide;
- use of such a polynucleotide in the manufacture of a medicament, e.g. a vector preparation, for use in therapy as an anti-viral, anti-tumour or immunomodulatory agent, more particularly for use in treating a Type 1 interferon treatable disease; and
- a method of identifying a compound having immunomodulatory activity and/or anti-viral activity and/or anti-tumour activity comprising providing a cell capable of expressing HuIFRG 68.1 protein or a naturally occurring variant thereof, incubating said cell with a compound under test and monitoring for upregulation of HuIFRG 68.1 gene expression.

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

6

In a still further aspect, the invention provides a method of predicting responsiveness of a patient to treatment with a Type 1 interferon, e.g. IFN- α treatment (such as IFN- α treatment by the oromucosal route or a parenteral route, for example, intravenously, subcutaneously, or intramuscularly), which
 5 comprises determining the level of HuIFRG 68.1 protein or a naturally-occurring variant thereof, e.g. an allelic variant, or the corresponding mRNA, in a cell sample from said patient, e.g. a blood sample, wherein said sample is obtained from said patient following administration of a Type 1 interferon, e.g. IFN- α by an oromucosal route or intravenously, or is treated prior to said determining with
 10 a Type 1 interferon such as IFN- α *in vitro*. The invention also extends to kits for carrying out such testing.

Brief description of the Sequences

15 SEQ. ID. No.1 is the amino acid sequence of human protein HuIFRG 68.1 and its encoding cDNA.

SEQ. ID. No.2 is the amino acid sequence alone of HuIFRG 68.1 protein.

SEQ. ID. No. 3 is the amino acid sequence of a variant of HuIFRG 68.1 which is extended at the amino terminus, and its coding sequence.

20 SEQ. ID. No. 4 is the amino acid sequence alone of a variant of HuIFRG 68.1 protein which is extended at the amino terminus.

Detailed Description of the Invention

25 As indicated above, human protein HuIFRG 68.1 and functional variants thereof are now envisaged as therapeutically useful agents, more particularly for use as an anti-viral, anti-tumour or immunomodulatory agent.

30 A variant of HuIFRG 68.1 protein for this purpose may be a naturally occurring variant, either an allelic variant or species variant, which has substantially the same functional activity as HuIFRG 68.1 protein and is also upregulated in response to administration of IFN- α . Alternatively, a variant of HuIFRG 68.1 protein for therapeutic

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

7

use may comprise a sequence which varies from SEQ. ID. No. 2 or from SEQ. ID. No. 4 but which is a non-natural mutant.

The term "functional variant" refers to a polypeptide which has the same essential character or basic function of HULFRG 68.1 protein. The essential character of HULFRG 68.1 protein may be deemed to be as an immunomodulatory peptide. A functional variant polypeptide may show additionally or alternatively anti-viral activity and/or anti-tumour activity.

Desired anti-viral activity may, for example, be tested or monitored as follows. A sequence encoding a variant to be tested is cloned into a retroviral vector such as a retroviral vector derived from the Moloney murine leukemia virus (MoMuLV) containing the viral packaging signal ψ , and a drug-resistance marker. A pantropic packaging cell line containing the viral *gag*, and *pol*, genes is then co-transfected with the recombinant retroviral vector and a plasmid, pVSV-G, containing the vesicular stomatitis virus envelope glycoprotein in order to produce high-titre infectious replication incompetent virus (Burns *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **84**, 5232-5236). The infectious recombinant virus is then used to transfect interferon sensitive fibroblasts or lymphoblastoid cells and cell lines that stably express the variant protein are then selected and tested for resistance to virus infection in a standard interferon bio-assay (Tovey *et al.*, Nature, **271**, 622-625, 1978). Growth inhibition using a standard proliferation assay (Mosmann, T., J. Immunol. Methods, **65**, 55-63, 1983) and expression of MHC class I and class II antigens using standard techniques may also be determined.

A desired functional variant of HULFRG 68.1 may consist essentially of the sequence of SEQ. ID. No. 2 or of SEQ. ID. No. 4. A functional variant of SEQ. ID. No. 2 or of SEQ. ID. No. 4 may be a polypeptide which has a least 60% to 70% identity, preferably at least 80% or at least 90% and particularly preferably at least 95%, at least 97% or at least 99% identity with the amino acid sequence of SEQ. ID. No. 2 or of SEQ. ID. No. 4 over a region of at least 20, preferably at least 30, for instance at least 100 contiguous amino acids or over the full length of SEQ. ID. No. 2 or of SEQ. ID. No. 4. Methods of measuring protein identity are well known in the art.

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

8

Amino acid substitutions may be made, for example from 1, 2 or 3 to 10, 20 or 30 substitutions. Conservative substitutions may be made, for example according to the following Table. Amino acids in the same block in the second column and preferably in the same line in the third column may be substituted for each other.

ALIPHATIC	Non-polar	G A P
		I L V
	Polar-uncharged	C S T M
		N Q
	Polar-charged	D E
		K R
AROMATIC		H F W Y

Variant polypeptide sequences for therapeutic use in accordance with the invention may be shorter polypeptide sequences, for example, a peptide of at least 20 amino acids or up to 50, 60, 70, 80, 100, 150 or 200 amino acids in length is considered to fall within the scope of the invention provided it retains appropriate biological activity of HulFRG 68.1 protein. In particular, but not exclusively, this aspect of the invention encompasses the situation when the variant is a fragment of a complete natural naturally-occurring protein sequence.

Also encompassed by the invention are modified forms of HulFRG 68.1 protein and fragments thereof which can be used to raise anti-HulFRG 68.1 protein antibodies. Such variants will comprise an epitope of the HulFRG 68.1 protein.

Polypeptides of the invention may be chemically modified, e.g. post-translationally modified. For example, they may be glycosylated and/or comprise modified amino acid residues. They may also be modified by the addition of a sequence at the N-terminus and/or C-terminus, for example by provision of histidine residues or a

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

9

T7 tag to assist their purification or by the addition of a signal sequence to promote insertion into the cell membrane. Such modified polypeptides fall within the scope of the term "polypeptide" of the invention.

5 A polypeptide of the invention may be labelled with a revealing label. The revealing label may be any suitable label which allows the polypeptide to be detected. Suitable labels include radioisotopes such as ^{125}I , ^{35}S or enzymes, antibodies, polynucleotides and linkers such as biotin. Labelled polypeptides of the invention may be used in assays. In such assays it may be preferred to provide the polypeptide attached
10 to a solid support. The present invention also relates to such labelled and/or immobilised polypeptides packaged in the form of a kit in a container. The kit may optionally contain other suitable reagent(s), control(s) or instructions and the like.

The polypeptides of the invention may be made synthetically or by recombinant
15 means. Such polypeptides of the invention may be modified to include non-naturally occurring amino acids, e.g. D amino acids. Variant polypeptides of the invention may have modifications to increase stability *in vitro* and/or *in vivo*. When the polypeptides are produced by synthetic means, such modifications may be introduced during production. The polypeptides may also be modified following either synthetic or recombinant
20 production.

A number of side chain modifications are known in the protein modification art and may be present in polypeptides of the invention. Such modifications include, for example, modifications of amino acids by reductive alkylation by reaction with an
25 aldehyde followed by reduction with NaBH_4 , amidination with methylacetimidate or acylation with acetic anhydride.

Polypeptides of the invention will be in substantially isolated form. It will be understood that the polypeptides may be mixed with carriers or diluents which will not
30 interfere with the intended purpose of the polypeptide and still be regarded as substantially isolated. A polypeptide of the invention may also be in substantially purified form, in which case it will generally comprise the polypeptide in a preparation in

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

10

which more than 90%, for example more than 95%, 98% or 99%, by weight of polypeptide in the preparation is a polypeptide of the invention.

Polynucleotides

5

The invention also includes isolated nucleotide sequences that encode HuIFRG 68.1 protein or a variant thereof as well as isolated nucleotide sequences which are complementary thereto. The nucleotide sequence may be DNA or RNA, single or double stranded, including genomic DNA, synthetic DNA or cDNA. Preferably the nucleotide

10

sequence is a DNA sequence and most preferably, a cDNA sequence.

As indicated above, such a polynucleotide will typically include a sequence comprising:

- (a) the nucleic acid of SEQ. ID. No. 1 or SEQ. ID. No. 3 or the coding sequence thereof and/or a sequence complementary thereto;
- (b) a sequence which hybridises, e.g. under stringent conditions, to a sequence complementary to a sequence as defined in (a);
- (c) a sequence which is degenerate as a result of the genetic code to a sequence as defined in (a) or (b);
- (d) a sequence having at least 60% identity to a sequence as defined in (a), (b) or (c).

15

20

Polynucleotides comprising an appropriate coding sequence can be isolated from human cells or synthesised according to methods well known in the art, as described by way of example in Sambrook *et al.* (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

25

Polynucleotides of the invention may include within them synthetic or modified nucleotides. A number of different types of modification to polynucleotides are known in the art. These include methylphosphonate and phosphothioate backbones, addition of acridine or polylysine chains at the 3' and/or 5' ends of the molecule. Such modifications may be carried out in order to enhance the *in vivo* activity or lifespan of polynucleotides of the invention.

30

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

11

Typically a polynucleotide of the invention will include a sequence of nucleotides, which may preferably be a contiguous sequence of nucleotides, which is capable of hybridising under selective conditions to the coding sequence or the complement of the coding sequence of SEQ. ID. No. 1 or SEQ. ID. No. 3. Such hybridisation will occur at a level significantly above background. Background hybridisation may occur, for example, because of other cDNAs present in a cDNA library. The signal level generated by the interaction between a polynucleotide of the invention and the coding sequence or complement of the coding sequence of SEQ. ID. No. 1 or SEQ. ID. No. 3 will typically be at least 10 fold, preferably at least 100 fold, as intense as interactions between other polynucleotides and the coding sequence of SEQ. ID. No. 1 or SEQ. ID. No. 3. The intensity of interaction may be measured, for example, by radiolabelling the probe, e.g. with ^{32}P . Selective hybridisation may typically be achieved using conditions of low stringency (0.3M sodium chloride and 0.03M sodium citrate at about 40°C), medium stringency (for example, 0.3M sodium chloride and 0.03M sodium citrate at about 50°C) or high stringency (for example, 0.03M sodium chloride and 0.03M sodium citrate at about 60°C).

The coding sequence of SEQ ID No: 1 or SEQ ID No: 3 may be modified by nucleotide substitutions, for example from 1, 2 or 3 to 10, 25, 50 or 100 substitutions. Degenerate substitutions may be made and/or substitutions may be made which would result in a conservative amino acid substitution when the modified sequence is translated, for example as shown in the table above. The coding sequence of SEQ ID NO: 1 or SEQ ID No: 3 may alternatively or additionally be modified by one or more insertions and/or deletions and/or by an extension at either or both ends.

A polynucleotide of the invention capable of selectively hybridising to a DNA sequence selected from SEQ. ID No.1 or 3, the coding sequence thereof and DNA sequences complementary thereto will be generally at least 70%, preferably at least 80 or 90% and more preferably at least 95% or 97%, homologous to the target sequence. This homology may typically be over a region of at least 20, preferably at least 30, for instance at least 40, 60 or 100 or more contiguous nucleotides.

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

12

Any combination of the above mentioned degrees of homology and minimum sized may be used to define polynucleotides of the invention, with the more stringent combinations (i.e. higher homology over longer lengths) being preferred. Thus for
5 example a polynucleotide which is at least 80% homologous over 25, preferably over 30 nucleotides forms may be found suitable, as may be a polynucleotide which is at least 90% homologous over 40 nucleotides.

Homologues of polynucleotide or protein sequences as referred to herein may be
10 determined in accordance with well-known means of homology calculation, e.g. protein homology may be calculated on the basis of amino acid identity (sometimes referred to as "hard homology"). For example the UWGCG Package provides the BESTFIT program which can be used to calculate homology, for example used on its default settings, (Devereux *et al.* (1984) *Nucleic Acids Research* **12**, 387-395). The PILEUP
15 and BLAST algorithms can be used to calculate homology or line up sequences or to identify equivalent or corresponding sequences, typically used on their default settings, for example as described in Altschul S. F. (1993) *J. Mol. Evol.* **36**,290-300; Altschul, S. F. *et al.* (1990) *J. Mol. Biol.* **215**,403-10.

20 Software for performing BLAST analyses is publicly available through the National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). This algorithm involves first identifying high scoring sequence pairs (HSPs) by identifying short words of length W in the query sequence that either match or satisfy some positive-valued threshold score T when aligned with a word of the same length in a database
25 sequence. T is referred to as the neighbourhood word score threshold (Altschul *et al.*, supra). These initial neighbourhood word hits act as seeds for initiating searches to find HSPs containing them. The word hits are extended in both directions along each sequence for as far as the cumulative alignment score can be increased. Extensions for the word hits in each direction are halted when: the cumulative alignment score falls off
30 by the quantity X from its maximum achieved value; the cumulative score goes to zero or below, due to the accumulation of one or more negative-scoring residue alignments; or the end of either sequence is reached. The BLAST algorithm parameters W, T and X

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

13

determine the sensitivity and speed of the alignment. The BLAST program uses as defaults a word length (W) of 11, the BLOSUM62 scoring matrix (see Henikoff and Henikoff (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA **89**,10915-10919) alignments (B) of 50, expectation (E) of 10, M=5, N=4, and a comparison of both strands.

5

The BLAST algorithm performs a statistical analysis of the similarity between two sequences; see e.g., Karlin and Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-5787. One measure of similarity provided by the BLAST algorithm is the smallest sum probability (P(N)), which provides an indication of the probability by which a match
10 between two nucleotide or amino acid sequences would occur by chance. For example, a sequence is considered similar to another sequence if the smallest sum probability in comparison of the first sequence to the second sequence is less than about 1, preferably less than about 0.1, more preferably less than about 0.01, and most preferably less than about 0.001.

15

Polynucleotides according to the invention have utility in production of the proteins according to the invention, which may take place *in vitro*, *in vivo* or *ex vivo*. In such a polynucleotide, the coding sequence for the desired protein of the invention will be operably-linked to a promoter sequence which is capable of directing expression of
20 the desired protein in the chosen host cell. Such a polynucleotide will generally be in the form of an expression vector. Polynucleotides of the invention, e.g. in the form of an expression vector, which direct expression *in vivo* of a polypeptide of the invention having immunomodulatory activity and/or anti-viral activity and/or anti-tumour activity may also be used as a therapeutic agent.

25

Expression vectors for such purposes may be constructed in accordance with conventional practices in the art of recombinant DNA technology. They may, for example, involve the use of plasmid DNA. They may be provided with an origin of replication. Such a vector may contain one or more selectable marker genes, for example
30 an ampicillin resistance gene in the case of a bacterial plasmid. Other features of vectors of the invention may include appropriate initiators, enhancers and other elements, such as for example polyadenylation signals which may be desirable, and which are

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

14

positioned in the correct orientation, in order to allow for protein expression. Other suitable non-plasmid vectors would be apparent to persons skilled in the art. By way of further example in this regard reference is made again to Sambrook *et al.*, 1989 (*supra*). Such vectors additionally include, for example, viral vectors. Examples of suitable viral
5 vectors include herpes simplex viral vectors, replication-defective retroviruses, including lentiviruses, adenoviruses, adeno-associated virus, HPV viruses (such as HPV-16 and HPV-18) and attenuated influenza virus vectors.

Promoters and other expression regulation signals may be selected to be
10 compatible with the host cell for which expression is designed. For example, yeast promoters include *S. cerevisiae* GAL4 and ADH promoters, *S. pombe* *nmr1* and *adh* promoter. Mammalian promoters include the metallothionein promoter which can be induced in response to heavy metals such as cadmium and β -actin promoters. Viral promoters such as the SV40 large T antigen promoter or adenovirus promoters may also
15 be used. Other examples of viral promoters which may be employed include the Moloney murine leukemia virus long terminal repeat (MMLV LTR), the rous sarcoma virus (RSV) LTR promoter, the human cytomegalovirus (CMV) IE promoter, and HPV promoters, particularly the HPV upstream regulatory region (URR). Other suitable promoters will be well-known to those skilled in the recombinant DNA art.

20 An expression vector of the invention may further include sequences flanking the coding sequence for the desired polypeptide of the invention providing sequences homologous to eukaryotic genomic sequences, preferably mammalian genomic sequences, or viral genomic sequences. This will allow the introduction of such
25 polynucleotides of the invention into the genome of eukaryotic cells or viruses by homologous recombination. In particular, a plasmid vector comprising the expression cassette flanked by viral sequences can be used to prepare a viral vector suitable for delivering the polynucleotides of the invention to a mammalian cell.

30 The invention also includes cells *in vitro*, for example prokaryotic or eukaryotic cells, which have been modified to express the HuiFRG 68.1 protein or a variant thereof. Such cells include stable, e.g. eukaryotic, cell lines wherein a polynucleotide encoding HuiFRG 68.1 protein or a variant thereof is incorporated into the host genome. Host cells

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

15

of the invention may be mammalian cells or insect cells, lower eukaryotic cells, such as yeast or prokaryotic cells such as bacterial cells. Particular examples of cells which may be modified by insertion of vectors encoding for a polypeptide according to the invention include mammalian HEK293T, CHO, HeLa and COS cells. Preferably a cell line may
5 be chosen which is not only stable, but also allows for mature glycosylation of a polypeptide. Expression may, for example, be achieved in transformed oocytes.

A polypeptide of the invention may be expressed in cells of a transgenic non-human animal, preferably a mouse. A transgenic non-human animal capable of
10 expressing a polypeptide of the invention is included within the scope of the invention.

Polynucleotides according to the invention may also be inserted into vectors as described above in an antisense orientation in order to provide for the production of antisense sequences. Antisense RNA or other antisense polynucleotides may also be
15 produced by synthetic means.

A polynucleotide, e.g. in the form of an expression vector, capable of expressing *in vivo* an antisense sequence to a coding sequence for the amino acid sequence defined by SEQ. ID. No. 2, or a naturally-occurring variant thereof, for example that defined by
20 SEQ ID No. 4, for use in therapeutic treatment of a human or non-human animal is also envisaged as constituting an additional aspect of the invention. Such a polynucleotide will find use in treatment of diseases associated with upregulation of HULFRG 68.1 protein.

Polynucleotides of the invention extend to sets of primers for nucleic acid
25 amplification which target sequences within the cDNA for a polypeptide of the invention, e.g. pairs of primers for PCR amplification. The invention also provides probes suitable for targeting a sequence within a cDNA or RNA for a polypeptide of the invention which may be labelled with a revealing label, e.g. a radioactive label or a non-
30 radioactive label such as an enzyme or biotin. Such probes may be attached to a solid support. Such a solid support may be a micro-array (also commonly referred to as nucleic acid, probe or DNA chip) carrying probes for further nucleic acids, e.g. mRNAs or amplification products thereof corresponding to other Type 1 interferon upregulated

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

16

genes, e.g. such genes identified as upregulated in response to oromucosal or intravenous administration of IFN- α . Methods for constructing such micro-arrays are well-known (see, for example, EP-B 0476014 and 0619321 of Affymax Technologies N.V. and Nature Genetics Supplement January 1999 entitled "The Chipping Forecast").

5

The nucleic acid sequence of such a primer or probe will preferably be at least 10, preferably at least 15 or at least 20, for example at least 25, at least 30 or at least 40 nucleotides in length. It may, however, be up to 40, 50, 60, 70, 100 or 150 nucleotides in length or even longer.

10

Another aspect of the invention is the use of probes or primers of the invention to identify mutations in HULFRG 68.1 genes, for example single nucleotide polymorphisms (SNPs).

15

As indicated above, in a still further aspect the present invention provides a method of identifying a compound having immunomodulatory activity and/or antiviral activity and/or anti-tumour activity comprising providing a cell capable of expressing HULFRG 68.1 protein or a naturally-occurring variant thereof, incubating said cell with a compound under test and monitoring for upregulation of HULFRG 68.1 gene expression.

20

Such monitoring may be by probing for mRNA encoding HULFRG 68.1 protein or a naturally-occurring variant thereof. Alternatively antibodies or antibody fragments capable of specifically binding one or more of HULFRG 68.1 and naturally-occurring variants thereof may be employed.

25

Antibodies

According to another aspect, the present invention also relates to antibodies (for example polyclonal or preferably monoclonal antibodies, chimeric antibodies, humanised antibodies and fragments thereof which retain antigen-binding capability)

30

which have been obtained by conventional techniques and are specific for a polypeptide of the invention. Such antibodies could, for example, be useful in purification, isolation or screening methods involving immunoprecipitation and may be used as tools to further

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

17

elucidate the function of HuIFRG 68.1 protein or a variant thereof. They may be therapeutic agents in their own right. Such antibodies may be raised against specific epitopes of proteins according to the invention. An antibody specifically binds to a protein when it binds with high affinity to the protein for which it is specific but does not
5 bind or binds with only low affinity to other proteins. A variety of protocols for competitive binding or immunoradiometric assays to determine the specific binding capability of an antibody are well-known.

Pharmaceutical compositions

10

A polypeptide of the invention is typically formulated for administration with a pharmaceutically acceptable carrier or diluent. The pharmaceutical carrier or diluent may be, for example, an isotonic solution. For example, solid oral forms may contain, together with the active compound, diluents, e.g. lactose, dextrose, saccharose, cellulose,
15 corn starch or potato starch; lubricants, e.g. silica, talc, stearic acid, magnesium or calcium stearate, and/or polyethylene glycols; binding agents; e.g. starches, arabic gums, gelatin, methyl cellulose, carboxymethylcellulose or polyvinyl pyrrolidone; desegregating agents, e.g. starch, alginic acid, alginates or sodium starch glycolate; effervescent mixtures; dyestuffs; sweeteners; wetting agents, such as lecithin,
20 polysorbates, laurylsulphates; and, in general, non-toxic and pharmacologically inactive substances used in pharmaceutical formulations. Such pharmaceutical preparations may be manufactured in known manner, for example, by means of mixing, granulating, tableting, sugar-coating, or film coating processes.

25

Liquid dispersions for oral administration may be syrups, emulsions and suspensions. The syrups may contain as carriers, for example, saccharose or saccharose with glycerine and/or mannitol and/or sorbitol.

30

Suspensions and emulsions may contain as carrier, for example a natural gum, agar, sodium alginate, pectin, methyl cellulose, carboxymethylcellulose, or polyvinyl alcohol. The suspensions or solutions for intramuscular injections may contain, together with the active compound, a pharmaceutically acceptable carrier, e.g. sterile water, olive

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

18

oil, ethyl oleate, glycols, e.g. propylene glycol, and if desired, a suitable amount of lidocaine hydrochloride.

5 Solutions for intravenous administration or infusions may contain as carrier, for example, sterile water or preferably they may be in the form of sterile, aqueous, isotonic saline solutions.

A suitable dose of HuIFRG 68.1 protein or a functional analogue thereof for use in accordance with the invention may be determined according to various parameters, especially according to the substance used; the age, weight and condition of the patient to be treated; the route of administration; and the required regimen. Again, a physician will be able to determine the required route of administration and dosage for any particular patient. A typical daily dose may be from about 0.1 to 50 mg per kg, preferably from about 0.1mg/kg to 10mg/kg of body weight, according to the activity of the specific inhibitor, the age, weight and condition of the subject to be treated, and the frequency and route of administration. Preferably, daily dosage levels may be from 5 mg to 2 g.

A polynucleotide of the invention suitable for therapeutic use will also typically be formulated for administration with a pharmaceutically acceptable carrier or diluent. Such a polynucleotide may be administered by any known technique whereby expression of the desired polypeptide can be attained *in vivo*. For example, the polynucleotide may be introduced by injection, preferably intradermally, subcutaneously or intramuscularly. Alternatively, the nucleic acid may be delivered directly across the skin using a particle-mediated delivery device. A polynucleotide of the invention suitable for therapeutic nucleic acid may alternatively be administered to the oromucosal surface for example by intranasal or oral administration.

A non-viral vector of the invention suitable for therapeutic use may, for example, be packaged into liposomes or into surfactant containing vector delivery particles. Uptake of nucleic acid constructs of the invention may be enhanced by several known transfection techniques, for example those including the use of transfection agents. Examples of these agents include cationic agents, for example calcium phosphate and

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

19

DEAE dextran and lipofectants, for example lipopfectam and transfectam. The dosage of the nucleic acid to be administered can be varied. Typically, the nucleic acid will be administered in the range of from 1pg to 1mg, preferably from 1pg to 10 μ g nucleic acid for particle-mediated gene delivery and from 10 μ g to 1 mg for other routes.

5

Prediction of Type 1 interferon responsiveness

As also indicated above, in a still further aspect the present invention provides a method of predicting responsiveness of a patient to treatment with a Type 1 interferon, e.g. IFN- α treatment such as IFN- α treatment by an oromucosal route or intravenously, which comprises determining the level of HuIFRG 68.1 protein or a naturally-occurring variant thereof, for example a protein having the amino acid sequence of SEQ ID NO: 2 or SEQ ID NO: 4, or the corresponding mRNA, in a cell sample from said patient, wherein said sample is taken from said patient following administration of a Type 1 interferon or is treated prior to said determining with a Type 1 interferon *in vitro*.

Preferably, the Type 1 interferon for testing responsiveness will be the Type 1 interferon selected for treatment. It may be administered by the proposed treatment route and at the proposed treatment dose. Preferably, the subsequent sample analysed may be, for example, a blood sample or a sample of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) isolated from a blood sample.

More conveniently and preferably, a sample obtained from the patient comprising PBMCs isolated from blood may be treated *in vitro* with a Type 1 interferon, e.g. at a dosage range of about 1 to 10,000 IU/ml. Such treatment may be for a period of hours, e.g. about 7 to 8 hours. Preferred treatment conditions for such *in vitro* testing may be determined by testing PBMCs taken from normal donors with the same interferon and looking for upregulation of an appropriate expression product. Again, the Type 1 interferon employed will preferably be the Type 1 interferon proposed for treatment of the patient, e.g. recombinant IFN- α . PBMCs for such testing may be isolated in conventional manner from a blood sample using Ficoll-Hypaque density

25
30

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

20

gradients. An example of a suitable protocol for such *in vitro* testing of Type 1 interferon responsiveness is provided in Example 3 below.

5 The sample, if appropriate after *in vitro* treatment with a Type 1 interferon, may be analysed for the level of HuIFRG 68.1 protein or a naturally-occurring variant thereof. This may be done using an antibody or antibodies capable of specifically binding one or more of HuIFRG 68.1 protein and naturally-occurring variants thereof, e.g. allelic variants thereof. Preferably, however, the sample will be analysed for mRNA encoding HuIFRG 68.1 protein or a naturally-occurring variant thereof. Such mRNA analysis may 10 employ any of the techniques known for detection of mRNAs, e.g. Northern blot detection or mRNA differential display. A variety of known nucleic acid amplification protocols may be employed to amplify any mRNA of interest present in the sample, or a portion thereof, prior to detection. The mRNA of interest, or a corresponding amplified nucleic acid, may be probed for using a nucleic acid probe attached to a solid support. 15 Such a solid support may be a micro-array as previously discussed above carrying probes to determine the level of further mRNAs or amplification products thereof corresponding to Type 1 interferon upregulated genes, e.g. such genes identified as upregulated in response to oromucosal or intravenous administration of IFN- α .

20 The following examples illustrate the invention:

Examples

Example 1

25

Previous experiments had shown that the application of 5 μ l of crystal violet to each nostril of a normal adult mouse using a P20 Eppendorf micropipette resulted in an almost immediate distribution of the dye over the whole surface of the oropharyngeal 30 cavity. Staining of the oropharyngeal cavity was still apparent some 30 minutes after application of the dye. These results were confirmed by using 125 I-labelled recombinant human IFN- α 1-8 applied in the same manner. The same method of administration was employed to effect oromucosal administration in the studies which are described below.

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

21

Six week old, male DBA/2 mice were treated with either 100,000 IU of recombinant murine interferon α (IFN α) purchased from Life Technologies Inc, in phosphate buffered saline (PBS), 10 μ g of recombinant human interleukin 15 (IL-15) purchased from Protein Institute Inc, PBS containing 100 μ g/ml of bovine serum albumin (BSA), or left untreated. Eight hours later, the mice were sacrificed by cervical dislocation and the lymphoid tissue was removed surgically from the oropharyngeal cavity and snap frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C. RNA was extracted from the lymphoid tissue by the method of Chomczynski and Sacchi 1987, (Anal. Biochem. **162**, 156-159) and subjected to mRNA Differential Display Analysis (Lang, P. and Pardee, A.B., Science, **257**, 967-971).

Differential Display Analysis

Differential display analysis was carried out using the "Message Clean" and "RNA image" kits of the GenHunter Corporation essentially as described by the manufacturer. Briefly, RNA was treated with RNase-free DNase, and 1 μ g was reverse-transcribed in 100 μ l of reaction buffer using either one or the other of the three one-base anchored oligo-(dT) primers A, C, or G. RNA was also reverse-transcribed using one or the other of the 9 two-base anchored oligo-(dT) primers AA, CC, GG, AC, CA, GA, AG, CG, GC. All the samples to be compared were reverse transcribed in the same experiment, separated into aliquots and frozen. The amplification was performed with only 1 μ l of the reverse transcription sample in 10 μ l of amplification mixture containing *Taq* DNA polymerase and α -³²P dATP (3,000 Ci/mmol). Eighty 5' end (HAP) random sequence primers were used in combination with each of the (HT11) A, C, G, AA, CC, GG, AC, CA, GA, AG, CG or GC primers. Samples were then run on 7% denaturing polyacrylamide gels and exposed to autoradiography. Putative differentially expressed bands were cut out, reamplified according to the instructions of the supplier, and further used as probes to hybridize Northern blots of RNA extracted from the oropharyngeal cavity of IFN treated, IL-15 treated, and excipient treated animals.

Cloning and Sequencing

Re-amplified bands from the differential display screen were cloned in the

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

22

Sfi I site of the pPCR-Script SK(+) plasmid (Stratagene) and cDNAs amplified from the rapid amplification of cDNA ends were isolated by TA cloning in the pCR3 plasmid (Invitrogen). DNA was sequenced using an automatic di-deoxy sequencer (Perkin Elmer ABI PRISM 377).

5

Isolation of Human cDNA

Differentially expressed murine 3' sequences identified from the differential display screen were compared with random human expressed sequence tags (EST) present in the dbEST database of GenBankTM of the United States National Center for Biotechnology Information (NCBI). The sequences potentially related to the murine EST isolated from the differential display screen were combined in a contig and used to construct a human consensus sequence corresponding to a putative cDNA. One such cDNA was found to be 2175 nucleotides in length. This corresponded to a mouse gene whose expression was found to be enhanced approximately 8-fold in the lymphoid tissue of the oral cavity of mice following oromucosal administration of IFN- α .

In order to establish that this putative cDNA corresponded to an authentic human gene, primers derived from the 5' and 3' ends of the consensus sequence were used to synthesise cDNA from mRNA extracted from human peripheral blood leukocytes (PBL) by specific reverse transcription and PCR amplification. A unique cDNA fragment of the predicted size was obtained, cloned and sequenced (SEQ. ID. No.1). This human cDNA contains an open reading frame (ORF) of 1818 bp in length at positions 42-1859 encoding a protein of 605 amino acids with a deduced molecular weight of 68.45 kDa (SEQ. ID. No. 2).

A second cDNA was found to be 3411 nucleotides in length. As described above, a unique cDNA fragment of the predicted size was obtained, cloned and sequenced (SEQ ID No: 3). This human cDNA contains an open reading frame (ORF) of 3297 bp in length at positions 95 to 3391 encoding a protein of 1098 amino acids with deduced molecular weight of 124 kDa (SEQ ID No: 4). The nucleotide sequence of SEQ ID No: 3 is a longer form of the nucleotide sequence of SEQ ID No: 1 and encodes a

30

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

23

variant of the HuIFRG 68.1 protein of SEQ ID No: 2 which is extended at the amino terminus.

Example 2

5

Intravenous administration of IFN- α

Male DBA/2 mice were injected intraperitoneally with 100,000 IU of recombinant murine IFN- α purchased from Life Technologies Inc. in 200 μ l of PBS or treated with an equal volume of PBS alone. Eight hours later, the animals were sacrificed by cervical dislocation and the spleen was removed using conventional procedures. Total RNA was extracted by the method of Chomczynski and Sacchi (Anal. Biochem. (1987) 162,156-159) and 10.0 μ g of total RNA per sample was subjected to Northern blotting in the presence of glyoxal and hybridised with a cDNA probe for HuIFRG 68.1 mRNA as described by Dandoy-Dron et al.(J. Biol. Chem. (1998) 273, 7691-7697). The blots were first exposed to autoradiography and then quantified using a PhosphorImager according to the manufacturer's instructions. Enhanced levels of mRNA for HuIFRG 68.1 protein (approximately 10 fold) were detected in samples of RNA extracted from spleens of IFN- α treated animals relative to animals treated with excipient alone.

20

Example 3

Testing Type 1 interferon responsiveness *in vitro*

Human Daudi, Jurkat or HeLa cells were treated *in vitro* with 10,000 IU of recombinant human IFN- α 2 (Intron A from Schering-Plough) in PBS or with an equal volume of PBS alone. Eight hours later the cells were centrifuged (800 x g for 10 minutes) and the cell pellet recovered. Total RNA was extracted from the cell pellet by the method of Chomczynski and Sacchi and 10.0 μ g of total RNA per sample was subjected to Northern blotting in the presence of glyoxal and hybridised with a cDNA probe for HuIFRG 68.1 mRNA as previously described in Example 2 above and an equivalent cDNA probe for the HuIFRG 68.1 variant described in Example 1. Enhanced

30

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

24

levels of mRNA for HulFRG 68.1 protein (approximately 5-fold) were detected in samples of RNA extracted from IFN- α treated Daudi or HeLa cells compared to samples treated with PBS alone. Enhanced levels of mRNA for HulFRG 68.1 variant protein (approximately 5-fold) were detected in samples of RNA extracted from IFN- α treated Daudi or Jurkat cells compared to samples treated with PBS alone.

The same procedure may be used to predict Type 1 interferon responsiveness using PBMCs taken from a patient proposed to be treated with a Type 1 interferon.

10 Example 4

Expression of HulFRG 68.1 variant mRNA

The HulFRG 68.1 variant coding sequence was amplified and used as a probe to determine the tissue distribution of HulFRG 68.1 variant mRNA. HulFRG 68.1 variant expression was assessed in a wide variety of tissues and was found to be widely expressed.

20

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

25

CLAIMS

1. An isolated polypeptide comprising
 - 5 (i) the amino acid sequence of SEQ ID NO: 2 or SEQ ID NO: 4;
 - (ii) a variant thereof having substantially similar function selected from immunomodulatory activity and/or anti-viral activity and/or anti-tumour activity; or
 - 10 (iii) a fragment of (i) or (ii) which retains substantially similar function selected from immunomodulatory activity and/or anti-viral activity and/or anti-tumour activity.
2. A variant or fragment of the polypeptide defined by the amino acid sequence set forth in SEQ. ID. No. 2 or SEQ ID No: 4 suitable for raising specific antibodies
15 for said polypeptide and/or a naturally-occurring variant thereof.
3. A polynucleotide encoding a polypeptide as claimed in claim 1 or 2.
4. A polynucleotide as claimed in claim 3 which is a cDNA.
- 20 5. A polynucleotide encoding a polypeptide as claimed in claim 1, which polynucleotide comprises:
 - 25 (a) the nucleic acid sequence of SEQ ID NO: 1 or SEQ ID NO. 3 or the coding sequence thereof and/or a sequence complementary thereto;
 - (b) a sequence which hybridises to a sequence as defined in (a);
 - (c) a sequence that is degenerate as a result of the genetic code to a sequence as defined in (a) or (b); or
 - 30 (d) a sequence having at least 60% identity to a sequence as defined in (a), (b) or (c).

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

26

6. An expression vector comprising a polynucleotide sequence as claimed in any one of claims 3 to 5, which is capable of expressing a polypeptide according to claim 1 or 2.
- 5 7. A host cell containing an expression vector according to claim 6.
8. An antibody specific for a polypeptide as claimed in claim 1 or claim 2.
9. An isolated polynucleotide which directs expression *in vivo* of a polypeptide as
10 claimed in claim 1.
10. A polypeptide as claimed in claim 1 or a polynucleotide as claimed in claim 9 for use in therapeutic treatment of a human or non-human animal.
- 15 11. A pharmaceutical composition comprising a polypeptide as claimed in claim 1 or a polynucleotide as claimed in claim 9 and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent.
12. Use of a polypeptide as claimed in claim 1 or a polynucleotide as claimed in
20 claim 9 in the preparation of medicament for use in therapy as an anti-viral, anti-tumour or immunomodulatory agent.
13. A method of treating a patient having a Type 1 interferon treatable disease, which comprises administering to said patient an effective amount of a polypeptide as
25 claimed in claim 1 or a polynucleotide as claimed in claim 9.
14. A method of producing a polypeptide according to claim 1 or 2, which method comprises culturing host cells as claimed in claim 7 under conditions suitable for obtaining expression of the polypeptide and isolating the said polypeptide.
30
15. A method of identifying a compound having immunomodulatory activity and/or anti-viral activity and/or anti-tumour activity comprising providing a cell capable

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

27

- of expressing the polypeptide of SEQ. ID. No. 2 or SEQ. ID. No. 4 or a naturally-occurring variant thereof, incubating said cell with a compound under test and monitoring for upregulation of the gene encoding said polypeptide or variant.
- 5 16. A polynucleotide capable of expressing *in vivo* an antisense sequence to a coding sequence for the amino acid sequence defined by SEQ. ID. No.2 or SEQ. ID. No. 4 or a naturally-occurring variant of said coding sequence for use in therapeutic treatment of a human or non-human animal.
- 10 17. An antibody as claimed in claim 8 for use in therapeutic treatment.
18. A set of primers for nucleic acid amplification which target sequences within a cDNA as claimed in claim 4.
- 15 19. A nucleic acid probe derived from a polynucleotide as claimed in any one of claims 3 to 5.
20. A probe as claimed in claim 19 which is attached to a solid support.
- 20 21. A method of predicting responsiveness of a patient to treatment with a Type 1 interferon, which comprises determining the level of the protein defined by the amino acid sequence set forth in SEQ. ID. No. 2 or SEQ. ID. No. 4 or a naturally-occurring variant thereof, or the corresponding mRNA, in a cell sample from said patient, wherein said sample is obtained from said patient following
- 25 administration of a Type 1 interferon or is treated prior to said determining with a Type 1 interferon *in vitro*.
22. A method as claimed in claim 21 wherein the interferon administered prior to obtaining said sample or used to treat said sample *in vitro* is the interferon
- 30 proposed for treatment of said patient.

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

28

23. A method as claimed in claim 21 or claim 22 wherein a sample comprising peripheral blood mononuclear cells isolated from a blood sample of the patient is treated with a Type 1 interferon *in vitro*.
- 5 24. A method as claimed in any one of claims 21 to 23 wherein said determining comprises determining the level of mRNA encoding the protein defined by the sequence set forth in SEQ. ID. No. 2 or SEQ. ID. No. 4 or a naturally-occurring variant of said protein.
- 10 25. A non-human transgenic animal capable of expressing a polypeptide that is claimed in claim 1.

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

1

SEQUENCE LISTING

<110> PHARMA PACIFIC PTY. LTD.

<120> INTERFERON-ALPHA INDUCED GENE

<130> N.81785B JCI

<160> 4

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 2175

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (42)..(1859)

<223>

<400> 1

tcagggtatgt gggcaaagac tattctgctg ctccaggaatt a atg gaa gat gag atg	56
Met Glu Asp Glu Met	
1 5	
aag gaa tat tac agt aag aat cct aag atc aca cca gtc cag gct gtg	104
Lys Glu Tyr Tyr Ser Lys Asn Pro Lys Ile Thr Pro Val Gln Ala Val	
10 15 20	
aat gtt ggg cag ttg ctg gcc gta aat gcc gag gag gac gcc tgg tta	152
Asn Val Gly Gln Leu Leu Ala Val Asn Ala Glu Glu Asp Ala Trp Leu	
25 30 35	
cgg gca cag gtc atc tca aca gaa gag aac aaa ata aag gta tgc tat	200
Arg Ala Gln Val Ile Ser Thr Glu Glu Asn Lys Ile Lys Val Cys Tyr	
40 45 50	
gtt gac tat ggt ttt agt gaa aat gtt gaa aaa agc aaa gca tac aaa	248
Val Asp Tyr Gly Phe Ser Glu Asn Val Glu Lys Ser Lys Ala Tyr Lys	
55 60 65	
tta aac ccg aag ttt tgt tca ctc tca ttt caa gct aca aaa tgt aag	296
Leu Asn Pro Lys Phe Cys Ser Leu Ser Phe Gln Ala Thr Lys Cys Lys	
70 75 80 85	
ctt gca ggc ttg gaa gtc cta agc gat gac cct gat cta gtg aag gtg	344
Leu Ala Gly Leu Glu Val Leu Ser Asp Asp Pro Asp Leu Val Lys Val	
90 95 100	

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

2

gtt gaa tct tta act tgt gga aag atc ttt gca gtg gaa ata ctt gac Val Glu Ser Leu Thr Cys Gly Lys Ile Phe Ala Val Glu Ile Leu Asp 105 110 115	392
aaa gct gac att cca ctt gtt gtt ctg tac gat acc tca gga gaa gat Lys Ala Asp Ile Pro Leu Val Val Leu Tyr Asp Thr Ser Gly Glu Asp 120 125 130	440
gat atc aat atc aat gcc acc tgc ttg aag gct ata tgt gac aag tca Asp Ile Asn Ile Asn Ala Thr Cys Leu Lys Ala Ile Cys Asp Lys Ser 135 140 145	488
cta gag gtt cac ctg cag gtt gac gcc atg tac aca aat gtc aaa gta Leu Glu Val His Leu Gln Val Asp Ala Met Tyr Thr Asn Val Lys Val 150 155 160 165	536
act aat att tgc tct gat ggg aca ctc tac tgc cag gtg cct tgt aag Thr Asn Ile Cys Ser Asp Gly Thr Leu Tyr Cys Gln Val Pro Cys Lys 170 175 180	584
ggg ctg aac aag ctc agt gac ctt cta cgt aag ata gag gac tac ttc Gly Leu Asn Lys Leu Ser Asp Leu Leu Arg Lys Ile Glu Asp Tyr Phe 185 190 195	632
cat tgc aag cac atg acc tct gag tgc ttt gtt tca tta ccc ttc tgt His Cys Lys His Met Thr Ser Glu Cys Phe Val Ser Leu Pro Phe Cys 200 205 210	680
ggg aaa atc tgc ctc ttc cat tgc aaa gga aaa tgg tta cga gta gag Gly Lys Ile Cys Leu Phe His Cys Lys Gly Lys Trp Leu Arg Val Glu 215 220 225	728
atc aca aat gtt cac agc agc cgg gct ctt gat gtt cag ttc ctg gac Ile Thr Asn Val His Ser Ser Arg Ala Leu Asp Val Gln Phe Leu Asp 230 235 240 245	776
tct ggc act gtg aca tct gta aaa gtg tca gag ctc agg gaa att cca Ser Gly Thr Val Thr Ser Val Lys Val Ser Glu Leu Arg Glu Ile Pro 250 255 260	824
cct cgg ttt cta caa gaa atg att gca ata cca cct cag gcc att aag Pro Arg Phe Leu Gln Glu Met Ile Ala Ile Pro Pro Gln Ala Ile Lys 265 270 275	872
tgc tgt tta gca gat ctt cca caa tct att ggc atg tgg aca cca gat Cys Cys Leu Ala Asp Leu Pro Gln Ser Ile Gly Met Trp Thr Pro Asp 280 285 290	920

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

3

gca gtg ctg tgg tta aga gat tct gtt ttg aat tgc tgc gac tgt agc Ala Val Leu Trp Leu Arg Asp Ser Val Leu Asn Cys Ser Asp Cys Ser 295 300 305	968
att aag gtt aca aaa gtg gat gaa acc aga ggg atc gca cat gtt tat Ile Lys Val Thr Lys Val Asp Glu Thr Arg Gly Ile Ala His Val Tyr 310 315 320 325	1016
tta ttt acc cct aag aac ttc cct gac cct cat cgc agt att aat cgc Leu Phe Thr Pro Lys Asn Phe Pro Asp Pro His Arg Ser Ile Asn Arg 330 335 340	1064
cag att aca aat gca gac ttg tgg aag cat cag aag gat gtg ttt ttg Gln Ile Thr Asn Ala Asp Leu Trp Lys His Gln Lys Asp Val Phe Leu 345 350 355	1112
agt gcc ata tcc agt gga gct gac tct ccc aac agc aaa aat ggc aac Ser Ala Ile Ser Ser Gly Ala Asp Ser Pro Asn Ser Lys Asn Gly Asn 360 365 370	1160
atg ccc atg tgc ggc aac act gga gag aat ttc aga aag aac ctc aca Met Pro Met Ser Gly Asn Thr Gly Glu Asn Phe Arg Lys Asn Leu Thr 375 380 385	1208
gat gtc atc aaa aag tcc atg gtg gac cat acg agc gct ttc tcc aca Asp Val Ile Lys Lys Ser Met Val Asp His Thr Ser Ala Phe Ser Thr 390 395 400 405	1256
gag gaa ctg cca cct cct gtc cac tta tca aag cca ggg gaa cac atg Glu Glu Leu Pro Pro Pro Val His Leu Ser Lys Pro Gly Glu His Met 410 415 420	1304
gat gtg tat gtg cct gtg gcc tgt cac cca ggc tac ttc gtc atc cag Asp Val Tyr Val Pro Val Ala Cys His Pro Gly Tyr Phe Val Ile Gln 425 430 435	1352
cct tgg cag gag ata cat aag ttg gaa gtt ctg atg gaa gag atg att Pro Trp Gln Glu Ile His Lys Leu Glu Val Leu Met Glu Glu Met Ile 440 445 450	1400
cta tat tac agc gtg tct gaa gag cgc cac ata gca gtg gag aaa gac Leu Tyr Tyr Ser Val Ser Glu Glu Arg His Ile Ala Val Glu Lys Asp 455 460 465	1448
caa gtg tat gct gca aaa gtg gaa aat aag tgg cac agg gtg cit tta Gln Val Tyr Ala Ala Lys Val Glu Asn Lys Trp His Arg Val Leu Leu 470 475 480 485	1496

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

4

aaa gga atc ctg acc aat gga ctg gta tct gtg tat gag ctg gat tat 1544
 Lys Gly Ile Leu Thr Asn Gly Leu Val Ser Val Tyr Glu Leu Asp Tyr
 490 495 500

ggc aaa cac gaa tta gtc aac ata aga aaa gta cag ccc cta gtg gac 1592
 Gly Lys His Glu Leu Val Asn Ile Arg Lys Val Gln Pro Leu Val Asp
 505 510 515

atg ttc cga aag ctg ccc ttc caa gca gtc aca gct caa ctt gca gga 1640
 Met Phe Arg Lys Leu Pro Phe Gln Ala Val Thr Ala Gln Leu Ala Gly
 520 525 530

gtg aag tgc aac cag tgg tct gag gag gct tct atg gtg ttt cga aat 1688
 Val Lys Cys Asn Gln Trp Ser Glu Glu Ala Ser Met Val Phe Arg Asn
 535 540 545

cat gtg gag aag aaa cct ctg gtg gca ctg gtg cag aca gtc att gaa 1736
 His Val Glu Lys Lys Pro Leu Val Ala Leu Val Gln Thr Val Ile Glu
 550 555 560 565

aat gct aac cct tgg gac cgg aaa gta gtg gtc tac tta gtg gac aca 1784
 Asn Ala Asn Pro Trp Asp Arg Lys Val Val Val Tyr Leu Val Asp Thr
 570 575 580

tcg ttg cca gac acc gat acc tgg att cat gat ttt atg tca gag tat 1832
 Ser Leu Pro Asp Thr Asp Thr Trp Ile His Asp Phe Met Ser Glu Tyr
 585 590 595

ctg ata gag ctt tca aaa gtt aat taa tgactgctc tgaaaccttg 1879
 Leu Ile Glu Leu Ser Lys Val Asn
 600 605

acaactaatt cagatTTTTT agcaataaca aaatgtagta ggcitaaaaa aaatctaac 1939

tctgctacat ggctctgact gctgtggggg attgaaaaga atatgcttat gtttgatgaa 1999

agatatTTTaa caagTTTTgt tTTaacagag ttgactTTtc aaagaaaatt gtacttgaat 2059

tattactata atattagaat aaaaatgttt atcaatataa aaaaaaaaaa aaaaaaacTc 2119

gaggggggggc ccgggaccca attcgcccta tagggagtcg ttttacaatt cactgg 2175

<210> 2
 <211> 605
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

5

Met Glu Asp Glu Met Lys Glu Tyr Tyr Ser Lys Asn Pro Lys Ile Thr
 1 5 10 15
 Pro Val Gln Ala Val Asn Val Gly Gln Leu Leu Ala Val Asn Ala Glu
 20 25 30
 Glu Asp Ala Trp Leu Arg Ala Gln Val Ile Ser Thr Glu Glu Asn Lys
 35 40 45
 Ile Lys Val Cys Tyr Val Asp Tyr Gly Phe Ser Glu Asn Val Glu Lys
 50 55 60
 Ser Lys Ala Tyr Lys Leu Asn Pro Lys Phe Cys Ser Leu Ser Phe Gln
 65 70 75 80
 Ala Thr Lys Cys Lys Leu Ala Gly Leu Glu Val Leu Ser Asp Asp Pro
 85 90 95
 Asp Leu Val Lys Val Val Glu Ser Leu Thr Cys Gly Lys Ile Phe Ala
 100 105 110
 Val Glu Ile Leu Asp Lys Ala Asp Ile Pro Leu Val Val Leu Tyr Asp
 115 120 125
 Thr Ser Gly Glu Asp Asp Ile Asn Ile Asn Ala Thr Cys Leu Lys Ala
 130 135 140
 Ile Cys Asp Lys Ser Leu Glu Val His Leu Gln Val Asp Ala Met Tyr
 145 150 155 160
 Thr Asn Val Lys Val Thr Asn Ile Cys Ser Asp Gly Thr Leu Tyr Cys
 165 170 175
 Gln Val Pro Cys Lys Gly Leu Asn Lys Leu Ser Asp Leu Leu Arg Lys
 180 185 190
 Ile Glu Asp Tyr Phe His Cys Lys His Met Thr Ser Glu Cys Phe Val
 195 200 205
 Ser Leu Pro Phe Cys Gly Lys Ile Cys Leu Phe His Cys Lys Gly Lys
 210 215 220
 Trp Leu Arg Val Glu Ile Thr Asn Val His Ser Ser Arg Ala Leu Asp
 225 230 235 240
 Val Gln Phe Leu Asp Ser Gly Thr Val Thr Ser Val Lys Val Ser Glu
 245 250 255
 Leu Arg Glu Ile Pro Pro Arg Phe Leu Gln Glu Met Ile Ala Ile Pro
 260 265 270

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

6

Pro Gln Ala Ile Lys Cys Cys Leu Ala Asp Leu Pro Gln Ser Ile Gly
 275 280 285
 Met Trp Thr Pro Asp Ala Val Leu Trp Leu Arg Asp Ser Val Leu Asn
 290 295 300
 Cys Ser Asp Cys Ser Ile Lys Val Thr Lys Val Asp Glu Thr Arg Gly
 305 310 315 320
 Ile Ala His Val Tyr Leu Phe Thr Pro Lys Asn Phe Pro Asp Pro His
 325 330 335
 Arg Ser Ile Asn Arg Gln Ile Thr Asn Ala Asp Leu Trp Lys His Gln
 340 345 350
 Lys Asp Val Phe Leu Ser Ala Ile Ser Ser Gly Ala Asp Ser Pro Asn
 355 360 365
 Ser Lys Asn Gly Asn Met Pro Met Ser Gly Asn Thr Gly Glu Asn Phe
 370 375 380
 Arg Lys Asn Leu Thr Asp Val Ile Lys Lys Ser Met Val Asp His Thr
 385 390 395 400
 Ser Ala Phe Ser Thr Glu Glu Leu Pro Pro Val His Leu Ser Lys
 405 410 415
 Pro Gly Glu His Met Asp Val Tyr Val Pro Val Ala Cys His Pro Gly
 420 425 430
 Tyr Phe Val Ile Gln Pro Trp Gln Glu Ile His Lys Leu Glu Val Leu
 435 440 445
 Met Glu Glu Met Ile Leu Tyr Tyr Ser Val Ser Glu Glu Arg His Ile
 450 455 460
 Ala Val Glu Lys Asp Gln Val Tyr Ala Ala Lys Val Glu Asn Lys Trp
 465 470 475 480
 His Arg Val Leu Leu Lys Gly Ile Leu Thr Asn Gly Leu Val Ser Val
 485 490 495
 Tyr Glu Leu Asp Tyr Gly Lys His Glu Leu Val Asn Ile Arg Lys Val
 500 505 510
 Gln Pro Leu Val Asp Met Phe Arg Lys Leu Pro Phe Gln Ala Val Thr
 515 520 525

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

7

Ala Gln Leu Ala Gly Val Lys Cys Asn Gln Trp Ser Glu Glu Ala Ser
 530 535 540

Met Val Phe Arg Asn His Val Glu Lys Lys Pro Leu Val Ala Leu Val
 545 550 555 560

Gln Thr Val Ile Glu Asn Ala Asn Pro Trp Asp Arg Lys Val Val Val
 565 570 575

Tyr Leu Val Asp Thr Ser Leu Pro Asp Thr Asp Thr Trp Ile His Asp
 580 585 590

Phe Met Ser Glu Tyr Leu Ile Glu Leu Ser Lys Val Asn
 595 600 605

<210> 3

<211> 3411

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (95)..(3391)

<223>

<400> 3
 ccggcggcag gagctgggccc cctggcggag acggcggcag gagctgggccc cagagacgcg 60

gggacgggccc gtgggcccc ggaacgagc aaag atg ctg gaa gga gat ctg gtt 115
 Met Leu Glu Gly Asp Leu Val
 1 5

tca aag atg cta cga gct gtt ctg cag tct cat aag aat gga gta gca 163
 Ser Lys Met Leu Arg Ala Val Leu Gln Ser His Lys Asn Gly Val Ala
 10 15 20

tta ccc cgg ctc caa gga gag tac aga tcc ttg act gga gac tgg atc 211
 Leu Pro Arg Leu Gln Gly Glu Tyr Arg Ser Leu Thr Gly Asp Trp Ile
 25 30 35

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

8

ccc ttc aaa cag cta ggt ttc cct aca cta gaa gcc tat ctg aga agt Pro Phe Lys Gln Leu Gly Phe Pro Thr Leu Glu Ala Tyr Leu Arg Ser 40 45 50 55	259
gtg cca gca gtg gtc agg ata gag act rgt aga tct gga gag att acc Val Pro Ala Val Val Arg Ile Glu Thr Xaa Arg Ser Gly Glu Ile Thr 60 65 70	307
tgc tat gcc atg gcc tgc aca gaa act gca aga att gct cag ctt gtg Cys Tyr Ala Met Ala Cys Thr Glu Thr Ala Arg Ile Ala Gln Leu Val 75 80 85	355
gct cgt caa agg agt tct aaa agg aaa acc ggg cgt caa gtt aat tgt Ala Arg Gln Arg Ser Ser Lys Arg Lys Thr Gly Arg Gln Val Asn Cys 90 95 100	403
cag atg aga gtg aag aaa acc atg cca ttt ttt cta gaa gga aaa cca Gln Met Arg Val Lys Lys Thr Met Pro Phe Phe Leu Glu Gly Lys Pro 105 110 115	451
aaa gca acc ctc aga caa cca gga ttt gct tca aat ttt tct gtt ggc Lys Ala Thr Leu Arg Gln Pro Gly Phe Ala Ser Asn Phe Ser Val Gly 120 125 130 135	499
aaa aaa cct aat cca gca ccg tta aga gac aaa gga aac tct gtt gga Lys Lys Pro Asn Pro Ala Pro Leu Arg Asp Lys Gly Asn Ser Val Gly 140 145 150	547
gtt aag cct gat gct gaa atg tct cct tat atg cta cac aca act ctt Val Lys Pro Asp Ala Glu Met Ser Pro Tyr Met Leu His Thr Thr Leu 155 160 165	595
gga aat gaa gca ttc aaa gac att cca gtg caa agg cat gtg acc atg Gly Asn Glu Ala Phe Lys Asp Ile Pro Val Gln Arg His Val Thr Met 170 175 180	643
tcc acc aac aac agg ttt agc cca aag gcg tcc ctt caa cca cct ttg Ser Thr Asn Asn Arg Phe Ser Pro Lys Ala Ser Leu Gln Pro Pro Leu 185 190 195	691
cag atg cat ctc tca aga acc tct act aag gaa atg agt gat aat tta Gln Met His Leu Ser Arg Thr Ser Thr Lys Glu Met Ser Asp Asn Leu 200 205 210 215	739
aat cag act gtt gaa aaa ccc aat gtc aag cct cct gcc tct tac act Asn Gln Thr Val Glu Lys Pro Asn Val Lys Pro Pro Ala Ser Tyr Thr 220 225 230	787

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

9

tat aaa atg gat gag gtt caa aat cgc ata aag gaa ata cta aac aag Tyr Lys Met Asp Glu Val Gln Asn Arg Ile Lys Glu Ile Leu Asn Lys 235 240 245	835
cat aac aat ggc att tgg ata tct aag ctt cca cat ttt tac aaa gag His Asn Asn Gly Ile Trp Ile Ser Lys Leu Pro His Phe Tyr Lys Glu 250 255 260	883
tta tat aaa gaa gac ctt aat caa gga att tta caa cag ttt gaa cac Leu Tyr Lys Glu Asp Leu Asn Gln Gly Ile Leu Gln Gln Phe Glu His 265 270 275	931
tgg cct cat att tgc acg gtg gag aaa cct tgc agt ggt ggc caa gat Trp Pro His Ile Cys Thr Val Glu Lys Pro Cys Ser Gly Gly Gln Asp 280 285 290 295	979
tta ctt ctt tat cca gct aag aga aag cag ctt ttg aga agt gaa ctg Leu Leu Leu Tyr Pro Ala Lys Arg Lys Gln Leu Leu Arg Ser Glu Leu 300 305 310	1027
gat act gag aaa gta cct cta tcc cca cta cct ggt ccc aaa caa aca Asp Thr Glu Lys Val Pro Leu Ser Pro Leu Pro Gly Pro Lys Gln Thr 315 320 325	1075
cca ccg ttg aaa ggg tgt cca aca gtt atg gca gga gac ttt aaa gaa Pro Pro Leu Lys Gly Cys Pro Thr Val Met Ala Gly Asp Phe Lys Glu 330 335 340	1123
aaa gtg gca gac ctg ctg gtg aaa tac aca agt ggc ctt tgg gcc agt Lys Val Ala Asp Leu Leu Val Lys Tyr Thr Ser Gly Leu Trp Ala Ser 345 350 355	1171
gca ctt ccg aaa gca ttt gag gaa atg tac aaa gtg aaa ttc cct gag Ala Leu Pro Lys Ala Phe Glu Glu Met Tyr Lys Val Lys Phe Pro Glu 360 365 370 375	1219
gat gcc tta aaa aat ctt gcc tca ctt tct gat gta tgc agc ata gac Asp Ala Leu Lys Asn Leu Ala Ser Leu Ser Asp Val Cys Ser Ile Asp 380 385 390	1267
tac att tct gga aat ccc cag aag gcc att ctc tat gct aaa ctt cca Tyr Ile Ser Gly Asn Pro Gln Lys Ala Ile Leu Tyr Ala Lys Leu Pro 395 400 405	1315
ttg ccc act gac aaa atc caa aag gat gca ggg caa gca cat ggt gat Leu Pro Thr Asp Lys Ile Gln Lys Asp Ala Gly Gln Ala His Gly Asp 410 415 420	1363

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

10

aat gat atc aag gct atg gtt gaa caa gag tat ttg cag gta gaa gaa Asn Asp Ile Lys Ala Met Val Glu Gln Glu Tyr Leu Gln Val Glu Glu 425 430 435	1411
agc att gct gaa agt gct aat acc ttt atg gag gac ata aca gtt cct Ser Ile Ala Glu Ser Ala Asn Thr Phe Met Glu Asp Ile Thr Val Pro 440 445 450 455	1459
cct tta atg att cca act gaa gca tca cca tct gta ttg gtg gtt gaa Pro Leu Met Ile Pro Thr Glu Ala Ser Pro Ser Val Leu Val Val Glu 460 465 470	1507
ctg agc aac aca aat gaa gtg gtt atc agg tat gtg ggc aaa gac tat Leu Ser Asn Thr Asn Glu Val Val Ile Arg Tyr Val Gly Lys Asp Tyr 475 480 485	1555
tct gct gct cag gaa tta atg gaa gat gag atg aag gaa tat tac agt Ser Ala Ala Gln Glu Leu Met Glu Asp Glu Met Lys Glu Tyr Tyr Ser 490 495 500	1603
aag aat cct aag atc aca cca gtc cag gct gtg aat gtt ggg cag ttg Lys Asn Pro Lys Ile Thr Pro Val Gln Ala Val Asn Val Gly Gln Leu 505 510 515	1651
ctg gcc gta aat gcc gag gag gac gcc tgg tta cgg gca cag gtc atc Leu Ala Val Asn Ala Glu Glu Asp Ala Trp Leu Arg Ala Gln Val Ile 520 525 530 535	1699
tca aca gaa gag aac aaa ata aag gta tgc tat gtt gac tat ggt ttt Ser Thr Glu Glu Asn Lys Ile Lys Val Cys Tyr Val Asp Tyr Gly Phe 540 545 550	1747
agt gaa aat gtt gaa aaa agc aaa gca tac aaa tta aac ccg aag ttt Ser Glu Asn Val Glu Lys Ser Lys Ala Tyr Lys Leu Asn Pro Lys Phe 555 560 565	1795
tgt tca ctc tca ttt caa gct aca aaa tgt aag ctt gca ggc ttg gaa Cys Ser Leu Ser Phe Gln Ala Thr Lys Cys Lys Leu Ala Gly Leu Glu 570 575 580	1843
gtc cta agc gat gac cct gat cta gtg aag gtg gtt gaa tct tta act Val Leu Ser Asp Asp Pro Asp Leu Val Lys Val Val Glu Ser Leu Thr 585 590 595	1891
tgt gga aag atc ttt gca gtg gaa ata ctt gac aaa gct gac att cca Cys Gly Lys Ile Phe Ala Val Glu Ile Leu Asp Lys Ala Asp Ile Pro 600 605 610 615	1939

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

11

ctt gtt gtt ctg tac gat acc tcr gga gaa gat gat atc aat atc aat Leu Val Val Leu Tyr Asp Thr Xaa Gly Glu Asp Asp Ile Asn Ile Asn 620 625 630	1987
gcc acc tgc ttg aag gct ata tgt gac aag tca cta gag gtt cac ctg Ala Thr Cys Leu Lys Ala Ile Cys Asp Lys Ser Leu Glu Val His Leu 635 640 645	2035
cag gtt gac gcc atg tac aca aat gtc aaa gta act aat att tgc tct Gln Val Asp Ala Met Tyr Thr Asn Val Lys Val Thr Asn Ile Cys Ser 650 655 660	2083
gat ggg aca ctc tac tgc cag gtg cct tgt aag ggt ctg aac aag ctc Asp Gly Thr Leu Tyr Cys Gln Val Pro Cys Lys Gly Leu Asn Lys Leu 665 670 675	2131
agt gac ctt cta cgt aag ata gag gac tac ttc cat tgc aag cac atg Ser Asp Leu Leu Arg Lys Ile Glu Asp Tyr Phe His Cys Lys His Met 680 685 690 695	2179
acc tct gag tgc ttt gtt tca tta ccc ttc tgt ggg aaa atc tgc ctc Thr Ser Glu Cys Phe Val Ser Leu Pro Phe Cys Gly Lys Ile Cys Leu 700 705 710	2227
ttc cat tgc aaa gga aaa tgg tta cga gta gag atc aca aat gtt cac Phe His Cys Lys Gly Lys Trp Leu Arg Val Glu Ile Thr Asn Val His 715 720 725	2275
agc agc cgg gct ctt gat gtt cag ttc ctg gac tct ggc act gtg aca Ser Ser Arg Ala Leu Asp Val Gln Phe Leu Asp Ser Gly Thr Val Thr 730 735 740	2323
tct gta aaa gtg tca gag ctc agg gaa att cca cct cgg ttt cta caa Ser Val Lys Val Ser Glu Leu Arg Glu Ile Pro Pro Arg Phe Leu Gln 745 750 755	2371
gaa atg att gca ata cca cct cag gcc att aag tgc tgt tta gca gat Glu Met Ile Ala Ile Pro Pro Gln Ala Ile Lys Cys Cys Leu Ala Asp 760 765 770 775	2419
ctt cca caa tct att ggc atg tgg aca cca gat gca gtg ctg tgg tta Leu Pro Gln Ser Ile Gly Met Trp Thr Pro Asp Ala Val Leu Trp Leu 780 785 790	2467
aga gat tct gtt ttg aat tgc tcg gac tgt agc att aag gtt aca aaa Arg Asp Ser Val Leu Asn Cys Ser Asp Cys Ser Ile Lys Val Thr Lys 795 800 805	2515

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

12

gtg gat gaa acc aga ggg atc gca cat gtt tat tta ttt acc cct aag Val Asp Glu Thr Arg Gly Ile Ala His Val Tyr Leu Phe Thr Pro Lys 810 815 820	2563
aac ttc cct gac cct cat cgc agt att aat cgc cag att aca aat gca Asn Phe Pro Asp Pro His Arg Ser Ile Asn Arg Gln Ile Thr Asn Ala 825 830 835	2611
gac ttg tgg aag cat cag aag gat gtg ttt ttg agt gcc ata tcc agt Asp Leu Trp Lys His Gln Lys Asp Val Phe Leu Ser Ala Ile Ser Ser 840 845 850 855	2659
gga gct gac tct ccc aac agc aaa aat ggc aac atg ccc atg tcg ggc Gly Ala Asp Ser Pro Asn Ser Lys Asn Gly Asn Met Pro Met Ser Gly 860 865 870	2707
aac act gga gag aat ttc aga aag aac ctc aca gat gtc atc aaa aag Asn Thr Gly Glu Asn Phe Arg Lys Asn Leu Thr Asp Val Ile Lys Lys 875 880 885	2755
tcc atg gtg gac cat acg agc gct ttc tcc aca gag gaa ctg cca cct Ser Met Val Asp His Thr Ser Ala Phe Ser Thr Glu Glu Leu Pro Pro 890 895 900	2803
cct gtc cac tta tca aag cca ggg gaa cac atg gat gtg tat gtg cct Pro Val His Leu Ser Lys Pro Gly Glu His Met Asp Val Tyr Val Pro 905 910 915	2851
gtg gcc tgt cac cca ggc tac ttc gtc atc cag cct tgg cag gag ata Val Ala Cys His Pro Gly Tyr Phe Val Ile Gln Pro Trp Gln Glu Ile 920 925 930 935	2899
cat aag ttg gaa gtt ctg atg gaa gag atg att cta tat tac agc gtg His Lys Leu Glu Val Leu Met Glu Glu Met Ile Leu Tyr Tyr Ser Val 940 945 950	2947
tct gaa gag cgc cac ata gca gtg gag aaa gac caa gtg tat gct gca Ser Glu Glu Arg His Ile Ala Val Glu Lys Asp Gln Val Tyr Ala Ala 955 960 965	2995
aaa gtg gaa aat aag tgg cac agg gtg ctt tta aaa gga atc ctg acc Lys Val Glu Asn Lys Trp His Arg Val Leu Leu Lys Gly Ile Leu Thr 970 975 980	3043
aat gga ctg gta tct gtg tat gag ctg gat tat ggc aaa cac gaa tta Asn Gly Leu Val Ser Val Tyr Glu Leu Asp Tyr Gly Lys His Glu Leu 985 990 995	3091

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

13

gtc aac ata aga aaa gta	cag ccc cta gtg gac	atg ttc cga aag	3136
Val Asn Ile Arg Lys Val	Gln Pro Leu Val Asp	Met Phe Arg Lys	
1000	1005	1010	
ctg ccc ttc caa gca gtc	aca gct caa ctt gca	gga gtg aag tgc	3181
Leu Pro Phe Gln Ala Val	Thr Ala Gln Leu Ala	Gly Val Lys Cys	
1015	1020	1025	
aac cag tgg tct gag gag	gct tct atg gtg ttt	cga aat cat gtg	3226
Asn Gln Trp Ser Glu Glu	Ala Ser Met Val Phe	Arg Asn His Val	
1030	1035	1040	
gag aag aaa cct ctg gtg	gca ctg gtg cag aca	gtc att gaa aat	3271
Glu Lys Lys Pro Leu Val	Ala Leu Val Gln Thr	Val Ile Glu Asn	
1045	1050	1055	
gct aac cct tgg gac cgg	aaa gta gtg gtc tac	tta gtg gac aca	3316
Ala Asn Pro Trp Asp Arg	Lys Val Val Val Tyr	Leu Val Asp Thr	
1060	1065	1070	
tcg ttg cca gac acc gat	acc tgg att cat gat	ttt atg tca gag	3361
Ser Leu Pro Asp Thr Asp	Thr Trp Ile His Asp	Phe Met Ser Glu	
1075	1080	1085	
tat ctg ata gag ctt tca	aaa gtt aat taa tgactgcctc	tgaaaccttg	3411
Tyr Leu Ile Glu Leu Ser	Lys Val Asn		
1090	1095		

<210> 4
 <211> 1098
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (65)..(65)
 <223> The 'Xaa' at location 65 stands for Gly, or Ser.

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (623)..(623)
 <223> The 'Xaa' at location 623 stands for Ser.

<400> 4

Met	Leu	Glu	Gly	Asp	Leu	Val	Ser	Lys	Met	Leu	Arg	Ala	Val	Leu	Gln
1					5				10					15	

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

14

Ser His Lys Asn Gly Val Ala Leu Pro Arg Leu Gln Gly Glu Tyr Arg
 20 25 30
 Ser Leu Thr Gly Asp Trp Ile Pro Phe Lys Gln Leu Gly Phe Pro Thr
 35 40 45
 Leu Glu Ala Tyr Leu Arg Ser Val Pro Ala Val Val Arg Ile Glu Thr
 50 55 60
 Xaa Arg Ser Gly Glu Ile Thr Cys Tyr Ala Met Ala Cys Thr Glu Thr
 65 70 75 80
 Ala Arg Ile Ala Gln Leu Val Ala Arg Gln Arg Ser Ser Lys Arg Lys
 85 90 95
 Thr Gly Arg Gln Val Asn Cys Gln Met Arg Val Lys Lys Thr Met Pro
 100 105 110
 Phe Phe Leu Glu Gly Lys Pro Lys Ala Thr Leu Arg Gln Pro Gly Phe
 115 120 125
 Ala Ser Asn Phe Ser Val Gly Lys Lys Pro Asn Pro Ala Pro Leu Arg
 130 135 140
 Asp Lys Gly Asn Ser Val Gly Val Lys Pro Asp Ala Glu Met Ser Pro
 145 150 155 160
 Tyr Met Leu His Thr Thr Leu Gly Asn Glu Ala Phe Lys Asp Ile Pro
 165 170 175
 Val Gln Arg His Val Thr Met Ser Thr Asn Asn Arg Phe Ser Pro Lys
 180 185 190
 Ala Ser Leu Gln Pro Pro Leu Gln Met His Leu Ser Arg Thr Ser Thr
 195 200 205
 Lys Glu Met Ser Asp Asn Leu Asn Gln Thr Val Glu Lys Pro Asn Val
 210 215 220
 Lys Pro Pro Ala Ser Tyr Thr Tyr Lys Met Asp Glu Val Gln Asn Arg
 225 230 235 240
 Ile Lys Glu Ile Leu Asn Lys His Asn Asn Gly Ile Trp Ile Ser Lys
 245 250 255
 Leu Pro His Phe Tyr Lys Glu Leu Tyr Lys Glu Asp Leu Asn Gln Gly
 260 265 270
 Ile Leu Gln Gln Phe Glu His Trp Pro His Ile Cys Thr Val Glu Lys
 275 280 285

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

15

Pro Cys Ser Gly Gly Gln Asp Leu Leu Leu Tyr Pro Ala Lys Arg Lys
 290 295 300
 Gln Leu Leu Arg Ser Glu Leu Asp Thr Glu Lys Val Pro Leu Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Pro Gly Pro Lys Gln Thr Pro Pro Leu Lys Gly Cys Pro Thr Val
 325 330 335
 Met Ala Gly Asp Phe Lys Glu Lys Val Ala Asp Leu Leu Val Lys Tyr
 340 345 350
 Thr Ser Gly Leu Trp Ala Ser Ala Leu Pro Lys Ala Phe Glu Glu Met
 355 360 365
 Tyr Lys Val Lys Phe Pro Glu Asp Ala Leu Lys Asn Leu Ala Ser Leu
 370 375 380
 Ser Asp Val Cys Ser Ile Asp Tyr Ile Ser Gly Asn Pro Gln Lys Ala
 385 390 395 400
 Ile Leu Tyr Ala Lys Leu Pro Leu Pro Thr Asp Lys Ile Gln Lys Asp
 405 410 415
 Ala Gly Gln Ala His Gly Asp Asn Asp Ile Lys Ala Met Val Glu Gln
 420 425 430
 Glu Tyr Leu Gln Val Glu Glu Ser Ile Ala Glu Ser Ala Asn Thr Phe
 435 440 445
 Met Glu Asp Ile Thr Val Pro Pro Leu Met Ile Pro Thr Glu Ala Ser
 450 455 460
 Pro Ser Val Leu Val Val Glu Leu Ser Asn Thr Asn Glu Val Val Ile
 465 470 475 480
 Arg Tyr Val Gly Lys Asp Tyr Ser Ala Ala Gln Glu Leu Met Glu Asp
 485 490 495
 Glu Met Lys Glu Tyr Tyr Ser Lys Asn Pro Lys Ile Thr Pro Val Gln
 500 505 510
 Ala Val Asn Val Gly Gln Leu Leu Ala Val Asn Ala Glu Glu Asp Ala
 515 520 525
 Trp Leu Arg Ala Gln Val Ile Ser Thr Glu Glu Asn Lys Ile Lys Val
 530 535 540

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

16

Cys Tyr Val Asp Tyr Gly Phe Ser Glu Asn Val Glu Lys Ser Lys Ala
 545 550 555 560
 Tyr Lys Leu Asn Pro Lys Phe Cys Ser Leu Ser Phe Gln Ala Thr Lys
 565 570 575
 Cys Lys Leu Ala Gly Leu Glu Val Leu Ser Asp Asp Pro Asp Leu Val
 580 585 590
 Lys Val Val Glu Ser Leu Thr Cys Gly Lys Ile Phe Ala Val Glu Ile
 595 600 605
 Leu Asp Lys Ala Asp Ile Pro Leu Val Val Leu Tyr Asp Thr Xaa Gly
 610 615 620
 Glu Asp Asp Ile Asn Ile Asn Ala Thr Cys Leu Lys Ala Ile Cys Asp
 625 630 635 640
 Lys Ser Leu Glu Val His Leu Gln Val Asp Ala Met Tyr Thr Asn Val
 645 650 655
 Lys Val Thr Asn Ile Cys Ser Asp Gly Thr Leu Tyr Cys Gln Val Pro
 660 665 670
 Cys Lys Gly Leu Asn Lys Leu Ser Asp Leu Leu Arg Lys Ile Glu Asp
 675 680 685
 Tyr Phe His Cys Lys His Met Thr Ser Glu Cys Phe Val Ser Leu Pro
 690 695 700
 Phe Cys Gly Lys Ile Cys Leu Phe His Cys Lys Gly Lys Trp Leu Arg
 705 710 715 720
 Val Glu Ile Thr Asn Val His Ser Ser Arg Ala Leu Asp Val Gln Phe
 725 730 735
 Leu Asp Ser Gly Thr Val Thr Ser Val Lys Val Ser Glu Leu Arg Glu
 740 745 750
 Ile Pro Pro Arg Phe Leu Gln Glu Met Ile Ala Ile Pro Pro Gln Ala
 755 760 765
 Ile Lys Cys Cys Leu Ala Asp Leu Pro Gln Ser Ile Gly Met Trp Thr
 770 775 780
 Pro Asp Ala Val Leu Trp Leu Arg Asp Ser Val Leu Asn Cys Ser Asp
 785 790 795 800
 Cys Ser Ile Lys Val Thr Lys Val Asp Glu Thr Arg Gly Ile Ala His
 805 810 815

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

17

Val Tyr Leu Phe Thr Pro Lys Asn Phe Pro Asp Pro His Arg Ser Ile
 820 825 830
 Asn Arg Gln Ile Thr Asn Ala Asp Leu Trp Lys His Gln Lys Asp Val
 835 840 845
 Phe Leu Ser Ala Ile Ser Ser Gly Ala Asp Ser Pro Asn Ser Lys Asn
 850 855 860
 Gly Asn Met Pro Met Ser Gly Asn Thr Gly Glu Asn Phe Arg Lys Asn
 865 870 875 880
 Leu Thr Asp Val Ile Lys Lys Ser Met Val Asp His Thr Ser Ala Phe
 885 890 895
 Ser Thr Glu Glu Leu Pro Pro Pro Val His Leu Ser Lys Pro Gly Glu
 900 905 910
 His Met Asp Val Tyr Val Pro Val Ala Cys His Pro Gly Tyr Phe Val
 915 920 925
 Ile Gln Pro Trp Gln Glu Ile His Lys Leu Glu Val Leu Met Glu Glu
 930 935 940
 Met Ile Leu Tyr Tyr Ser Val Ser Glu Glu Arg His Ile Ala Val Glu
 945 950 955 960
 Lys Asp Gln Val Tyr Ala Ala Lys Val Glu Asn Lys Trp His Arg Val
 965 970 975
 Leu Leu Lys Gly Ile Leu Thr Asn Gly Leu Val Ser Val Tyr Glu Leu
 980 985 990
 Asp Tyr Gly Lys His Glu Leu Val Asn Ile Arg Lys Val Gln Pro Leu
 995 1000 1005
 Val Asp Met Phe Arg Lys Leu Pro Phe Gln Ala Val Thr Ala Gln
 1010 1015 1020
 Leu Ala Gly Val Lys Cys Asn Gln Trp Ser Glu Glu Ala Ser Met
 1025 1030 1035
 Val Phe Arg Asn His Val Glu Lys Lys Pro Leu Val Ala Leu Val
 1040 1045 1050
 Gln Thr Val Ile Glu Asn Ala Asn Pro Trp Asp Arg Lys Val Val
 1055 1060 1065

WO 02/068470

PCT/GB02/00830

18

Val	Tyr	Leu	Val	Asp	Thr	Ser	Leu	Pro	Asp	Thr	Asp	Thr	Trp	Ile
1070						1075						1080		
His	Asp	Phe	Met	Ser	Glu	Tyr	Leu	Ile	Glu	Leu	Ser	Lys	Val	Asn
1085						1090						1095		

【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
6 September 2002 (06.09.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/068470 A3

(51) International Patent Classification: C12N 5/10, 15/12, C07K 14/47, C12Q 1/68, G01N 33/68, A61K 38/17, A01K 67/027, C07K 16/18

(81) Designated States (national): AF, AG, AI, 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, GI, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KL, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, 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.

(21) International Application Number: PCT/GB02/00830

(22) International Filing Date: 26 February 2002 (26.02.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 0104706.7 26 February 2001 (26.02.2001) GB
0200619.5 11 January 2002 (11.01.2002) GB

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Applicant (for all designated States except US): PHARMA PACIFIC PTY LTD [AU/AU], 103-105 Pipe Road, Laverton North, Victoria 3026 (AU).

Published:
— with international search report(72) Inventors: and
(75) Inventors/Applicants (for US only): MERITET, Jean-François [FR/FR]; 62, rue de Picpus, F-75012 Paris (FR); DRON, Michel [FR/FR]; 22, avenue des Cottages, 1-92340 Bourg la Reine (FR); TOVEY, Michael, Gerard [GB/FR]; 7, rue Lagrange, F-75005 Paris (FR).(88) Date of publication of the international search report:
5 December 2002

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(74) Agents: IRVINE, Jonquil, Claire et al.; J.A. Kemp & Co., 14 South Square, Gray's Inn, London WC1R 5JJ (GB).

WO 02/068470 A3

(54) Title: INTERFERON-ALPHA INDUCED GENE

(57) Abstract: The present invention relates to identification of a gene upregulated by interferon- α administration corresponding to the cDNA sequence set forth in SEQ. ID. No. 1 and SEQ. ID. No. 3. Determination of expression products of this gene is proposed as having utility in predicting responsiveness to treatment with interferon- α and other interferons which act at the Type 1 interferon receptor. Therapeutic use of the protein encoded by the same gene is also envisaged.

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Inventor's Application No. PCT/GB 02/00830
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7	C12N5/10 A61K38/17	C12N15/12 A01K67/027
	C07K14/47 C07K16/18	C12Q1/68 G01N33/68
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC 7 C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
EMBL, EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, PAJ, MEDLINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL 'Online! 1 April 1999 (1999-04-01) HIROSE: "Homo sapiens mRNA for tudor repeat associator with PCTAIRE 2" retrieved from EMBL Database accession no. AB025254 XP002208788	1-7,19
Y	the whole document --- -/-	8-18, 20-25
☒ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claims or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, each combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
14 August 2002		12/09/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5518 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2540, Tx. 31 651 epo nl, Fax. (+31-70) 340-3016		Authorized officer Mosster, B

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1999)

In International Application No.
PCT/GB 02/00830

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL "Online! 4 August 1999 (1999-08-04) HIROSE: "Rattus norvegicus Trap mRNA for tudor repeat associator with PCTAIRE 2" retrieved from EMBL Database accession no. AB030644 XP002208789 the whole document	1-7, 19
P,X	WO 01 51509 A (ROIIFMAN CHAIM M ;SHARFE MTGEL (CA); HOSPITAL FOR SICK CHILDREN (CA) 19 July 2001 (2001-07-19) Sequence as depicted in Figure 3B shows 99,7% identity to SEQ ID NO:4. page 3, paragraph 3 -page 5, paragraph 5; figures 3,6,7	1-12, 14-20
Y	US 5 834 235 A (RICH STEVEN A ET AL) 10 November 1998 (1998-11-10) column 2, line 59 - column 3, line 38 column 8, line 12 - line 37 column 10, line 8 - line 11 column 11, line 49 - line 59	1-24
Y	EP 0 242 329 A (CIBA GEIGY AG) 21 October 1987 (1987-10-21) the whole document	1-24
Y	WO 87 00864 A (STAEBELI PETER) 12 February 1987 (1987-02-12) page 4, line 10 - line 35	25
Y	GREWAL TARLOCHAN SINGH ET AL: "Best5: A novel interferon-inducible gene expressed during bone formation." FASEB JOURNAL, vol. 14, no. 3, March 2000 (2000-03), pages 523-531, XP002208786 ISSN: 0892-6638 abstract	1-25
Y	SILVA ARISTOBOLIO M ET AL: "Identification partial characterization of FRAO-6, a novel interferon-stimulated gene that is expressed in an IRF-1-independent manner." CYTOKINE, vol. 11, no. 11, November 1999 (1999-11), pages 813-821, XP002208787 ISSN: 1043-4666 abstract	1-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Int. Application No. PCT/GB 02/00830
C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LIANG P ET AL: "Recent advances in differential display" CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY, CURRENT BIOLOGY LTD. LONDON, GB, vol. 7, 1995, pages 274-280, XP002088238 ISSN: 0952-7915 the whole document -----	1-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		national application No. PCT/GB 02/00830
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)		
This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:		
1. ☒	Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: Although claim 13 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound.	
2. ☐	Claims Nos.: because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:	
3. ☐	Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 64(a).	
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)		
This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:		
1. ☐	As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.	
2. ☐	As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.	
3. ☐	As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:	
4. ☐	No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:	
Remark on Protest		
☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.		
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				
Information on patent family members				
Patent document cited in search report		Publication date		Initial Application No
				PCT/GB 02/00830
WO 0151509	A	19-07-2001	AU 2659801 A	24-07-2001
			WO 0151509 A2	19-07-2001
US 5834235	A	10-11-1998	US 6060279 A	09-05-2000
EP 0242329	A	21-10-1987	AT 125304 T	15-08-1995
			AU 608216 B2	28-03-1991
			AU 7151087 A	22-10-1987
			CA 1340289 A1	29-12-1998
			DE 3751409 D1	24-08-1996
			DE 3751409 T2	25-01-1996
			DK 193187 A	16-10-1987
			EP 0242329 A2	21-10-1987
			ES 2074420 T3	16-09-1995
			IE 67564 B1	17-04-1996
			JP 2572956 B2	16-01-1997
			JP 7236497 A	12-09-1995
			JP 2107176 C	06-11-1996
			JP 8022880 B	06-03-1996
			JP 62270599 A	24-11-1987
			PT 84670 A , B	01-05-1987
			US 6407209 B1	18-06-2002
			US 5466585 A	14-11-1995
			US 5739290 A	14-04-1998
			US 5198350 A	30-03-1993
			US 5869264 A	09-02-1999
WO 8700864	A	12-02-1987	EP 0231374 A1	12-08-1987
			JP 63500800 T	24-03-1988
			WO 8700864 A1	12-02-1987

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 3/10	A 6 1 P 3/10	4 C 0 8 5
A 6 1 P 11/00	A 6 1 P 11/00	4 H 0 4 5
A 6 1 P 19/02	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 31/12	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 31/18	A 6 1 P 31/18	
A 6 1 P 31/20	A 6 1 P 31/20	
A 6 1 P 31/22	A 6 1 P 31/22	
A 6 1 P 33/00	A 6 1 P 33/00	
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/02	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P 37/02	A 6 1 P 37/02	
C 0 7 K 14/47	C 0 7 K 14/47	Z N A
C 0 7 K 16/18	C 0 7 K 16/18	
C 1 2 N 1/15	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/19	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10	C 1 2 P 21/02	C
C 1 2 P 21/02	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 Q 1/02	C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 Q 1/68	G 0 1 N 33/53	M
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/566	
G 0 1 N 33/566	C 1 2 N 5/00	A
	A 6 1 K 37/02	

(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,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,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,P L,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 メリテ、ジャン - フランソワ

フランス国 パリ、リュ デ ピクピュス、6 2

(72)発明者 ドロン、ミシェル

フランス国 ブール ラ レーヌ、アブニュ デ コテッジ、2 2

(72)発明者 トヴェイ、マイケル、ジェラード

フランス国 パリ、リュ ラグランジ、7

F ターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA80 CA01 GA11 HA12
 4B063 QA01 QA18 QQ08 QQ53 QQ91 QR08 QR32 QR42 QR55 QR62
 QR77 QS24 QS25 QS34 QS36 QX02
 4B064 AG01 CA19 CC24 DA01 DA13
 4B065 AA93Y AB01 AC14 BA02 CA24 CA44 CA46
 4C084 AA02 AA13 BA01 BA08 BA22 BA23 CA53 ZA01 ZA59 ZA96
 ZB07 ZB11 ZB26 ZB33 ZB35 ZB37 ZB38 ZC35
 4C085 AA13 AA14 BB31 CC21 DD88 EE01
 4H045 AA10 AA11 BA10 CA40 DA76 EA20 EA50 FA74

专利名称(译)	干扰素- α 诱导型基因		
公开(公告)号	JP2004531238A	公开(公告)日	2004-10-14
申请号	JP2002567980	申请日	2002-02-26
申请(专利权)人(译)	太平洋制药有限公司专有		
[标]发明人	メリテジャンフランソワ ドロンミシエル トヴェイマイケルジェラード		
发明人	メリテ、ジャン - フランソワ ドロン、ミシエル トヴェイ、マイケル、ジェラード		
IPC分类号	A01K67/027 A61K38/00 A61K39/395 A61K48/00 A61P3/10 A61P11/00 A61P19/02 A61P25/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P31/18 A61P31/20 A61P31/22 A61P33/00 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/02 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A01K2217/05 A61K38/00 A61P3/10 A61P11/00 A61P19/02 A61P25/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P31/18 A61P31/20 A61P31/22 A61P33/00 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 C07K14/4718		
FI分类号	C12N15/00.A A01K67/027 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K48/00 A61P3/10 A61P11/00 A61P19/02 A61P25/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P31/18 A61P31/20 A61P31/22 A61P33/00 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 C07K14/47.ZNA C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/53.M G01N33/566 C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA01 4B024/GA11 4B024/HA12 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QQ08 4B063/QQ53 4B063/QQ91 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR42 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR77 4B063/QS24 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX02 4B064/AG01 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA13 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/CA53 4C084/ZA01 4C084/ZA59 4C084/ZA96 4C084/ZB07 4C084/ZB11 4C084/ZB26 4C084/ZB33 4C084/ZB35 4C084/ZB37 4C084/ZB38 4C084/ZC35 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB31 4C085/CC21 4C085/DD88 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74		
代理人(译)	池田幸		
优先权	2001004706 2001-02-26 GB 2002000619 2002-01-11 GB		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及与SEQ ID NO : 1所示的cDNA序列相对应的通过干扰素- α 施用而上调的基因的鉴定。ID。1号和SEQ。ID。No.3。提出了确定该基因表达产物的方法，可用于预测对作用于1型干扰素受体的干扰素和其他干扰素的治疗反应。还设想了由相同基因编码的蛋白质的治疗用途。

脂 肪 族	非 極 性	G A P
		I L V
	極性－非荷電	C S T M
		N Q
	極性－荷電	D E
		K R
芳 香 族		H F W Y