

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2008-109932

(P2008-109932A)

(43) 公開日 平成20年5月15日(2008.5.15)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C12N 15/09 (2006.01)</b>	C12N 15/00 ZNAA	4B024
<b>C07K 14/705 (2006.01)</b>	C07K 14/705	4B064
<b>C07K 19/00 (2006.01)</b>	C07K 19/00	4B065
<b>C07K 16/28 (2006.01)</b>	C07K 16/28	4C085
<b>C12P 21/02 (2006.01)</b>	C12P 21/02 C	4H045
審査請求 有 請求項の数 49 O L (全 90 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2007-290225 (P2007-290225)	(71) 出願人	596129215
(22) 出願日	平成19年11月7日 (2007.11.7)		シェーリング コーポレイション
(62) 分割の表示	特願平10-525609の分割		Schering Corporation
原出願日	平成9年12月5日 (1997.12.5)		アメリカ合衆国 ニュージャージー 07
(31) 優先権主張番号	60/032, 252		033-0530, ケニルワース, ギャロ
(32) 優先日	平成8年12月6日 (1996.12.6)		ッピング ヒル ロード 2000
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100078282
(31) 優先権主張番号	08/762, 187		弁理士 山本 秀策
(32) 優先日	平成8年12月9日 (1996.12.9)	(74) 代理人	100062409
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 安村 高明
(31) 優先権主張番号	60/033, 181	(74) 代理人	100113413
(32) 優先日	平成8年12月16日 (1996.12.16)		弁理士 森下 夏樹
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/041, 279		
(32) 優先日	平成9年3月21日 (1997.3.21)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 単離された哺乳動物単球細胞遺伝子；関連する試薬

(57) 【要約】

【課題】 哺乳動物免疫系の発達、分化、および/または生理機能の制御において機能する遺伝子の提供。

【解決手段】 霊長類に由来する種々の単球細胞タンパク質をコードする核酸、それに関する試薬（特異的抗体を含む）、および精製タンパク質が、記載される。この試薬を用いる方法および関連する診断的キットもまた提供される。本発明は、免疫系で機能する細胞である、単球細胞中に見出される遺伝子に関連する組成物を意図する。これらの遺伝子は、哺乳動物免疫系の発達、分化、および/または生理機能の制御において機能する。特に、本出願は、核酸、タンパク質、抗体、およびそれらを使用する方法を提供する。

【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

配列番号 6、配列番号 8 もしくは配列番号 10 に示すアミノ酸配列を含むか、または配列番号 6、配列番号 8 もしくは配列番号 10 に示すアミノ酸配列を含むタンパク質もしくはペプチドにおいて 1 もしくは数個のアミノ酸の置換、付加もしくは欠失を有するアミノ酸配列であって、該タンパク質もしくはペプチドの活性を有するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

## 【請求項 2】

配列番号 6、配列番号 8 または配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載のポリペプチド。

10

## 【請求項 3】

配列番号 6 に記載のアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載のポリペプチド。

## 【請求項 4】

配列番号 8 に記載のアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載のポリペプチド。

## 【請求項 5】

配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載のポリペプチド。

## 【請求項 6】

配列番号 6 に記載の成熟アミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

## 【請求項 7】

配列番号 8 に記載の成熟アミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

20

## 【請求項 8】

配列番号 10 に記載の成熟アミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

## 【請求項 9】

配列番号 6 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸 1 ~ 266 を含む、単離されたポリペプチド。

## 【請求項 10】

配列番号 8 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸 1 ~ 266 を含む、単離されたポリペプチド。

## 【請求項 11】

配列番号 10 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸 1 ~ 114 を含む、単離されたポリペプチド。

30

## 【請求項 12】

請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドを含む融合タンパク質。

## 【請求項 13】

請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドに特異的に結合する、単離された抗体または抗体の抗原結合フラグメント。

## 【請求項 14】

配列番号 6 に示すアミノ酸配列を含むタンパク質もしくはペプチド、または配列番号 6 に示すアミノ酸配列を含むタンパク質もしくはペプチドにおいて 1 もしくは数個のアミノ酸の置換、付加もしくは欠失を有するアミノ酸配列であって、該タンパク質もしくはペプチドの活性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質もしくはペプチドに特異的に結合する請求項 13 に記載の抗体またはフラグメント。

40

## 【請求項 15】

配列番号 8 に示すアミノ酸配列を含むタンパク質もしくはペプチド、または配列番号 8 に示すアミノ酸配列を含むタンパク質もしくはペプチドにおいて 1 もしくは数個のアミノ酸の置換、付加もしくは欠失を有するアミノ酸配列であって、該タンパク質もしくはペプチドの活性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質もしくはペプチドに特異的に結合する請求項 13 に記載の抗体またはフラグメント。

## 【請求項 16】

配列番号 10 に示すアミノ酸配列を含むタンパク質もしくはペプチド、または配列番号 1

50

0 に示すアミノ酸配列を含むタンパク質もしくはペプチドにおいて 1 もしくは数個のアミノ酸の置換、付加もしくは欠失を有するアミノ酸配列であって、該タンパク質もしくはペプチドの活性を有するアミノ酸配列を含むタンパク質もしくはペプチドに特異的に結合する請求項 1 3 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 1 7】

抗体である、請求項 1 3 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 1 8】

抗体である、請求項 1 4 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 1 9】

抗体である、請求項 1 5 に記載の抗体またはフラグメント。

10

【請求項 2 0】

抗体である、請求項 1 6 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 2 1】

配列番号 6 のアミノ酸配列からなるポリペプチドに特異的に結合する、請求項 1 3 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 2 2】

配列番号 8 のアミノ酸配列からなるポリペプチドに特異的に結合する、請求項 1 3 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 2 3】

配列番号 10 のアミノ酸配列からなるポリペプチドに特異的に結合する、請求項 1 3 に記載の抗体またはフラグメント。

20

【請求項 2 4】

抗体である、請求項 2 1 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 2 5】

抗体である、請求項 2 2 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 2 6】

抗体である、請求項 2 3 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 2 7】

モノクローナル抗体である、請求項 2 4 に記載の抗体。

【請求項 2 8】

モノクローナル抗体である、請求項 2 5 に記載の抗体。

30

【請求項 2 9】

モノクローナル抗体である、請求項 2 6 に記載の抗体。

【請求項 3 0】

前記抗体またはフラグメントは、モノクローナル抗体、F v フラグメント、F a b フラグメント、F ( a b ' ) 、フラグメントまたは単鎖抗体を含む、請求項 1 3 に記載の抗体またはフラグメント。

【請求項 3 1】

請求項 1 3 に記載の抗体またはフラグメントと、薬学的に受容可能なキャリアとを含む、薬学的組成物。

40

【請求項 3 2】

請求項 2 7 に記載のモノクローナル抗体と、薬学的に受容可能なキャリアとを含む、薬学的組成物。

【請求項 3 3】

請求項 2 8 に記載のモノクローナル抗体と、薬学的に受容可能なキャリアとを含む、薬学的組成物。

【請求項 3 4】

請求項 2 9 に記載のモノクローナル抗体と、薬学的に受容可能なキャリアとを含む、薬学的組成物。

【請求項 3 5】

50

請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドをコードする、単離された核酸。

【請求項 36】

配列番号 5、7 または 9 に示すヌクレオチド配列を含む請求項 35 に記載の核酸。

【請求項 37】

配列番号 5 に示すヌクレオチド配列を含む請求項 36 に記載の核酸。

【請求項 38】

配列番号 7 に示すヌクレオチド配列を含む請求項 36 に記載の核酸。

【請求項 39】

配列番号 9 に示すヌクレオチド配列を含む請求項 36 に記載の核酸。

【請求項 40】

配列番号 5 に示すヌクレオチド配列のヌクレオチド 155 - 1015 を含む請求項 35 に記載の核酸。

【請求項 41】

配列番号 5 に示すヌクレオチド配列のヌクレオチド 218 - 1015 を含む請求項 35 に記載の核酸。

【請求項 42】

配列番号 7 に示すヌクレオチド配列のヌクレオチド 69 - 929 を含む請求項 35 に記載の核酸。

【請求項 43】

配列番号 7 に示すヌクレオチド配列のヌクレオチド 132 - 929 を含む請求項 35 に記載の核酸。

【請求項 44】

配列番号 9 に示すヌクレオチド配列のヌクレオチド 24 - 428 を含む請求項 35 に記載の核酸。

【請求項 45】

配列番号 9 に示すヌクレオチド配列のヌクレオチド 87 - 428 を含む請求項 35 に記載の核酸。

【請求項 46】

請求項 35 に記載の核酸を含む発現ベクター。

【請求項 47】

請求項 46 に記載のベクターを含む単離された宿主細胞。

【請求項 48】

請求項 47 に記載の宿主細胞を、ポリペプチドが発現される条件下で培養する工程を包含する、ポリペプチドを組換え産生するための方法。

【請求項 49】

明細書に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、1996年12月6日に提出された米国特許仮出願番号第USSN60/032,252号；1996年12月9日に提出された同第USSN 08/762,187号；1996年12月16日に提出された同第USSN60/033,181号；および1997年3月21日に提出された同第USSN 60/041,279号（これらの各々が本明細書中で参考として援用される）の優先権の権利を請求する。

【0002】

発明の分野

本発明は、免疫系で機能する細胞である、単球細胞中に見出される遺伝子に関連する組成物を意図する。これらの遺伝子は、哺乳動物免疫系の発達、分化、および/または生理機能の制御において機能する。特に、本出願は、核酸、タンパク質、抗体、およびそれらを使用する方法を提供する。

【背景技術】

10

20

30

40

50

## 【0003】

## 発明の背景

哺乳動物循環系の循環成分には、種々の型の細胞（赤血球系および骨髄細胞系統の赤血球および白血球を含む）が含まれる。例えば、Rapaport（1987）Introduction to Hematology（第2版）Lippincott, Philadelphia, PA；Jandl（1987）Blood: Textbook of Hematology, Little, Brown and Co., Boston, MA；およびPaul（編）（1993）Fundamental Immunology（第3版）Raven Press, N.Y.を参照のこと。

## 【0004】

単球は、単核食細胞系に属する食細胞であり、そして循環に存在する。Roitt（編）Encyclopedia of Immunology, Academic Press, San Diegoを参照のこと。これらの細胞は骨髄を起源とし、そして一旦それらが分化すると、骨髄成分に短期間のみ存在する。次いで、それらは循環に入り、そしてそこに比較的長期間（例えば、数日間）存在し得る。単球は、指定された漏出のプロセスによって組織および体腔に入り得、ここで、これらはマクロファージ、およびおそらく樹状細胞に分化する。炎症応答において、循環中の単球の数は二倍であり得、そして増大した単球数の多くは、炎症部位に漏出する。

10

## 【0005】

抗原提示は、タンパク質様抗原が取り上げられ、抗原提示細胞（APC）によってプロセスされ、次いで免疫応答を開始するために認識される、細胞性の事象をいう。最も活性化抗原提示細胞は、マクロファージとして特徴付けられており、これは、単球；樹状細胞；および特定のB細胞からの直接的な発達産物であるマクロファージとして特徴付けられている。

20

## 【0006】

マクロファージはほとんどの組織中で見出され、そして広範な種々のタンパク質抗原および微生物のインターナリゼーションにおいて高度に活性である。これらは、高度に発達したエンドサイトーシス活性を有し、そして免疫応答の開始において重要な多くの産物を分泌する。この理由のために、単球によって発現されるかまたは単球の活性化によって誘導される多くの遺伝子が、抗原の取り込み、プロセッシング、提示、または生じる免疫応答の調節において重要であるようであると考えられる。

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

30

## 【0007】

しかし、単球は、それらを発現するタンパク質およびそれらの機能および作用機構の多く（それらの活性化された状態を含む）の両方に関して、あまり特徴付けられていない。特に、免疫応答の開始に関連するプロセスおよび機構（抗原のプロセッシングおよび提示を含む）が、はっきりしないままである。これらの細胞の構造的、生物学的、および生理学的特性についての知見が存在しないことによって、それらの理解が制限されている。従って、抗原提示細胞の調節、発達、または生理機能が異常である医学的状态は、処置されないままである。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0008】

40

## 発明の要旨

本発明は、活性化された単球から単離された種々の遺伝子の発見に、一部基づく。これらの分子は、FDF03（Ig様細胞外部分を有するI型膜貫通タンパク質）；YE01（FcγR様レセプター）；およびYYB01およびYYB04関連の実施態様によって代表されるKTE03クラス（Ig様ドメインを示す細胞表面レセプター）と呼ばれている。

## 【0009】

本発明は、以下の項目から選択される種々の組成物を提供する：配列番号2または4に対して少なくとも約12アミノ酸の長さにわたって少なくとも約85%の配列同一性を示す、実質的に純粋な、または組換えのFDF03タンパク質またはペプチド；配列番号2または4の天然の配列FDF03；FDF03配列を含む融合タンパク質；配列番号6、8、または10の少な

50

くとも約12アミノ酸の長さにわたって少なくとも約85%の配列同一性を示す、実質的に純粋な、または組換えのYE01タンパク質またはペプチド；配列番号6、8、または10の天然の配列YB01；YE01配列を含む融合タンパク質；配列番号12、14、または16の少なくとも約12アミノ酸の長さにわたって少なくとも約85%の配列同一性を示す、実質的に純粋な、または組換えのKTE03タンパク質またはペプチド；配列番号12、14、16、18、20、または22の天然の配列KTE03；KTE03配列を含む融合タンパク質。好ましくは、実質的に純粋な、または単離されたタンパク質は、FDF03、YE01、またはKTE03の対応する部分に対して配列同一性を示すセグメントを含む。ここで：相同性は、少なくとも約90%の同一性であり、そして部分は、少なくとも約9アミノ酸である；相同性は、少なくとも約80%の同一性であり、そして部分は、少なくとも約17アミノ酸である；または相同性は、少なくとも約70%の同一性であり、そして部分は、少なくとも約25アミノ酸である。他の形態において、本発明は、以下の項目のこのような組成物を提供する。ここで：FDF03は、配列番号2または4の成熟配列を含む；YE01は、配列番号6、8、または10の成熟配列を含む；KTE03は、配列番号12、14、16、18、20、または22の成熟配列を含む；あるいはタンパク質またはペプチドは、霊長類もしくはげっ歯類を含む哺乳動物から選択される温血動物由来である；配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、または22の少なくとも1つのポリペプチドセグメントを含み；同一性を示す複数の部分を示す；FDF03、YE01、またはKTE03の天然の対立遺伝子変異体である；少なくとも約30アミノ酸の長さを有する；哺乳動物FDF03、YE01、またはKTE03に特異的な少なくとも2つの重複しないエピトープを示す；げっ歯類FDF03、YE01、またはKTE03に対して少なくとも約20アミノ酸の長さにわたって少なくとも約90%の配列同一性を示す；霊長類FDF03、YE01、またはKTE03に特異的な少なくとも2つの重複しないエピトープを示す；霊長類FDF03、YE01、またはKTE03に対して少なくとも約20アミノ酸の長さにわたって少なくとも約90%の配列同一性を示す；グリコシル化される；天然のグリコシル化で少なくとも7kDaの分子量を有する；合成ポリペプチドである；固体基質に付着される；別の化学的部分に結合される；天然の配列よりも5倍もしくはそれより少ない置換である；または天然の配列に由来する欠失変異体または挿入変異体である。

#### 【0010】

他の組成物として、以下を含む組成物が挙げられる：滅菌のFDF03タンパク質またはペプチド；FDF03タンパク質またはペプチドおよびキャリア、ここで、キャリアは、水、生理食塩水、および/または緩衝液を含む水性化合物である；ならびに/あるいは経口、直腸、経鼻、局所、または非経口投与のために処方される；滅菌のYE01タンパク質またはペプチド；YE01タンパク質またはペプチドおよびキャリア、ここで、キャリアは、水、生理食塩水、および/または緩衝液を含む水性化合物である；ならびに/あるいは経口、直腸、経鼻、局所、または非経口投与のために処方される；滅菌のKTE03タンパク質またはペプチド；あるいは、KTE03タンパク質またはペプチドおよびキャリア、ここで、キャリアは、水、生理食塩水、および/または緩衝液を含む水性化合物である；ならびに/あるいは経口、直腸、経鼻、局所、または非経口投与のために処方される。

#### 【0011】

融合タンパク質の実施態様において、本発明は、以下を含むものを提供する：配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、または22の成熟タンパク質配列；FLAG、His6、またはIg配列を含む検出または精製タグ；あるいは別の細胞表面タンパク質の配列。

#### 【0012】

種々のキットとして、タンパク質またはポリペプチド；およびタンパク質またはポリペプチドを含む区画；ならびに/あるいはキット中の試薬の使用または廃棄のための説明書を含むキットが挙げられる。

#### 【0013】

抗体および結合化合物として、天然のFDF03、YE01、またはKTE03タンパク質に特異的に結合する抗体に由来する抗原結合部分を含むものが挙げられる。ここで、タンパク質は、霊長類タンパク質である；結合化合物は、Fv、Fab、またはFab2フラグメントである；結

10

20

30

40

50

合化合物は別の化学的部分に結合されている；あるいは抗体は；配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、または22の成熟ポリペプチドのペプチド配列に対して惹起されている；成熟FDF03、YE01、またはKTE03に対して惹起されている；精製されたFDF03、YE01、またはKTE03に対して惹起されている；免疫選択されている；ポリクローナル抗体である；変性されたFDF03、YE01、またはKTE03に結合する；抗原に対して少なくとも30mMのKdを示す；ビーズまたはプラスチック膜を含む固体の物質に結合されている；滅菌の組成物である；あるいは、放射性標識または蛍光標識を含み、検出可能に標識されている。例えば、結合化合物および；結合化合物を含む区画；および/またはキット中の試薬の使用もしくは廃棄のための説明書を含む、結合化合物を含むキットが提供される。好ましくは、キットは、定量的または定性的に分析を行うことが可能である。

10

## 【0014】

種々の他の組成物として、以下を含むものが挙げられる：滅菌の結合化合物；あるいは結合化合物およびキャリア、ここで、キャリアは、水、生理食塩水、および/または緩衝液を含む水性化合物である；ならびに/あるいは経口、直腸、経鼻、局所、または非経口投与のために処方される。

## 【0015】

核酸の実施態様として、記載されるようなタンパク質またはペプチドまたは融合タンパク質をコードする、単離されたまたは組換え核酸が挙げられる。ここで、タンパク質は、霊長類を含む哺乳動物由来である；あるいは核酸は：配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、もしくは22の抗原性ペプチド配列をコードする；配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、もしくは22の複数の抗原性ペプチド配列をコードする；天然のcDNAコードセグメントに少なくとも約80%の同一性を示す；発現ベクターである；複製起点をさらに含む；天然の供給源由来である；検出可能な標識を含む；合成のヌクレオチド配列を含む；6 kbより短い、好ましくは3 kbより短い；霊長類を含む哺乳動物由来である；天然の全長のコード配列を含む；タンパク質をコードする遺伝子のためのハイブリダイゼーションプローブである；あるいはPCRプライマー、PCR産物、または変異誘発プライマーである。

20

## 【0016】

記載される組換え核酸を含む、種々の細胞が提供される。好ましくは、細胞は；原核生物細胞；真核生物細胞；細菌細胞；酵母細胞；昆虫細胞；哺乳動物細胞；マウス細胞；霊長類細胞；またはヒト細胞である。このような核酸を有するキットは、核酸とともに以下を含む：核酸を含む区画；FDF03、YE01、またはKTE03タンパク質またはポリペプチドをさらに含む区画；ならびに/あるいはキット中の試薬の使用または廃棄のための説明書。好ましくは、キットは、定量的または定性的分析を行うことが可能である。

30

## 【0017】

他の核酸として、以下のものが挙げられる：配列番号1または3に30の洗浄条件および2M未満の塩下でハイブリダイズする核酸；配列番号5、7、または9に30の洗浄条件および2M未満の塩下でハイブリダイズする核酸；配列番号11、13、15、17、19、および21に30の洗浄条件および2M未満の塩下でハイブリダイズする核酸；霊長類FDF03に対して少なくとも約30ヌクレオチドの長さにわたって少なくとも約85%の同一性を示す核酸；霊長類YE01に対して少なくとも約30ヌクレオチドの長さにわたって少なくとも約85%の同一性を示す核酸；あるいは、霊長類KTE03に対して少なくとも約30ヌクレオチドの長さにわたって少なくとも約85%の同一性を示す核酸。好ましい実施態様において、洗浄条件は45 および/もしくは500mMの塩であり；または55 および/もしくは150mMの塩であり；あるいは同一性は、少なくとも90%、および/もしくは長さは少なくとも55ヌクレオチドであるか、または同一性は、少なくとも95%、および/もしくは長さは少なくとも75ヌクレオチドである。

40

## 【0018】

本発明はさらに、FDF03、YE01、またはKTE03のアゴニストまたはアンタゴニストと細胞とを接触させることを包含する、細胞または組織培養細胞の生理機能または発達を調節す

50

る方法を提供する。好ましい実施態様において、細胞は白血球であり、そしてアンタゴニストはYE01に対するアンタゴニストであり、DLATR-1に結合するモノクローナル抗体である。

【0019】

本発明は以下を提供する。

1. 配列番号2または4に少なくとも約100アミノ酸長にわたって少なくとも約80%の配列同一性を示す、実質的に純粋なFDF03タンパク質もしくはペプチドまたは組換えFDF03タンパク質もしくはペプチド。
2. 配列番号2または4に記載の成熟アミノ酸配列を含む、実質的に純粋なFDF03ポリペプチド。
3. 配列番号6または8に少なくとも約100アミノ酸長にわたって、少なくとも約80%の配列同一性を示す、実質的に純粋なYE01タンパク質もしくはペプチドまたは組換えYE01タンパク質またはペプチド。
4. 配列番号6または8に記載の成熟アミノ酸配列を含む、実質的に純粋なYE01ポリペプチド。
5. 配列番号10に少なくとも約100アミノ酸長にわたって、少なくとも約80%の配列同一性を示す、実質的に純粋なYE01タンパク質もしくはペプチドまたは組換えYE01タンパク質またはペプチド。
6. 配列番号10に記載の成熟アミノ酸配列を含む、実質的に純粋なYE01ポリペプチド。
7. 配列番号12、14、16、18、20、または22に少なくとも約100アミノ酸長にわたって、少なくとも約80%の配列同一性を示す、実質的に純粋なKTE03タンパク質もしくはペプチドまたは組換えKTE03タンパク質もしくはペプチド。
8. 配列番号12、14、16、18、20、または22に記載の成熟アミノ酸配列を含む、実質的に純粋なKTE03ポリペプチド。
9. 項目1～8のいずれか1項に記載のタンパク質、ペプチドまたはポリペプチドを含む、融合タンパク質。
10. 項目1～8のいずれか1項に記載のタンパク質、ペプチドもしくはポリペプチドに特異的に結合する、抗体または抗体フラグメント。
11. 項目1～8のいずれか1項に記載のタンパク質、ペプチドまたはポリペプチドをコードする核酸。
12. 項目11に記載の核酸を含む発現ベクター。
13. 項目12に記載のベクターを含む宿主細胞。
14. ポリペプチドが発現される条件下で、項目13に記載の宿主細胞を培養する工程を包含する、ポリペプチドを組換え的に産生するための方法。

【発明を実施するための最良の形態】

【0020】

発明の詳細な説明

I. 概論

本発明は、単球上で発現される哺乳動物タンパク質をコードするDNA配列を提供する。単球およびそれらの機能についての概論に関しては、例えば、Gallinら（編、1988）Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates, Raven Press, NY; van Furth（編、1985）Mononuclear Phagocytes: Characteristics, Physiology and Function, Martinus Nijhoff, Dordrecht, Netherlands.を参照のこと。

【0021】

これらのタンパク質の特異的なヒトの実施態様が以下に提供される。例示の目的のために、以下の記載は、ヒト単球遺伝子に対して指向されるが、他の供給源または哺乳動物種（多型性変異体または個々の変異体を含む）由来の構造的に（例えば、配列）に関連する実施態様にも同様に適用可能である。これらは、例えば、配列における比較的少ない変化（例えば、約5%未満、および例えば、20残基未満の数の置換、代表的には、15未満、好ましくは10未満、およびより好ましくは、5未満の置換）を示すタンパク質を含む。これ

らはまた、記載されるような、全長よりも短縮されたバージョン、およびこれらの配列の実質的なセグメントを含む融合タンパク質を含む。

【0022】

II. 定義

用語「結合組成物」は、例えば、抗体-抗原相互作用においてこれらの単球タンパク質に特異的に結合する分子、または化合物（例えば、それぞれのタンパク質と特異的に会合するタンパク質）をいう。代表的には、会合は、天然の生理学的に関連するタンパク質-タンパク質相互作用（共有的または非共有的のいずれか）にあり、そして、キャリア化合物または二量体パートナーを含む多タンパク質複合体のメンバーを含み得る。分子は、ポリマーまたは化学的試薬であり得る。機能的なアナログは、構造的改変を有するタンパク質であり得るか、または完全に無関係な分子（例えば、適切な相互作用決定基と相互作用する分子の形状を有する）であり得る。変異体は、タンパク質のアゴニストまたはアンタゴニストとして作用し得る。例えば、Goodmanら（編）（1990）GoodmanおよびGilman：Pharmacological Bases of Therapeutics（第8版）Pergamon Press、Tarrytown, N.Y.を参照のこと。

10

【0023】

本明細書中で使用される用語「結合試薬：単球タンパク質複合体」は、結合試薬と単球タンパク質との複合体をいう。結合試薬の特異的結合は、結合試薬がそれぞれの単球タンパク質上の部位を認識する、特異的結合部位を有することを意味する。例えば、単球タンパク質に対して惹起され、そして単球タンパク質上のエピトープを認識する抗体は、特異的結合によって結合試薬：単球タンパク質複合体を形成し得る。代表的には、結合試薬：単球タンパク質複合体の形成によって、他のタンパク質および生物製剤の混合物中での単球タンパク質の測定が可能になる。用語「抗体：単球タンパク質複合体」は、結合試薬が抗体である、結合試薬：単球タンパク質複合体をいう。抗体は、モノクローナル、ポリクローナルであり得、または抗体の抗原結合フラグメントでもあり得る。

20

【0024】

「相同な」核酸配列は、比較した場合に、有意な類似性を示す。核酸中の相同性の基準は、配列比較および/または系統発生的関係によって当該分野で一般的に使用される相同性についての基準、またはハイブリダイゼーション条件に基づく基準のいずれかである。ハイブリダイゼーション条件は、以下に詳細に記載される。

30

【0025】

「単離された」核酸は、核酸、例えば、RNA、DNA、または天然の配列（例えば、起源種由来のタンパク質および隣接するゲノム配列）を自然に付随する他の化合物から実質的に分離された混合されたポリマーである。この用語は、その天然に存在する環境から除去されている核酸配列を含み、そして組換え体またはクローニングされたDNA単離物、および化学的に合成されたアナログまたは異種の系によって生物学的に合成されたアナログを含む。実質的に純粋な分子は、単離された形態の分子を含む。単離された核酸は一般に、均一な分子の組成物であるが、いくつかの実施態様において、少量の不均一性を含む。この不均一性は、代表的には、ポリマーの末端、または所望の生物学的機能もしくは活性について重要ではない部分で見出される。

40

【0026】

本明細書中で使用される用語「単球タンパク質」は、タンパク質の文脈で使用される場合、配列番号2または4；6、8、または10；あるいは12、14、または16に示されるアミノ酸配列、あるいはこのようなタンパク質の有意なフラグメントを有するタンパク質を含む。これは、結合成分に特異的なそれぞれの単球タンパク質と相互作用するポリペプチドをいう。これらの結合成分（例えば、抗体）は、代表的には、高い親和性（例えば、少なくとも約100nM、通常は約30nMより大きい、好ましくは、約10nMより大きい、およびより好ましくは、約3nMより大きい）で単球タンパク質に結合する。

【0027】

本明細書中で使用される用語「ポリペプチド」または「タンパク質」は、上記の単球タ

50

ンパク質の有意なフラグメントまたはセグメントを含み、そして少なくとも約8アミノ酸、一般的には、少なくとも10アミノ酸、より一般的には、少なくとも12アミノ酸、しばしば、少なくとも14アミノ酸、より頻繁に、少なくとも16アミノ酸、代表的には少なくとも18アミノ酸、より代表的には少なくとも20アミノ酸、通常は少なくとも22アミノ酸、より通常は少なくとも24アミノ酸、好ましくは少なくとも26アミノ酸、さらに好ましくは、少なくとも28アミノ酸、そして特に好ましい実施態様において、少なくとも30アミノ酸またはそれ以上のアミノ酸のアミノ酸残基の長さ(stretch)を含む。1つのグループ(例えば、FDF03)との比較に適用可能なフラグメントまたは大きさの制限は、他方についてフラグメントの同様の大きさの制限を必ずしも意図するものではない。

**【0028】**

「組換え」核酸は、その生成方法またはその構造のいずれかによって定義される。その生成方法(例えば、プロセッシングによって作製された生成物)を参照すれば、プロセッシングは、組換え核酸技術(例えば、ヌクレオチド配列中のヒトの介在、代表的には、選択または産生を含む)の使用である。あるいは、これは、天然には互いに連続していない2つのフラグメントの融合を含む配列を作製することによって作製された核酸であり得るが、天然の生成物(例えば、天然に存在する変異体)を除くことを意味する。従って、例えば、任意の天然には存在しないベクターで細胞を形質転換することによって作製された生成物が含まれ、そして任意の合成オリゴヌクレオチドのプロセッシングを使用して誘導される配列を含む核酸も同様である。このようなことは、しばしば、同じまたは保存されたアミノ酸をコードするげっ歯類のコドンでコドンを置換するために行われ、一方、代表的には、配列認識部位が導入または除去される。あるいは、一般に入手可能な天然の形態中には見出されない機能の所望の組み合わせを含む、単一の遺伝的完全性を生成するために、所望の機能の核酸セグメントを互いに連結させることが行われる。制限酵素認識部位は、しばしば、このような人工的な操作の標的であるが、他の部位特異的標的(例えば、プロモーター、DNA複製部位、調節配列、制御配列、または他の有用な特徴)が、設計によって取り込まれ得る。同様の概念が、組換え体(例えば、融合物、ポリペプチド)について意図される。遺伝コードの縮重によってこれらの抗原のフラグメントと同様のポリペプチドをコードする合成核酸、および種々の異なる種の変異体由来の配列の融合物が、特に意図される。

**【0029】**

「可溶性」は、スベドベリ単位中で測定される沈降によって反映される。これは、特定の条件下での分子の沈降速度の測定である。沈降速度の決定は、伝統的に、分析的な超遠心分離において行われるが、現在は、代表的には、標準的な超遠心分離で行われる。Freifelder(1982)Physical Biochemistry(第2版)W.H. Freeman & Co., San Francisco, CA; ならびにCantorおよびSchimmel(1980)Biophysical Chemistry, 第1~3部、W.H. Freeman & Co., San Francisco, CAを参照のこと。大まかな決定のために、推定の可溶性のポリペプチドを含有するサンプルを、標準的なフルサイズ超遠心分離で約50Krpmで約10分間回転させ、そして可溶性分子は上清中のままである。そして可溶性の粒子またはポリペプチドは、代表的には、約30S未満であり、より代表的には、約15S未満であり、通常は約10S未満であり、より通常は約6S未満であり、そして特定の実施態様においては、好ましくは約4S未満であり、そしてより好ましくは3S未満である。ポリペプチドまたはフラグメントの可溶性は、環境およびポリペプチドに依存する。温度、電気的環境、ポリペプチドの大きさおよび分子の特徴、ならびに溶媒の性質を含む多くの変数が、ポリペプチドの可溶性に影響を与える。代表的には、ポリペプチドが使用される温度は、約4 から約65の範囲である。通常は、使用される温度は、約18 より大きく、そしてより通常は、約22 より大きい。診断目的のために、温度は、通常は、およそ室温以上であるが、アッセイの成分の変性温度未満である。治療目的のために、温度は、通常は、体温(代表的には、ヒトについては37 )であるが、特定の条件下では、温度は、インサイチュまたはインビトロで上昇され得るか、または低下され得る。

**【0030】**

ポリペプチドの大きさおよび構造は一般に、実質的に安定な状態であるべきであり、そして通常は、変性された状態ではない。ポリペプチドは、四元構造（例えば、可溶性を付与するために）で他のポリペプチドと会合し得るか、または適切な天然の脂質二重層相互作用に近づける様式で、脂質または界面活性剤と会合し得る。

#### 【0031】

溶媒は、通常、生物学的活性の保存のために使用される型の生物学的に適合性の緩衝液であり、そして通常は、生理的溶媒に近い。通常、溶媒は、中性のpH（代表的には、約5~10の間）を有し、そして好ましくは、約7.5である。いくつかの場合において、界面活性剤（代表的には、穏やかな非変成性の界面活性剤（例えば、CHSまたはCHAPS））が、あるいはタンパク質の構造的または生理学的特性の有意な破壊を回避することについて十分に低い濃度で添加される。

10

#### 【0032】

「実質的に純粋」は、代表的には、タンパク質が、起源生物由来の他の混入しているタンパク質、核酸、および他の生物学的製剤から単離されることを意味する。純度、または「単離物」は、標準的な方法によってアッセイされ得、そして通常は少なくとも約50%純粋、より通常は少なくとも約60%純粋、一般には、少なくとも約70%純粋、より一般的には少なくとも約80%純粋、しばしば、少なくとも約85%純粋、より頻繁には少なくとも約90%純粋、好ましくは少なくとも約95%純粋、より好ましくは少なくとも約98%純粋、そして最も好ましい実施態様において少なくとも約99%純粋である。

20

#### 【0033】

核酸配列の比較の文脈において「実質的に類似」は、セグメントまたはそれらの相補鎖のいずれかが、比較された場合、最適にアラインメントされた時に少なくとも50%のヌクレオチド、一般には少なくとも56%、より一般的には少なくとも59%、通常は少なくとも62%、より通常は少なくとも65%、しばしば少なくとも68%、より頻繁には少なくとも71%、代表的には少なくとも74%、より代表的には少なくとも77%、通常は少なくとも80%、より通常は少なくとも約85%、好ましくは少なくとも約90%、より好ましくは少なくとも約95~98%以上の適切なヌクレオチド、そして特定の実施態様においてはヌクレオチドの約99%以上が、適切な挿入または欠失を有して同一であることを意味する。あるいは、実質的な類似性は、セグメントが選択的なハイブリダイゼーション条件下で、代表的には、配列番号1、3、5、7、または9；または11、13、または15に由来する配列を使用する鎖またはその相補鎖にハイブリダイズする場合に存在する。代表的には、選択的なハイブリダイゼーションは、少なくとも約30ヌクレオチドの長さにわたって少なくとも約55%の類似性、好ましくは少なくとも約25ヌクレオチドの長さにわたって少なくとも約65%、より好ましくは、少なくとも約75%、そして最も好ましくは、約20ヌクレオチドにわたって少なくとも約90%の類似性が存在する場合に生じる。例えば、Kanehisa (1984) *Nuc. Acids Res.* 12: 203-213を参照のこと。上記のような類似性の比較の長さは、さらに長い長さにわたり得、そして特定の実施態様において、少なくとも約17ヌクレオチド、通常は少なくとも約20ヌクレオチド、より通常は、少なくとも約24ヌクレオチド、代表的には少なくとも約28ヌクレオチド、より代表的には少なくとも約40ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約50ヌクレオチド、そしてより好ましくは少なくとも約75~100ヌクレオチド、またはそれ以上のヌクレオチドの長さにわたる。

30

40

#### 【0034】

ハイブリダイゼーションの文脈において相同性または実質的な類似性に関して、「ストリンジентな条件」は、塩、温度、有機溶媒、および他の変数（代表的には、ハイブリダイゼーション反応において制御される変数）の条件を組み合わせ、ストリンジентである。変数の組み合わせは、任意の1つの変数の測定よりもさらに重要である。例えば、WetmurおよびDavidson (1968) *J. Mol. Biol.*, 31: 349-370を参照のこと。ストリンジентな条件下で標的核酸に結合する核酸プローブは、上記の標的核酸に特異的である。このようなプローブは、代表的には、11ヌクレオチドより長い長さであり、そしてストリンジентなハイブリダイゼーション条件下で標的に結合するためにプローブの配列によ

50

って特定される領域にわたって標的核酸と十分に同一であるかまたは相補的である。

【0035】

他の哺乳動物種由来の対象の単球タンパク質は、近縁種の交差ハイブリダイゼーションによってクローニングおよび単離され得る。例えば、以下を参照のこと。類似性は、近縁種間で比較的強く、従って、比較的近接に関連した種のハイブリダイゼーションは得策である。あるいは、ほとんど種特異性を示さない抗体調製物の調製は、発現クローニングアプローチにおいて有用であり得る。

【0036】

タンパク質またはペプチドについて言及する場合、熟語「特異的に結合する」または「特異的に免疫反応する」は、タンパク質の不均質な集団および他の生物学的成分の存在下でのタンパク質の存在を決定する結合反応をいう。従って、設計されたイムノアッセイ条件下で、特殊化された抗体は、特定のタンパク質に結合し、そしてサンプル中に存在する他のタンパク質には有意には結合しない。このような条件下での抗体への特異的な結合は、特定のタンパク質についてのその特異性について選択される抗体を必要とし得る。例えば、配列番号2に示されるアミノ酸配列を有するヒトの単球タンパク質免疫原に対して惹起された抗体は、その単球タンパク質と特異的に免疫反応性であり、そして他のタンパク質とは特異的に免疫反応性でない抗体を得るために選択され得る。これらの抗体は、相同的なヒト単球タンパク質の高度に類似であるタンパク質を認識する。

【0037】

III. 核酸

これらの単球遺伝子は、樹状細胞上で特異的に発現される。開示されるような好ましい実施態様は、他の種（例えば、温血動物（例えば、鳥類および哺乳動物）から遺伝子を単離するための標準的な手順において有用である。交差ハイブリダイゼーションは、個体、株、または種由来の関連するタンパク質の単離を可能にする。多数の種々のアプローチが、本明細書中で提供される情報に基づいて適切な核酸クローンを単離するために良好に利用可能である。サザンブロットハイブリダイゼーション試験は、適切なハイブリダイゼーション条件下で他の種の相同遺伝子を同定するはずである。

【0038】

精製されたタンパク質または定義されたペプチドは、以下に記載されるように、標準的な方法による抗体の生成に有用である。合成ペプチドまたは精製されたタンパク質が、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を生成するために免疫系に対して提示され得る。例えば、Coligan (1991) Current Protocols in Immunology Wiley / Greene, NY; および Harlow および Lane (1989) Antibodies: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Press, NY を参照のこと。これらは本明細書中で参考として援用される。あるいは、CDタンパク質結合組成物は、特異的結合試薬として有用であり得、そして例えば、単球タンパク質の精製のために、その結合の特異性が利用され得る。

【0039】

特異的結合組成物が、それぞれの単球タンパク質を発現する細胞株から作製される発現ライブラリーをスクリーニングするために使用され得る。多くのスクリーニング方法（例えば、表面で発現されるリガンドの標準的な染色、またはパンニングによる）が、利用可能である。細胞内発現のスクリーニングはまた、種々の染色または免疫蛍光手順によって行われ得る。結合組成物は、親和性精製またはリガンドを発現する細胞の選別のために使用され得る。

【0040】

ペプチドセグメントもまた、類似の遺伝子（例えば、同一または多型性の変異体）の存在を決定するために、または単球を同定するために、ライブラリーをスクリーニングするための適切なオリゴヌクレオチドを産生するために使用され得る。遺伝コードは、スクリーニングのためのプローブとして有用な適切なオリゴヌクレオチドを選択するために使用され得る。ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）技術と組み合わせて、合成オリゴヌクレオチドが、ライブラリーからの所望のクローンの選択に有用である。

## 【 0 0 4 1 】

相補配列はまた、プローブまたはプライマーとして使用される。おそらくアミノ末端の同定に基づいて、他のペプチドが、特に有用であるはずである。例えば、アンカーベクターまたはポリ A 相補PCR技術を用いて連結されるか、あるいは他のペプチドの相補DNAと連結される。

## 【 0 0 4 2 】

これらの単球タンパク質をコードする遺伝子の核酸の操作のための技術（例えば、発現ベクター中へのポリペプチドをコードする核酸配列のサブクローニング、プローブの標識、DNAハイブリダイゼーションなど）が、Sambrookら（1989）Molecular Cloning : A Laboratory Manual（第2版）第1～3巻、Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Press, NYに一般的に記載されている。これは本明細書中で参考として援用され、そして本明細書中以後、「Sambrookら」と記載される。Coliganら（1987、および定期的な補遺）、Current Protocols in Molecular Biology, Greene / Wiley, New York, NYもまた参照のこと。これは、「Coliganら」と記載される。

10

## 【 0 0 4 3 】

これらの単球タンパク質をコードするDNA配列を単離する種々の方法が存在する。例えば、DNAは、本明細書中で開示される配列と同一またはそれに相補的な配列を有する標識されたオリゴヌクレオチドプローブを使用して、ゲノムまたはcDNAライブラリーから単離される。全長のプローブが使用され得るか、またはオリゴヌクレオチドプローブが、他のタンパク質と開示された配列との比較、および特異的プライマーの選択によって、生成され得る。このようなプローブが、単球タンパク質をコードするDNAを単離するためのハイブリダイゼーションアッセイにおいて直接使用され得るか、またはプローブが、単球タンパク質をコードするDNAの単離のためのPCRのような増幅技術における使用のために設計され得る。

20

## 【 0 0 4 4 】

cDNAライブラリーを調製するために、mRNAが、単球タンパク質を発現する細胞から単離される。cDNAがmRNAから調製され、そして組換えベクターに連結される。ベクターは、増殖、スクリーニング、およびクローニングのために組換え宿主中にトランスフェクトされる。cDNAライブラリーを作製しそしてスクリーニングするための方法は、周知である。GublerおよびHoffman（1983）Gene 25 : 263-269 ; Sambrookら ; またはColiganらを参照のこと。

30

## 【 0 0 4 5 】

ゲノムライブラリーについて、DNAは、組織から抽出され得、そして機械的に切断されるかまたは酵素的に消化されるかのいずれかによって約12～20kbのフラグメントを生じる。次いで、フラグメントは、勾配遠心分離によって分離され、そしてバクテリオファージベクターにクローニングされる。これらのベクターおよびファージは、例えば、Sambrookら、またはColiganらに記載されるように、インピットロでパッケージングされる。組換えファージは、BentonおよびDavis（1977）Science 196 : 180-182に記載されるようなブランクハイブリダイゼーションによって分析される。コロニーハイブリダイゼーションが、例えば、Grunsteinら（1975）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72 : 3961-3965に一般的に記載されるように行われる。

40

## 【 0 0 4 6 】

単球タンパク質をコードするDNAが、本明細書中に記載される核酸プローブとハイブリダイズするその能力によって、例えば、コロニーハイブリダイゼーション実験またはブランクハイブリダイゼーション実験において、cDNAまたはゲノムライブラリーのいずれかにおいて同定され得る。対応するDNA領域は、当業者によく知られている標準的な方法によって単離される。Sambrookらを参照のこと。

## 【 0 0 4 7 】

標的配列を増幅するための種々の方法（例えば、ポリメラーゼ連鎖反応）がまた、単球タンパク質をコードするDNAを調製するために使用され得る。ポリメラーゼ連鎖反応（PCR

50

) 技術は、mRNAから、cDNAから、およびゲノムライブラリーからまたはcDNAライブラリーから直接このような核酸配列を増幅するために使用される。単球タンパク質をコードする単離された配列はまた、PCR増幅のためのテンプレートとして使用され得る。

【 0 0 4 8 】

PCR技術において、増幅されるべきDNA領域中の2つの5'領域に相補的なオリゴヌクレオチドプライマーが合成される。次いで、ポリメラーゼ連鎖反応が、2つのプライマーを使用して行われる。Innisら(編)(1990)PCRProtocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press, San Diego, CA.を参照のこと。プライマーは、選択された全長の単球タンパク質をコードする領域の全体を増幅するため、または所望される場合には、より小さなDNAセグメントを増幅するために選択され得る。一旦このような領域がPCR増幅されると、これらは配列決定され得、そしてオリゴヌクレオチドプローブが、標準的な技術を使用して、得られる配列から調製され得る。次いで、これらのプローブは、他の形態の単球タンパク質をコードするDNAを単離するために使用され得る。

10

【 0 0 4 9 】

プローブとしての使用のためのオリゴヌクレオチドは、BeaucageおよびCarruthers(1983)Tetrahedron Lett. 22(20):1859-1862によって、最初に記載された固相ホスホルアミダイトトリエステル法に従って、またはNeedham-VanDevanterら(1984)NucleicAcids Res. 12:6159-6168に記載されているような自動合成機を使用して化学的に合成される。オリゴヌクレオチドの精製は、例えば、未変性のアクリルアミドゲル電気泳動によって、またはPearsonおよびRegnier(1983)J.Chrom. 255:137-149に記載されているような陰イオン交換HPLCによって行われる。合成オリゴヌクレオチドの配列は、GrossmanおよびMoldave(編)(1980)Methods in Enzymology 65:499-560 Academic Press, New YorkのMaxamおよびGilbertの化学分解法を使用して確認され得る。

20

【 0 0 5 0 】

Ig様ドメインによって特徴づけられる細胞外部分を含むI型膜貫通タンパク質である、ヒトタンパク質をコードする核酸が単離されている。このことは、この遺伝子が、Igスーパーファミリーのレセプターのメンバーをコードすることを示す。この1249bpのクローンは、単球細胞のライブラリーから単離され、そしてFDF03と命名されている。そのヌクレオチド配列および対応するオープンリーディングフレームは、配列番号1および2にそれぞれ提供される。推定コード領域は約154~1062に存在する。N末端の疎水性配列(例えば、推定シグナル配列)は、およそアミノ酸-19(met)~-1(leu)に対応し、そして推定膜貫通セグメントに対応する内部の疎水性セグメントは、およそala177からleu199に存在する。細胞外領域は、おそらく、約170アミノ酸であり、潜在的なIg様ドメイン構造を有する。内部領域は約80残基である。配列分析は、ヒト由来のGenBankクローンH26010および同R50327に対する類似性を示す。

30

【 0 0 5 1 】

他の哺乳動物の対応物が、利用可能になるはずである。例えば、部分的なげっ歯類遺伝子が、配列番号3におよび4に記載される。部分的なヒト/マウスのアラインメントが、表1に提供される。標準的な技術によって、他の対応物の単離または部分的配列を拡大することが可能である。

40

【 0 0 5 2 】

表1 ヒト/マウスFDF03タンパク質の部分的なアラインメント。

【 0 0 5 3 】

## 【表1】

hu  
MGRPLLLPLLLPLLLPPAFLQPSGSGPSYLYGVTQPKHLSASMGGVEIPFSFYYPWE  
mo MAQVLLLLSSGCLHAGNSERYNRKNG-----  
FGVNQPERCSGVQGGSIDIPFSFYFPWK

hu  
LATAPDVRI SWRRGHFHGQSFYSTRPPSIHKDYVNRFLNWTEGQKSGFLRISNLQK...  
mo LAKDPQMSIAWKWKDFHGEVIYNSLPIHEHFKGRLILNWTQGG...

## 【0054】

第2のヒト単球細胞クローンを、活性化した単球細胞のライブラリーから単離し、そしてYE01と命名した。YE01は、Fc および / またはFc のレセプターに関連する。このタンパク質は、本明細書中でFc / レセプターと呼ばれ、そして配列番号5および6に記載される。マウスの対応物は、おそらく、ESTW55567中にコードされる。

10

## 【0055】

類似の遺伝子が、モノクローナル抗体DX26を使用して発現クローニングによってクローニングされた。これは、ヒトNK細胞クローンNK681.D5の免疫原に対して惹起され、そしてNK細胞クローンによるFcレセプターを有する標的細胞 (SP2/O) のキラーを阻害するために選択された。この単離物は、配列番号7および8に記載される。

## 【0056】

レセプターの可溶性形態 (DLAIR-2と呼ばれる) の核酸および推定アミノ酸配列が、配列番号9および10に開示される。このシグナル配列は、およそMet1からThr21までに存在する。遺伝子は最初に単球由来の遺伝子として記載されたが、発現分析は、これが、リンパ球上での発現についてより特異的であることを示す。従って、YE01の場合、記述「単球遺伝子」は、その細胞型について富化された集団でのその最初の同定を示し得るが、これはまた、いくつかの他の細胞型を含み得る。配列分析は、YE01がレセプターのIgスーパーファミリーのメンバーであり、そしてCD8ファミリーと密接に関連することを示唆する。これは、V1J型の折り畳みを含み、特に、Fcレセプター および / または を含む。これが、ITAM様モチーフを含むので、タンパク質は、キラー (Killer) 阻害レセプター (KIR) のリンパ球バージョンで十分あり得る。これは、キラー細胞機能を阻害するネガティブなシグナルを送る。このタンパク質は、リンパ球エフェクター細胞機能 (例えば、抗原提示、または続く応答の開始) を阻害することにおいて類似の機能を示す。

20

30

## 【0057】

詳細には、DX26mAb (DNAX白血球関連イムノグロブリン様レセプター (DLAIR)) によって認識される分子を介するシグナル伝達は、それらが標的細胞を特異的にキラーすることを妨げるNK細胞クローンに対するネガティブなシグナルを誘導する。しかし、この分子は、T細胞および単球を含む他のリンパ球上で発現される。従って、DX26抗体はおそらく、NK細胞および細胞傷害性T細胞の両方が殺傷することを阻害する抗体を表し、そして単球の分布は、この分子が単球媒介性またはリンパ球媒介性のエフェクター機能を阻害し得ることを示唆する。

## 【0058】

第3の単球遺伝子が単離され、そしてKTE03と命名された。そしてこれは、YYB01、YYB04 (1型および2型)、KLM63、KLM66、およびKLM67と命名された6つの関連する実施態様によって表される。可能性のあるスプライシング変異体 (変異タンパク質形態をコードし得る) もまた検出されたことに注目する。

40

## 【0059】

配列番号11~22は、ヒトKTE03配列 (例えば、オルタナティブスプライシング、いくつかのNKKIR表面分子、ならびにFcレセプター および に相同性を有する、関連タンパク質をコードする) を提供する。YYB01をコードする配列は、約81から1397までに存在するようである。メッセージは、IL-10でアップレギュレートするようである。配列番号11および12を参照のこと。特定の位置で終了する配列の有意な同一性のために、ヌクレオチド

50

36、1264、および1587の周辺にスプライシング接合部位が存在するようである。提供されたYYB04配列は、特定の配列の挿入がフレームシフトおよびオルタナティブカルボキシ末端配列を導くことを示唆する。さらに、配列における特定の特有の差異は、配列決定の誤り、または超可変領域の組み合わせにおそらく類似の機構によって生成される可変性の機構のいずれかを示唆する。

【0060】

配列番号13および14は、YYB04の核酸およびアミノ酸配列を示す。これは、YYB01に、おそらく同じ遺伝子または非常に高度に関連する遺伝子からのオルタナティブスプライシングによって関連する。コード領域は、およそ191~1493に存在するが、開始メチオニンは、実際に、18と番号付けされたMetであり得る（配列番号13および14を参照のこと）。残基1426~1427の間の以下の配列の挿入物の存在についての証拠を含む、別の転写物が、単離された：

【表1-1】

TGCTACGGCT CACTCAACTC CGACCCCTAC CTGCTGTCTC  
ACCCAGTGA GCCCCTGGAG CTCGTGGTCT CAGG

【0061】

これは、続く配列の下流のリーディングフレームを変化させ、413残基から以下の配列をコードする：

【表1-2】

CYG

SLNSD PYLLS HPSEP LELVV SGPSM GSSPP PTGPI STPAG PEDQP  
LTPTG SDPQS GLGRH LGVVI GILVA VVLLL LLLLL LFLIL  
RHRRQ GKHWT STQRK ADFQH PAGAV GPEPT DRGLQ WRSSP  
AADAQ EENLY AAVKD TQPED GVEMD TRAAA SEAPQ DVTYA  
QLHSL TLRRK ATEPP PSQER EPPAE PSIYA TLAIH

【0062】

（配列番号15）。このオルタナティブ配列は、約478~500までの膜貫通セグメントを含む。

【0063】

KLM63と命名されたKTE03の実施態様はまた、配列番号17および18に提供されている。別のKTE03の実施態様（KLM66と命名された）は、配列番号19および20に提供される。なお別のKTE03の実施態様（KLM67と命名された）が、配列番号21および22に提供される。

【0064】

本発明は、記載されるように、単球タンパク質をコードする単離されたDNAまたはフラグメントを提供する。さらに、本発明は、生物学的に活性なタンパク質またはポリペプチドをコードする単離されたまたは組換えDNAを提供する。これは、適切な条件（例えば、高ストリンジェントな条件下で）本明細書中に記載されるDNA配列とハイブリダイズし得る。上記の生物学的に活性なタンパク質またはポリペプチドは、天然に存在する形態であり得るか、または組換えタンパク質もしくは組換えポリペプチドであり得、そして配列番号2または4；6、8、または10；あるいは12、14、16、18、20、または22に開示されるようなアミノ酸配列を有する。好ましい実施態様は、全長の天然の単離物（例えば、霊長類由来）である。グリコシル化形態において、タンパク質は、より大きいサイズを示す。さらに、本発明は、単離されたDNAもしくは組換えDNA、またはそれぞれの単球タンパク質と互いに相同であるタンパク質をコードするそのフラグメントの使用を含む。単離されたDNAは、例えば、プロモーター、エンハンサー、ポリA付加シグナルなどの5'および3'に隣接したそれぞれの調節配列を有し得る。

【0065】

## IV. 単球遺伝子産物の作製

これらの単球タンパク質またはそのフラグメントをコードするDNAが、化学的合成、cDNAライブラリーのスクリーニングによって、または広範な細胞株もしくは組織サンプルから調製したゲノムライブラリーのスクリーニングによって得られ得る。

## 【0066】

これらのDNAは、例えば、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体を生成するために使用され得る全長のタンパク質またはフラグメントの合成のために；結合研究のために；改変された分子の構築および発現のために；ならびに構造/機能の研究のために、広範な宿主細胞中で発現され得る。これらの単球タンパク質またはそのフラグメントのそれぞれは、適切な発現ベクターで形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞中で発現され得る。これらの分子は、組換え宿主に由来する他のタンパク質または細胞の混入物を含まないように、実質的に精製され得、従って、薬学的に受容可能な伽羅イ亜および/または希釈剤と組み合わせられた場合に、薬学的組成物中で特に有用である。抗原またはその部分は、他のタンパク質との融合体として発現され得る。

10

## 【0067】

発現ベクターは、代表的には、所望の単球遺伝子またはそのフラグメントを含む、自己複製型DNAまたはRNA構築物であり、通常は、適切な宿主中で認識される遺伝子制御エレメントに作動可能に連結されている。これらの制御エレメントは、適切な宿主中での発現を達成し得る。発現を行うために必要な特定の型の制御エレメントは、最終的に使用される宿主細胞に依存する。一般的には、遺伝子制御エレメントは、原核生物プロモーター系または真核生物プロモーター発現制御系を含み得、そして代表的には、転写プロモーター、転写の開始を制御するための任意のオペレータ、mRNAの発現レベルを上昇させるための転写エンハンサー、適切なりボソーム結合部位をコードする配列、および転写および翻訳を終結させる配列を含む。発現ベクターはまた、通常は、宿主細胞からベクターが独立して複製することを可能にする複製起点を含む。

20

## 【0068】

本発明のベクターは、種々の単球タンパク質をコードするDNA、またはそのフラグメント（代表的には、例えば、生物学的に活性なポリペプチドまたはタンパク質をコードする）を含む。DNAは、ウイルスプロモーターの制御下に存在し得、そして選択マーカーをコードし得る。本発明はさらに、原核生物または真核生物宿主中で単球タンパク質をコードする真核生物cDNAを発現し得る、このような発現ベクターの使用をさらに意図する。ここで、ベクターは、宿主に適合性であり、そしてここでタンパク質をコードする真核生物cDNAは、目的のcDNAを発現するベクターを含む宿主が増殖するように、ベクターに挿入される。通常は、発現ベクターは、それらの宿主細胞中での安定な複製、または細胞あたりの所望の遺伝子の総コピー数を劇的に増大させるための増幅のために設計される。宿主細胞中で発現ベクターが複製することは必ずしも常に必要ではなく、例えば、宿主細胞によって認識される複製起点を含むベクターを使用する種々の宿主中での、タンパク質またはそのフラグメントの一時的な発現を達成することが可能である。組換えにより宿主DNA中に単球遺伝子またはそのフラグメントの組み込みを生じるベクターを使用すること、または内因性の遺伝子の発現を制御するプロモーターを組み込むこともまた、可能である。

30

40

## 【0069】

本明細書中で使用されるベクターは、プラスミド、ウイルス、バクテリオファージ、組み込み可能なDNAフラグメント、および宿主のゲノムへのDNAフラグメントの組み込みが可能な他のビヒクルを含む。発現ベクターは、作動可能に連結された遺伝子の発現に影響を与える遺伝子制御エレメントを含む、特殊化されたベクターである。プラスミドは、最も一般的に使用されるベクターの形態であるが、同等の機能を提供するベクターの全ての他の形態が、本明細書中で使用のために適切である。例えば、Pouwelsら（1985、および補遺）Cloning Vectors: A Laboratory Manual Elsevier, N.Y.; およびRodriquezら（編）（1988）Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses, Butterworth, Boston, MAを参照のこと。

50

## 【0070】

適切な宿主細胞として、原核生物、下等真核生物、および高等真核生物が挙げられる。原核生物として、グラム陰性およびグラム陽性生物（例えば、*E. coli*および*B. subtilis*）の両方が挙げられる。下等真核生物として、酵母（例えば、*S. cerevisiae*および*Pichia*）、ならびに*Dictyostelium*属の種が挙げられる。高等真核生物として、動物細胞由来の確立された組織培養細胞株（非哺乳動物起源（例えば、昆虫細胞および鳥類）、および哺乳動物起源（例えば、ヒト、霊長類、およびげっ歯類）の両方）が挙げられる。

## 【0071】

原核生物宿主ベクター系として、多くの異なる種の広範なベクターが挙げられる。本明細書中で使用される場合、*E. coli*およびそのベクターが、他の原核生物中で使用される同等のベクターを含むように、一般的に使用される。DNAを増幅するための代表的なベクターは、pBR322またはその誘導体である。単球タンパク質またはフラグメントを発現するために使用され得るベクターとして、例えば以下が挙げられるが、これらに限定されない：lacプロモーターを含むベクター（pUC-シリーズ）；trpプロモーターを含むベクター（pBR322-trp）；lppプロモーターを含むベクター（pIN-シリーズ）；-pPまたはpRプロモーターを含むベクター（pOTS）；またはptacのようなハイブリッドプロモーターを含むベクター（pDR540）。Brosiusら（1988）「Expression Vectors Employing Lambda-, trp, lac-, and lpp-derived Promoters」、RodriguezおよびDenhardt（編）*Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Use* 10: 205-236 Butterworth, Boston, MAを参照のこと。

## 【0072】

下等真核生物（例えば、酵母および*Dictyostelium*）は、単球遺伝子配列を含有するベクターで形質転換され得る。本発明の目的のために、最も一般的な下等真核生物宿主は、パン酵母の*Saccharomyces cerevisiae*である。これは、下等真核生物を代表して遺伝的に使用されるが、多数の他の株および種もまた利用可能である。酵母ベクターは代表的には、複製起点（組み込み型以外）、選択遺伝子、プロモーター、所望のタンパク質をコードするDNAまたはそのフラグメント、ならびに翻訳の終結、ポリアデニル化、および転写の終結のための配列からなる。酵母について適切な発現ベクターとして、3-ホスホグリセリン酸キナーゼのような構成性プロモーター、および種々の他の解糖酵素遺伝子プロモーター、またはアルコールデヒドロゲナーゼ2プロモーターもしくはメタロチオネインプロモーターのような誘導性プロモーターが挙げられる。適切なベクターとして、以下の型の誘導体が挙げられる：自律複製性低コピー数型（例えば、YRp-シリーズ）；自律複製性高コピー数型（例えば、YEp-シリーズ）；組み込み型（例えば、YIp-シリーズ）；またはミニ染色体（例えば、YCp-シリーズ）。

## 【0073】

より高等な真核生物組織培養細胞が、単球タンパク質の発現のための好ましい宿主細胞である。原則的には、ほとんどの任意の高等真核生物組織培養細胞株（例えば、バキュロウイルス発現系）が、無脊椎動物または脊椎動物供給源にかかわらず使用され得る。しかし、哺乳動物細胞が、翻訳と同時のおよび翻訳後の両方の適切なプロセッシングを達成するために好ましい。このような細胞の形質転換またはトランスフェクションおよび増殖は日常的である。有用な細胞株として、HeLa細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞株、ラット幼仔腎臓（BRK）細胞株、昆虫細胞株、鳥類細胞株、およびサル（COS）細胞株が挙げられる。このような細胞株についての発現ベクターは、通常は、複製起点、プロモーター、翻訳開始部位、RNAスプライシング部位（例えば、ゲノムDNAが使用される場合）、ポリアデニル化部位、および転写終結部位を含む。これらのベクターはまた、選択遺伝子または増幅遺伝子を含み得る。適切な発現ベクターはまた、例えば、アデノウイルス、SV40、パルボウイルス、ワクシニアウイルス、またはサイトメガロウイルス由来のプロモーターを保有する、プラスミド、ウイルス、またはレトロウイルスであり得る。適切な発現ベクターの代表的な例として、pCDNA1；pCD、Okayamaら（1985）*Mol. Cell Biol.* 5: 1136-1142を参照のこと；pMC1neo Poly-A、Thomasら（1987）*Cell* 51: 503-512；およびpAC

10

20

30

40

50

373またはpAC610のようなバキュロウイルスベクターが挙げられる。

【0074】

特定の例において、単球タンパク質は、特定のアッセイでの生物学的応答を誘発するためにグリコシル化される必要はない。しかし、特異的なまたは規定されたグリコシル化パターンを提供する系において単球ポリペプチドを発現することがしばしば所望される。この場合、通常のパターンが、発現系によって自然に提供される。しかし、このパターンは、例えば、非グリコシル化形態で、異種発現系に導入された適切なグリコシル化タンパク質にポリペプチドを曝すことによって改変可能である。例えば、単球遺伝子は、1つ以上の哺乳動物または他のグリコシル化酵素をコードする遺伝子と同時に形質転換され得る。過剰のグリコシル化が、単球タンパク質の生物学的活性に対して決定的である得ること、および当業者が適切な生物学的活性を付与するグリコシル化の程度を最適化するように日常的な試験を行い得ることが、さらに理解される。

10

【0075】

単球タンパク質、またはそのフラグメントは、細胞膜に連結されるホスファチジルイノシトール (PI) であるように操作され得るが、ホスファチジルイノシトール切断化酵素 (例えば、ホスファチジルイノシトールホスホリパーゼ-C) での処理によって、膜から除去され得る。これは、生物学的に活性な形態で、抗原を放出し、そしてタンパク質化学の標準的な手順による精製を可能にする。例えば、Low (1989) *Biochem. Biophys. Acta* 988:427-454; Tseら (1985) *Science* 230:1003-1008; Brunnerら (1991) *J. Cell Biol.* 114:1275-1283; および Coliganら (編) (1996 および 定期的な補遺) *Current Protocols in Protein Science*, John Wiley および Sons, New York, NY を参照のこと。

20

【0076】

現在、これらの単球タンパク質は、特徴付けられており、そのフラグメントまたは誘導体は、ペプチドを合成するための従来の手順によって調製され得る。これらは、以下において記載されるような手順を包含する: Stewart および Young (1984) *Solid Phase Peptide Synthesis* Pierce Chemical Co., Rockford, IL; Bodanszky および Bodanszky (1984) *The Practice of Peptide Synthesis* Springer-Verlag, New York, NY; および Bodanszky (1984) *The Principles of Peptide Synthesis* Springer-Verlag, New York, NY. Merrifield (1986) *Science* 232:341-347; および Dawsonら (1994) *Science* 266:776-779 もまた参照のこと。例えば、アジドプロセス、酸クロリドプロセス、酸無水物プロセス、混合化無水物プロセス、活性エステルプロセス (例えば、p-ニトロフェニルエステル、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、もしくはシアノメチルエステル)、カルボジイミダゾールプロセス、酸化-還元プロセス、またはジシクロヘキシルカルボジイミド (DCCD) / 付加 (additive) プロセスが、使用され得る。固相合成および液相合成は、両方ともに、上述のプロセスに適用可能である。

30

【0077】

調製されたタンパク質およびそのフラグメントは、ペプチド分離の手段によって (例えば、抽出、沈殿、電気泳動、および種々の形態のクロマトグラフィーなどによって)、反応混合物から、単離および精製され得る。本発明の単球タンパク質は、所望される使用に依存して、種々の程度の純度が得られ得ることができる。精製は、公知のタンパク質精製技術の使用によって、または、例えば、免疫吸着アフィニティークロマトグラフィーにおける、本明細書中に記載される抗体もしくは結合パートナーの使用によって、達成され得る。この免疫吸着アフィニティークロマトグラフィーは、最初に、固体支持体に抗体を結合し、そして適切な供給源の細胞の可溶化された溶解物、このタンパク質を発現する他の細胞の溶解物、または DNA 技術の結果であるタンパク質を産生する細胞の溶解物もしくは上清と、結合された抗体とを接触することによって、行われる (以下を参照のこと)。

40

【0078】

他の細胞に比較して高レベルで、前記タンパク質を発現する細胞について、複数の細胞株がスクリーニングされ得る。種々の細胞株 (例えば、マウス胸腺間質細胞株 TA4) が、スクリーニングされ、そしてその好ましい操作されている性質について選択される。天然

50

の単球細胞タンパク質は、天然の供給源から、または適切な発現ベクターを使用する、形質転換された細胞からの発現によって、単離され得る。発現されたタンパク質の精製は、標準的な手順によって達成されるか、または細胞溶解物もしくは上清からの、高効率の効果的な精製のために操作される手段と組み合わせられ得る。FLAGまたはHis<sub>6</sub>セグメントは、このような精製特徴のために使用され得る。

【0079】

V. 抗体

抗体は、これらの種々の単球タンパク質に対して惹起され得、個体の、多型の、対立遺伝子の、系統の、または種の改変体およびそのフラグメントを、それらが天然に存在する（完全長）形態において、およびそれらの組換え形態においての両方で含む。さらに、抗体は、それらの活性形態において、またはそれらの不活性な形態においてのいずれかで、単球タンパク質に対して惹起され得る。抗イディオタイプ抗体はまた、使用され得る。

10

【0080】

a. 抗体産生

多数の免疫原が、これらの単球タンパク質と特異的に反応する抗体を産生するために用いられ得る。組換えタンパク質は、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体の産生についての好ましい免疫原である。天然に存在するタンパク質はまた、精製形態、または未精製形態のいずれかにおいて使用され得る。本明細書中に記載されるヒト単球タンパク質配列を使用して作製される合成ペプチドはまた、単球タンパク質に対する抗体の産生のための免疫原として使用され得る。組換えタンパク質は、本明細書中に記載されるように、真核生物細胞または原核生物細胞において発現され得、そして記載されるように精製され得る。次いで、産生物は、抗体を産生し得る動物へ、注入される。モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体のいずれかが、タンパク質を測定するためのイムノアッセイにおけるその後の使用のために作製され得る。

20

【0081】

ポリクローナル抗体を産生する方法は、当業者に公知である。簡潔には、免疫原、好ましくは精製タンパク質は、アジュバントと混合され、そして動物は、この混合物で免疫される。免疫原調製物に対する動物の免疫応答は、試験する血液を採取し、そして目的の単球タンパク質に対する反応性の力価を測定することによって、モニターされる。免疫原に対する抗体の適切な高力価が得られる場合、動物から血液が回収され、そして抗血清が調製される。タンパク質に反応性の抗体を富化するための、抗血清のさらなる分画が、所望であれば、行われ得る。例えば、HarlowおよびLaneを参照のこと。

30

【0082】

モノクローナル抗体は、当業者によく知られる種々の技術によって得られ得る。簡潔には、所望の抗原で免疫した動物からの脾臓細胞が、一般に、ミエローマ細胞との融合によって、不死化される。例えば、KohlerおよびMilstein (1976) Eur. J. Immunol. 6:511-519 (これは本明細書中に参考として援用される) を参照のこと。不死化の代替の方法は、エプスタインバーウイルス、ガン遺伝子、もしくはレトロウイルスでの形質転換、または当該分野において公知の他の方法を包含する。単一の不死化細胞から生じるコロニーは、抗原についての所望の特異性および親和性を有する抗体の産生について、スクリーニングされ、そしてこのような細胞によって産生されるモノクローナル抗体の収量は、脊椎動物宿主の腹腔への注入を含む種々の技術によって増強され得る。あるいは、モノクローナル抗体またはその結合フラグメントをコードするDNA配列を、Huseら (1989) Science 246:1275-1281によって概説される一般的なプロトコルに従って、ヒトB細胞からのDNAライブラリーをスクリーニングすることによって、単離し得る。

40

【0083】

これらの単球タンパク質の予め決定されたフラグメントに対する抗体は、結合フラグメントおよび1本鎖型 (version) を含み、フラグメントと、上記のようなキャリアタンパク質との結合体で、動物を免疫化することによって惹起され得る。モノクローナル抗体は、所望の抗体を分泌する細胞から、調製される。これらの抗体は、正常なもしくは欠損し

50

た単球タンパク質に対する結合についてスクリーニングされ得るか、またはアゴニスト活性もしくはアンタゴニスト活性についてスクリーニングされ得る。これらのモノクローナル抗体は、通常は、少なくとも約1mMの、より通常は少なくとも約300 $\mu$ Mの、代表的には少なくとも約100 $\mu$ Mの、より代表的には少なくとも約30 $\mu$ Mの、好ましくは少なくとも約10 $\mu$ Mの、およびより好ましくは少なくとも約3 $\mu$ M以上の $K_D$ で、結合する。標準的な方法が、高い親和性および選択性の抗体調製物の選択について、利用可能である。

#### 【0084】

いくつかの例において、種々の哺乳動物宿主（例えば、マウス、げっ歯類、霊長類、ヒトなど）からモノクローナル抗体を調製することが望ましい。このようなモノクローナル抗体を調製するための技術の記載は、例えば、Stitesら（編）Basic and Clinical Immunology（第4版）Lange Medical Publications、Los Altos, CAおよびそこに引用される参考文献；HarlowおよびLane（1988）Antibodies：A Laboratory Manual CSH Press；Goding（1986）Monoclonal Antibodies：Principles and Practice（第2版）Academic Press、New York, NY；ならびに、特に、KohlerおよびMilstein（1975）Nature 256:495-497（これはモノクローナル抗体を作製する1つの方法を考察する）において、見出され得る。簡潔にまとめると、この方法は、動物を免疫原で注射して、体液性免疫応答を開始する工程を包含する。次に、動物は屠殺され、次いで、その脾臓から採取された細胞は、ミエローマ細胞と融合される。結果は、ハイブリッド細胞または「ハイブリドーマ」であり、これはインビトロで増殖し得る。次いで、ハイブリドーマの集団は、個々のクローンを単離するためにスクリーニングされ、このそれぞれは、免疫原に対する単一の抗体種を分泌する。この様式において、得られる個々の抗体種は、免疫動物由来の、不死化されたおよびクローン化された単一のB細胞の産物であり、免疫原性物質において認識される特定の部位に応答して作製される。

#### 【0085】

他の適切な技術は、ファージまたは類似のベクターにおける、抗体のライブラリーの選択を包含する。Huseら（1989）「ファージにおける免疫グロブリンレパートリーの大規模コンビナトリアルライブラリーの作製」、Science 246:1275-1281；およびWardら（1989）Nature 341:544-546を参照のこと。本発明のポリペプチドおよび抗体は、改変を伴って、または改変を伴わないで、使用され得、キメラ抗体またはヒト化抗体を含む。しばしば、ポリペプチドおよび抗体は、共有結合または非共有結合のいずれかで、検出可能なシグナルを提供する物質を結合することによって、標識される。広範に多様な標識および結合技術が、公知であり、そして科学文献および特許文献の両方において、広く報告されている。適切な標識としては、放射性核種、酵素、基質、補因子、インヒビター、蛍光部分、化学発光部分、磁性粒子などが挙げられる。このような標識の使用を教示する特許としては、米国特許第3,817,837号；同第3,850,752号；同第3,939,350号；同第3,996,345号；同第4,277,437号；同第4,275,149号；および同第4,366,241号が挙げられる。また、組換え免疫グロブリンが生成され得る。Cabilly、米国特許第4,816,567号；およびQueenら（1989）Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033を参照のこと。

#### 【0086】

本発明の抗体はまた、各単球タンパク質を単離する際の、アフィニティークロマトグラフィーのために使用され得る。カラムが調製され得、ここで抗体は固体支持体（例えば、アガロース、SEPHADEXなどのような粒子）に結合され、ここに細胞溶解物はカラムを介して通過され得、カラムは洗浄され、次いで緩和な変性剤の濃度を漸増することによって精製された単球タンパク質が放出される。

#### 【0087】

抗体はまた、特定の発現産物について、発現ライブラリーをスクリーニングするために使用され得る。通常、このような手順において使用される抗体は、抗体結合による抗原の存在の容易な検出を可能にする部分で標識される。

#### 【0088】

単球タンパク質に対する抗体は、それぞれのタンパク質を発現する、特定の細胞集団成

分の分析、または同定のために使用され得る。単球タンパク質を発現する細胞の発現産物をアッセイすることによって、疾患（例えば、免疫無防備状態、単球涸渇化状態、または単球の過剰産生）を診断することが可能である。

【0089】

各単球に対して惹起される抗体はまた、抗イディオタイプ抗体を惹起するために有用である。これらは、それぞれの抗原の発現に関連する、種々の免疫学的状態を検出する、または診断するのに有用である。

【0090】

b. イムノアッセイ

特定のタンパク質は、種々のイムノアッセイ法によって測定され得る。一般の免疫学的手順およびイムノアッセイ手順の概説について、StitesおよびTerr（編）1991 Basic and Clinical Immunology（第7版）を参照のこと。さらに、本発明のイムノアッセイは、任意のいくつかの構成において行われ得、これは、Maggio（編）（1980）Enzyme Immunoassay CRC Press, Boca Raton, Florida; Tijan（1985）「酵素イムノアッセイの実施および理論」、Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam; およびHarlowおよびLane Antibodies, A Laboratory Manual、前述（これらのそれぞれは、本明細書中に参考として援用される）において広く概説される。Chan（編）（1987）Immunoassay: A Practical Guide Academic Press, Orlando, FL; PriceおよびNewman（編）（1991）Principles and Practice of Immunoassays Stockton Press, NY; およびNgo（編）（1988）Non-isotopic Immunoassays Plenum Press, NYもまた、参照のこと。

10

20

【0091】

これらの単球タンパク質を測定するためのイムノアッセイは、当業者に公知の多様な方法によって行われ得る。簡潔には、タンパク質を測定するためのイムノアッセイは、競合的なまたは非競合的な結合アッセイであり得る。競合的な結合アッセイにおいて、分析されるサンプルは、固体表面に結合される捕獲因子上の特異的な結合部位について、標識化分析物と競合する。好ましくは、捕獲因子は、上記のように産生された単球タンパク質と特異的な反応性の抗体である。捕獲因子上に結合される標識化分析物の濃度は、サンプル中に存在する遊離分析物の量に反比例する。

【0092】

競合的な結合イムノアッセイにおいて、サンプル中に存在する単球タンパク質は、特異的な結合因子（例えば、単球タンパク質と特異的な反応性の抗体）に対する結合について、標識化タンパク質と競合する。結合因子は、固体表面に結合し得、未結合の標識化タンパク質からの、結合された標識化タンパク質の分離をもたらす。あるいは、競合的な結合アッセイは、液相において行われ得、そして当該分野において公知の任意の種々の技術が、未結合の標識化タンパク質から、結合された標識化タンパク質を分離するために使用され得る。分離後、結合された標識化タンパク質の量が測定される。サンプル中に存在するタンパク質の量は、標識化タンパク質結合の量に反比例する。

30

【0093】

あるいは、均一系イムノアッセイが行われ得、ここでは分離工程は必要ない。これらのイムノアッセイにおいて、タンパク質に対する標識は、タンパク質の、その特異的な結合因子への結合によって変化される。標識化タンパク質におけるこの変化は、標識によって発せられるシグナルの減少または増加を生じ、これによって、イムノアッセイの終了時点での標識の測定は、タンパク質の検出または定量をし得る。

40

【0094】

これらの単球タンパク質はまた、多様な非競合的なイムノアッセイ法によって定量的に測定され得る。例えば、二箇所の（two-site）、固相サンドイッチイムノアッセイが使用され得る。このタイプのアッセイにおいて、タンパク質についての結合因子（例えば、抗体）は、固相支持体に付着される。第2のタンパク質結合因子（これはまた抗体であり得、そして異なる部位でタンパク質と結合する）は標識される。タンパク質において両側で

50

結合が生じた後、未結合の標識化結合因子は除去され、そして固相に結合された標識化結合因子の量が測定される。結合された標識化結合因子の量は、サンプル中のタンパク質の量に正比例する。

【0095】

ウェスタンブロット分析は、サンプル中の単球タンパク質の存在を決定するために使用され得る。電気泳動が、例えば、タンパク質を含むことが推測される組織サンプルに対して行われる。タンパク質を分離するための電気泳動、および適切な固体支持体（例えば、ニトロセルロースフィルター）へのタンパク質の移動後、固体支持体は、変成されたタンパク質と反応性の抗体とともにインキュベートされる。この抗体は、標識され得るか、またはあるいは一次抗体を結合する二次標識化抗体との、その後のインキュベーションによって検出され得る。

10

【0096】

上記のイムノアッセイ形式は、標識化アッセイ成分を用いる。標識は、多様な形態においてであり得る。標識は、当該分野において周知の方法に従って、アッセイの所望の成分に直接的にまたは間接的に結合され得る。広範に多様な標識が使用され得る。成分は、いくつかの方法の任意の1つによって標識され得る。伝統的に、 $^3\text{H}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、または $^{32}\text{P}$ を組込む放射性標識が使用される。非放射性標識としては、標識化抗体に結合するリガンド、発蛍光団、化学発光因子、酵素、および標識化タンパク質に対して特異的な結合対メンバーとして作用し得る抗体が挙げられる。標識の選択は、所望される感受性、化合物との結合の容易さ、安定性の要件、および利用可能な装置に依存する。使用され得る種々の標識系またはシグナル生成系の概説について、米国特許第4,391,904号（これは、本明細書中に参考として援用される）を参照のこと。

20

【0097】

特定のタンパク質と反応性の抗体はまた、種々のイムノアッセイ法によって測定され得る。イムノアッセイ技術による抗体の測定に適用可能な、免疫学的手順およびイムノアッセイ手順の概説について、例えば、StitesおよびTerr（編）Basic and Clinical Immunology（第7版）前述；Maggio（編）Enzyme Immunoassay、前述；およびHarlowおよびLane Antibodies, A Laboratory Manual、前述を参照のこと。

【0098】

種々の、異なるイムノアッセイ形態、分離技術、および標識はまた、特定のタンパク質の測定について上記されるものと同様に、使用され得る。さらに、特定のタンパク質、または密接に関連するタンパク質についての結合の選択性を評価するための多くの方法が、公知である。

30

【0099】

VI. 精製された単球タンパク質

ヒト単球FDF03タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号2に提供される。部分的なマウスの配列は、配列番号4に提供される。Igファミリーメンバーについての、ヒトYE01のアミノ酸配列および核酸配列は、配列番号5～10に提供される。レセプターファミリーメンバーは、KTE03と称され、配列番号11～22に記載される。

【0100】

ペプチド配列は、このようなセグメントを認識する抗体を作製するためのペプチドの調製を可能にし、そしてこのような配列をコードするオリゴヌクレオチドの調製を可能にする。さらに、親和性試薬は、より多くのタンパク質（完全長または組換え形態を含む）の検出および精製を許容する。そしてオリゴヌクレオチド配列は、これらのタンパク質をコードする、またはこれらに密接に関連するcDNAの検出を可能にする。

40

【0101】

VII. 物理的改変体

本発明はまた、配列番号2もしくは4；6、8、もしくは10；または12、14、16、18、20、もしくは22のアミノ酸配列と、実質的なアミノ酸配列類似性を有する、タンパク質またはペプチド、特にスプライス改変体を包含する。例えば、20個以下の、好ましくは10個

50

以下の、およびより好ましくは5個以下の置換を示す改変体がまた、可能である。置換が、保存的置換である場合、改変体は、対応する天然の配列のタンパク質と、免疫原性もしくは抗原性の類似性、または交差反応性を共有する。天然の改変体はまた、個体の、対立遺伝子の、多型の、系統の、または種の改変体を包含する。

#### 【0102】

アミノ酸配列の類似性、または配列の同一性は、残基マッチを最適化することによって、必要であれば、必要とされるギャップを導入することによって、決定される。これは、保存的置換がマッチとして考慮される場合、変化する。保存的置換は、代表的に、以下の群内の置換を包含する：グリシン、アラニン；バリン、イソロイシン、ロイシン；アスパラギン酸、グルタミン酸；アスパラギン、グルタミン；セリン、トレオニン；リジン、アルギニン；およびフェニルアラニン、チロシン。相同なアミノ酸配列は、各それぞれのタンパク質配列における、天然の対立遺伝子改変体、および種間改変体を含む。代表的な相同タンパク質またはペプチドは、関連の単球タンパク質のアミノ酸配列と、50~100%の類似性（ギャップが挿入され得る場合）から、75~100%の類似性（保存的置換が含まれる場合）を有する。同一性の程度は、少なくとも約50%、一般的には少なくとも60%、より一般的には少なくとも65%、通常少なくとも70%、より通常には少なくとも75%、好ましくは少なくとも80%、およびより好ましくは少なくとも80%、そして特に好ましい実施態様において、少なくとも85%以上である。Needlehamら（1970）*J.Mol. Biol.* 48:443-453；Sankoffら（1983）*Time Warps, String Edits, and Macromolecules; The Theory and Practice of Sequence Comparison Chapter One*, Addison-Wesley, Reading, MA；ならびにIntel liGenetics, MountainView, CA；およびUniversity of Wisconsin Genetics Computer Group (GCG)、Madison, WIからのソフトウェアパッケージもまた参照のこと。

10

20

#### 【0103】

対応する哺乳動物単球タンパク質をコードする核酸は、ストリンジェントな条件下で、例えば、配列番号1および/もしくは3；5、7、および/もしくは9；または11、13、15、17、19、および/もしくは21に、代表的にハイブリダイズする。例えば、それぞれの単球タンパク質をコードする核酸は、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、適切な核酸に代表的にハイブリダイズするが、一方いくつかの擬陽性のハイブリダイゼーションシグナルを提供する。一般に、ストリンジェントな条件は、規定されるイオン強度およびpHで、ハイブリダイズされる配列について、熱融解点（ $T_m$ ）よりも約10以上低くなるように選択される。 $T_m$ は、50%の標的配列が、完全にマッチされるプローブにハイブリダイズする温度（規定されたイオン強度およびpH下で）である。代表的に、ストリンジェントな条件は、洗浄における塩濃度が、pH7で約0.02モルであり、および温度が少なくとも約50である条件である。他の因子は、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーに有意に影響し得、特に、以下を含む；相補鎖の塩基組成およびサイズ、有機溶媒（例えば、ホルムアミド）の存在、ならびに塩基ミスマッチングの程度。好ましい実施態様は、42にて、50%ホルムアミドおよび20~50mMNaCl中で、開示される配列に結合する核酸を含む。特定の場合において、ストリンジェンシーは、完全よりも少ない配列同一性を示す他の核酸を検出するために、軽減され得る。

30

#### 【0104】

単離された単球遺伝子DNAは、ヌクレオチド置換、ヌクレオチド欠失、ヌクレオチド挿入、およびヌクレオチドストレッチの逆位によって、容易に改変され得る。これらの改変は、これらの単球抗原、それらの誘導体、または非常に類似の生理学的活性、免疫原性活性、もしくは抗原性活性を有するタンパク質をコードする、新規なDNA配列を生じる。

40

#### 【0105】

改変された配列は、変異体抗原を生成するために、または発現を増強するために使用され得る。増強された発現は、遺伝子増幅、増加される転写、増加される翻訳、および他の機構を包含し得る。このような変異体単球タンパク質誘導体は、それぞれのタンパク質もしくはそのフラグメントの、予め決定されたまたは部位特異的な変異を包含する。「変異体単球タンパク質」は、ポリペプチドを包含する（そうでなければ、これは上記のような

50

単球タンパク質の相同性の規定の中にあるが、欠失、置換、または挿入の方法によって、天然に見出されるような単球タンパク質のアミノ酸配列とは異なる配列を有する)。特に、「部位特異的変異体単球タンパク質」は、一般に、配列番号2もしくは4; 6、8、もしくは10; または12、14、16、18、20、もしくは22の配列を有するタンパク質と、有意な類似性を有するタンパク質を包含する。一般に、改変体は、これらの配列と、多くの生理化学的活性および生物学的活性(例えば、抗原性もしくは免疫原性)を共有し、そして好ましい実施態様は、開示された配列のほとんどまたは全てを含む。同様の概念が、これらの種々の単球タンパク質、特に、種々の温血動物(例えば、霊長類および哺乳動物)において見出される単球タンパク質に適合する。

#### 【0106】

部位特異的変異部位は、予め決定されるが、変異体は、部位特異的である必要はない。単球タンパク質の変異誘発は、アミノ酸挿入または欠失を作製することによって、行われ得る。置換、欠失、挿入、または任意の組み合わせが、最終の構築物に到達するために作製され得る。挿入は、アミノ末端またはカルボキシル末端の融合を含む。ランダムな変異誘発が、標的コドンで行われ得、次いで、発現される変異体は、所望の活性についてスクリーニングされ得る。公知の配列を有するDNAにおいて、予め決定された部位で置換変異を作製するための方法は、当該分野において周知である(例えば、M13プライマー変異誘発技術またはポリメラーゼ連鎖反応(PCR)技術による)。Sambrookら(1989)およびAusubelら(1987および補遺)もまた参照のこと。DNAにおける変異は、通常、リーディングフレームの外側のコード配列に配置するべきではなく、そして好ましくは、mRNA二次構造(例えば、ループまたはヘアピン)を生成するためにハイブリダイズし得る相補的な領域は、作製しない。

#### 【0107】

本発明はまた、組換えタンパク質、例えば、異種融合タンパク質を、これらのタンパク質からのセグメントを使用して、提供する。異種融合タンパク質は、天然では、同じ様式において通常では融合されないタンパク質またはセグメントの融合である。従って、免疫グロブリンと、それぞれの単球ポリペプチドとの融合産物は、代表的なペプチド結合において融合される配列を有し、代表的には、単一の翻訳産物として作製され、そして各供給源のペプチドに由来する特性を示す、連続的なタンパク質分子である。同様の概念は、異種核酸配列に適合する。

#### 【0108】

加えて、他のタンパク質からの類似の機能的ドメインを合わせることが、新しい構築物が作製され得る。例えば、ドメインまたは他のセグメントは、異なる新規の融合ポリペプチドまたはフラグメント間で、代表的には、関連タンパク質と、例えば、IgファミリーまたはFcレセプターファミリー内で、「交換」され得る。好ましくは、完全な構造ドメイン(例えば、完全なIg部分)が使用される。例えば、Cunninghamら(1989) Science243:1330-1336; およびO'Dowdら(1988) J. Biol. Chem. 263:15985-15992を参照のこと。従って、新規な組み合わせの特異性を示す新規なキメラポリペプチドは、タンパク質結合特異性と、他の機能的なドメインとの、機能的な結合から生じる。また、アラニン走査変異誘発(alaninescanning mutagenesis)が、好ましくは、一般に三次構造を破壊する重要な残基のほとんどを回避して、構造的に二次構造の外側にある残基に対して適用され得る。

#### 【0109】

これらの単球抗原の「誘導体」は、アミノ酸配列変異体、グリコシル化改変体、および他の化学的部分との共有結合結合体または凝集結合体を含む。共有結合誘導体は、当該分野で周知の手段による、これらの単球タンパク質アミノ酸側鎖またはN末端もしくはC末端に見出される基への機能性の結合により調製され得る。これらの誘導体は、カルボキシル末端またはカルボキシル側鎖を含む残基の脂肪族エステルまたはアミド、水酸基を含む残基のO-アシル誘導体、およびアミノ末端アミノ酸またはアミノ基を含む残基(例えば、リジンもしくはアルギニン)のN-アシル誘導体を、限定されることなく含み得る。アシル基は、アルキル部分(C3~C18正常アルキルを含む)の基から選択され、それによりアル

10

20

30

40

50

カノイルアロイル種を形成する。キャリアタンパク質への共有結合付着は、免疫原性部分がハプテンである場合に重要であり得る。

【0110】

特に、グリコシル化変化が含まれ、例えば、グリコシル化は、その合成およびプロセッシング間にまたはさらなるプロセッシング工程においてポリペプチドのグリコシル化パターンを修飾することによりなされる。これを達成するための特に好ましい手段は、このようなプロセッシングを通常提供する細胞に由来するグリコシル化酵素（例えば、哺乳動物グリコシル化酵素）にポリペプチドを曝露することによるものである。脱グリコシル化酵素もまた意図される。他の重要でない修飾（リン酸化アミノ酸残基（例えば、ホスホチロシン、ホスホセリン、もしくはホスホスレオニン）、または他の部分（リボシル基または架橋試薬を含む）を含む）を有する同じ一次アミノ酸配列のバージョンもまた含まれる。また、置換を含むタンパク質が含まれ、これは、配列番号2もしくは4；6、8、もしくは10；または12、14、16、18、20、もしくは22のタンパク質を認識する抗体を生成するために、実質的な免疫原性を保持するべきである。あるいは、配列番号2および4の両方；6、8、および10；または12、14、16、18、20、もしくは22を認識する抗体を生成することが所望され得る。代表的には、これらのタンパク質は、開示された配列からの20残基未満の置換、より代表的に10未満の置換、好ましくは5未満の置換、およびより好ましくは3未満の置換を含む。あるいは、構造ドメインから始まり、そしてそこで終わるタンパク質は、通常、抗原性および交差免疫原性を保持する。

10

【0111】

誘導体の主要なグループは、単球タンパク質またはそのフラグメントと他のタンパク質またはポリペプチドとの共有結合結合体である。これらの誘導体は、組換え培養（例えば、N末端もしくはC末端融合）において、またはタンパク質の反応性側鎖基による架橋におけるそれらの有用性について当該分野で公知の薬剤の使用により合成され得る。好ましい、架橋剤を用いるタンパク質誘導部位は、遊離アミノ基、炭水化物部分、およびシステイン残基である。

20

【0112】

これらの単球タンパク質と他の同種または異種タンパク質との間の融合ポリペプチドもまた提供される。異種ポリペプチドは異なる表面マーカー間の融合物であり得、例えば、ハイブリッドタンパク質をもたらす。さらに、誘導体タンパク質の特性または活性の組み合わせを示す異種融合物が構築される。代表的な例は、融合されたタンパク質の存在または位置が容易に決定され得るような、レポーターポリペプチド（例えば、ルシフェラーゼ）と、タンパク質のセグメントまたはドメイン（例えば、レセプター結合セグメント）との融合物である。例えば、Dullら、米国特許第4,859,609号を参照のこと。他の遺伝子融合パートナーは、細菌 -ガラクトシダーゼ、trpE、プロテインA、 -ラクタマーゼ、アミラーゼ、アルコールデヒドロゲナーゼ、および酵母 接合因子を含む。例えば、Godowskiら、(1988)Science241:812-816を参照のこと。

30

【0113】

このようなポリペプチドはまた、リン酸化、スルホン化、ビオチン化、または他の部分（特に、リン酸基に類似した分子形状を有するもの）の付加もしくは除去により化学的に修飾されたアミノ酸残基を有し得る。いくつかの実施態様において、この修飾は、有用な標識試薬であるか、または精製標的（例えば、アフィニティリガンド）として働く。

40

【0114】

本発明はまた、アミノ酸配列における改変またはグリコシル化以外のこれらの単球タンパク質の誘導体の使用を意図する。このような誘導体は、化学部分との共有結合または凝集会合を含み得る。これらの誘導体は、一般的に、3つのクラス：（1）塩、（2）側鎖および末端残基の共有結合修飾、ならびに（3）（例えば、細胞膜との）吸着複合体に分類される。このような共有結合または凝集誘導体は、免疫原として、イムノアッセイにおける試薬として、または精製方法（例えば、リガンドもしくは他の結合リガンドのアフィニティ精製のため）において有用である。例えば、単球タンパク質抗原は、抗単球タンバ

50

ク質抗体のアッセイまたは精製における使用のために、当該分野で周知の方法による固体支持体（例えば、臭化シアン活性化Sepharose）への共有結合により固定化され得るか、またはグルタルアルデヒド架橋を用いてまたは用いずにポリオレフィン表面に吸着され得る。単球タンパク質はまた、例えば、クロラミンT手順により放射性ヨウ素化されたか、希土類キレートに共有結合されたか、または診断アッセイにおける使用のための別の蛍光部分に結合された、検出可能基で標識され得る。これらの単球タンパク質の精製は、固定化抗体によりもたらされ得る。

【0115】

単離された単球タンパク質遺伝子は、対応する単球タンパク質の発現を欠く細胞（例えば、対応するタンパク質を欠き、そして負のバックグラウンド活性を示す種型または細胞のいずれか）の形質転換を可能にする。形質転換された遺伝子の発現は、規定されたまたは単一の種改変体を有する、抗原的に純粋な細胞株の単離を可能にする。このアプローチは、これらの単球タンパク質の生理学的効果のより感度の高い検出および識別を可能にする。細胞下フラグメント（例えば、細胞質体または膜フラグメント）が単離され、そして使用され得る。

10

【0116】

VIII. 結合薬剤：単球タンパク質複合体

規定された免疫原（例えば、配列番号2および/または4；6、8、および/または10；あるいは12、14、16、18、20および/または22のアミノ酸配列からなる免疫原）に対して作製された抗体に特異的に結合するか、またはその抗体と特異的に免疫反応性である単球タンパク質は、イムノアッセイにおいて決定される。イムノアッセイは、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、もしくは22、または適切な組み合わせのタンパク質に対して惹起されたポリクローナル抗血清を使用する。この抗血清は、関連ファミリーの他のメンバーに対して低い交差反応性を有するように選択され、そしていずれのこのような交差反応性も、イムノアッセイにおける使用前に免疫吸収により除去されるか、または除去され得る。

20

【0117】

イムノアッセイにおける使用のための抗血清を生成するために、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、または22のタンパク質は、本明細書中に記載されたように単離される。例えば、組換えタンパク質は、哺乳動物細胞株において生成され得る。マウスの近交系（例えば、Balb/c）は、標準的なアジュバント（例えば、フロイントアジュバント）および標準的なマウス免疫化プロトコル（HarlowおよびLane、前出を参照のこと）を用いて適切なタンパク質で免疫化される。あるいは、本明細書中に開示される配列に由来し、そしてキャリアタンパク質に結合された合成ペプチドは、免疫原として使用され得る。ポリクローナル血清は収集され、そして固体支持体に固定化された免疫原を用いるイムノアッセイ（例えば、固相イムノアッセイ）において免疫原タンパク質に対して力価測定される。10<sup>4</sup>以上の力価を有するポリクローナル抗血清は選択され、そして競合結合イムノアッセイ（例えば、HarlowおよびLane、前出、570-573頁に記載されるもの）を用いて、他の関連タンパク質に対するそれらの交差反応性について試験される。Hertzenbergら（1996版）Weir's Handbook of Experimental Immunology 第1～4巻、Blackwell Science；およびColigan(1991)Current Protocols in Immunology Wiley/Greene, NYもまた参照のこと。好ましくは、2つの異なる関連タンパク質は、所定の単球タンパク質と共にこの決定において使用される。例えば、Igファミリータンパク質と共に、少なくとも2つの他のファミリーメンバーが共有エピトープを吸収するために使用される。Fcファミリーメンバーと共に、このファミリーの2つの他のメンバーが使用される。これらの他のファミリーメンバーは、組換えタンパク質として生成され得、そして標準的な分子生物学および本明細書中に記載されるようなタンパク質化学技術を用いて単離され得る。

30

40

【0118】

競合結合フォーマットにおけるイムノアッセイは、交差反応性決定のために使用され得る。例えば、タンパク質は、固体支持体に固定化され得る。アッセイに添加されたタンバ

50

ク質は、抗血清の固定化抗原への結合と競合する。上記のタンパク質が抗血清の固定化タンパク質への結合と競合する能力は、配列番号2および/または4；6、8、および/または10；あるいは12、14、16、18、20または22のタンパク質と比較される。上記のタンパク質のパーセント交差反応性は、標準的な計算を用いて計算される。上記で列挙された各タンパク質と10%未満の交差反応性を有するそれらの抗血清は、選択およびプールされる。次いで、交差反応抗体は、上記で列挙されたタンパク質を用いた免疫吸収によりプールされた抗血清から除去される。

#### 【0119】

次いで、免疫吸収され、そしてプールされた抗血清は、第2のタンパク質を免疫原タンパク質（例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、または22の単球タンパク質）と比較するために、上記のような競合結合イムノアッセイに使用される。この比較を行うために、2つのタンパク質は、広範な濃度で各々アッセイされ、そして抗血清の固定化タンパク質への結合の50%を阻害するために必要とされる各タンパク質量が決定される。必要とされる第2のタンパク質の量が、必要とされるタンパク質（例えば、配列番号2）の量の2倍未満であれば、第2のタンパク質は、免疫原に対して作製された抗体に特異的に結合するといわれる。

10

#### 【0120】

単球タンパク質はそれぞれ、2つ以上の遺伝子を含む相同タンパク質のファミリーであることが理解される。特定の遺伝子産物（例えば、ヒトIgファミリーメンバータンパク質）について、本発明は、本明細書中に開示されるアミノ酸配列だけでなく、対立遺伝子改変体、多型性改変体、非対立遺伝子改変体、または種改変体である他のタンパク質もまた含む。用語「ヒト単球タンパク質」は、従来の組換え技術を用いた意図的変異（例えば、単一部位変異）により、またはこれらのタンパク質をコードするDNAもしくはこの遺伝子に由来するスプライス改変体の短い断片を切除することにより、または少数の新たなアミノ酸で置換するか、もしくは付加することにより導入される非天然変異を含む。このような重要でない変化は、元の分子の免疫同一性（immunoidentity）および/またはその生物学的活性を実質的に維持しなければならない。従って、これらの変化は、示された天然に生じるそれぞれの単球タンパク質（例えば、配列番号4を示すヒト単球タンパク質）と特異的に免疫反応性であるタンパク質を含む。重要であるとみなされない特定のタンパク質改変は、各タンパク質ファミリーについて総括して上記に記載されたような、類似した化学特性を有するアミノ酸の保存的置換を含む。タンパク質と、配列番号2および4；6、8、および10；または12、14、16、18、20および22のタンパク質とを最適に整列させ、そして本明細書中に記載される従来のイムノアッセイを使用して、免疫同一性を決定することにより、本発明のタンパク質組成物を決定し得る。

20

30

#### 【0121】

##### IX. 使用

本発明は、本明細書の他の場所で（例えば、発達異常についての一般的な記載においてまたは以下の診断キットの記載において）記載されたように診断適用における使用を見出す試薬を提供する。

#### 【0122】

単球遺伝子（例えば、DNAまたはRNA）は、法廷で用いる（forensic）アッセイにおける成分として使用され得る。例えば、提供されるヌクレオチド配列は、例えば、<sup>32</sup>Pまたはビオチンを用いて標識され、そして個体間の判別を助けるための測定可能な特質を提供する、標準的な制限フラグメント多型性プロットをプローブするために使用され得る。このようなプローブは、周知の法廷で用いる技術（例えば、遺伝子フィンガープリント法）において使用され得る。さらに、単球配列から作られたヌクレオチドプローブは、染色体異常を検出するためのインサイチュアッセイにおいて使用され得る。

40

#### 【0123】

単球タンパク質または核酸に指向される抗体および他の結合薬剤は、対応する単球タンパク質分子を精製するために使用され得る。以下の実施例において記載されるように、単

50

球タンパク質の抗体精製は、可能性がありまた実施可能である。抗体および他の結合薬剤はまた、本明細書中で記載される周知の技術を用いて、単球成分が組織サンプルまたは細胞集団に存在するか否かを決定するための診断様式において使用され得る。結合薬剤を単球タンパク質に付着させる能力は、発現調節に関連する障害を診断するための手段を提供する。抗体および他の単球タンパク質結合薬剤はまた、組織学的マーカーとして有用であり得る。以下の実施例において記載されるように、これらのタンパク質の各々の発現は、特定の組織型に限定される。プローブ（例えば、抗体または核酸）をそれぞれの単球タンパク質に指向させることにより、インサイチュまたはインビトロで組織および細胞型を区別するためにプローブを使用することが可能である。

#### 【0124】

本発明はまた、重要な治療価値を示し得る試薬を提供する。単球タンパク質（天然に生じるまたは組換え）、そのフラグメント、およびそれに対する抗体、ならびに単球タンパク質に対して結合親和性を有すると同定された化合物は、異常な生理機能または発達（異常増殖を含む）に関連する状態（例えば、ガン状態または変性状態）の処置に有用であり得る。異常な増殖、再生、変性、および萎縮は、本明細書中に提供される組成物を用いる適切な治療処置により調整され得る。例えば、単球（例えば、抗原提示細胞）による異常発現または異常シグナル伝達に関連する疾患または障害は、タンパク質のアゴニストまたはアンタゴニストの標的である。タンパク質は、免疫学的応答（例えば、抗原提示およびその結果として得られるエフェクター機能）に影響する、造血細胞（例えば、リンパ細胞）の調節または発達において役割を果たすようである。

#### 【0125】

例えば、DX26抗体は、阻害抗体がNKまたはT細胞機能（例えば、殺傷）の調整において有用であることを示す。このような調整は、代表的に、（増大または減少させるいずれかの）20%の効果（例えば、殺傷効果）であるが、好ましい実施態様において、30%、40%、50%、またはそれ以上を有する。分布もまた単球にあるので、恐らく、この分子はまた、免疫系の、単球により媒介または開始されるエフェクター機能（例えば、自己免疫応答、移植拒絶、対宿主性移植片病、炎症状態など）の調節に影響する。これらの分子はまた、新生物状態の排除（例えば、腫瘍拒絶）に影響し得る。

#### 【0126】

他の異常発達状態は、ノザンプロット分析により単球タンパク質mRNAを有することが示された細胞型において知られる。Berkow（編）The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, Merck & Co., Rahway, NJ; および Thornら、Harrison's Principles of Internal Medicine, McGraw-Hill, NYを参照のこと。例えば、免疫系の発達のまたは機能的異常は、本明細書中で提供される組成物を用いた予防または処置を受けやすくあり得る、重大な医学的異常および状態を引き起こす。

#### 【0127】

組換え単球タンパク質または抗体は精製され、次いで患者に投与され得る。これらの試薬は、治療的使用のために、生理学的に無毒な安定剤および賦形剤と共に、例えば、従来の薬学的に受容可能なキャリアまたは希釈剤（例えば、免疫原性アジュバント）中で付加的な活性または不活性成分と組み合わせられ得る。特に、これらはワクチン状況において有用であり得、ここで抗原は、アゴニストまたはアンタゴニストのこれらの治療バージョンのうちの1つと組み合わせられる。これらの組み合わせは滅菌濾過され、そして安定化水性調製物中での投薬瓶または貯蔵所における凍結乾燥によるような投薬形態に置かれ得る。本発明はまた、抗体またはその結合フラグメント（補体結合でない形態を含む）の使用を意図する。

#### 【0128】

抗体またはレセプターまたはそのフラグメントを用いる薬物スクリーニングは、これらの単球タンパク質に対して結合親和性を有する化合物を同定し得る（関連成分の単離を含む）。次いで、その後の生物学的アッセイを利用して、化合物が固有の刺激活性を有し、従って、タンパク質活性をブロックするブロッカーまたはアンタゴニストであるかどうか

10

20

30

40

50

を決定し得る。同様に、固有の刺激活性を有する化合物は、このタンパク質を通して細胞を活性化し得、従って、細胞を刺激するアゴニストである。本発明は、アンタゴニストとしての、タンパク質に対する抗体の治療的使用をさらに意図する。

#### 【0129】

有効な治療に必要な試薬量は、多くの異なる因子（投与手段、標的部位、患者の生理学的状態、および投与される他の薬を含む）に依存する。従って、処置投薬量は、安全性および効力を最適化するように滴定されるべきである。代表的に、インビトロで使用される投薬量は、これらの試薬のインサイチュ投与に有用な量の有用な指針を提供し得る。特定の障害の処置のための有効用量の動物試験は、ヒト投薬量のさらなる予言的指示を提供する。例えば、Gilmanら（編）（1990）Goodman and Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics（第8版）Pergamon Press；および（1990）Remington's Pharmaceutical Sciences（第17版）Mack Publishing Co., Easton, PAにおいて、種々の考察が記載される。例えば、経口、静脈内、腹腔内、または筋肉内投与、経皮的拡散などについての投与方法は、その中におよび以下に議論される。薬学的に受容可能なキャリアは、水、生理食塩水、緩衝液、および例えば、Merk Index, Merck & Co., Rahway, NJ. に記載される他の化合物を含む。投薬量範囲は、適切なキャリアを伴って、普通は1 mM濃度より低い量、代表的に約10  $\mu$ M濃度未満の量、通常約100 nM未満の量、好ましくは約10 pM（ピコモル濃度）未満の量、そして最も好ましくは約1 fM（フェムトモル濃度）未満の量であることが期待される。徐放処方物または徐放装置は、しばしば、連続投与のために利用される。

10

#### 【0130】

単球タンパク質、そのフラグメント、およびそれに対する抗体もしくはそのフラグメント、アンタゴニスト、ならびにアゴニストは、処置されるべき宿主に直接的に投与され得るか、または化合物の大きさに依存して、それらの投与前に、それらをキャリアタンパク質（卵アルブミンまたは血清アルブミン）に結合させることが所望され得る。治療処方物は、多くの従来投薬処方物で投与され得る。活性成分が単独で投与されることは可能であるが、一方、薬学的処方物として活性成分を与えることが好ましい。処方物は、代表的に、1つ以上のその受容可能なキャリアと共に、少なくとも1つの上記で定義されたような活性成分を含む。各キャリアは、他の成分と適合し、そして患者に有害でないという点で、薬学的および生理学的の両方で受容可能であるべきである。処方物は、経口的、直腸的、鼻的、または非経口的（皮下的、筋肉内的、静脈内的、および経皮的を含む）投与に適した処方物を含む。処方物は、単位投薬形態で便利に与えられ得、そして薬学技術で周知の任意の方法により調製され得る。例えば、Gilmanら（編）（1990）Goodman and Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics（第8版）Pergamon Press；および（1990）Remington's Pharmaceutical Sciences（第17版）Mack Publishing Co., Easton, PA；Avisら（編）（1993）Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications Dekker, NY；Liebermanら（編）（1990）Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets Dekker, NY；およびLiebermanら（編）（1990）Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems Dekker, NYを参照のこと。本発明の治療は、他の化学治療剤または化学予防剤と組み合わせられ得るか、またはそれらと共同して使用され得る。

20

30

#### 【0131】

本発明の単球タンパク質の天然に生じる形態および組換え形態の両方は、タンパク質に対する結合活性について化合物をスクリーニングし得るキットおよびアッセイ方法において特に有用である。アッセイを自動化するいくつかの方法は、短期間に何万の化合物のスクリーニングを可能にするために近年開発された。例えば、Fodorら（1991）Science 251:767-773、および化学的多様性ライブラリーの他の記載（多数の化合物による結合親和性の試験のための手段を記載する）を参照のこと。適切なアッセイの開発は、本発明により提供されるような、単球タンパク質の多量の精製された（例えば、可溶性の）バージョンの入手可能性により大いに促進される。

40

#### 【0132】

例えば、一旦タンパク質が構造的に定義されると、アンタゴニストは、よく見出され得

50

る。潜在的なタンパク質アナログの試験は、精製された表面タンパク質を用いる高度に自動化されたアッセイ方法の開発により今や可能である。特に、新たなアゴニストおよびアンタゴニストは、本明細書中に記載されるスクリーニング技術を用いることにより発見される。複数の関連細胞表面抗原に対して複合した結合親和性を有することが見出された化合物（例えば、単球タンパク質の種改変体のアンタゴニストとして働き得る化合物）は、特に重要である。

#### 【0133】

本発明は、種々の薬物スクリーニング技術において組換え単球タンパク質を用いることにより、化合物をスクリーニングするために特に有用である。特異的リガンドのスクリーニングにおいて組換えタンパク質を使用する利点は、(a) 特定の供給源に由来するタンパク質の改善した再生可能な供給源；(b) アッセイにおいてより良いシグナル対ノイズ比を生じる、細胞あたり潜在的に多数の抗原；および(c) (理論的に、より大きな生物学的特異性および疾患特異性を生じる) 種改変体特異性を含む。

10

#### 【0134】

薬物スクリーニングの1つの方法は、単球タンパク質を発現する組換えDNA分子で安定に形質転換された、真核生物または原核生物宿主細胞を利用する。他のどれよりも単独にそのタンパク質を発現する細胞が単離され得る。このような細胞（生存能力がある形態または固定化形態のいずれかで）は、標準的な表面タンパク質結合アッセイに使用され得る。Parceら(1989)Science246:243-247；およびOwickiら(1990)Proc.Nat'l.Acad.Sci.USA 87:4007-4011（これは、細胞応答を検出するための感度の高い方法を記載する）もまた参照のこと。競合アッセイは特に有用であり、ここで細胞（単球タンパク質の供給源）は、抗原に対して既知の結合親和性を有する抗体（例えば、<sup>125</sup>I-抗体）、および結合組成物に対するその結合親和性が測定される試験サンプルと接触およびインキュベートされる。次いで、結合したおよび遊離の標識結合組成物は、タンパク質結合の程度を評価するために分離される。結合した試験化合物の量は、既知の供給源に結合する標識抗体の量に反比例する。結合した試薬を遊離の試薬から分離して、結合の程度を評価するために、多くの技術が使用され得る。この分離工程は、代表的に、フィルターへの接着それに続く洗浄、プラスチックへの接着それに続く洗浄、または細胞膜の遠心分離のような手順を含み得る。生存可能な細胞はまた、これらの単球タンパク質により媒介される機能（例えば、抗原提示またはヘルパー機能）に対する薬物の効果についてスクリーニングするために使用され得る。

20

30

#### 【0135】

別の方法は、単球タンパク質の供給源として、形質転換された真核生物または原核生物宿主細胞に由来する膜を利用する。これらの細胞は、適切なタンパク質（例えば、操作された膜結合形態）の発現を指向するDNAベクターで安定に形質転換される。本質的に、膜は細胞から調製され、そして結合アッセイ（例えば、上記に示された競合アッセイ）において使用される。

#### 【0136】

さらに別のアプローチは、形質転換された真核生物または原核生物宿主細胞に由来する、可溶化された単球タンパク質、精製されてない単球タンパク質、または可溶化され精製された単球タンパク質を使用することである。これは、増大した特異性、自動化する能力、および高い薬物試験スループットの利点を有する「分子」結合アッセイを可能にする。

40

#### 【0137】

薬物スクリーニングの別の技術は、それぞれの単球タンパク質に対して適切な結合親和性を有する化合物についての高スループットスクリーニングを提供するアプローチを含み、そして1984年9月13日に公開された、Geysen, 欧州特許出願84/03564に詳細に記載される。最初に、多数の異なる小ペプチド試験化合物は、固体基体（例えば、プラスチックピンまたは他のいくつかの適切な表面）において合成される（Fodorら、前出を参照のこと）。次いで、全てのピンは、可溶化された単球タンパク質、精製されてない単球タンパク質、または可溶化され精製された単球タンパク質と反応され、そして洗浄される。次の工

50

程は、結合した試薬（例えば、抗体）を検出する工程を含む。

【0138】

どの部位が特異的な他のタンパク質と相互作用するか決定するための1つの手段は、物理的構造決定（例えば、X線結晶学または2次元NMR技術）である。これらは、どのアミノ酸残基が分子定常領域を形成するかについての指針を提供する。タンパク質構造決定の詳細な記載については、例えば、BlundellおよびJohnson(1976)ProteinCrystallography Academic Press,NYを参照のこと。

【0139】

X.キット

本発明はまた、単球タンパク質の存在もしくはメッセージの存在を検出するための種々の診断用のキットおよび方法においてのこれらの単球タンパク質、そのフラグメント、ペプチド、およびそれらの融合生成物の使用を意図する。代表的には、このキットは、定義された単球のペプチドもしくは遺伝子セグメント、または一方もしくは他方を認識する試薬（例えば、抗体）のいずれかを含む区画を有する。

10

【0140】

それぞれの単球タンパク質に対する試験化合物の結合親和性を決定するキットは、代表的に、試験化合物；標識された化合物（例えば、タンパク質に対して公知の結合親和性を有する抗体）；単球タンパク質の供給源（天然に存在または組換えの）；および遊離の標識された化合物から結合した化合物を遊離する手段（例えば、単球のタンパク質を固定するための固相）を包含する。一旦、化合物がスクリーニングされると、タンパク質に対して適切な結合親和性を有する化合物は、単球の機能を調節するアゴニストもしくはアンタゴニストとして作用するかどうか決定する当該分野で周知である適切な生物学的アッセイで評価され得る。組換え単球ポリペプチドの利用性もまた、このようなアッセイを校正するための良く定義された基準を提供する。

20

【0141】

例えば、サンプル中の単球のタンパク質の濃度を決定するための好ましいキットは、代表的に、標識された化合物（例えば、単球のタンパク質に対して公知の結合親和性を有する抗体）、単球のタンパク質の供給源（天然に存在するか、または組換えの）および遊離の標識された化合物から結合した化合物を分離するための手段（例えば、単球のタンパク質を固定するための固相）を含む。試薬、および説明書を含む区画は、通常、提供される。

30

【0142】

抗原に結合するフラグメントを含み、それぞれの単球またはそのフラグメントに特異的な抗体は、タンパク質および/またはそのフラグメントの存在のレベルの上昇を検出する診断適用に有用である。このような診断アッセイは、溶解物、生きた細胞、固定した細胞、免疫蛍光、細胞培養物、体液を使用し得、そして血清中の抗原の検出などをさらに含み得る。診断アッセイは、均質（遊離の試薬と抗原-単球タンパク質複合体との間を分離する工程を除いて）または不均質（分離する工程を伴う）であり得る。種々の市販のアッセイが存在する（例えば、放射イムノアッセイ（RIA）、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、酵素免疫アッセイ（EIA）、酵素増大型免疫アッセイ技術（EMIT）、基質標識免疫アッセイ（SLFIA）など）。例えば、標識されていない抗体は、標識されていて、そして単球のタンパク質またはその特定のフラグメントに対する抗体を認識する二次抗体を用いることにより使用され得る。類似のアッセイもまた、文献中で広範に議論されている。例えば、HarlowおよびLane（1988）Antibodies:ALaboratory Manual,CSH Press,NY;Chan(編)(1987)Immunoassay:A Practical GuideAcademic Press,Orlando,FL;PriceおよびNewman(編)(1991)Principles and Practice ofImmunoassay Stockton Press,NY;ならびにNgo(編)(1988)Nonisotopic Immunoassay PlenumPress,NYを参照のこと。特に、サンプル中での単球の過剰または欠損のいずれかを検出する試薬は、生物学的サンプル中の単球集団の診断に有用であり得る。このアッセイは、生検の組織学的分析、または血液もしくは組織サンプル中の単球の数の評価に関し得る。

40

50

## 【0143】

抗イディオタイプ抗体は、単球のタンパク質に対する抗体の存在を診断するための類似の使用を有し得、それ自体が、種々の異常状態の診断であり得る。例えば、単球のタンパク質の過剰産生は、異常な生理状態、特に増殖性の細胞状態（例えば、癌または異常分化）の診断であり得る、種々の免疫反応を生じ得る。

## 【0144】

しばしば、診断アッセイのための試薬は、アッセイの感度を最適化するためにキット中に供給される。本発明について、標識されたかもしくは標識されていない抗体もしくはレセプター、または標識された単球のタンパク質のいずれかがアッセイプロトコル、および標識の性質に依存して提供される。通常、これは他の添加物（例えば、緩衝液、安定剤、シグナル生成に必要な物質（例えば、酵素に対する基質）など）と関連する。好ましくは、このキットはまた、適切な使用および使用後の内容物の処分のための説明書を含む。代表的に、このキットは有用な各試薬についての区画を有する。望ましくは、試薬は、アッセイを行うための試薬の適切な濃度を提供する水溶液中でこの試薬が再構成され得る、凍結乾燥粉末として提供される。

10

## 【0145】

薬物スクリーニングおよび診断アッセイでの上述される多くの成分は、改変されずに使用され得るか、または種々の方法で改変され得る。例えば、標識は、直接的もしくは間接的に検出シグナルを提供する部分を共有結合もしくは非共有結合することによって達成され得る。これらのアッセイの多くでは、タンパク質、試験化合物、単球のタンパク質、またはこれらに対する抗体は、直接的もしくは間接的のいずれかで標識化され得る。直接標識についての可能性は、標識基：放射性標識（例えば、 $^{125}\text{I}$ ）、酵素（米国特許第3,645,090号、例えばペルオキシダーゼおよびアルカリホスファターゼ）、ならびに蛍光強度、波長シフト、または蛍光偏光の変化をモニターし得る蛍光標識（米国特許第3,940,475号）を含む。間接標識化についての可能性は、一つの成分のビオチン化に続いて上述した標識基の一つを結合したアビジンへの結合を含む。

20

## 【0146】

遊離のタンパク質からの結合したタンパク質の分離法、または代わりに遊離の試験化合物から結合した化合物を分離方法もまた多数存在する。単球のタンパク質は、種々のマトリックスに固定され、続いて洗浄され得る。適切なマトリックスは、プラスチック（例えば、ELISAのプレート、フィルター、およびビーズ）を含む。マトリックスへの単球タンパク質の固定方法は、制限なしで、プラスチックへの直接的な接着、捕獲抗体の使用、化学結合、およびビオチン-アビジンを含む。このアプローチの最終工程は、これら（例えば、ポリエチレングリコールのような有機溶媒、または硫酸アンモニウムのような塩）の利用を含む、いくつかの方法のひとつによるタンパク質/抗体複合体の沈降を含む。他の適切な分離技術は、制限なしで、Rattleら、(1984)Clin.Chem.30:1457-1461に記載される蛍光抗体磁化可能粒子法、および米国特許第4,659,678号に記載の二重抗体磁化粒子分離法を含む。

30

## 【0147】

種々の標識への、タンパク質もしくはそれらのフラグメントの連結の方法は、文献中で広範に報告されており、そして、ここでは詳細な議論を必要としない。これらの技術の多くは、ペプチド結合を形成するためのカルボジイミドもしくは活性化エステルの使用、クロロアセチルのような活性化ハロゲンとメルカプト基との反応によるチオエステルの形成、または結合によるマレイミドのような活性化オレフィンなどのいずれかを介しての、活性化されたカルボキシル基の使用を含む。融合タンパク質もまた、これらの適用での用途が見出される。

40

## 【0148】

本発明の他の診断的局面は、単球のタンパク質それぞれの配列から得られたオリゴヌクレオチドもしくはポリヌクレオチド配列の使用を含む。これらの配列は、異常状態（例えば、癌もしくは免疫異常）を有する疑いのある患者からのサンプル中のメッセージのレベ

50

ルを決定するためのプローブとして使用され得る。RNAおよびDNA両方のヌクレオチド配列の調製物、配列の標識、および好ましいサイズの配列は、文献中で十分な記述および議論がなされている。通常、オリゴヌクレオチドプローブは、少なくともおよそ14ヌクレオチドの長さであるべきであり、通常は少なくともおよそ18ヌクレオチド、そしてポリヌクレオチドプローブは数千ベースに達し得る。種々の標識が使用され得、最も一般的な放射性核種はとりわけ<sup>32</sup>Pである。しかし、他の技術（例えば、ポリヌクレオチドへの導入についてのビオチン改変ヌクレオチドを使用する技術）もまた使用され得る。次いで、ビオチンは、アビジンもしくは抗体に結合するための部位として役立ち、これは広範な種々の標識（例えば、放射性核種、蛍光用、酵素など）で標識され得る。あるいは、特異的な二重鎖（DNA二重鎖、RNA二重鎖、DNA-RNA混成二重鎖、またはDNA-タンパク質二重鎖を含む）を認識し得る抗体が使用され得る。次いで抗体は、標識化され、そして二重鎖が表面に結合するアッセイが実施され、その結果、表面での二重鎖の形成の際に、二重鎖に結合した抗体の存在が検出され得る。新規のアンチセンスRNAに対するプローブの使用は、任意の従来技術（例えば、核酸ハイブリダイゼーション、プラスおよびマイナススクリーニング、組換えプローブ化、ハイブリッド遊離(hybrid-released)翻訳法(HRT)、およびハイブリッド阻害翻訳法(HART))で実施され得る。これはまた、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)のような増幅技術も含む。

10

#### 【0149】

他のマーカーの定性的または定量的な存在について試験する診断キットもまた意図される。診断または予後はマーカーとして使用される多様な指標の組合せに依存し得る。従って、キットはマーカーの組合せについて試験し得る。例えば、Vialletら、(1989)Progress in Growth Factor Res.1:89-97を参照のこと。

20

#### 【0150】

##### XI. 結合パートナーの単離

特異的な相互作用の結合パートナーの一つのメンバーが単離されると、対のパートナーを単離する方法が存在する。Gearingら、(1989)EMBO J.8:3667-3676を参照のこと。例えば、そのレセプターへの結合の干渉なしで単球の表面タンパク質を標識するための手段が検出され得る。例えば、親和性標識はリガンドのアミノ末端もしくはカルボキシル末端のいずれかと融合され得る。発現ライブラリーは単球のタンパク質への特異的な結合について、例えば、細胞ソーティングもしくはこのような結合成分を発現する亜集団を検出するための他のスクリーニングによって、スクリーニングされ得る。例えば、Hoら、(1993)Proc.Nat'l Acad. Sci.USA 90:11267-11271を参照のこと。あるいは、パニング法が使用され得る。例えば、SeedおよびAruffoら、(1987)Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 84:3365-3369を参照のこと。ツーハイブリッド選択システムもまた、利用可能な単球のタンパク質の配列の、適切な構築物の作製に適用され得る。例えば、FieldsおよびSong(1989)Nature340:245-246を参照のこと。

30

#### 【0151】

標識を有するタンパク質交叉結合技術が、単球のタンパク質の結合パートナーを単離することに適用され得る。これは、適切な単球のタンパク質と特異的に相互作用するタンパク質の同定を可能にする。

40

#### 【0152】

本発明の広範な記述範囲は以下の実施例の参照で良く理解され、これは特別な実施態様の本発明を制限することを意図しない。

#### 【実施例】

#### 【0153】

##### I. 一般的な方法

標準的な方法の多くが、以下に記載または参照される。例えば、Maniatisら、(1982)Molecular Cloning, A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Press, NY; Sambrookら、(1989)Molecular Cloning: A Laboratory Manual (第二版) 第1~3巻, CSH Press, NY; Ausubelら、Biology Greene Publishing Associates, Brooklyn, NY; ま

50

たはAusubelら(1987および補遺)Current Protocols inMolecular Biology Wiley/Greene, NY; Innisら、(編)(1990)PCR Protocols:A Guide toMethods and Applications Academic Pres, NY。

【0154】

タンパク質精製については、硫酸アンモニウム沈澱、カラムクロマトグラフィー、電気泳動、遠心分離、結晶化などのような方法を含む。例えば、Ausubelら、(1987および定期的な補遺); Deutscher(1990)“Guide to ProteinPurification,” Methods in Enzymology 第182巻, およびこのシリーズの他の巻; Coligenら、(1996および定期的な補遺)CurrentProtocols in Protein Science Wiley/Greene, NY; ならびにタンパク質精製産物の使用についての製造者の説明書、例えば、Pharmacia, Piscataway, NJ, もしくはBio-Rad, Richmond, CA。組換え技術との組合せは、適切なセグメント(例えば、FLAG配列もしくはプロテアーゼ除去配列を介して融合され得る等価物)への融合を可能にする。例えば、Hochuliら、(1989)ChemischeIndustrie 12:69-70; Hochuli (1990)“Purification of Recombinant Proteins withMetal Chelate Absorbent” Setrow (編)、GeneticEngineering, Principle and Methods 12:87-98, Plenum Press, NY; およびCroweら(1992) QIAexpress:TheHigh Level Expression & Protein Purification SystemQUIAGEN, Inc., Chatsworth, CAを参照のこと。

10

【0155】

標準的な免疫学的技術が、例えば、Hertzenbergら(編、1996)Weir's Handbook of Experimental Immunology 第1~4巻、BlackwellScience; Coligan(1991)Current Protocols in Immunology Wiley/Greene, NY; ならびにMethods in Enzymology 第70、73、74、84、92、93、108、116、121、132、150、162、および163巻に記載される。例えば、Paul(編)(1993)Fundamental Immunology(第3版)Raven Press, N.Y.もまた参照のこと。

20

【0156】

FACS分析は、Melamedら(1990)FlowCytometry and Sorting Wiley-Liss, Inc., New York, NY; Shapiro(1988)PracticalFlow Cytometry Liss, New York, NY; およびRobinsonら(1993)Handbook of Flow CytometryMethods Wiley-Liss, New York, NY に記載される。

【0157】

II. ヒト単球の単離

健常なドナーを、白血球搬出法に供した。パーコール勾配を用いて、単核球細胞を単離し、次いで、これを遠心分離に供した。Figdorら(1982)Blood 60:46~53; およびPlasら(1998)Expt'l Hematol. 16:355~359を参照のこと。この高度に富化した単球細胞の画分を、Romaniら(1994)J. Exp. Med. 180:83~93; およびSallustoら(1994)J. Exp. Med. 179:109~1118に記載のように、GM-CSF(800U/ml)およびIL-4(500U/ml)の存在下で、5~7日間培養した。

30

【0158】

樹状細胞を作製するために、ヒトCD34+細胞を、下記のように得た。例えば、Cauxら(1995) BanchereauおよびSchmitt DendriticCells in Fundamental and Clinical Immunology (Plenum Press, NY)の1~5頁を参照のこと。末梢血細胞および臍帯血細胞(時折、CD34+を選択した)を、10%(v/v)熱不活化ウシ胎児血清(FBS; FlowLaboratories, Irvine, CA)、10mM HEPES、2mM L-グルタミン、 $5 \times 10^{-5}$  M 2-メルカプトエタノール、ペニシリン(100mg/ml)を補充したエンドトキシンを含まないRPMI1640培地(GIBCO, Grand Island, NY)中で、幹細胞因子(SCF)、GM-CSF、およびTNF-aの存在下で培養した。これを、完全培地という。

40

【0159】

CD34+細胞を、25cm<sup>2</sup>から75cm<sup>2</sup>フラスコ(Corning, NY)に拡張するために、 $2 \times 10^4$ 細胞/mlで播種した。至適条件を、新鮮なGM-CSFおよびTNF-aを含む培地に関して、これらの培養物を5日および10日目に分割することにより、維持した(細胞濃度:  $1 \sim 3 \times 10^5$ 細胞/ml)。特定の場合において、細胞を、約6日目にCD1a発現についてFACS選別した。

【0160】

50

特定の状況下では、細胞を培養の12日後に日常的に回収し、最終的に、接着細胞を5 mM EDTA溶液を用いて回収した。別の状況において、CD1a+細胞を、完全培地中に  $5 \times 10^6$  細胞/mlで再懸濁することにより活性化し、そして適切な時間(例えば、1または6時間)、1mg/mlホルボール12-ミリスレート13-アセテート(PMA, Sigma)および100ng/ml イオノマイシン(Calbiochem, La Jolla, CA)で活性化した。これらの細胞を、さらに6日間で拡大し、そしてRNAを、cDNAライブラリー調製のために単離した。

#### 【0161】

##### III. RNA単離およびライブラリー構築

総RNAを、例えば、Chirgwinら(1978)、Biochem.18:5294~5299に記載されるように、グアニジンチオシアネート/CsCl勾配手順を用いて単離する。

10

#### 【0162】

あるいは、ポリ(A)+RNAをOLIGOTEXmRNA単離キット(QIAGEN)を用いて単離する。二本鎖cDNAを、cDNA合成およびプラスミドクローニングのために、例えば、SUPERScriptプラスミド系(GibcoBRL, Gaithersburg, MD)を用いて作製する。得られる二本鎖cDNAを、例えば、pSport1中に一方向でクローニングし、そしてELECTROMAXDH10BTM細胞(Gibco BRL, Gaithersburg, MD)中へエレクトロポレーションによりトランスフェクトする。

#### 【0163】

##### IV. 配列決定

ランダムに選択したクローンから単離された(または活性化されていない細胞を用いての差し引きハイブリダイゼーション後の)DNAを、標準的な技術を用いてヌクレオチド配列分析に供した。Taq DiDeoxy Terminatorサイクルシークエンシングキット(Applied Biosystems, Foster City, CA)を用い得る。標識DNAフラグメントを、適切に自動化された配列決定機のDNAシークエンシングゲルを用いて分離する。あるいは、単離したクローンを、例えば、Maniatisら(1982)Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Press; Sambrookら(1989)Molecular Cloning: A Laboratory Manual(第2版)、第1~3巻, CSH Press, NY; Ausubelら、Biology, Greene Publishing Associates, Brooklyn, NY; またはAusubelら(1987および増補)Current Protocols in Molecular Biology, Greene/Wiley, New Yorkに記載のように配列決定する。化学的配列決定法もまた、MaxamおよびGilbert配列決定技術を用いて、利用可能である。

20

#### 【0164】

##### V. ヒト単球タンパク質遺伝子の単離

FDF03、YE01、およびKTE03(YYB01およびYYB04)クローンを配列決定し、そしてオープンリーディングフレームについて分析した。クローンをさらに分析し、核酸配列を充分、またはほぼ充分なオープンリーディングフレームに拡張(extend)した。

30

#### 【0165】

mRNAを、FastTrackキット(Invitrogen)により適切な細胞集団から調製し、このmRNAから、例えば、GIBCO-BRL(Gaithersburg, MD)から入手した、cDNA合成のためのSuperScript Plasmid Systemを用いて、本質的に製造者による記載のようにcDNAを産生する。この手順に対する改変は、キットとともに提供されるSal1アダプターを他のクローニングアダプターに置換することを含む。これらの細胞から得られたcDNAを用いて、ライブラリーを、例えば、プラスミドPCDNAII(Invitrogen)中に作製する。このcDNAをポリリンカーにクローニングし、そしてこれを用いて、E.coliの適切な株、例えば、DH10Bを形質転換する。プラスミドを例えば、Qiagenシステム(Chatsworth, CA)を用いて単離および精製し、これを用いて、例えば、SP6プロモーター由来のRNAプローブを作製する。

40

#### 【0166】

RNAプローブを、例えば、製造者により記載されるようにGenius System(Boehringer-Mannheim)を用いて標識する。cDNAライブラリーのフィルターリフト(Filter lifts)を、例えば、42℃で3~6時間、チャーチ緩衝液(50%ホルムアミド、6×SSPE、50mMNaHPO<sub>4</sub>(pH 7.2)、7% SDS、0.1% N-ラウリルサルコシン、2%Boehringer-Mannheimブロッキング試薬)中で、プレハイブリダイズし得る。フィルターを、例えば、適切なプローブを含

50

む同じ緩衝液中で一晩プローブする。フィルターを、例えば、GeniusSystemに記載のように洗淨する。ハイブリダイズするコロニーを選択する。

【0167】

ヒト単球タンパク質のcDNA全体を、例えば、T7ポリメラーゼ(U.S. Biochemicals, Cleveland, OH)で、二本鎖DNAをテンプレートとして用いて、ジデオキシヌクレオチドチェーントーミネーション法により配列決定する。データベース検索および配列解析を、IntelliGeneticsプログラム(MountainView, CA)を用いて実施し、以前報告されたクローンとの間に相同性が存在するか否かを決定する。

【0168】

配列番号1~4は、ヒトFDF03遺伝子に関する配列およびマウスの対応配列を開示する。同様に、配列番号5~10は、ヒトYE01遺伝子産物(可溶性産物をコードするスプライス改変体および転写物を含む)に関連する配列を記載する。配列番号11~22は、KTE03遺伝子産物の実施態様の配列を提供し、そしてスプライス改変体の証拠を示す。

10

【0169】

VI. 組換え単球遺伝子構築物

ポリ(A)<sup>+</sup> RNAを、例えば、FastTrackmRNAキット(Invitrogen, San Diego, CA)を用いて、適切な細胞集団から単離する。サンプルを、例えば、ホルムアルデヒドを含む1%アガロースゲル中で電気泳動し、そしてGeneScreen膜(NENResearch Products, Boston, MA)に移す。ハイブリダイゼーションを、例えば、65℃で、10<sup>7</sup>cpm/mlの<sup>32</sup>P-dCTP標識した単球遺伝子cDNAを含む、0.5MNaHPO<sub>4</sub>(pH 7.2)、7% SDS、1mM EDTA、および1% BSA(画分V)中で実施する。ハイブリダイゼーション後、フィルターを、0.2×SSC、0.1% SDS中、50℃で3回洗淨し、そしてフィルムに24時間曝露した。

20

【0170】

組換え遺伝子構築物を用いて、メッセージを検出するためのプローブを作製し得る。挿入物を切り出し得、そして上記の検出方法において使用し得る。

【0171】

VII. E. coliにおける単球遺伝子タンパク質の発現

PCRを用いて、好ましくは、適切なプロモーター、選択、および調節配列と作動可能に結合したオープンリーディングフレームを含む構築物を作製する。得られる発現プラスミドを、適切なE. coli株、例えばTopp5(Stratagene, La Jolla, CA)に形質転換する。アンピシリン耐性(50 μg/ml)形質転換体を、Luriaブロス(Gibco)中37℃で、550nmでの光学密度が0.7になるまで、増殖させる。組換えタンパク質を、0.4mMイソプロピル-bD-チオガラクト-ピラノシド(Sigma, St. Louis, MO)で誘導し、そして細胞のインキュベーションを20℃でさらに18時間継続する。1リットルの培養物からの細胞を、遠心分離により回収し、そして例えば、氷冷30%スクロース、50mMTris-HCl(pH 8.0)、1mMエチレンジアミン四酢酸の200ml中に再懸濁する。10分間氷冷した後、氷冷水を2リットルの総量まで添加する。20分氷冷した後、細胞を遠心分離によって除去し、そして上清を5 μM Millipak 60(Millipore Corp., Bedford, MA)を介して濾過することにより明澄化する。

30

【0172】

組換えタンパク質を、標準的な精製法(例えば、種々のイオン交換クロマトグラフィー法)を介して精製する。以下に記載の抗体を用いるイムノアフィニティー法もまた、用いられ得る。エピトープタグを発現構築物中に操作する、アフィニティー法を使用し得る。

40

【0173】

VIII. ヒト単球遺伝子のマッピング

DNA単離、制限酵素消化、アガロースゲル電気泳動、サザンプロット移動(transfer)、およびハイブリダイゼーションを、標準的な技術に従って実施する。Jenkinsら(1982)J. Virol. 43:26~36を参照のこと。プロットを、Hybond-Nナイロンメンブレン(Amersham)を用いて調製し得る。プローブを<sup>32</sup>P-dCTPで標識し; 洗淨を例えば、0.1×SSC、0.1% SDS、65℃の最終的なストリンジェンシーにして行う。

【0174】

50

あるいは、BIOS Laboratories (New Haven, CT) マウス体細胞ハイブリッドパネルをPCR法と組み合わせ得る。

【0175】

IX. 個体差の分析

分布データから、多量の容易に入手できる細胞型を選出し、個体由来のサンプルとした。PCR技術を用いて、多数の個体集団をこの遺伝子について分析した。cDNAまたは他のPCR法を用い、種々の個体について対応する遺伝子を配列決定し、それらの配列を比較した。これにより、種または他の集団の間での差の程度が示され、そしてどの残基が機能に劇的な影響を与えることなく改変可能であるかを決定できる。

【0176】

X. 抗体の調製

組換え単球タンパク質を、上述のようにE. coliでの発現により作製し、生物学的活性について試験する。ポリクロナール血清産物またはモノクロナール血清産物のいずれかについて適当なホ乳類を免疫化する際、活性または変性タンパク質を用いてもよい。天然の抗体または変性抗原に対する抗体を、ウエスタンブロットでの使用のために、および生物学的活性を改変する抗体について、選別する。

【0177】

XI. 霊長類の同等単球遺伝子の単離

これらの遺伝子をコードするヒトcDNAクローンを、プローブとして、または種々の霊長類（例えば、チンパンジー）における同等遺伝子を探すためのPCRプローブを設計するために使用する。

【0178】

XII. 細胞集団を分析するための試薬の使用

試料中に存在する単球細胞のレベルの検出は、特定の突然変異性疾患症状の診断に重要である。例えば、組織またはリンパ系での単球数の増加は、単球過形成、組織または移植片拒絶、あるいは炎症の存在の指標であり得る。低減した単球集団は、単球の応答を正常化するために適当な治療を必要とする異常な反応（例えば、細菌またはウイルス感染に対する異常反応）を示唆し得る。

【0179】

細胞表面単球タンパク質に特異的な標識結合剤を用いるFACS分析（例えば、Melamedら(1990) Flow Cytometry and Sorting Wiley-Liss, Inc., New York, NY; Shapiro (1988) Practical Flow Cytometry Liss, New York, NY; およびRobinsonら(1993) Handbook of Flow Cytometry Methods Wiley-Liss, Inc., New York, NYを参照のこと）を、例えば、PBM C、粘着細胞などの細胞混合物中に存在する単球の数の測定に使用する。結合剤もまた、単球の浸潤を分析するために、新鮮な試料または固定した組織試料の組織学的分析に使用する。また、別々の細胞集団を、細胞破壊アッセイまたは細胞が生存性を保持した特定のアッセイのいずれかにおいて評価し得る。

【0180】

可溶性細胞内分子の存在の分析を、例えば、Openshawら(1995) J. Exp. Med. 182 :1357-1367に記載されるような、単球に特異的な蛍光結合剤により行い、あるいは、組織または細胞の固定法を使用し得る。

【0181】

単球転写物の濃度を、例えば、Murphyら(1993) J. Immunol. Methods 162 :211~223に記載されるような半定量的PCRを用いて定量する。プライマーを、ゲノムDNAが検出されないように設計する。

【0182】

FDF03の実施形態の分布を、ハイブリダイゼーションおよびPCR分析を用いて研究した。ノーザンブロット分析は、転写物を、樹状細胞およびJY細胞系に位置づけた。ここで、約700bpおよび1300bpの2つの転写物（これらは別々に調節される）、および休止単球またはLPSおよびIFN $\gamma$ 活性化単球において約4000に1の評価された頻度が明らかになる。

10

20

30

40

50

短い方のメッセージは、タンパク質の可溶性バージョンをコードしないようである（例えば、TMおよび細胞内セグメントを欠除する）。サザンブロット分析により、単球、樹状細胞、P B M C、B細胞、および脾臓B細胞において転写物を検出した。このメッセージは、単球の活性化において、ダウンレギュレートされるようである。

#### 【0183】

YE01の実施形態の分布の評価もまた行った。メッセージは、単球特異的であるようであり、低量メッセージである。これは、休止単球および活性化単球でのcDNAサザンブロットにより検出可能である。最も高い発現は、6時間のLPS活性化単球にて観察された。これは、抗CD3およびPMA活性化PBMCでも検出される。これは、樹状細胞においても検出可能であり得るが、それは、残った単球との樹状細胞集団の混入によるものであり得る。この感受性レベルでは、NK細胞、B細胞またはT細胞、あるいは試験されたいずれの胎児細胞においても検出不可能である。しかしながら、YE01遺伝子産物は、モノクナル抗体DX26により特異的に認識される。この抗体は、架橋されると、特定の標的に対するNK細胞仲介性殺傷を阻害し得る。この抗体は、T細胞、B細胞、NK細胞、および単球内で発現するタンパク質を認識する。DX26により、認識されるYE01（これは、明らかにYE01単離物の多型性変異株である）をコードする遺伝子がクローニングされ、そして本質的にその配列を有する：

KTE03発現レベルもまた測定した。メッセージは、単球がLPSおよびIFN $\gamma$ により活性化される場合、IL-10暴露の際にアップレギュレートされるようであった。

#### 【0184】

##### XIII. 結合対応物の単離

単球タンパク質を、その結合特異性を利用することにより、使用される抗体とほとんど同じように、特異的な結合試薬として使用し得る。結合試薬は、上記（例えば、蛍光または他のもの）のように標識されるか、またはパニング法に対する基質に固定化されるかのいずれかである。

#### 【0185】

単球タンパク質を、結合性を示す細胞株のスクリーニングに使用する。標準的な染色技術を使用して、細胞内もしくは表面発現リガンドを検出、または分別するか、あるいは表面発現形質転換細胞をパニングによりスクリーニングする。細胞内発現のスクリーニングを、種々の染色または免疫蛍光手順により行う。MacMahanら（1991）EMBO J. 10 :2821-2832もまた参照のこと。

#### 【0186】

例えば、0日目に、2チャンパー型permanoxスライドを、チャンパー当たりフィブロネクチン10ng/mlのPBS溶液1mlで30分間室温で予めコートする。PBSで1回洗浄する。次に、チャンパー当たり1.5mlの増殖培地に $2 \sim 3 \times 10^5$ のCOS細胞を注入する。一晩37°Cでインキュベートする。

#### 【0187】

1日目、各試料について、66mg/ml DEAE-デキストラン、66mMのクロロキンおよび4mg DNAの無血清DME溶液0.5mlを調製する。各セットについて、例えば、1および1/200希釈のヒトレセプターFLAGcDNAのポジティブコントロール、およびネガティブmockを調製する。細胞を無血清DMEでリンスする。DNA溶液を加え、そして5時間37°Cでインキュベートする。培地を除去し、0.5mlのDMSO10%含有DME溶液を2.5分間加える。除去し、そしてDMEで1回洗浄する。1.5mlの増殖培地を加え、一晩インキュベートする。

#### 【0188】

2日目、培地を交換する。3日目および4日目、細胞を固定化し、染色する。細胞をハンス緩衝化生理食塩水溶液（HBSS）で2回リンスし、4%パラホルムアルデヒド（PFA）/グルコースで5分間固定化する。HBSSで3回洗浄する。スライドを、液体をすべて除いた後、-80°Cで保存し得る。各チャンパーについて、0.5mlのインキュベーションを以下のように行う。32ml/mlの1MNa $_3$ を含むHBSS/サポニン（0.1%）を20分間加える。次に、細胞をHBSS/サポニンで1回洗浄する。タンパク質またはタンパク質/抗体複合体を細胞に

加え、30分間インキュベートする。細胞をHBSS / サポニンで2回洗浄する。適切であれば、1次抗体を30分間加える。2次抗体（例えば、Vector抗マウス抗体）を1/200の希釈度で加え、30分間インキュベートする。ELISA溶液（例えば、VectorElite ABC西洋ワサビペルオキシダーゼ溶液）を調製し、そして30分間前インキュベートする。例えば、HBSS / サポニン2.5ml当たり、1滴の溶液A（アビジン）および1滴の溶液B（ビオチン）を使用する。細胞をHBSS / サポニンで2回洗浄する。ABCGRP溶液を加え、そして30分間インキュベートする。細胞をHBSSで2回洗浄し、2回目の洗浄は2分間であり、これにより細胞を封じる。次に、Vectorジアミノ安息香酸（DAB）を5～10分間加える。5mlのガラス蒸留水当たり、2滴の緩衝液および4滴のDABおよび2滴のH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を使用する。注意深くチャンパーを外し、スライドを水中で洗浄する。数分間、風乾させた後、1滴のCrystalMountを加え、カバーガラスを載せる。5分間85～90℃で焼きつける。

10

## 【0189】

あるいは、他の単球タンパク質特異的結合試薬が、レセプターを発現する細胞のアフィニティー精製または分別に使用される。例えば、SambrookらまたはAusubelらを参照のこと。

## 【0190】

他のストラテジーは、パニングによって、膜結合レセプターをスクリーニングすることである。レセプターcDNAを、上述のように構築する。リガンドを固定化し得、および発現細胞を固定化するために使用し得る。固定化は、例えば、単球タンパク質融合構築物のFLAG配列を認識する適切な抗体の使用によって、または1次抗体に対して惹起された抗体の使用によって達成され得る。選別と増幅を繰り返すことにより、適切なクローン濃度が高くなり、結果的にリガンド発現クローンの単離につながる。

20

## 【0191】

ファージ発現ライブラリーは、単球タンパク質によりスクリーニングされ得る。適切な標識技術（例えば、抗FLAG抗体）により、適切なクローンの特異的な標識が可能となる。

## 【0192】

## XIV. 可溶性YE01の単離

DNAX白血球関連免疫グロブリン様レセプター（DLAIR；ここではDLAIR-1と称される）とも称される、上述のYE01のさらなるファミリーメンバーを、ヒトT細胞腫瘍株cDNAライブラリー（TcT）のスクリーニングによりクローニングした。細菌のコロニーリフト（lift）膜を、細胞外ドメインのIgループに存在するBglIII-SphI消化フラグメントを含むDLAIR-1プローブでハイブリダイズした。2つのポジティブクローンを単離し、そして配列決定した。配列決定分析により、両クローンは、414塩基対の同一のオープンリーディングフレーム（これは、推定21アミノ酸リーダー配列を有する135のアミノ酸からなるタンパク質をコードし、そして推定分子量14.7Daを有する）を含むことが明らかになった。ここで、この分子をDLAIR-2といい、これは、1つのIgループを含有する。このIgループは、DLAIR-1と84%の相同性を有し、このことは、これが同じファミリーに属するが、別の遺伝子によってコードされることを示す。DLAIR-2は、膜貫通領域を欠除し、分泌されたタンパク質であることを示す。

30

## 【0193】

DLAIR-2は、DLAIR-1に対する類似性を有する可溶性分子であり、この阻害性レセプターに対するアンタゴニストとして使用され得る。

40

## 【0194】

## XV. DX26モノクローナル抗体の調製

マウスをヒトNK細胞クローンで免疫し、FcR含有標的のNK細胞媒介性溶解の阻害能について抗体をスクリーニングした。あるいは、抗体を、精製タンパク質に対して惹起させる。

## 【0195】

## XVI. mAbを有する架橋DLAIR-1はNK細胞媒介性殺傷を阻害する

DX26 mAbは、HLAネガティブEBA形質転換B細胞株721.221のNKクローンの殺傷

50

を阻害しなかった。しかしながら、721.221をヒトFcγR-I(CD32)でトランスフェクトし、そしてこれを標的として用いる場合、NK細胞媒介性細胞溶解はDX26 mAbにより阻害された。このことは、DX26 mAbにより認識される分子(DNA X白血球関連免疫グロブリン様レセプター(DLAIR)と称する)を介するシグナル伝達か、NK細胞クローンに、特定の標的細胞の致死を阻害する負のシグナルを伝達することを示している。これと一致して、Colo-205、PA-1またはFO-1(各々はFcRネガティブヒト細胞株である)に対するNK細胞媒介性細胞障害性は、DX26 mAbの添加により阻害されなかった。さらに、P815(FcR発現マウスマスト細胞腫細胞株、これはCD2、CD16、CD69またはDNAM-1抗原と同時に架橋すると、ヒトNK細胞クローンによりインビトロで殺傷される)の細胞溶解も、DX26 mAbにより阻害された。これらの結果から、NK細胞の細胞障害性の強力なインデューサーにより与えられる正のシグナルは、DX26 mAbにより抑制されたため、DLAIRが強い阻害シグナルをNK細胞に伝達すると結論づけられる。

10

## 【0196】

XVII. DLAIR-1は休止NK細胞上の阻害性レセプターである

NK細胞クローンは、活性化NK細胞のクローン的に誘導した集団からなる。これらの細胞は、DLAIRシグナル伝達により強力に阻害される。本発明者らは、DLAIRが、未だ活性化されていないNK細胞上の阻害性レセプターとしても機能しているか否かの研究を開始した。末梢血から磁気ビーズを用いてネガティブ欠乏により調製した休止NK細胞は、CD16により同時活性化されると、P815標的細胞を溶解し得た。このNK細胞媒介性細胞障害性は、DX26 mAbの添加により阻害された。したがって、DLAIRは活性化および休止の両NK細胞における阻害性レセプターとして機能的である。

20

## 【0197】

XVIII. DLAIRは広範囲で発現する抗原である

ヒト末梢血リンパ球の表現型の分析より、DLAIRは広範囲に分布する分子であることが示された。健常なドナーのPBMCでは、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T細胞(70~80%)、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T細胞(80~90%)、CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>NK細胞(95~100%)、CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>B細胞(80~90%)およびCD3<sup>-</sup>CD14<sup>+</sup>単球(99~100%)は、すべてDLAIR分子を発現した。ヒト胎児胸腺細胞では、未成熟CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>細胞と、成熟CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>またはCD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>単ポジティブ細胞ともまたDLAIRを発現した。末梢血の顆粒細胞、血小板および赤血球はDLAIRを発現しなかった。

30

## 【0198】

ヒトNK細胞クローンおよびT細胞クローンは、長期培養を行ったNKクローン、NKLおよびNK92を除き、すべてDLAIRを発現した(表2参照)。EBV形質転換B細胞株、B細胞腫瘍Dauidi、ならびにNK腫瘍細胞株YTおよび数種の非造血細胞株はDLAIRを発現しなかったが、ヒトT細胞株はDLAIR発現を示した。

## 【0199】

表2: ヒト腫瘍細胞株<sup>1</sup>でのDLAIRの発現

## 【0200】

40

【表2】

細胞株	型	コントロール I g G 1	DX 2 6 m A b	
			(平均蛍光強度)	
HUT 7 8	T細胞腫瘍	<5	2 5 . 8	
Peer	T細胞腫瘍	<5	2 9 . 1	
Molt 4	T細胞腫瘍	<5	3 0 . 7	10
CEM	T細胞腫瘍	<5	9 2 . 7	
Jurkat	T細胞腫瘍	<5	4 7 . 1	
HL 6 0	前骨髄腫瘍	<5	4 6 . 9	
U 9 3 7	骨髄腫瘍	<5	4 9 . 5	
7 2 1 . 2 2 1	EBV-B細胞	<5	<5	20
JY	EBV-B細胞	<5	<5	
Daudi	B細胞腫瘍	<5	<5	
YT	NK細胞腫瘍	<5	<5	
NKL	NK細胞クローン	<5	<5	
NK 9 2	NK細胞クローン	<5	<5	30
Colo 2 0 5	結腸癌腫	<5	<5	
2 9 3 T	胚腎	<5	<5	
PA-1	奇形癌	<5	<5	
FO-1	メラノーマ	<5	<5	

## 【0201】

<sup>1</sup> 細胞は、コントロール I g G 1 または D X 2 6 m A b および P E 結合ヤギ抗マウス I g G により第二工程として染色を行った。細胞は、F A C S canにより分析した。 40

## 【0202】

X I X . D X 2 6 抗原の発現クローニング

D X 2 6 抗体を、抗体が認識する抗原の発現クローニングに使用した。発現クローニングは標準的な方法を用いて行った。例えば、SambrookらまたはColiganらを、参照されたい。

## 【0203】

D X 2 6 抗原を、例えば、p J F E 1 4 発現ベクターにおいてポリクロナールヒト活性化NK細胞 c D N A ライブラリーから発現クローニングする。C O S 7 細胞をこのライブラリーでトランスフェクトし、抗原陽性細胞を、フィコエリトリン標識抗 D X 2 6 m A 50

bを用いて選択した。cDNA配列を決定し、YE01配列の大部分と一致することが見出された。DX26抗体は、YE01遺伝子産物の産物に特異的に結合する。

【0204】

別の方法では、オリゴヌクレオチドをライブラリーのスクリーニングに使用する。ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)技術と合わせて適当な向きの合成オリゴヌクレオチドをプライマーとして使用し、ライブラリーから正しいクローンを選択する。

【0205】

さらに、YE01遺伝子産物は、モノクローナル抗体DX26により特異的に認識される。この抗体は、架橋されると、特定の標的のNK細胞媒介性殺傷を阻害し得る。この抗体は、T細胞、B細胞、NK細胞および単球で発現されるタンパク質を認識する。見かけ上、YE01単離物の多型性改変体であるDX26により認識される抗原をコードする遺伝子をクローニングし、そしてこれは、本質的にその配列を有する(配列番号7参照)。この単離物は、元のYE01転写産物と異なる3'非翻訳配列を有し、これは、代替のポリアデニル化部位の使用に起因する。可溶型のDLAIRも検出された(配列番号9参照)。

10

【0206】

DX26単離物の分布をノーザンブロットングで分析した結果は以下の通りである。ヒトNK細胞クローンのmRNAを、DLAIR cDNA、PBMC、ヒトT細胞株Jurkatおよびヒト骨髄細胞株Jurkatを用いてプローブした結果、約1800bpと3000~4000bpの2つのバンドが得られた。これは、クローニングされたcDNAに加え、DLAIRと類似した配列を有する別の転写産物がこれらの細胞株に存在することを示す。この転写産物が同じオープンリーディングフレームを有するか否かは今のところ不明であるが、この転写産物をクローニングし、配列分析を行うことで決定される。EBV形質転換ヒトB細胞株JYでは、DLAIR cDNAを用いてプローブした場合の転写産物を示さなかった。

20

【0207】

XX.DLAIR-1はSHP-1およびSHP-2に結合する

DLAIR-1の細胞質ドメイン内に、ITIMに対する2種のコンセンサス配列が存在したことは、NK細胞での阻害的シグナルの生成がSHP-1および/またはSHP-2の補充により発現されることを示唆した。DLAIR-1がプロテインチロシンホスファターゼを結合し得るか否かを決定するために、NK細胞クローンをペルバナデート(チロシンホスホリル化を誘導するプロテインチロシンホスファターゼのインヒビター(O'Sheaら(1992)Proc.Natl.Acad.Sci. USA,89:10306~10310)で刺激し、溶解し、そしてDX26 Mabで免疫沈降を行った。次いで、免疫沈降物を、SHP-1およびSHP-2に特異的な抗体を用いたウエスタンブロットにより分析した。SHP-1およびSHP-2は、ともにチロシンホスホリル化DLAIR-1と会合していた。これらの結果は、SHP-1およびSHP-2の補充が、DLAIR-1分子の結合を介して伝達される負のシグナルを媒介することに関与し得ることを示唆する。

30

【0208】

本明細書中に引用した全ての参考文献は、それぞれ個々の物あるいは特許出願が、開示によりあらゆる目的のためにその全内容が参考として本明細書中に援用されていると具体的にかつ個々に示されているのと同範囲に、本明細書中に参考として本明細書中に援用される。

40

【0209】

当業者にとって明らかであるように、その精神および範囲を逸脱せずに、本発明の多くの変更および変形がなされ得る。本明細書中に記載した特定の実施態様は単なる例示であり、本発明は、添付の請求の範囲および請求の範囲と均等の全範囲によってのみに限定されるべきである。

【0210】

(配列表)

50

【数 1】

## 配列表

## (1) 一般的情報：

## (i) 出願人：

- (A) 名前：シェーリング コーポレイション
- (B) 番地：ギャロッピング ヒル ロード 2000
- (C) 市：ケニルワース
- (D) 州：ニュージャージー
- (E) 国：アメリカ合衆国
- (F) 郵便番号：07033

10

## (ii) 発明の名称：単離された哺乳動物細胞遺伝子；関連する試薬

## (iii) 配列数：22

## (v) コンピューター読み出し形態：

- (A) 媒体型：フロッピー ディスク
- (B) コンピューター：アップル マッキントッシュ
- (C) OS：マッキントッシュ 7.1
- (D) ソフトウェア：マイクロソフト ワード 5.1a

20

## (v) 現在の出願データ：

出願番号：

## (vi) 先願データ

- (A) 出願番号：US 60/032, 252
- (B) 出願日：1996年12月6日

30

## (vi) 先願データ

- (A) 出願番号：US 08/762, 187
- (B) 出願日：1996年12月9日

## (vi) 先願データ

- (A) 出願番号：US 60/033, 181
- (B) 出願日：1996年12月16日

## (vi) 先願データ

- (A) 出願番号：US 60/041, 279
- (B) 出願日：1997年3月21日

40

## (2) 配列番号 1 の情報：

【 0 2 1 1 】

【数 2】

(i) 配列の特徴：

- (A) 長さ：1249塩基対
- (B) 型：核酸
- (C) 鎖の数：一本鎖
- (D) トポロジー：直鎖状

(ii) 配列の種類：cDNA

(ix) 配列の特徴：

- (A) 配列の特徴を表す記号：CDS
- (B) 存在位置：154..1062

10

(ix) 配列の特徴：

- (A) 配列の特徴を表す記号：mat\_peptide
- (B) 存在位置：211..1062

20

(xi) 配列：配列番号 1：

```

GTTTGGGGAA GGCTCCTGOC CCCACAGCC CTCTTCGGAG CCTGAGCCCG GCTCTCCTCA      60
CTCACCTCAA CCCCCAGGCG GCCCCTCCAC AGGGCCCCCTC TCCTGCCTGG ACGGCTCTGC      120
TGGTCTCCCC GTCCCCTGGA GAAGAACAAG GCC ATG GGT CGG CCC CTG CTG CTG      174
                               Met Gly Arg Pro Leu Leu Leu
                               -19                               -15
CCC CTA CTG CCC CTG CTG CTG CCG CCA GCA TTT CTG CAG CCT AGT GGC      222
Pro Leu Leu Pro Leu Leu Leu Pro Pro Ala Phe Leu Gln Pro Ser Gly
   -10                               -5                               1
TCC ACA GGA TCT GGT CCA AGC TAC CTT TAT GCG GTC ACT CAA CCA AAA      270
Ser Thr Gly Ser Gly Pro Ser Tyr Leu Tyr Gly Val Thr Gln Pro Lys
   5                               10                               15                               20
CAC CTC TCA GCC TCC ATG GGT GGC TCT GTG GAA ATC CCC TTC TCC TTC      318
His Leu Ser Ala Ser Met Gly Gly Ser Val Glu Ile Pro Phe Ser Phe
                               25                               30                               35
TAT TAC CCC TGG GAG TTA GCC ACA GCT CCC GAC GTG AGA ATA TCC TGG      366
Tyr Tyr Pro Trp Glu Leu Ala Thr Ala Pro Asp Val Arg Ile Ser Trp
   40                               45                               50
AGA CGG GGC CAC TTC CAC GGG CAG TCC TTC TAC AGC ACA AGG CCG CCT      414
Arg Arg Gly His Phe His Gly Gln Ser Phe Tyr Ser Thr Arg Pro Pro
   55                               60                               65
TCC ATT CAC AAG GAT TAT GTG AAC CGG CTC TTT CTG AAC TGG ACA GAG      462
Ser Ile His Lys Asp Tyr Val Asn Arg Leu Phe Leu Asn Trp Thr Glu
   70                               75                               80
GGT CAG AAG AGC GGC TTC CTC AGG ATC TCC AAC CTG CAG AAG CAG GAC      510
Gly Gln Lys Ser Gly Phe Leu Arg Ile Ser Asn Leu Gln Lys Gln Asp
   85                               90                               95                               100

```

30

40

【 0 2 1 2 】

## 【数3】

CAG TCT GTG TAT TTC TGC CGA GTT GAG CTG GAC ACA CGG AGC TCA GGG Gln Ser Val Tyr Phe Cys Arg Val Glu Leu Asp Thr Arg Ser Ser Gly 105 110 115	558	
AGG CAG CAG TGG CAG TCC ATC GAG GGG ACC AAA CTC TCC ATC ACC CAG Arg Gln Gln Trp Gln Ser Ile Glu Gly Thr Lys Leu Ser Ile Thr Gln 120 125 130	606	
GCT GTC ACG ACC ACC ACC CAG AGG CCC AGC AGC ATG ACT ACC ACC TGG Ala Val Thr Thr Thr Thr Gln Arg Pro Ser Ser Met Thr Thr Thr Trp 135 140 145	654	
AGG CTC AGT AGC ACA ACC ACC ACA ACC GGC CTC AGG GTC ACA CAG GGC Arg Leu Ser Ser Thr Thr Thr Thr Thr Gly Leu Arg Val Thr Gln Gly 150 155 160	702	10
AAA CGA CGC TCA GAC TCT TGG CAC ATA AGT CTG GAG ACT GCT GTG GGG Lys Arg Arg Ser Asp Ser Trp His Ile Ser Leu Glu Thr Ala Val Gly 165 170 175 180	750	
GTG GCA GTG GCT GTC ACT GTG CTC GGA ATC ATG ATT TTG GGA CTG ATC Val Ala Val Ala Val Thr Val Leu Gly Ile Met Ile Leu Gly Leu Ile 185 190 195	798	
TGC CTC CTC AGG TGG AGG AGA AGG AAA GGT CAG CAG CGG ACT AAA GCC Cys Leu Leu Arg Trp Arg Arg Arg Lys Gly Gln Gln Arg Thr Lys Ala 200 205 210	846	20
ACA ACC CCA GCC AGG GAA CCC TTC CAA AAC ACA GAG GAG CCA TAT GAG Thr Thr Pro Ala Arg Glu Pro Phe Gln Asn Thr Glu Glu Pro Tyr Glu 215 220 225	894	
AAT ATC AGG AAT GAA GGA CAA AAT ACA GAT CCC AAG CTA AAT CCC AAG Asn Ile Arg Asn Glu Gly Gln Asn Thr Asp Pro Lys Leu Asn Pro Lys 230 235 240	942	
GAT GAC GGC ATC GTA TAT GCT TCC CTT GCC CTC TCC AGC TCC ACC TCA Asp Asp Gly Ile Val Tyr Ala Ser Leu Ala Leu Ser Ser Ser Thr Ser 245 250 255 260	990	
CCC AGA GCA CCT CCC AGC CAC CGT CCC CTC AAG AGC CCC CAG AAC GAG Pro Arg Ala Pro Pro Ser His Arg Pro Leu Lys Ser Pro Gln Asn Glu 265 270 275	1038	30
ACC CTG TAC TCT GTC TTA AAG GCC TAACCAATGG ACAGCCCTCT CAAGACTGAA Thr Leu Tyr Ser Val Leu Lys Ala 280	1092	
TGGTGAGGCC AGGTACAGTG GCGCACACTT GTAATCCCAG CTACTCTGAA GCCTGAGGCA	1152	
GAATCAAGTG AGCCAGGAG TTCAGGGCCA GCTTTGATAA TGGAGCGAGA TGCCATCTCT	1212	
AGTTAAAAAT ATATATTAAC AATAAAGTAA CAAATTT	1249	40

## (2) 配列番号2の情報:

## (1) 配列の特徴:

- (A) 長さ: 303アミノ酸
- (B) 型: アミノ酸
- (D) トポロジー: 直鎖状

【0213】

【数 4】

(ii)配列の種類：タンパク質

(xi)配列：配列番号2：

Met Gly Arg Pro Leu Leu Leu Pro Leu Leu Pro Leu Leu Leu Pro Pro  
-19 -15 -10 -5

Ala Phe Leu Gln Pro Ser Gly Ser Thr Gly Ser Gly Pro Ser Tyr Leu  
1 5 10

Tyr Gly Val Thr Gln Pro Lys His Leu Ser Ala Ser Met Gly Gly Ser  
15 20 25

Val Glu Ile Pro Phe Ser Phe Tyr Tyr Pro Trp Glu Leu Ala Thr Ala  
30 35 40 45

Pro Asp Val Arg Ile Ser Trp Arg Arg Gly His Phe His Gly Gln Ser  
50 55 60

Phe Tyr Ser Thr Arg Pro Pro Ser Ile His Lys Asp Tyr Val Asn Arg  
65 70 75

Leu Phe Leu Asn Trp Thr Glu Gly Gln Lys Ser Gly Phe Leu Arg Ile  
80 85 90

Ser Asn Leu Gln Lys Gln Asp Glu Ser Val Tyr Phe Cys Arg Val Glu  
95 100 105

Leu Asp Thr Arg Ser Ser Gly Arg Gln Gln Trp Gln Ser Ile Glu Gly  
110 115 120 125

Thr Lys Leu Ser Ile Thr Gln Ala Val Thr Thr Thr Thr Gln Arg Pro  
130 135 140

Ser Ser Met Thr Thr Thr Thr Arg Leu Ser Ser Thr Thr Thr Thr Thr  
145 150 155

Gly Leu Arg Val Thr Gln Gly Lys Arg Arg Ser Asp Ser Trp His Ile  
160 165 170

Ser Leu Glu Thr Ala Val Gly Val Ala Val Ala Val Thr Val Leu Gly  
175 180 185

Ile Met Ile Leu Gly Ile Ile Cys Leu Arg Trp Arg Arg Arg Lys  
190 195 200 205

Gly Gln Gln Arg Thr Lys Ala Thr Thr Pro Ala Arg Glu Pro Phe Gln  
21 215 220

10

20

30

40

【 0 2 1 4 】

【数5】

Asn Thr Glu Glu P o Tyr Glu Asn Ile Arg Asn Glu Gly Gln Asn Thr  
 225 230 235

Asp Pro Lys Leu Asn Pro Lys Asp Asp Gly Ile Val Tyr Ala Ser Leu  
 240 245 250

Ala Leu Ser Ser Ser Thr Ser Pro Arg Ala Pro Pro Ser His Arg Pro  
 255 260 265

Leu Lys Ser ro Gln Asn Glu Thr Leu Tyr Ser Val Leu Lys Ala  
 270 275 280

10

(2)配列番号3の情報:

(i)配列の特徴:

- (A)長さ: 376塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 一本鎖
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(ix)配列の特徴:

- (A)配列の特徴を表す記号: CDS
- (B)存在位置: 78..374

20

(xi)配列: 配列番号3:

CCCCAGTGTC CCTAGACAGA GCATCCTTGC CTTCTGATG GCTTTGCTGA TCTCGCTTCC 60

CTGGAGGGAC TCCAGCC ATG GCT CAG GTC CTG CTT CTG CTC TCA TCA GGC 110  
 Met Ala Gln Val Leu Leu Leu Ser Ser Gly  
 1 5 10

TGT CTG CAT GCT GGA AAT TCA GAA AGA TAC AAC AGA AAA AAT GGC TTT 158  
 Cys Leu His Ala Gly Asn Ser Glu Arg Tyr Asn Arg Lys Asn Gly Phe  
 15 20 25

GGG GTC AAC CAA CCT GAA CGC TGC TCT GGA GTC CAG GGT GGC TCC ATC 206  
 Gly Val Asn Gln Pro Glu Arg Cys Ser Gly Val Gln Gly Gly Ser Ile  
 30 35 40

GAC ATC CCC TTC TCC TTC TAT TTC CCC TGG AAG TTG GCC AAG GAT CCA 254  
 Asp Ile Pro Phe Ser Phe Tyr Phe Pro Trp Lys Leu Ala Lys Asp Pro  
 45 50 55

CAG ATG AGC ATA GCC TGG AAA TGG AAG GAT TTC CAT GGG GAA GTC ATC 302  
 Gln Met Ser Ile Ala Trp Lys Trp Lys Asp Phe His Gly Glu Val Ile  
 60 65 70 75

30

40

【0215】



【数7】

(B)存在位置:218..1015

(xi)配列:配列番号5:

ACCGGTCCGG AATTCCTGGG TCGACCCACG CGTCCGGGAA GCCCATAGG CAGGAGGCC	60	
CCGGGCAGCA CATCCTGTCT GCTTGTGTCT GCTGCAGAGT TCTGTCCTTG CATTGGTGCG	120	
CCTCAGGCCA GGCTGCACTG CTGGGACCTG GGCC ATG TCT CCC CAC CCC ACC	172	
Met Ser Pro His Pro Thr		
-21 -20		
GCC CTC CTG GGC CTA GTG CTC TGC CTG GCC CAG ACC ATC CAC ACG CAG	220	10
Ala Leu Leu Gly Leu Val Leu Cys Leu Ala Gln Thr Ile His Thr Gln		
-15 -10 -5 1		
GAG GAA GAT CTG CCC AGA CCC TCC ATC TCG GCT GAG CCA GGC ACC GTG	268	
Glu Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val		
5 10 15		
ATC CCC CTG GGG AGC CAT GTG ACT TTC GTG TGC CGG GGC CCG GTT GGG	316	
Ile Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly		
20 25 30		
GTT CAA ACA TTC CGC CTG GAG AGG GAG AGT AGA TCC ACA TAC AAT GAT	364	20
Val Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Asp		
35 40 45		
ACT GAA GAT GTG TCT CAA GCT AGT CCA TCT GAG TCA GAG GCC AGA TTC	412	
Thr Glu Asp Val Ser Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe		
50 55 60 65		
CGC ATT GAC TCA GTA AGT GAA GGA AAT GCC GGG CCT TAT CGC TGC ATC	460	
Arg Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile		
70 75 80		
TAT TAT AAG CCC CCT AAA TGG TCT GAG CAG AGT GAC TAC CTG GAG CTG	508	
Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu		
85 90 95		30
CTG GTG AAA GAA ACC TCT GGA GGC CCG GAC TCC CCG GAC ACA GAG CCC	556	
Leu Val Lys Glu Thr Ser Gly Gly Pro Asp Ser Pro Asp Thr Glu Pro		
100 105 110		
GGC TCC TCA GCT GGA CCC ACG CAG AGG CCG TCG GAC AAC AGT CAC AAT	604	
Gly Ser Ser Ala Gly Pro Thr Gln Arg Pro Ser Asp Asn Ser His Asn		
115 120 125		
GAG CAT GCA CCT GCT TCC CAA GGC CTG AAA GCT GAG CAT CTG TAT ATT	652	
Glu His Ala Pro Ala Ser Gln Gly Leu Lys Ala Glu His Leu Tyr Ile		
130 135 140 145		
CTC ATC GGG GTC TCA GTG GTC TTC CTC TTC TGT CTC CTC CTC CTG GTC	700	40
Leu Ile Gly Val Ser Val Val Phe Leu Phe Cys Leu Leu Leu Val		
150 155 160		

【0217】

## 【数 8】

CTC TTC TGC CTC CAT CGC CAG AAT CAG ATA AAG CAG GGG CCC CCC AGA Leu Phe Cys Leu His Arg Gln Asn Gln Ile Lys Gln Gly Pro Pro Arg 165 170 175	748	
AGC AAG GAC GAG GAG CAG AAG CCA CAG CAG AGG CCT GAC CTG GCT GTT Ser Lys Asp Glu Glu Gln Lys Pro Gln Gln Arg Pro Asp Leu Ala Val 180 185 190	796	
GAT GTT CTA GAG AGG ACA GCA GAC AAG GCC ACA GTC AAT GGA CTT CCT Asp Val Leu Glu Arg Thr Ala Asp Lys Ala Thr Val Asn Gly Leu Pro 195 200 205	844	
GAG AAG GAC AGA GAG ACG GAC ACC TCG GCC CTG GCT GCA GGG AGT TCC Glu Lys Asp Arg Glu Thr Asp Thr Ser Ala Leu Ala Ala Gly Ser Ser 210 215 220 225	892	10
CAG GAG GTG ACG TAT GCT CAG CTG GAC CAC TGG GCC CTC ACA CAG AGG Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln Leu Asp His Trp Ala Leu Thr Gln Arg 230 235 240	940	
ACA GCC CGG GCT GTG TCC CCA CAG TCC ACA AAG CCC ATG GCC GAG TCC Thr Ala Arg Ala Val Ser Pro Gln Ser Thr Lys Pro Met Ala Glu Ser 245 250 255	988	
ATC ACG TAT GCA GCC GTT GCC AGA CAC TGACCCCATC CCCACCTGGC Ile Thr Tyr Ala Ala Val Ala Arg His 260 265	1035	20
CTCTGCACCT GAGGGTAGAA AGTCACTCTA GGAAAAGCCT GAAGCAGCCA TTTGGAAGGC	1095	
TTCTGTGG ATTCCTCTTC ATCTAGAAAG CCAGCCAGGC AGCTGTCCTG GAGACAAGAG	1155	
CTGGAGACTG GAGGTTTCTA ACCAGCATCC AGAAGGTTCC TTAGCCAGGT GGTCCCTTCT	1215	
ACAATCGGAC AGCTCCTTGG ACAGACTGTT TYTCAGTTAT TTCCAAAAC CCAGCTACAG	1275	
TTCC	1279	30

## (2) 配列番号6の情報:

## (i) 配列の特徴:

(A) 長さ: 287アミノ酸

(B) 型: アミノ酸

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: タンパク質

(xi) 配列: 配列番号6

【 0 2 1 8 】

## 【数9】

Met Ser Pro His Pro Thr Ala Leu Leu Gly Leu Val Leu Cys Leu Ala  
 -21 -20 -15 -10

Gln Thr Ile His Thr Gln Glu Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser  
 -5 1 5 10

Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val  
 15 20 25

Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser  
 30 35 40

Arg Ser Thr Tyr Asn Asp Thr Glu Asp Val Ser Gln Ala Ser Pro Ser  
 45 50 55

Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala  
 60 65 70 75

Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln  
 80 85 90

Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys Glu Thr Ser Gly Gly Pro Asp  
 95 100 105

Ser Pro Asp Thr Glu Pro Gly Ser Ser Ala Gly Pro Thr Gln Arg Pro  
 110 115 120

Ser Asp Asn Ser His Asn Glu His Ala Pro Ala Ser Gln Gly Leu Lys  
 125 130 135

Ala Glu His Leu Tyr Ile Leu Ile Gly Val Ser Val Val Phe Leu Phe  
 140 145 150 155

Cys Leu Leu Leu Leu Val Leu Phe Cys Leu His Arg Gln Asn Gln Ile  
 160 165 170

Lys Gln Gly Pro Pro Arg Ser Lys Asp Glu Glu Gln Lys Pro Gln Gln  
 175 180 185

Arg Pro Asp Leu Ala Val Asp Val Leu Glu Arg Thr Ala Asp Lys Ala  
 190 195 200

Thr Val Asn Gly Leu Pro Glu Lys Asp Arg Glu Thr Asp Thr Ser Ala  
 205 210 215

Leu Ala Ala Gly Ser Ser Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln Leu Asp His  
 220 225 230 235

Trp Ala Leu Thr Gln Arg Thr Ala Arg Ala Val Ser Pro Gln Ser Thr  
 240 245 250

Lys Pro Met Ala Glu Ser Ile Thr Tyr Ala Ala Val Ala Arg His  
 255 260 265

10

20

30

40

(2)配列番号7の情報:

(i)配列の特徴:

【0219】

【数 1 0】

- (A)長さ：1728塩基対
- (B)型：核酸
- (C)鎖の数：一本鎖
- (D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：cDNA

(ix)配列の特徴：

(A)配列の特徴を示す記号：CDS

(B)存在位置：69..929

(ix)配列の特徴：

(A)配列の特徴を示す記号：nat\_peptide

(B)存在位置：132..929

(xi)配列：配列番号7：

```

AAAGGCTGCA GAGTTCTGTC CTTCATTGG TGCGCCTCAG GCCAGGCTGC .CTGCTGGGA      60
CCTGGGCC  ATG TCT CCC CAC CCC ACC GCC CTC CTG GGC CTA CCG CTC TGC      110
Met Ser Pro His Pro Thr Ala Leu Leu Gly Leu Val Leu Cys
-21 -20                               -15                               -10

CTG GCC CAG ACC ATC CAC ACG CAG GAG GAA GAT CTG CCC AGA CCC TCC      158
Leu Ala Gln Thr Ile His Thr Gln Glu Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser
-5                                     1                                     5

ATC TCG GCT GAG CCA GGC ACC GTG ATC CCC CTG GGG ACC CAT GTG ACT      206
Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His Val Thr
10                                     15                                     20                                     25

TTC GTG_TGC CGG GGC CCG GTT GGG GTT CAA ACA TTC CGC CTG GAG AGG      254
Phe Val Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg
30                                     35                                     40

GAG AGT AGA TCC ACA TAC AAT GAT ACT GAA GAT G G TCT CAA GCT AGT      302
Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn Asp Thr Glu Asp Val Ser Gln Ala Ser
45                                     50                                     55

CCA TCT GAG TCA GAG GCC AGA TTC CGC ATT GAC TCA GTA AGT GAA GGA      350
Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly
60                                     65                                     70

AAT GCC GGG CCT TAT CGC TGC ATC TAT TAT AAG CCC CCT AAA TGG TCT      398
Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser
75                                     80                                     85

GAG CAG AGT GAC TAC CTG GAG CTG CTG GTG AAA GAA ACC TCT GGA GGC      446
Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys Glu Thr Ser Gly Gly
90                                     95                                     100                                     105

CCG GAC TCC CCG GAC ACA GAG CCC GGC TCC TCA GCT GGA CCC ACG CAG      494
Pro Asp Ser Pro Asp Thr Glu Pro Gly Ser Ser Ala Gly Pro Thr Gln
110                                     115                                     120

```

10

20

30

40

【 0 2 2 0】

【数 1 1】

AGG CCG TCG GAC AAC AGT CAC AAT GAG CAT GCA CCT GCT TCC CAA GGC Arg Pro Ser Asp Asn Ser His Asn Glu His Ala Pro Ala Ser Gln Gly 125 130 135	542
CTG AAA GCT GAG CAT CTG TAT ATT CTC ATC GGG GTC TCA GTG GTC TTC Leu Lys Ala Glu His Leu Tyr Ile Leu Ile Gly Val Ser Val Val Phe 140 145 150	590
CTC TTC TGT CTC CTC CTC CTG GTC CTC TTC TGC CTC CAT CGC CAG AAT Leu Phe Cys Leu Leu Leu Leu Val Leu Phe Cys Leu His Arg Gln Asn 155 160 165	638
CAG ATA AAG CAG GGG CCC CCC AGA AGC AAG GAC GAG GAG CAG AAG CCA Gln Ile Lys Gln Gly Pro Pro Arg Ser Lys Asp Glu Glu Gln Lys Pro 170 175 180 185	686
CAG CAG AGG CCT GAC CTG GCT GTT GAT GTT CTA GAG AGG ACA GCA GAC Gln Gln Arg Pro Asp Leu Ala Val Asp Val Leu Glu Arg Thr Ala Asp 190 195 200	734
AAG GCC ACA GTC AAT GGA CTT CCT GAG AAG GAC AGA GAG ACG GAC ACC Lys Ala Thr Val Asn Gly Leu Pro Glu Lys Asp Arg Glu Thr Asp Thr 205 210 215	782
TCG GCC CTG GCT GCA GGG AGT TCC CAG GAG GTG ACG TAT GCT CAG CTG Ser Ala Leu Ala Ala Gly Ser Ser Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln Leu 220 225 230	830
GAC CAC TGG GCC CTC ACA CAG AGG ACA GCC CGG GCT GTG TCC CCA CAG Asp His Trp Ala Leu Thr Gln Arg Thr Ala Arg Ala Val Ser Pro Gln 235 240 245	878
TCC ACA AAG CCC ATG GCC GAG TCC ATC ACG TAT GCA GCC GTT GCC AGA Ser Thr Lys Pro Met Ala Glu Ser Ile Thr Tyr Ala Ala Val Ala Arg 250 255 260 265	926
CAC TGACCCATA CCCACCTGGC CTCTGCACCT GAGGGTAGAA AGTCACTCTA His	979
GGAAAAGCCT GAAGCAGCCA TTTGGAAGGC TTCCTGTTGG ATTCTCTTTC ATCTAGAAAG	1039
CCAGCCAGGC AGCTGTCTTG GAGACAAGAG CTGGAGACTG GAGGTTTCTA ACCAGCATCC	1099
AGAAGGTTCG TTAGCCAGGT GGTCCCTTCT ACAATCGAGC AGCTCCTTGG ACAGACTGTT	1159
TCTCAGTTAT TTCCAGAGAC CCAGCTACAG TTCCCTGGCT GTTCTAGAG ACCCAGCTTT	1219
ATTCACCTGA CTGTTTCCAG AGACCCAGCT AAGTCACCT GCCTGTTCTA AAGGCCCAGC	1279
TACAGCCAAT CAGCCGATTT CCTGAGCAGT GATGCCACCT CCAAGCTTGT CCTAGGTGTC	1339

【 0 2 2 1】

10

20

30

【数 1 2】

TGCTGTGAAC CTCCAGTGAC CCCAGAGACT TTGCTGTAAT TATCTGCCCT GCTGACCCTA 1399  
 AAGACCTTCC TAGAAGTCAA GAGCTAGCCT TGAGACTGTG CTATACACAC ACAGCTGAGA 1459  
 GCCAAGCCCA GTTCTCTGGG TTGTGCTTTA CTCCACGCAT CAATAAATAA TTTTGAAGGC 1519  
 CTCACATCTG GCAGCCCCAG GCCTGGTCCT GGGTGCATAG GTCTCTCGGA CCCACTCTCT 1579  
 GCCTTCACAG TTGTTCAAAG CTGAGTGAGG GAAACAGGAC TTACGAAAAC GTGTCAGCGT 1639  
 TTTCTTTTTA AAATTTAATT GATCAGGATT GTACGTAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA 1699  
 AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAGG 1728

10

(2)配列番号8の情報:

(i)配列の特徴:

(A)長さ:287アミノ酸

(B)型:アミノ酸

(D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:タンパク質

(xi)配列:配列番号8:

20

Met Ser Pro His Pro Thr Ala Leu Leu Gly Leu Val Leu Cys Leu Ala  
 -21 -20 -15 -10  
 Gln Thr Ile His Thr Gln Glu Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser  
 -5 1 5 10  
 Ala Glu Pro Gly Thr Val Ile Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val  
 15 20 25  
 Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser  
 30 35 40  
 Arg Ser Thr Tyr Asn Asp Thr Glu Asp Val Ser Gln Ala Ser Pro Ser  
 45 50 55  
 Glu Ser Glu Ala Arg Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala  
 60 -- 65 70 75  
 Gly Pro Tyr Arg Cys Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln  
 80 85 90  
 Ser Asp Tyr Leu Glu Leu Leu Val Lys Glu Thr Ser Gly Gly Pro Asp  
 95 100 105  
 Ser Pro Asp Thr Glu Pro Gly Ser Ser Ala Gly Pro Thr Gln Arg Pro  
 110 115 120  
 Ser Asp Asn Ser His Asn Glu His Ala Pro Ala Ser Gln Gly Leu Lys  
 125 130 135

30

40

【 0 2 2 2】

## 【数 1 3】

Ala Glu His Leu Tyr Ile Leu Ile Gly Val Ser Val Val Phe Leu Phe  
 140 145 150 155

Cys Leu Leu Leu Leu Val Leu Phe Cys Leu His Arg Gln Asn Gln Ile  
 160 165 170

Lys Gln Gly Pro Pro Arg Ser Lys Asp Glu Glu Gln Lys Pro Gln Gln  
 175 180 185

Arg Pro Asp Leu Ala Val Asp Val Leu Glu Arg Thr Ala Asp Lys Ala  
 190 195 200

Thr Val Asn Gly Leu Pro Glu Lys Asp Arg Glu Thr Asp Thr Ser Ala  
 205 210 215

Leu Ala Ala Gly Ser Ser Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln Leu Asp His  
 220 225 230 235

Trp Ala Leu Thr Gln Arg Thr Ala Arg Ala Val Ser Pro Gln Ser Thr  
 240 245 250

Lys Pro Met Ala Glu Ser Ile Thr Tyr Ala Ala Val Ala Arg His  
 255 260 265

10

20

## (2) 配列番号 9 の情報 :

## (i) 配列の特徴 :

- (A) 長さ : 568塩基対
- (B) 型 : 核酸
- (C) 鎖の数 : 一本鎖
- (D) トポロジー : 直鎖状

## (ii) 配列の種類 : cDNA

## (ix) 配列の特徴 :

- (A) 配列の特徴を示す記号 : CDS
- (B) 存在位置 : 24..428

30

## (ix) 配列の特徴 :

- (A) 配列の特徴を示す記号 : mat\_peptide
- (B) 存在位置 : 87..428

## (xi) 配列 : 配列番号 9 :

CCACGCGTCC GGGGACCGGG GCC ATG TCT CCA CAC CTC ACT GCT CTC CTG 50  
 Met Ser Pro His Leu Thr Ala Leu Leu  
 -21 -20 -15

40

GGC CTA GTG CTC TGC CTG GCC CAG ACC ATC CAC ACG CAG GAG GGG GCC 98  
 Gly Leu Val Leu Cys Leu Ala Gln Thr Ile His Thr Gln Glu Gly Ala

## 【 0 2 2 3 】



【数 1 5】

Cys Arg Gly Pro Val Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Asp  
 30 35 40

Arg Ala Lys Tyr Lys Asp Ser Tyr Asn Val Phe Arg Leu Gly Pro Ser  
 45 50 55

Glu Ser Glu Ala Arg Phe His Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala  
 60 65 70 75

Gly Leu Tyr Arg Cys Leu Tyr Tyr Lys Pro Pro Gly Trp Ser Glu His  
 80 85 90

Ser Asp Phe Leu Glu Leu Leu Val Lys Gly Thr Val Pro Gly Thr Glu  
 95 100 105

Ala Ser Gly Phe Asp Ala Pro  
 110

10

(2) 配列番号11の情報:

(i) 配列の特徴:

- (A) 長さ: 1620塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 一本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: cDNA

(ix) 配列の特徴:

- (A) 配列の特徴を示す記号: CDS
- (B) 存在位置: 81..1397

(xi) 配列: 配列番号11:

20

30

GTCGACCCAC GCGTCCGCCT CTGTCCCTGCC AGCACCGAGG GCTCATCCAT CCACAGAGCA 60

GTGCAGTGGG AGGAGACGCC ATG ACC CCC ATC CTC ACG GTC CTG ATC TGT 110  
 Met Thr Pro Ile Leu Thr Val Leu Ile Cys  
 1 5 10

CTC GGG CTG AGC CTG GAC CCC AGG ACC CAC GTG CAG GCA GGG CCC CTC 158  
 Leu Gly Leu Ser Leu Asp Pro Arg Thr His Val Gln Ala Gly Pro Leu  
 15 20 25

CCC AAG CCC ACC CTC TGG GCT GAG CCA GGC TCT GTG ATC ACC CAA GGG 206  
 Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile Thr Gln Gly  
 30 35 40

AGT CCT GTG ACC CTC AGG TGT CAG GGG AGC CTG GAG ACG CAG GAG TAC 254  
 Ser Pro Val Thr Leu Arg Cys Gln Gly Ser Leu Glu Thr Gln Glu Tyr  
 45 50 55

40

【 0 2 2 5 】

【数 1 6】

CAT CTA TAT AGA GAA AAG AAA ACA GCA CTC TGG ATT ACA CGG ATC CCA	302
His Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Thr Ala Leu Trp Ile Thr Arg Ile Pro	
60 65 70	
CAG GAG CTT GTG AAG AAG GGC CAG TTC CCC ATC CTA TCC ATC ACC TGG	350
Gln Glu Leu Val Lys Lys Gly Gln Phe Pro Ile Leu Ser Ile Thr Trp	
75 80 85 90	
GAA CAT GCA GGG CGG TAT TGC TGT ATC TAT GGC AGC CAC ACT GCA GGC	398
Glu His Ala Gly Arg Tyr Cys Cys Ile Tyr Gly Ser His Thr Ala Gly	
95 100 105	
CTC TCA GAG AGC AGT GAC CCC CTG GAG CTG GTG GTG ACA GGA GCC TAC	446
Leu Ser Glu Ser Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Thr Gly Ala Tyr	
110 115 120	
AGC AAA CCC ACC CTC TCA GCT CTG CCC AGC CCT GTG GTG ACC TCA GGA	494
Ser Lys Pro Thr Leu Ser Ala Leu Pro Ser Pro Val Val Thr Ser Gly	
125 130 135	
GGG AAT GTG ACC ATC CAG TGT GAC TCA CAG GTG GCA TTT GAT GGC TTC	542
Gly Asn Val Thr Ile Gln Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe Asp Gly Phe	
140 145 150	
ATT CTG TGT AAG GAA GGA GAA GAT GAA CAC CCA CAA TGC CTG AAC TCC	590
Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys Leu Asn Ser	
155 160 165 170	
CAT TCC CAT GCC CGT GGG TCA TCC CGG GCC ATC TTC TCC GTG GGC CCC	638
His Ser His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser Val Gly Pro	
175 180 185	
GTG AGC CCA AGT CGC AGG TGG TCG TAC AGG TGC TAT GGT TAT GAC TCG	686
Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp Ser Tyr Arg Cys Tyr Gly Tyr Asp Ser	
190 195 200	
CGC GCT CCC TAT GTG TGG TCT CTA CCC AGT GAT CTC CTG GGG CTC CTG	734
Arg Ala Pro Tyr Val Trp Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu Gly Leu Leu	
205 210 215	
GTC CCA GGT GTT TCT AAG AAG CCA TCA CTC TCA GTG CAG CCG GGT CCT	782
Val Pro Gly Val Ser Lys Lys Pro Ser Leu Ser Val Gln Pro Gly Pro	
220 225 230	
GTC GTG GCC CCT GGG GAG AAG CTG ACC TTC CAG TGT GGC TCT GAT GCC	830
Val Val Ala Pro Gly Glu Lys Leu Thr Phe Gln Cys Gly Ser Asp Ala	
235 240 245 250	
GGC TAC GAC AGA TTT GTT CTG TAC AAG GAG TGG GGA CGT GAC TTC CTC	878
Gly Tyr Asp Arg Phe Val Leu Tyr Lys Glu Trp Gly Arg Asp Phe Leu	
255 260 265	
CAG CGC CCT GGC CGG CAG CCC CAG GCT GGG CTC TCC CAG GCC AAC TTC	926
Gln Arg Pro Gly Arg Gln Pro Gln Ala Gly Leu Ser Gln Ala Asn Phe	
270 275 280	

【 0 2 2 6】

10

20

30

40

## 【数 1 7】

ACC CTG GGC CCT GTG AGC CGC TCC TAC GGG GGC CAG TAC ACA TGC TCC Thr Leu Gly Pro Val Ser Arg Ser Tyr Gly Gly Gln Tyr Thr Cys Ser 285 290 295	974
GGT GCA TAC AAC CTC TCC TCC GAG TGG TCG GCC CCC AGC GAC CCC CTG Gly Ala Tyr Asn Leu Ser Ser Glu Trp Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu 300 305 310	1027
GAC ATC CTG ATC ACA GGA CAG ATC CGT GCC AGA CCC TTC CTC TCC GTG Asp Ile Leu Ile Thr Gly Gln Ile Arg Ala Arg Pro Phe Leu Ser Val 315 320 325 330	1070
CGG CCG GGC CCC ACA GTG GCC TCA GGA GAG AAC GTG ACC CTG CTG TGT Arg Pro Gly Pro Thr Val Ala Ser Gly Glu Asn Val Thr Leu Leu Cys 335 340 345	1118
CAG TCA CAG GGA GGG ATG CAC ACT TTC CTT TTG ACC AAG GAG GGG GCA Gln Ser Gln Gly Gly Met His Thr Phe Leu Leu Thr Lys Glu Gly Ala 350 355 360	1166
GCT GAT TCC CCG CTG CGT CTA AAA TCA AAG CGC CAA TCT CAT AAG TAC Ala Asp Ser Pro Leu Arg Leu Lys Ser Lys Arg Gln Ser His Lys Tyr 365 370 375	1214
CAG GCT GAA TTC CCC ATG AGT CCT GTG ACC TCG GCC CAC GCG GGG ACC Gln Ala Glu Phe Pro Met Ser Pro Val Thr Ser Ala His Ala Gly Thr 380 385 390	1262
TAC AGG TGC TAC GGC TCA CTC AGC TCC AAC CCC TAC CTG CTG ACT CAC Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Leu Ser Ser Asn Pro Tyr Leu Leu Thr His 395 400 405 410	1310
CCC AGT GAC CCC CTG GAG CTC GTG GTC TCA GGA GCA GCT GAG ACC CTC Pro Ser Asp Pro Leu Glu Leu Val Val Ser Gly Ala Ala Glu Thr Leu 415 420 425	1358
AGC CCA CCA CAA AAC AAG TCC GAC TCC AAG GCT GGT GAG TGAGGAGATG Ser Pro Pro Gln Asn Lys Ser Asp Ser Lys Ala Gly Glu 430 435	1407
CTTGCCGTGA TGACGCTGGG CACAGAGGGT CAGGTCCTGT CAAGAGGAGC TGGGTGTCCT	1467
GGGTGGACAT TTGAAGAATT ATATTCATTC CAACTTGAAG AATTATTCAA CACCTTTAAC	1527
AATGTATATG TGAAGTACTT TATTCCTTCA TATTTTAAAA ATAAAAGATA ATTATCCATG	1587
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAGGGCGGC CGC	1620

## (2)配列番号12の情報:

## (i)配列の特徴:

- (A)長さ: 439アミノ酸
- (B)型: アミノ酸
- (D)トポロジー: 直鎖状

【 0 2 2 7 】

【数 1 8】

(ii)配列の種類：タンパク質

(xi)配列：配列番号12：

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

【 0 2 2 8 】

【数 1 9】

Pro Gln Ala Gly Leu Ser Gln Ala Asn Phe Thr Leu Gly Pro Val Ser  
 275 280 285

Arg Ser Tyr Gly Gly Gln Tyr Thr Cys Ser Gly Ala Tyr Asn Leu Ser  
 290 295 300

Ser Glu Trp Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Leu Ile Thr Gly  
 305 310 315 320

Gln Ile Arg Ala Arg Pro Phe Leu Ser Val Arg Pro Gly Pro Thr Val  
 325 330 335

Ala Ser Gly Glu Asn Val Thr Leu Leu Cys Gln Ser Gln Gly Gly Met  
 340 345 350

His Thr Phe Leu Leu Thr Lys Glu Gly Ala Ala Asp Ser Pro Leu Arg  
 355 360 365

Leu Lys Ser Lys Arg Gln Ser His Lys Tyr Gln Ala Glu Phe Pro Met  
 370 375 380

Ser Pro Val Thr Ser Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser  
 385 390 395 400

Leu Ser Ser Asn Pro Tyr Leu Leu Thr His Pro Ser Asp Pro Leu Glu  
 405 410 415

Leu Val Val Ser Gly Ala Ala Glu Thr Leu Ser Pro Pro Gln Asn Lys  
 420 425 430

Ser Asp Ser Lys Ala Gly Glu  
 435

10

20

(2) 配列番号13の情報:

(i) 配列の特徴:

- (A) 長さ: 2197塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 一本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

30

(ii) 配列の種類: cDNA

(ix) 配列の特徴:

- (A) 配列の特徴を示す記号: CDS
- (B) 存在位置: 191..1483

(xi) 配列: 配列番号13:

GTCGACCCAC GCGTCCGGTC AACTTTTCTT CCCTACTTC CCTGCATTTC TCCTCTGTGC 60

TCACTGCCAC ACGCAGCTCA ACCTGGACGG CACAGCCAGA TGCGAGATGC GTCTCTGCTG 120

ATCTGAGTCT GCCTGCAGCA TGGACCTGGG TCTTCCCTGA AGCATCTCCA GGGCTGGAGG 180

GACGACTGCC ATG CAC CGA GGG CTC ATC CAT CCG CAG AGC AGG GCA GTG 229

Met His Arg Gly Leu Ile His Pro Gln Ser Arg Ala Val

1 5 10

40

【 0 2 2 9】

【数 2 0】

GGA GGA GAC GCC ATG ACC CCC ATC GTC ACA GTC CTG ATC TGT CTC GGG Gly Gly Asp Ala Met Thr Pro Ile Val Thr Val Leu Ile Cys Leu Gly 15 20 25	277	
CTG AGT CTG GGC CCC AGG ACC CAC GTG CAG ACA GGG ACC ATC CCC AAG Leu Ser Leu Gly Pro Arg Thr His Val Gln Thr Gly Thr Ile Pro Lys 30 35 40 45	325	
CCC ACC-CTG TGG GCT GAG CCA GAC TCT GTG ATC ACC CAG GGG AGT CCC Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Asp Ser Val Ile Thr Gln Gly Ser Pro 50 55 60	373	
GTC ACC CTC AGT TGT CAG GGG AGC CTT GAA GCC CAG GAG TAC CGT CTA Val Thr Leu Ser Cys Gln Gly Ser Leu Glu Ala Gln Glu Tyr Arg Leu 65 70 75	421	10
TAT AGG GAG AAA AAA TCA GCA TCT TGG ATT ACA CGG ATA CGA CCA GAG Tyr Arg Glu Lys Lys Ser Ala Ser Trp Ile Thr Arg Ile Arg Pro Glu 80 85 90	469	
CTT GTG AAG AAC GGC CAG TTC CAC ATC CCA TCC ATC ACC TGG GAA CAC Leu Val Lys Asn Gly Gln Phe His Ile Pro Ser Ile Thr Trp Glu His 95 100 105	517	
ACA GGG CGA TAT GGC TGT CAG TAT TAC AGC CGC GCT CGG TGG TCT GAG Thr Gly Arg Tyr Gly Cys Gln Tyr Tyr Ser Arg Ala Arg Trp Ser Glu 110 115 120 125	565	20
CTC AGT GAC CCC CTG GTG CTG GTG ATG ACA GGA GCC TAC CCA AAA CCC Leu Ser Asp Pro Leu Val Leu Val Met Thr Gly Ala Tyr Pro Lys Pro 130 135 140	613	
ACC CTC TCA GCC CAG CCC AGC CCT GTG GTG ACC TCA GGA GGA AGG GTG Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val Val Thr Ser Gly Gly Arg Val 145 150 155	661	
ACC CTC CAG TGT GAG TCA CAG GTG GCA TTT GGC GGC TTC ATT CTG TGT Thr Leu Gln Cys Glu Ser Gln Val Ala Phe Gly Gly Phe Ile Leu Cys 160 165 170	709	30
AAG GAA GGA GAA GAT GAA CAC CCA CAA TGC CTG AAC TCC CAG CCC CAT Lys Glu Gly Glu Asp Glu His Pro Gln Cys Leu Asn Ser Gln Pro His 175 180 185	757	
GCC CGT GGG TCG TCC CGC GCC ATC TTC TCC GTG GGC CCC GTG AGC CCG Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser Val Gly Pro Val Ser Pro 190 195 200 205	805	
AAT CGC AGG TGG TCG CAC AGG TGC TAT GGT TAT GAC TTG AAC TCT CCC Asn Arg Arg Trp Ser His Arg Cys Tyr Gly Tyr Asp Leu Asn Ser Pro 210 215 220	853	
TAT GTG TGG TCT TCA CCC AGT GAT CTC CTG GAG CTC CTG GTC CCA GGT Tyr Val Trp Ser Ser Pro Ser Asp Leu Leu Glu Leu Leu Val Pro Gly 225 230 235	901	40

【 0 2 3 0】

【数 2 1】

GTT TCT AAG AAG CCA TCA CTC TCA GTG CAG CCG GGT CCT GTC GTG GCC Val Ser Lys Lys Pro Ser Leu Ser Val Gln Pro Gly Pro Val Val Ala 240 245 250	949
CCT GGG GAA AGC CTG ACC CTC CAG TGT GTC TCT GAT GTC GGC TAT GAC Pro Gly Glu Ser Leu Thr Leu Gln Cys Val Ser Asp Val Gly Tyr Asp 255 260 265	997
AGA TTT GTT CTG TAC AAG GAG GGG GAA CGT GAC CTT CGC CAG CTC CCT Arg Phe Val Leu Tyr Lys Glu Gly Glu Arg Asp Leu Arg Gln Leu Pro 270 275 280 285	1045
GGC CGG CAG CCC CAG GCT GGG CTC TCC CAG GCC AAC TTC ACC CTG GGC Gly Arg Gln Pro Gln Ala Gly Leu Ser Gln Ala Asn Phe Thr Leu Ala Tyr 290 295 300	1093
CCT GTG AGC CGC TCC TAC GGG GGC CAG TAC AGA TGC TAC GGT GCA TAC Pro Val Ser Arg Ser Tyr Gly Gly Gln Tyr Arg Cys Tyr Gly Ala Tyr 305 310 315	1141
AAC CTC TCC TCC GAG TGG TCG GCC CCC AGC GAC CCC CTG GAC ATC CTG Asn Leu Ser Ser Glu Trp Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Leu 320 325 330	1189
ATC ACA GGA CAG ATC CAT GGC ACA CCC TTC ATC TCA GTG CAG CC . GGC Ile Thr Gly Gln Ile His Gly Thr Pro Phe Ile Ser Val Gln P: o Gly 335 340 345	1237
CCC ACA GTG GCC TCA GGA GAG AAC GTG ACC CTG CTG TGT CAG PCA TGG Pro Thr Val Ala Ser Gly Glu Asn Val Thr Leu Leu Cys Gln Ser Trp 350 355 360 365	1285
CGG CAG TTC CAC ACT TTC CTT CTG ACC AAG GCG GGA GCA G' I GAT GCC Arg Gln Phe His Thr Phe Leu Leu Thr Lys Ala Gly Ala P. a Asp Ala 370 375 380	1333
CCA CTC CGT CTA AGA TCA ATA CAC GAA TAT CCT AAG TAC CAG GCT GAA Pro Leu Arg Leu Arg Ser Ile His Glu Tyr Pro Lys Tyr Gln Ala Glu 385 390 395	1381
TTC CCC ATG AGT CCT GTG ACC TCA GCC CAC GCG GGG A : C TAC AGG ACC Phe Pro Met Ser Pro Val Thr Ser Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Thr 400 405 410	1429
CTC CAT GGG TTC CAG CCC CCC ACC CAC CGG TCC CAT CTC CAC ACC TGC Leu His Gly Phe Gln Pro Thr His Arg Ser Hi Leu His Thr Cys 415 420 425	1477
AGG CCC TGAGGACCAG CCCCTCACCC CCACTGGGTC GGAT :CCCAA AGTGGTCTGG Arg Pro 430	1533

10

20

30

【 0 2 3 1】

【数 2 2】

GAAGGCACCT GGGGGTTGTG ATCGGCATCT TGGTGGCCG CGTCCTACTG CTCCTCCTCC 1593  
 TCCTCCTCCT CTTCTCATC CTCGGACATC GACGTCAG 3 CAAACACTGG ACATCGACCC 1653  
 AGAGAAAGGC TGATTTCCAA CATCCTGCAG GGGCTGTGG GCCAGAGCCC ACAGACAGAG 1713  
 GCCTGCAGTG GAGGTCCAGC CCAGCTGCCG ACGCCC .GGA AGAAAACCTC TATGCTGCCG 1773  
 TGAAGGACAC ACAGCCTGAA GATGGGGTGG AGATG iACAC TCGGGCTGCT GCATCTGAAG 1833  
 CCCCCAGGA TGTGACCTAC GCCCAGCTGC ACAGCTTGAC CCTCAGACGG AAGGCAACTG 1893  
 AGCCTCCTCC ATCCCAGGAA AGGGAACCTC CACTGAGCC CAGCATTAC GCCACCCTGG 1953  
 CCATCCACTA GCCCGGAGGG TACCCAGACT CCACACTCAG TAGAAGGAGA CTCAGGACTG 2013  
 CTGAAGGCAC GGGAGCTGCC CCCAGTGGAC .CCAATGAAC CCCAGTCAGC CTGGACCCCT 2073  
 AACAAAGACC ATGAGGAGAT GCTGGGAACT TTGGGACTCA CTTGATTCTG CAGTGGAAAT 2133  
 AACTAATATC CCTACATTTT TTAATTAAN CAACAGACTT CTCAATAATC AATGAGTTAA 2193  
 CCGA 2197

10

(2)配列番号14の情報:

(i)配列の特徴:

(A)長さ: 431アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号14:

20

Met His Arg Gly Leu Ile His Pro Gln Ser Arg Ala Val Gly Gly Asp  
 1 5 10 15  
 Ala Met Thr Pro Ile Val Thr Val Leu Ile Cys Leu Gly Leu Ser Leu  
 20 25 30  
 Gly Pro Arg Thr His Val Gln Thr Gly Thr Ile Pro Lys Pro Thr Leu  
 35 40 45  
 Trp Ala Glu Pro Asp Ser Val Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu  
 50 55 60  
 Ser Cys Gln Gly Ser Leu Glu Ala Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu  
 65 70 75 80  
 Lys Lys Ser Ala Ser Trp Ile Thr Arg Ile Arg Pro Glu Leu Val Lys  
 85 90 95  
 Asn Gly Gln Phe His Ile Pro Ser Ile Thr Trp Glu His Thr Gly Arg  
 100 105 110

30

40

【 0 2 3 2 】

【数 2 3】

Tyr Gly Cys Gln Tyr Tyr Ser Arg Ala Arg Trp Ser Glu Leu Ser Asp  
 115 120 125

Pro Leu Val Leu Val Met Thr Gly Ala Tyr Pro Lys Pro Thr Leu Ser  
 130 135 140

Ala Gln Pro Ser Pro Val Val Thr Ser Gly Gly Arg Val Thr Leu Gln  
 145 150 155 160

Cys Glu Ser Gln Val Ala Phe Gly Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly  
 165 170 175

Glu Asp Glu His Pro Gln Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly  
 180 185 190

Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Asn Arg Arg  
 195 200 205

Trp Ser His Arg Cys Tyr Gly Tyr Asp Leu Asn Ser Pro Tyr Val Trp  
 210 215 220

Ser Ser Pro Ser Asp Leu Leu Glu Leu Leu Val Pro Gly Val Ser Lys  
 225 230 235 240

Lys Pro Ser Leu Ser Val Gln Pro Gly Pro Val Val Ala Pro Gly Glu  
 245 250 255

Ser Leu Thr Leu Gln Cys Val Ser Asp Val Gly Tyr Asp Arg Phe Val  
 260 265 270

Leu Tyr Lys Glu Gly Glu Arg Asp Leu Arg Gln Leu Pro Gly Arg Gln  
 275 280 285

Pro Gln Ala Gly Leu Ser Gln Ala Asn Phe Thr Leu Gly Pro Val Ser  
 290 295 300

Arg Ser Tyr Gly Gly Gln Tyr Arg Cys Tyr Gly Ala Tyr Asn Leu Ser  
 305 310 315 320

Ser Glu Trp Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Leu Ile Thr Gly  
 325 330 335

Gln Ile His Gly Thr Pro Phe Ile Ser Val Gln Pro Gly Pro Thr Val  
 340 345 350

Ala Ser Gly Glu Asn Val Thr Leu Leu Cys Gln Ser Trp Arg Gln Phe  
 355 360 365

His Thr Phe Leu Leu Thr Lys Ala Gly Ala Ala Asp Ala Pro Leu Arg  
 370 375 380

【 0 2 3 3】

10

20

30

40

【数 2 4】

Leu Arg Ser Ile His Glu Tyr Pro Lys Tyr Gln Ala Glu Phe Pro Met  
 385 390 395 400

Ser Pro Val Thr Ser Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Thr Leu His Gly  
 405 410 415

Phe Gln Pro Pro Thr His Arg Ser His Leu His Thr Cys Arg Pro  
 420 425 430

(2)配列番号15の情報:

(i)配列の特徴:

- (A)長さ:2271塩基対
- (B)型:核酸
- (C)鎖の数:一本鎖
- (D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:cDNA

(ix)配列の特徴:

- (A)配列の特徴を示す記号:CDS
- (B)存在位置:191..2035

(xi)配列:配列番号15:

10

20

30

40

GTCGACCCAC GCGTCCGGTC AACTTTTCTT CCCCTACTTC CCTGCATTTC TCCTCTGTGC 60  
 TCACTGCCAC ACGCAGCTCA ACCTGGACGG CACAGCCAGA TGCGAGATGC GTCTCTGCTG 120  
 ATCTGAGTCT GCCTGCAGCA TGGACCTGGG TCTTCCCTGA AGCATCTCCA GGGCTGGAGG 180  
 GACGACTGCC ATG CAC CGA GGG CTC ATC CAT CCG CAG AGC AGG GCA GTG 229  
 Met His Arg Gly Leu Ile His Pro Gln Ser Arg Ala Val  
 1 5 10  
 GGA GGA GAC GCC ATG ACC CCC ATC GTC ACA GTC CTG ATC TGT CTC GGG 277  
 Gly Gly Asp Ala Met Thr Pro Ile Val Thr Val Leu Ile Cys Leu Gly  
 15 20 25  
 CTG AGT CTG GGC CCC AGG ACC CAC GTG CAG ACA GGG ACC ATC CCC AAG 325  
 Leu Ser Leu Gly Pro Arg Thr His Val Gln Thr Gly Thr Ile Pro Lys  
 30 35 40 45  
 CCC ACC CTG TGG GCT GAG CCA GAC TCT GTG ATC ACC CAG GGG AGT CCC 373  
 Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Asp Ser Val Ile Thr Gln Gly Ser Pro  
 50 55 60  
 GTC ACC CTC AGT TGT CAG GGG AGC CTT GAA GCC CAG GAG TAC CGT CTA 421  
 Val Thr Leu Ser Cys Gln Gly Ser Leu Glu Ala Gln Glu Tyr Arg Leu  
 65 70 75  
 TAT AGG GAG AAA AAA TCA GCA TCT TGG ATT ACA CGG ATA CGA CCA GAC 469  
 Tyr Arg Glu Lys Lys Ser Ala Ser Trp Ile Thr Arg Ile Arg Pro Glu  
 80 85 90  
 CTT GTG AAG AAC GGC CAG TTC CAC ATC CCA TCC ATC ACC TGG GAA CAC 517  
 Leu Val Lys Asn Gly Gln Phe His Ile Pro Ser Ile Thr Trp Glu His  
 95 100 105

【 0 2 3 4】



【数 2 6】

ATC	ACA	GGA	CAG	ATC	CAT	GGC	ACA	CCC	TTC	ATC	TCA	GTG	CAG	CCA	GGC	1237
Ile	Thr	Gly	Gln	Ile	His	Gly	Thr	Pro	Phe	Ile	Ser	Val	Gln	Pro	Gly	
	335					340					345					
CCC	ACA	GTG	GCC	TCA	GGA	GAG	AAC	GTG	ACC	CTG	CTG	TGT	CAG	TCA	TGG	1285
Pro	Thr	Val	Ala	Ser	Gly	Glu	Asn	Val	Thr	Leu	Leu	Cys	Gln	Ser	Trp	
350					355					360					365	
CGG	CAG	TTC	CAC	ACT	TTC	CTT	CTG	ACC	AAG	GCG	GGA	GCA	GCT	GAT	GCC	1333
Arg	Gln	Phe	His	Thr	Phe	Leu	Leu	Thr	Lys	Ala	Gly	Ala	Ala	Asp	Ala	
			370						375					380		
CCA	CTC	CGT	CTA	AGA	TCA	ATA	CAC	GAA	TAT	CCT	AAG	TAC	CAG	GCT	GAA	1381
Pro	Leu	Arg	Leu	Arg	Ser	Ile	His	Glu	Tyr	Pro	Lys	Tyr	Gln	Ala	Glu	
			385					390					395			
TTC	CCC	ATG	AGT	CCT	GTG	ACC	TCA	GCC	CAC	GCG	GGG	ACC	TAC	AGG	TGC	1429
Phe	Pro	Met	Ser	Pro	Val	Thr	Ser	Ala	His	Ala	Gly	Thr	Tyr	Arg	Cys	
		400					405					410				
TAC	GGC	TCA	CTC	AAC	TCC	GAC	CCC	TAC	CTG	CTG	TCT	CAC	CCC	AGT	GAG	1477
Tyr	Gly	Ser	Leu	Asn	Ser	Asp	Pro	Tyr	Leu	Leu	Ser	His	Pro	Ser	Glu	
	415					420					425					
CCC	CTG	GAG	CTC	GTG	GTC	TCA	GGA	CCC	TCC	ATG	GGT	TCC	AGC	CCC	CCA	1525
Pro	Leu	Glu	Leu	Val	Val	Ser	Gly	Pro	Ser	Met	Gly	Ser	Ser	Pro	Pro	
430					435					440					445	
CCC	ACC	GGT	CCC	ATC	TCC	ACA	CCT	GCA	GGC	CCT	GAG	GAC	CAG	CCC	CTC	1573
Pro	Thr	Gly	Pro	Ile	Ser	Thr	Pro	Ala	Gly	Pro	Glu	Asp	Gln	Pro	Leu	
				450					455					460		
ACC	CCC	ACT	GGG	TCG	GAT	CCC	CAA	AGT	GGT	CTG	GGA	AGG	CAC	CTG	GGG	1621
Thr	Pro	Thr	Gly	Ser	Asp	Pro	Gln	Ser	Gly	Leu	Gly	Arg	His	Leu	Gly	
			465					470					475			
GTT	GTG	ATC	GGC	ATC	TTC	GTG	GCC	GTC	GTC	CTA	CTG	CTC	CTC	CTC	CTC	1669
Val	Val	Ile	Gly	Ile	Leu	Val	Ala	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	
		480					485					490				
CTC	CTC	CTC	TTC	CTC	ATC	CTC	CGA	CAT	CGA	CGT	CAG	GGC	AAA	CAC	TGG	1717
Leu	Leu	Leu	Phe	Leu	Ile	Leu	Arg	His	Arg	Arg	Gln	Gly	Lys	His	Trp	
		495				500					505					
ACA	TCG	ACC	CAG	AGT	AAG	GCT	GAT	TTC	CAA	CAT	CCT	GCA	GGG	GCT	GTG	1765
Thr	Ser	Thr	Gln	Arg	Lys	Ala	Asp	Phe	Gln	His	Pro	Ala	Gly	Ala	Val	
510					515					520					525	
GGG	CCA	GAG	CCC	TCA	GAC	AGA	GGC	CTG	CAG	TGG	AGG	TCC	AGC	CCA	GCT	1813
Gly	Pro	Glu	Pro	Thr	Asp	Arg	Gly	Leu	Gln	Trp	Arg	Ser	Ser	Pro	Ala	
				530						535				540		
GCC	GAC	GCC	CAG	GAA	GAA	AAC	CTC	TAT	GCT	GCC	GTG	AAG	GAC	ACA	CAG	1861
Ala	Asp	Ala	Gln	Glu	Glu	Asn	Leu	Tyr	Ala	Ala	Val	Lys	Asp	Thr	Gln	
			5.5					550					555			

【 0 2 3 6 】

10

20

30

40

【数 2 7】

CCT GAA GAT GGG GTG GAG ATG GAC ACT CGG GCT GCT GCA TCT GAA GCC 1909  
 Pro Glu Asp Gly Val Glu Met Asp Thr Arg Ala Ala Ala Ser Glu Ala  
 560 565 570

CCC CAG GAT GTG ACC TAC GCC CAG CTG CAC AGC TTG ACC CTC AGA CGG 1957  
 Pro Gln Asp Val Thr Tyr Ala Gln Leu His Ser Leu Thr Leu Arg Arg  
 575 580 585

AAG GCA ACT GAG CCT CCT CCA TCC CAG GAA AGG GAA CCT CCA GCT GAG 2005  
 Lys Ala Thr Glu Pro Pro Pro Ser Gln Glu Arg Glu Pro Pro Ala Glu  
 590 595 600 605

CCC AGC ATT TAC GCC ACC CTG GCC ATC CAC TAGCCCGGAG GGTACGCAGA 2055  
 Pro Ser Ile Tyr Ala Thr Leu Ala Ile His  
 610 615

CTCCACACTC AGTAGAAGGA GACTCAGGAC TGCTGAAGGC ACGGGAGCTG CCCCCAGTGG 2115

ACACCAATGA ACCCCAGTCA GCCTGGACCC CTAACAAAGA CCATGAGGAG ATGCTGGGAA 2175

CTTTGGGACT CACTTGATTG TGCAGTGGAA ATAAC TAATA TCCCTACATT TTTTAAT TAA 2235

AGCAACAGAC TTCTCAATAA TCAATGAGTT AACCGA 2271

10

20

(2) 配列番号16の情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 長さ: 615アミノ酸

(B) 型: アミノ酸

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: タンパク質

(xi) 配列: 配列番号16:

30

Met His Arg Gly Leu Ile His Pro Gln Ser Arg Ala Val Gly Gly Asp  
 1 5 10 15

Ala Met Thr Pro Ile Val Thr Val Leu Ile Cys Leu Gly Leu Ser Leu  
 20 25 30

Gly Pro Arg Thr His Val Gln Thr Gly Thr Ile Pro Lys Pro Thr Leu  
 35 40 45

Trp Ala Glu Pro Asp Ser Val Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu  
 50 55 60

Ser Cys Gln Gly Ser Leu Glu Ala Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu  
 65 70 75 80

40

【 0 2 3 7 】

【数 2 8】

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

10

20

30

40

【 0 2 3 8 】

## 【数 2 9】

Ser Pro Val Thr Ser Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser  
 405 410 415

Leu Asn Ser Asp Pro Tyr Leu Leu Ser His Pro Ser Glu Pro Leu Glu  
 420 425 430

Leu Val Val Ser Gly Pro Ser Met Gly Ser Ser Pro Pro Pro Thr Gly  
 435 440 445

Pro Ile Ser Thr Pro Ala Gly Pro Glu Asp Gln Pro Leu Thr Pro Thr  
 450 455 460

Gly Ser Asp Pro Gln Ser Gly Leu Gly Arg His Leu Gly Val Val Ile  
 465 470 475 480

Gly Ile Leu Val Ala Val Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu  
 485 490 495

Phe Leu Ile Leu Arg His Arg Arg Gln Gly Lys His Trp Thr Ser Thr  
 500 505 510

Gln Arg Lys Ala Asp Phe Gln His Pro Ala Gly Ala Val Gly Pro Glu  
 515 520 525

Pro Thr Asp Arg Gly Leu Gln Trp Arg Ser Ser Pro Ala Ala Asp Ala  
 530 535 540

Gln Glu Glu Asn Leu Tyr Ala Ala Val Lys Asp Thr Gln Pro Glu Asp  
 545 550 555 560

Gly Val Glu Met Asp Thr Arg Ala Ala Ala Ser Glu Ala Pro Gln Asp  
 565 570 575

Val Thr Tyr Ala Gln Leu His Ser Leu Thr Leu Arg Arg Lys Ala Thr  
 580 585 590

Glu Pro Pro Pro Ser Gln Glu Arg Glu Pro Pro Ala Glu Pro Ser Ile  
 595 600 605

Tyr Ala Thr Leu Ala Ile His  
 610 615

10

20

30

## (2)配列番号17の情報:

## (i)配列の特徴:

- (A)長さ: 2388塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 一本鎖
- (D)トポロジー: 直鎖状

## (ii)配列の種類: cDNA

## (ix)配列の特徴:

- (A)配列の特徴を示す記号: CDS
- (B)存在位置: 180..2024

## (xi)配列: 配列番号17:

40

## 【 0 2 3 9 】

【数 3 0】

AAAGAAGTCA	ACTTTTCTTC	CCCTACTTCC	CTGCATTTCT	CCTCTGTGCT	CACTGCCACA	60	
CGCAGCTCAA	CCTGGACGGC	ACAGCCAGAT	GCGAGATGCG	TCTCTGCTGA	TCTGAGTCTG	120	
CCTGCAGCAT	GGACCTGGGT	CTTCCCTGAA	GCATCTCCAG	GGCTGGAGGG	ACGACTGCC	179	
ATG CAC CGA GGG CTC ATC CAT CCG CAG AGC AGG GCA GTG GGA GGA GAC	227						
Met His Arg Gly Leu Ile His Pro Gln Ser Arg Ala Val Gly Gly Asp							
1 5 10 15							
GCC ATG ACC CCC ATC GTC ACA GTC CTG ATC TGT CTC GGG CTG AGT CTG	275						
Ala Met Thr Pro Ile Val Thr Val Leu Ile Cys Leu Gly Leu Ser Leu							10
20 25 30							
GGC CCC AGG ACC CAC GTG CAG ACA GGG ACC ATC CCC AAG CCC ACC CTG	323						
Gly Pro Arg Thr His Val Gln Thr Gly Thr Ile Pro Lys Pro Thr Leu							
35 40 45							
TGG GCT GAG CCA GAC TCT GTG ATC ACC CAG GGG AGT CCC GTC ACC CTC	371						
Trp Ala Glu Pro Asp Ser Val Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu							
50 55 60							
AGT TGT CAG GGG AGC CTT GAA GCC CAG GAG TAC CGT CTA TAT AGG GAG	419						
Ser Cys Gln Gly Ser Leu Glu Ala Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu							20
65 70 75 80							
AAA AAA TCA GCA TCT TGG ATT ACA CGG ATA CGA CCA GAG CTT GTG AAG	467						
Lys Lys Ser Ala Ser Trp Ile Thr Arg Ile Arg Pro Glu Leu Val Lys							
85 90 95							
AAC GGC CAG TTC CAC ATC CCA TCC ATC ACC TGG GAA CRC ACA GGG CGA	515						
Asn Gly Gln Phe His Ile Pro Ser Ile Thr Trp Glu His Thr Gly Arg							
100 105 110							
TAT GGC TGT CAG TAT TAC AGC CGC GCT CGG TGG TCT GAG CTC AGT GAC	563						
Tyr Gly Cys Gln Tyr Tyr Ser Arg Ala Arg Trp Ser Glu Leu Ser Asp							
115 120 125							
CCC CTG GTG CTG GTG ATG ACA GGA GCC TAC CCA AAA CCC ACC CTC TCA	611						30
Pro Leu Val Leu Val Met Thr Gly Ala Tyr Pro Lys Pro Thr Leu Ser							
130 135 140							
GCC CAG CCC AGC CCT GTG GTG ACC TCA GGA GGA AGG GTG ACC CTC CAG	659						
Ala Gln Pro Ser Pro Val Val Thr Ser Gly Gly Arg Val Thr Leu Gln							
145 150 155 150							
TGT GAG TCA CAG GTG GCA TTT GGC GGC TTC ATT CTG TGT AAG GAA GGA	707						
Cys Glu Ser Gln Val Ala Phe Gly Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly							
165 170 175							
GAA GAT GAA CAC CCA CAA TGC CTG AAC TCC CAG CCC CAT GCC CGT GGG	755						
Glu Asp Glu His Pro Gln Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly							40
180 185 190							
TCG TCC CGC GCC ATC TTC TCC GTG GGC CCC GTG AGC CCG AAT CGC AGG	803						
Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Asn Arg Arg							
195 200 205							

【 0 2 4 0 】

## 【数 3 1】

TGG	TCG	CAC	AGG	TGC	TAT	GGT	TAT	GAC	TTG	AAC	TCT	CCC	TAT	GTG	TGG	851
Trp	Ser	His	Arg	Cys	Tyr	Gly	Tyr	Asp	Leu	Asn	Ser	Pro	Tyr	Val	Trp	
	210					215					220					
TCT	TCA	CCC	AGT	GAT	CTC	CTG	GAG	CTC	CTG	GTC	CCA	GGT	GTT	TCT	AAG	899
Ser	Ser	Pro	Ser	Asp	Leu	Leu	Glu	Leu	Leu	Val	Pro	Gly	Val	Ser	Lys	
225					230					235					240	
AAG	CCA	TCA	CTC	TCA	GTG	CAG	CCG	GGT	CCT	GTC	GTG	GCC	CCT	GGG	GAA	947
Lys	Pro	Ser	Leu	Ser	Val	Gln	Pro	Gly	Pro	Val	Val	Ala	Pro	Gly	Glu	
				245					250					255		
AGC	CTG	ACC	CTC	CAG	TGT	GTC	TCT	GAT	GTC	GGC	TAT	GAC	AGA	TTT	GTT	995
Ser	Leu	Thr	Leu	Gln	Cys	Val	Ser	Asp	Val	Gly	Tyr	Asp	Arg	Phe	Val	
			260					265					270			
CTG	TAC	AAG	GAG	GGG	GAA	CGT	GAC	CTT	CGC	CAG	CTC	CCT	GGC	CGG	CAG	1043
Leu	Tyr	Lys	Glu	Gly	Glu	Arg	Asp	Leu	Arg	Gln	Leu	Pro	Gly	Arg	Gln	
		275					280					285				
CCC	CAG	GCT	GGG	CTC	TCC	CAG	GCC	AAC	TTC	ACC	CTG	GGC	CCT	GTG	AGC	1091
Pro	Gln	Ala	Gly	Leu	Ser	Gln	Ala	Asn	Phe	Thr	Leu	Gly	Pro	Val	Ser	
	290					295					300					
CGC	TCC	TAC	GGG	GGC	CAG	TAC	AGA	TGC	TAC	GGT	GCA	TAC	AAC	CTC	TCC	1139
Arg	Ser	Tyr	Gly	Gly	Gln	Tyr	Arg	Cys	Tyr	Gly	Ala	Tyr	Asn	Leu	Ser	
305					310					315					320	
TCC	GAG	TGG	TCG	GCC	CCC	AGC	GAC	CCC	CTG	GAC	ATC	CTG	ATC	ACA	GGA	1187
Ser	Glu	Trp	Ser	Ala	Pro	Ser	Asp	Pro	Leu	Asp	Ile	Leu	Ile	Thr	Gly	
				325					330					335		
CAG	ATC	CAT	GGC	ACA	CCC	TTC	ATC	TCA	GTG	CAG	CCA	GGC	CCC	ACA	GTG	1235
Gln	Ile	His	Gly	Thr	Pro	Phe	Ile	Ser	Val	Gln	Pro	Gly	Pro	Thr	Val	
			340					345					350			
GCC	TCA	GGA	GAG	AAC	GTG	ACC	CTG	CTG	TGT	CAG	TCA	TGG	CGG	CAG	TTC	1283
Ala	Ser	Gly	Glu	Asn	Val	Thr	Leu	Leu	Cys	Gln	Ser	Trp	Arg	Gln	Phe	
		355					360					365				
CAC	ACT	TTC	CTT	CTG	ACC	AAG	GCG	GGA	GCA	GCT	GAT	GCC	CCA	CTC	CGT	1331
His	Thr	Phe	Leu	Leu	Thr	Lys	Ala	Gly	Ala	Ala	Asp	Ala	Pro	Leu	Arg	
	370					375					380					
CTA	AGA	TCA	ATA	CAC	GAA	TAT	CCT	AAG	TAC	CAG	GCT	GAA	TTC	CCC	ATG	1379
Leu	Arg	Ser	Ile	His	Glu	Tyr	Pro	Lys	Tyr	Gln	Ala	Glu	Phe	Pro	Met	
385					390					395					400	
AGT	CCC	GTG	ACC	TCA	GCC	CAC	GCG	GGG	ACC	TAC	AGG	TGC	TAC	GGC	TCA	1417
Ser	Pro	Val	Thr	Ser	Ala	His	Ala	Gly	Thr	Tyr	Arg	Cys	Tyr	Gly	Ser	
				405					410					415		

## 【 0 2 4 1 】

10

20

30

40

【数 3 2】

CTC AAC TCC GAC CCC TAC CTG CTG TCT CAC CCC AGT GAG CCC CTG GAG Leu Asn Ser Asp Pro Tyr Leu Leu Ser His Pro Ser Glu Pro Leu Glu 420 425 430	1475	
CTC GTG GTC TCA GGA CCC TCC ATG GGT TCC AGC CCC CCA CCC ACC GGT Leu Val Val Ser Gly Pro Ser Met Gly Ser Ser Pro Pro Pro Thr Gly 435 440 445	1523	
CCC ATC TCC ACA CCT GCA GGC CCT GAG GAC CAG CCC CTC ACC CCC ACT Pro Ile Ser Thr Pro Ala Gly Pro Glu Asp Gln Pro Leu Thr Pro Thr 450 455 460	1571	10
GGG TCG GAT CCC CAA AGT GGT CTG GGA AGG CAC CTG GGG GTT GTG ATC Gly Ser Asp Pro Gln Ser Gly Leu Gly Arg His Leu Gly Val Val Ile 465 470 475 480	1619	
GGC ATC TTG GTG GCC GTC GTC CTA CTG CTC CTC CTC CTC CTC CTC CTC Gly Ile Leu Val Ala Val Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu 485 490 495	1667	
TTC CTC ATC CTC CGA CAT CGA CGT CAG GGC AAA CAC TGG ACA TCG ACC Phe Leu Ile Leu Arg His Arg Arg Gln Gly Lys His Trp Thr Ser Thr 500 505 510	1715	
CAG AGA AAG GCT GAT TTC CAA CAT CCT GCA GGG GCT GTG GGG CCA GAG Gln Arg Lys Ala Asp Phe Gln His Pro Ala Gly Ala Val Gly Pro Glu 515 520 525	1763	20
CCC ACA GAC AGA GGC CTG CAG TGG AGG TCC AGC CCA GCT GCC GAC GCC Pro Thr Asp Arg Gly Leu Gln Trp Arg Ser Ser Pro Ala Ala Asp Ala 530 535 540	1811	
CAG GAA GAA AAC CTC TAT GCT GCC GTG AAG GAC ACA CAG CCT GAA GAT Gln Glu Glu Asn Leu Tyr Ala Ala Val Lys Asp Thr Gln Pro Glu Asp 545 550 555 560	1859	
GGG GTG GAG ATG GAC ACT CGG GCT GCT GCA TCT GAA GCC CCC CAG GAT Gly Val Glu Met Asp Thr Arg Ala Ala Ser Glu Ala Pro Gln Asp 565 570 575	1907	30
GTG ACC TAC GCC CAG CTG CAC AGC TTG ACC CTC AGA CGG AAG GCA ACT Val Thr Tyr Ala Gln Leu His Ser Leu Thr Leu Arg Arg Lys Ala Thr 580 585 590	1955	
GAG CCT CCT CCA TCC CAG GAA AGG GAA CCT CCA GCT GAG CCC AGC ATC Glu Pro Pro Pro Ser Gln Glu Arg Glu Pro Pro Ala Glu Pro Ser Ile 595 600 605	2003	
TAC GCC ACC CTG GCC ATC CAC TAGCCCGGAG GGTACGCAGA CTCCACACTC Tyr Ala Thr Leu Ala Ile His 610 615	2054	40
AGTAGAAGGA GACTCAGGAC TGCTGAAGGC ACGGGAGCTG CCCCCAGTGG ACACCAATGA	2114	

【 0 2 4 2 】

【数 3 3】

ACCCCAGTCA GCCTGGACCC CTAACAAAGA CCATGAGGAG ATGCTGGGAA CTTTGGGACT 2174  
 CACTTGATTG TGCAGTCGAA ATAAC TAATA TCCCTACATT TTTTAATTAA AGCAACAGAC 2234  
 TTCTCAATAA TCAATGAGTT AACCGAGAAA ACTAAAATCA GAAGTAAGAA TGTGCTTTAA 2294  
 ACTGAATCAC AATATAAATA TTACACATCA CACAATGAAA TTGAAAAAGT ACAAACCACA 2354  
 AATGAAAAAA GTAGAAACGA AAAAAAAAAA AAAA 2388

(2) 配列番号18の情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 長さ: 615アミノ酸

(B) 型: アミノ酸

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: タンパク質

(xi) 配列: 配列番号18:

Met His Arg Gly Leu Ile His Pro Gln Ser Arg Ala Val Gly Gly Asp  
 1 5 10 15  
 Ala Met Thr Pro Ile Val Thr Val Leu Ile Cys Leu Gly Leu Ser Leu  
 20 25 30  
 Gly Pro Arg Thr His Val Gln Thr Gly Thr Ile Pro Lys Pro Thr Leu  
 35 40 45  
 Trp Ala Glu Pro Asp Ser Val Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu  
 50 55 60  
 Ser Cys Gln Gly Ser Leu Glu Ala Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu  
 65 70 75 80  
 Lys Lys Ser Ala Ser Trp Ile Thr Arg Ile Arg Pro Glu Leu Val Lys  
 85 90 95  
 Asn Gly Gln Phe His Ile Pro Ser Ile Thr Trp Glu His Thr Gly Arg  
 100 105 110  
 Tyr Gly Cys Gln Tyr Tyr Ser Arg Ala Arg Trp Ser Glu Leu Ser Asp  
 115 120 125  
 Pro Leu Val Leu Val Met Thr Gly Ala Tyr Pro Lys Pro Thr Leu Ser  
 130 135 140  
 Ala Gln Pro Ser Pro Val Val Thr Ser Gly Gly Arg Val Thr Leu Gln  
 145 150 155 160  
 Cys Glu Ser Gln Val Ala Phe Gly Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly  
 165 170 175

【 0 2 4 3 】

10

20

30

40

【数 3 4】

Glu Asp Glu His Pro Gln Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly  
 180 185 190

Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Asn Arg Arg  
 195 200 205

Trp Ser His Arg Cys Tyr Gly Tyr Asp Leu Asn Ser Pro Tyr Val Trp  
 210 215 220

Ser Ser Pro Ser Asp Leu Leu Glu Leu Leu Val Pro Gly Val Ser Lys  
 225 230 235 240

Lys Pro Ser Leu Ser Val Gln Pro Gly Pro Val Val Ala Pro Gly Glu  
 245 250 255

Ser Leu Thr Leu Gln Cys Val Ser Asp Val Gly Tyr Asp Arg Phe Val  
 260 265 270

Leu Tyr Lys Glu Gly Glu Arg Asp Leu Arg Gln Leu Pro Gly Arg Gln  
 275 280 285

Pro Gln Ala Gly Leu Ser Gln Ala Asn Phe Thr Leu Gly Pro Val Ser  
 290 295 300

Arg Ser Tyr Gly Gly Gln Tyr Arg Cys Tyr Gly Ala Tyr Asn Leu Ser  
 305 310 315 320

Ser Glu Trp Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Leu Ile Thr Gly  
 325 330 335

Gln Ile His Gly Thr Pro Phe Ile Ser Val Gln Pro Gly Pro Thr Val  
 340 345 350

Ala Ser Gly Glu Asn Val Thr Leu Leu Cys Gln Ser Trp Arg Gln Phe  
 355 360 365

His Thr Phe Leu Leu Thr Lys Ala Gly Ala Ala Asp Ala Pro Leu Arg  
 370 375 380

Leu Arg Ser Ile His Glu Tyr Pro Lys Tyr Gln Ala Glu Phe Pro Met  
 385 390 395 400

Ser Pro Val Thr Ser Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser  
 405 410 415

Leu Asn Ser Asp Pro Tyr Leu Leu Ser His Pro Ser Glu Pro Leu Glu  
 420 425 430

Leu Val Val Ser Gly Pro Ser Met Gly Ser Ser Pro Pro Pro Thr Gly  
 435 440 445

Pro Ile Ser Thr Pro Ala Gly Pro Glu Asp Gln Pro Leu Thr Pro Thr  
 450 455 460

Gly Ser Asp Pro Gln Ser Gly Leu Gly Arg His Leu Gly Val Val Ile  
 465 — 470 475 480

Gly Ile Leu Val Ala Val Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu  
 485 490 495

10

20

30

40

【 0 2 4 4 】

【数 3 5】

Phe Leu Ile Leu Arg His Arg Arg Gln Gly Lys His Trp Thr Ser Thr  
500 505 510

Gln Arg Lys Ala Asp Phe Gln His Pro Ala Gly Ala Val Gly Pro Glu  
515 520 525

Pro Thr Asp Arg Gly Leu Gln Trp Arg Ser Ser Pro Ala Ala Asp Ala  
530 535 540

Gln Glu Glu Asn Leu Tyr Ala Ala Val Lys Asp Thr Gln Pro Glu Asp  
545 550 555 560

Gly Val Glu Met Asp Thr Arg Ala Ala Ala Ser Glu Ala Pro Gln Asp  
565 570 575

Val Thr Tyr Ala Gln Leu His Ser Leu Thr Leu Arg Arg Lys Ala Thr  
580 585 590

Glu Pro Pro Pro Ser Gln Glu Arg Glu Pro Pro Ala Glu Pro Ser Ile  
595 600 605

Tyr Ala Thr Leu Ala Ile His  
610 615

10

20

(2) 配列番号19の情報:

(i) 配列の特徴:

- (A) 長さ: 2200塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 一本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: cDNA

(ix) 配列の特徴:

- (A) 配列の特徴を示す記号: CDS
- (B) 存在位置: 174..1466

(xi) 配列: 配列番号19:

30

40

GTCAACTTTT CTCCCTAC TTCCCTGCAT TTCTCCTCTG TGCTCACTGC CACACGCAGC 60

TCAACCTGGA CGGCACAGCC AGATGCGAGA TCGTCTCTG CTGATCTGAG TCTGCCTGCA 120

GCATGGACCT GGGTCTTCCC TGAAGCATCT CCAGGGCTGG AGGGACGACT GCC ATG 176  
Met  
1

CAC CGA GGG CTC ATC CAT CCG CAG AGC AGG GCA GTG GGA GGA GAC GCC 224  
His Arg Gly Leu Ile His Pro Gln Ser Arg Ala Val Gly Gly Asp Ala  
5 10 15

【 0 2 4 5 】

【数 3 6】

ATG ACC CCC ATC GTC ACA GTC CTG ATC TGT CTC GGG CTG AGT CTG GGC Met Thr Pro Ile Val Thr Val Leu Ile Cys Leu Gly Leu Ser Leu Gly 20 25 30	272	
CCC AGG ACC CAC GTG CAG ACA GGG ACC ATC CCC AAG CCC ACC CTG TGG Pro Arg Thr His Val Gln Thr Gly Thr Ile Pro Lys Pro Thr Leu Trp 35 40 45	320	
GCT GAG CCA GAC TCT GTG ATC ACC CAG GGG AGT CCC GTC ACC CTC AGT Ala Glu Pro Asp Ser Val Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Ser 50 55 60 65	368	
TGT CAG GGG AGC CTT GAA GCC CAG GAG TAC CGT CTA TAT AGG GAG AAA Cys Gln Gly Ser Leu Glu Ala Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys 70 75 80	416	10
AAA TCA GCA TCT TGG ATT ACA CGG ATA CGA CCA GAG CTT GTG AAG AAC Lys Ser Ala Ser Trp Ile Thr Arg Ile Arg Pro Glu Leu Val Lys Asn 85 90 95	464	
GGC CAG TTC CAC ATC CCA TCC ATC ACC TGG GAA CAC ACA GGG CGA TAT Gly Gln Phe His Ile Pro Ser Ile Thr Trp Glu His Thr Gly Arg Tyr 100 105 110	512	
GGC TGT CAG TAT TAC AGC CGC GCT CGG TGG TCT GAG CTC AGT GAC CCC Gly Cys Gln Tyr Tyr Ser Arg Ala Arg Trp Ser Glu Leu Ser Asp Pro 115 120 125	560	20
CTG GTG CTG GTG ATG ACA GGA GCC TAC CCA AAA CCC ACC CTC TCA GCC Leu Val Leu Val Met Thr Gly Ala Tyr Pro Lys Pro Thr Leu Ser Ala 130 135 140 145	608	
CAG CCC AGC CCT GTG GTG ACC TCA GGA GGA AGG GTG ACC CTC CAG TGT Gln Pro Ser Pro Val Val Thr Ser Gly Gly Arg Val Thr Leu Gln Cys 150 155 160	656	
GAG TCA CAG GTG GCA TTT GGC GGC TTC ATT CTG TGT AAG GAA GGA GAA Glu Ser Gln Val Ala Phe Gly Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu 165 170 175	704	30
GAT GAA CAC CCA CAA TGC CTG AAC TCC CAG CCC CAT GCC CGT GGG TCG Asp Glu His Pro Gln Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser 180 185 190	752	
TCC CGC GCC ATC TTC TCC GTG GGC CCC GTG AGC CCG AAT CGC AGG TGG Ser Arg Ala Ile Phe Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Asn Arg Arg Trp 195 200 205	800	
TCG CAC AGG TGC TAT GGT TAT GAC TTG AAC TCT ECC TAT GTG TGG TCT Ser His Arg Cys Tyr Gly Tyr Asp Leu Asn Ser Pro Tyr Val Trp Ser 210 215 220 225	848	
TCA CCC AGT GAT CTC CTG GAG CTC CTG GTC CCA GGT GTT TCT AAG AAG Ser Pro Ser Asp Leu Leu Glu Leu Leu Val Pro Gly Val Ser Lys Lys 230 235 240	896	40
CCA TCA CTC TCA GTG CAG CCG GGT CCT GTC GTG GCC CCT GGG GAA AGC Pro Ser Leu Ser Val Gln Pro Gly Pro Val Val Ala Pro Gly Glu Ser 245 250 255	944	

【 0 2 4 6 】

【数 3 7】

CTG ACC CTC CAG TGT GTC TCT GAT GTC GGC TAT GAC AGA TTT GTT CTG Leu Thr Leu Gln Cys Val Ser Asp Val Gly Tyr Asp Arg Phe Val Leu 260 265 270	992	
TAC AAG GAG GGG GAA CGT GAC CTT CGC CAG CTC CCT GGC CGG CAG CCC Tyr Lys Glu Gly Glu Arg Asp Leu Arg Gln Leu Pro Gly Arg Gln Pro 275 280 285	1040	
CAG GCT GGG CTC TCC CAG GCC AAC TTC ACC CTG GGC CCT GTG AGC CGC Gln Ala Gly Leu Ser Gln Ala Asn Phe Thr Leu Gly Pro Val Ser Arg 290 295 300 305	1088	10
TCC TAC GGG GGC CAG TAC AGA TGC TAC GGT GCA TAC AAC CTC TCC TCC Ser Tyr Gly Gly Gln Tyr Arg Cys Tyr Gly Ala Tyr Asn Leu Ser Ser 310 315 320	1136	
GAG TGG TCG GCC CCC AGC GAC CCC CTG GAC ATC CTG ATC ACA GGA CAG Glu Trp Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Leu Ile Thr Gly Gln 325 330 335	1184	
ATC CAT GGC ACA CCC TTC ATC TCA GTG CAG CCA GGC CCC ACA GTG GCC Ile His Gly Thr Pro Phe Ile Ser Val Gln Pro Gly Pro Thr Val Ala 340 345 350	1232	20
TCA GGA GAG AAC GTG ACC CTG CTG TGT CAG TCA TGG CGG CAG TTC CAC Ser Gly Glu Asn Val Thr Leu Leu Cys Gln Ser Trp Arg Gln Phe His 355 360 365	1280	
ACT TTC CTT CTG ACC AAG GCG GGA GCA GCT GAT GCC CCA CTC CGT CTA Thr Phe Leu Leu Thr Lys Ala Gly Ala Ala Asp Ala Pro Leu Arg Leu 370 375 380 385	1328	
AGA TCA ATA CAC GAA TAT CCT AAG TAC CAG GCT GAA TTC CCC ATG AGT Arg Ser Ile His Glu Tyr Pro Lys Tyr Gln Ala Glu Phe Pro Met Ser 390 395 400	1376	
CCT GTG ACC TCA GCC CAC GCG GGG ACC TAC AGG ACC CTC CAT GGG TTC Pro Val Thr Ser Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Thr Leu His Gly Phe 405 410 415	1424	30
CAG CCC CCC ACC CAC CGG TCC CAT CTC CAC ACC TGC AGG CCC Gln Pro Pro Thr His Arg Ser His Leu His Thr Cys Arg Pro 420 425 430	1466	
TGAGGACCAG CCCCTCACCC CCACTGGGTC GGATCCCCAA AGTGGTCTGG GAAGGCACCT	1526	
GGGGGTTGTG ATCGGCATCT TGGTGGCCGT CGTCTACTG CTCTCCTCC TCCTCCTCCT	1586	
CTTCCTCATC CTCCGACATC GACGTCAGGG CAAACACTGG ACATCGACCC AGAGAAAGGC	1646	
TGATTTCCAA CATCCTGCAG GGGCTGTGGG GCCAGAGCCC ACAGACAGAG GCCTGCAGTG	1706	40
GAGGTCCAGC CCAGCTGCCG ACGCCAGGA AGAAAACCTC TATGCTGCCG TGAAGGACAC	1766	
ACAGCCTGAA GATGGGGTGG AGATGGACAC TCGGGCTGCT GCATCTGAAG CCCCCAGGA	1826	
TGTGACCTAC GCCCAGCTGC ACAGCTTGAC CCTCAGACGG AAGGCAACTG AGCCTCCTCC	1886	

【 0 2 4 7 】

## 【数 3 8】

ATCCCAGGAA AGGGAACCTC CAGCTGAGCC CAGCATCTAC GCCACCCTGG CCATCCACTA 1946  
 GCCCGGAGGG TACGCAGACT CCACACTCAG TAGAAGGAGA CTCAGGACTG CTGAAGGCAC 2006  
 GGGAGCTGCC CCCAGTGGAC ACCAATGAAC CCCAGTCAGC CTGGACCCCT AACAAAGACC 2066  
 ATGAGGAGAT GCTGGGAACT TTGGGACTCA CTTGATTCTG CAGTCGAAAT AACTAATATC 2126  
 CCTACATTTT TTAATTAAG CAACAGACTT CTCAATAATC AATGAGTTAA CCGAGAAAAC 2186  
 TAAAAAAAAA AAAA 2200

10

## (2) 配列番号20の情報：

## (i) 配列の特徴：

(A) 長さ：431アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(D) トポロジー：直鎖状

## (ii) 配列の種類：タンパク質

## (xi) 配列：配列番号20：

Met His Arg Gly Leu Ile His Pro Gln Ser Arg Ala Val Gly Gly Asp  
 1 5 10 15  
 Ala Met Thr Pro Ile Val Thr Val Leu Ile Cys Leu Gly Leu Ser Leu  
 20 25 30  
 Gly Pro Arg Thr His Val Gln Thr Gly Thr Ile Pro Lys Pro Thr Leu  
 35 40 45  
 Trp Ala Glu Pro Asp Ser Val Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu  
 50 55 60  
 Ser Cys Gln Gly Ser Leu Glu Ala Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu  
 65 70 75 80  
 Lys Lys Ser Ala Ser Trp Ile Thr Arg Ile Arg Pro Glu Leu Val Lys  
 85 90 95  
 Asn Gly Gln Phe His Ile Pro Ser Ile Thr Trp Glu His Thr Gly Arg  
 100 105 110  
 Tyr Gly Cys Gln Tyr Tyr Ser Arg Ala Arg Trp Ser Glu Leu Ser Asp  
 115 120 125  
 Pro Leu Val Leu Val Met Thr Gly Ala Tyr Pro Lys Pro Thr Leu Ser  
 130 135 140  
 Ala Gln Pro Ser Pro Val Val Thr Ser Gly Gly Arg Val Thr Leu Gln  
 145 150 155 160  
 Cys Glu Ser Gln Val Ala Phe Gly Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly  
 165 170 175

20

30

40

## 【 0 2 4 8 】

## 【数 3 9】

Glu Asp Glu His Pro Gln Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly  
 180 185 190  
 Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Asn Arg Arg  
 195 200 205  
 Trp Ser His Arg Cys Tyr Gly Tyr Asp Leu Asn Ser Pro Tyr Val Trp  
 210 215 220  
 Ser Ser Pro Ser Asp Leu Leu Glu Leu Leu Val Pro Gly Val Ser Lys  
 225 230 235 240  
 Lys Pro Ser Leu Ser Val Gln Pro Gly Pro Val Val Ala Pro Gly Glu  
 245 250 255  
 Ser Leu Thr Leu Gln Cys Val Ser Asp Val Gly Tyr Asp Arg Phe Val  
 260 265 270  
 Leu Tyr Lys Glu Gly Glu Arg Asp Leu Arg Gln Leu Pro Gly Arg Gln  
 275 280 285  
 Pro Gln Ala Gly Leu Ser Gln Ala Asn Phe Thr Leu Gly Pro Val Ser  
 290 295 300  
 Arg Ser Tyr Gly Gly Gln Tyr Arg Cys Tyr Gly Ala Tyr Asn Leu Ser  
 305 310 315 320  
 Ser Glu Trp Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Leu Ile Thr Gly  
 325 330 335  
 Gln Ile His Gly Thr Pro Phe Ile Ser Val Gln Pro Gly Pro Thr Val  
 340 345 350  
 Ala Ser Gly Glu Asn Val Thr Leu Leu Cys Gln Ser Trp Arg Gln Phe  
 355 360 365  
 His Thr Phe Leu Leu Thr Lys Ala Gly Ala Ala Asp Ala Pro Leu Arg  
 370 375 380  
 Leu Arg Ser Ile His Glu Tyr Pro Lys Tyr Gln Ala Glu Phe Pro Met  
 385 390 395 400  
 Ser Pro Val Thr Ser Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Thr Leu His Gly  
 405 410 415  
 Phe Gln Pro Pro Thr His Arg Ser His Leu His Thr Cys Arg Pro  
 420 425 430

10

20

30

40

## (2) 配列番号21の情報:

## (i) 配列の特徴:

- (A) 長さ: 2790塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 一本鎖

## 【 0 2 4 9 】

【数40】

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：cDNA

(ix)配列の特徴：

(A)配列の特徴を示す記号：CDS

(B)存在位置：177..2132

(ix)配列の特徴：

(A)配列の特徴を示す記号：misc.feature

(B)存在位置：1722

(C)他の情報：／注意＝ヌクレオチド1722位のNはA、C、GまたはTであり得る

(xi)配列：配列番号21：

10

20

30

40

GCCACACGCA GCTCAGCCTG GCGGCACAG CCAGATGCGA GATGCGTCTC TGCTGATCTG	60
AGTCTGCCTG CAGCATGGAC CTGGGTCTTC CCTGAAGCAT CTCCAGGGCT GGAGGGACGA	120
CTGCCATGCA CCGAGGGCTC ATCCATCCAC AGAGCAGGGC AGTGGGAGGA GACGCC	176
ATG ACC CCC ATC CTC ACG GTC CTG ATC TGT CTC GGG CTG AGT CTG GGC	224
Met Thr Pro Ile Leu Thr Val Leu Ile Cys Leu Gly Leu Ser Leu Gly	
1 5 10 15	
CCC CGG ACC CAC GTG CAG GCA GGG CAC CTC CCC AAG CCC ACC CTC TGG	272
Pro Arg Thr His Val Gln Ala Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp	
20 25 30	
GCT GAA CCA GGC TCT GTG ATC ACC CAG GGG AGT CCT GTG ACC CTC AGG	320
Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg	
35 40 45	
TGT CAG GGG GGC CAG GAG ACC CAG GAG TAC CGT CTA TAT AGA GAA AAG	368
Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys	
50 55 60	
AAA ACA GCA CCC TGG ATT ACA CGG ATC CCA CAG GAG CTT GTG AAG AAG	416
Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys	
65 70 75 80	
GGC CAG TTC CCC ATC CCA TCC ATC ACC TGG GAA CAT GCA GGG CGG TAT	464
Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr	
85 90 95	
CGC TGT TAC TAT GGT AGC GAC ACT GCA GGC CGC TCA GAG AGC AGT GAC	512
Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp	
100 105 110	
CCC CTG GAG CTG GTG GTG ACA GGA GCC TAC ATC AAA CCC ACC CTC TCA	560
Pro Leu Glu Leu Val Val Thr Gly Ala Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser	
115 120 125	

【0250】

【数 4 1】

GCC CAG CCC AGC CCC GTG GTG AAC TCA GGA GGG AAT GTA ACC CTC CAG Ala Gln Pro Ser Pro Val Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln 130 135 140	608
TGT GAC TCA CAG GTG GCA TTT GAT GGC TTC ATT CTG TGT AAG GAA GGA Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly 145 150 155 160	656
GAA GAT GAA CAC CCA CAA TGC CTG AAC TCC CAG CCC CAT GCC CGT GGG Glu Asp Glu His Pro Gln Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly -- 165 170 175	704
TCG TCC CGC GCC ATC TTC TCC GTG GGC CCC GTG AGC CCG AGT CGC AGG Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg 180 185 190	752
TGG TGG TAC AGG TGC TAT GCT TAT GAC TCG AAC TCT CCC TAT GAG TGG Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp 195 200 205	800
TCT CTA CCC AAT GAT CTC CTG GAG CTC CTG GTC CTA GGT GTT TCT AAG Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu Glu Leu Leu Val Leu Gly Val Ser Lys 210 215 220	848
AAG CCA TCA CTC TCA GTG CAG CCA GGT CCT ATC GTG GCC CCT GAG GAG Lys Pro Ser Leu Ser Val Gln Pro Gly Pro Ile Val Ala Pro Glu Glu 225 230 235 240	896
ACC CTG AAT CTG CAG TGT GGC TCT GAT GCT GGC TAC AAC AGA TTT GTT Thr Leu Thr Leu Gln Cys Gly Ser Asp Ala Gly Tyr Asn Arg Phe Val 245 250 255	944
CTG TAC AAG GAC GGG GAA CGT GAC TTC CTT CAG CTC GCT GGC GCA CAG Leu Tyr Lys Asp Gly Glu Arg Asp Phe Leu Gln Leu Ala Gly Ala Gln 260 265 270	992
CCC CAG GCT GGG CTC TCC CAG GCC AAC TTC ACC CTG GGC CCT GTG AGC Pro Gln Ala Gly Leu Ser Gln Ala Asn Phe Thr Leu Gly Pro Val Ser 275 280 285	1040
CCC TCC TAC GGG GGC CAG TAC AGA TGC TAC GGT GCA CAC AAC CTC TCC Arg Ser Tyr Gly Gly Gln Tyr Arg Cys Tyr Gly Ala His Asn Leu Ser 290 295 300	1088
TCC GAG TGG TCG GCC CCC AGC GAC CCC CTG GAC ATC CTG ATC GCA GGA Ser Glu Trp Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Leu Ile Ala Gly 305 310 315 320	1136
CAG TTC TAT GAC AGA GTC TCC CTC TCG GTG CAG CCG GGC CCC ACG GTG Gln Phe Tyr Asp Arg Val Ser Leu Ser Val Gln Pro Gly Pro Thr Val 325 330 335	1184
GCC TCA GGA GAG AAC GTG ACC CTG CTG TGT CAG TCA CAG GGA TGG ATG Ala Ser Gly Glu Asn Val Thr Leu Leu Cys Gln Ser Gln Gly Trp Met 340 345 350	1232

10

20

30

40

【 0 2 5 1】

【数 4 2】

CAA ACT TTC CTT CTG ACC AAG GAG GGG GCA GCT GAT GAC CCA TGG CGT Gln Thr Phe Leu Leu Thr Lys Glu Gly Ala Ala Asp Asp Pro Trp Arg 355 360 365	1280	
CTA AGA TCA ACG TAC CAA TCT CAA AAA TAC CAG GCT GAA TTC CCC ATG Leu Arg Ser Thr Tyr Gln Ser Gln Lys Tyr Gln Ala Glu Phe Pro Met 370 375 380	1328	
GGT CCT GTG ACC TCA GCC CAT GCG GGG ACC TAC AGG TGC TAC GGC TCA Gly Pro Val Thr Ser Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser 385 390 395 400	1376	
CAG AGC TCC AAA CCC TAC CTG CTG ACT CAC CCC AGT GAC CCC CTG GAG Gln Ser Ser Lys Pro Tyr Leu Leu Thr His Pro Ser Asp Pro Leu Glu 405 410 415	1424	
CTC GTG GTC TCA GGA CCG TCT GGG GGC CCC AGC TCC CCG ACA ACA GGC Leu Val Val Ser Gly Pro Ser Gly Gly Pro Ser Ser Pro Thr Thr Gly 420 425 430	1472	
CCC ACC TCC ACA TCT GGC CCT GAG GAC CAG CCC CTC ACC CCC ACC GGG Pro Thr Ser Thr Ser Gly Pro Glu Asp Gln Pro Leu Thr Pro Thr Gly 435 440 445	1520	
TCG GAT CCC CAG AGT GGT CTG GGA AGG CAC CTG GGG GTT GTG ATC GGC Ser Asp Pro Gln Ser Gly Leu Gly Arg His Leu Gly Val Val Ile Gly 450 455 460	1568	20
ATC TTG GTG GCC GTC ATC CTA CTG CTC CTC CTC CTC CTC CTC TTC Ile Leu Val Ala Val Ile Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe 465 470 475 480	1616	
CTC ATC CTC CGA CAT CGA CGT CAG GGC AAA CAC TGG ACA TCG ACC CAG Leu Ile Leu Arg His Arg Arg Gln Gly Lys His Trp Thr Ser Thr Gln 485 490 495	1664	
AGA AAG GCT GAT TTC CAA CAT CCT GCA GGG GCT GTG GGG CCA GAG CCC Arg Lys Ala Asp Phe Gln His Pro Ala Gly Ala Val Gly Pro Glu Pro 500 505 510	1712	30
ACA GAC AGA NGC CTG CAG TGG AGG TCC AGC CCA GCT GCC GAT GCC CAG Thr Asp Arg Arg Leu Gln Trp Arg Ser Ser Pro Ala Ala Asp Ala Gln 515 520 525	1760	
GAA GAA AAC CTC TAT GCT GCC GTG AAG CAC ACA CAG CCT GAG GAT GGG Glu Glu Asn Leu Tyr Ala Ala Val Lys His Thr Gln Pro Glu Asp Gly 530 535 540	1808	
GTG GAG ATG GAC ACT CGG CAG AGC CCA CAC GAT GAA GAC CCC CAG GCA Val Glu Met Asp Thr Arg Gln Ser Pro His Asp Glu Asp Pro Gln Ala 545 550 555 560	1856	40
GTG ACG TAT GCC GAG GTG AAA CAC TCC AGA CCT AGG AGA GAA ATG GCT Val Thr Tyr Ala Glu Val Lys His Ser Arg Pro Arg Arg Glu Met Ala 565 570 575	1904	

【 0 2 5 2 】

## 【数 4 3】

TCT CCT CCT TCC CCA CTG TCT GGG GAA TTC CTG GAC ACA AAG GAC AGA Ser Pro Pro Ser Pro Leu Ser Gly Glu Phe Leu Asp Thr Lys Asp Arg 580 585 590	1952
CAG GCG GAA GAG GAC AGG CAG ATG GAC ACT GAG GCT GCT GCA TCT GAA Gln Ala Glu Glu Asp Arg Gln Met Asp Thr Glu Ala Ala Ala Ser Glu 595 600 605	2000
GCC CCC CAG GAT GTG ACC TAC GCC CAG CTG CAC AGC TTG ACC CTT AGA Ala Pro Gln Asp Val Thr Tyr Ala Gln Leu His Ser Leu Thr Leu Arg 610 615 620	2048
CGG AAG GCA ACT GAG CCT CCT CCA TCC CAG GAA GGG CCC TCT CCA GCT Arg Lys Ala Thr Glu Pro Pro Pro Ser Gln Glu Gly Pro Ser Pro Ala 625 630 635 640	2096
GTG GCG AGC ATC TAC GCC ACT CTG GCC ATC CAC TAG CCCAGGGGGG Val Pro Ser Ile Tyr Ala Thr Leu Ala Ile His * 645 650	2142
GACGCAGACC CCACACTCCA TGGAGTCTGG AATGCATGGG AGCTGCCCCC CCAGTGGACA	2202
CCATTGGACC CCACCCAGCC TGGATCTACC CCAGGAGACT CTGGGAACTT TTAGGGGTCA	2262
CTCAATTCTG CAGTATAAAT AACTAATGTC TCTACAATTT TGAAATAAAG CAACAGACTT	2322
CTCAATAATC AATGAAGTAG CTGAGAAAAC TAAGTCAGAA AGTGCATTAA ACTGAATCAC	2382
AATGTAAATA TTACACATCA AGCGATGAAA CTGGAAAAC TACAAGCCACG AATGAATGAA	2442
TTAGGAAAGA AAAAAAGTAG GAAATGAATG ATCTTGGCTT TCCTATAAGA AATTTAGGGC	2502
AGGGCACGGT GGCTCACGCC TGTAATTCCA GCACTTTGGG AGGCCGAGGC GGGCAGATCA	2562
CGAGTTCAGG AGATCGAGAC CATCTTGGCC AACATGGTGA AACCTGTCT CTCCTAAAAA	2622
TACAAAAATT AGCTGGATGT GGTGGCAGTG CCTGTAATCC CAGCTATTTG GGAGGCTGAG	2682
GCAGGAGAAT CGCTTGAACC AGGGAGTCAG AGGTTTCAGT GAGCCAAGAT CGCACCCTG	2742
CTCTCCAGCC TGGCGACAGA GGGAGACTCC ATCTCAAATT AAAAAAAA	2790

## (2) 配列番号22の情報：

## (i) 配列の特徴：

(A) 長さ：652アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 配列の種類：タンパク質

(xi) 配列：配列番号22：

【 0 2 5 3 】

【数 4 4】

Met Thr Pro Ile Leu Thr Val Leu Ile Cys Leu Gly Leu Ser Leu Gly  
 1 5 10 15

Pro Arg Thr His Val Gln Ala Gly His Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp  
 20 25 30

Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg  
 35 40 45

Cys Gln Gly Gly Gln Glu Thr Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys  
 50 55 60

Lys Thr Ala Pro Trp Ile Thr Arg Ile Pro Gln Glu Leu Val Lys Lys  
 65 70 75 80

Gly Gln Phe Pro Ile Pro Ser Ile Thr Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr  
 85 90 95

Arg Cys Tyr Tyr Gly Ser Asp Thr Ala Gly Arg Ser Glu Ser Ser Asp  
 100 105 110

Pro Leu Glu Leu Val Val Thr Gly Ala Tyr Ile Lys Pro Thr Leu Ser  
 115 120 125

Ala Gln Pro Ser Pro Val Val Asn Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln  
 130 135 140

Cys Asp Ser Gln Val Ala Phe Asp Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly  
 145 150 155 160

Glu Asp Glu His Pro Gln Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly  
 165 170 175

Ser Ser Arg Ala Ile Phe Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg  
 180 185 190

Trp Trp Tyr Arg Cys Tyr Ala Tyr Asp Ser Asn Ser Pro Tyr Glu Trp  
 195 200 205

Ser Leu Pro Ser Asp Leu Leu Glu Leu Leu Val Leu Gly Val Ser Lys  
 210 215 220

Lys Pro Ser Leu Ser Val Gln Pro Gly Pro Ile Val Ala Pro Glu Glu  
 225 230 235 240

Thr Leu Thr Leu Gln Cys Gly Ser Asp Ala Gly Tyr Asn Arg Phe Val  
 245 250 255

Leu Tyr Lys Asp Gly Glu Arg Asp Phe Leu Gln Leu Ala Gly Ala Gln  
 260 265 270

Pro Gln Ala Gly Leu Ser Gln Ala Asn Phe Thr Leu Gly Pro Val Ser  
 275 280 285

Arg Ser Tyr Gly Gly Gln Tyr Arg Cys Tyr Gly Ala His Asn Leu Ser  
 290 295 300

10

20

30

40

【 0 2 5 4 】

【数 4 5】

Ser Glu Trp Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Leu Ile Ala Gly  
305 310 315 320

Gln Phe Tyr Asp Arg Val Ser Leu Ser Val Gln Pro Gly Pro Thr Val  
325 330 335

Ala Ser Gly Glu Asn Val Thr Leu Leu Cys Gln Ser Gln Gly Trp Met  
340 345 350

Gln Thr Phe Leu Leu Thr Lys Glu Gly Ala Ala Asp Asp Pro Trp Arg  
355 360 365

Leu Arg Ser Thr Tyr Gln Ser Gln Lys Tyr Gln Ala Glu Phe Pro Met  
370 375 380

Gly Pro Val Thr Ser Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser  
385 390 395 400

Gln Ser Ser Lys Pro Tyr Leu Leu Thr His Pro Ser Asp Pro Leu Glu  
405 410 415

Leu Val Val Ser Gly Pro Ser Gly Gly Pro Ser Ser Pro Thr Thr Gly  
420 425 430

Pro Thr Ser Thr Ser Gly Pro Glu Asp Gln Pro Leu Thr Pro Thr Gly  
435 440 445

Ser Asp Pro Gln Ser Gly Leu Gly Arg His Leu Gly Val Val Ile Gly  
450 455 460

Ile Leu Val Ala Val Ile Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe  
465 470 475 480

Leu Ile Leu Arg His Arg Arg Gln Gly Lys His Trp Thr Ser Thr Gln  
485 490 495

Arg Lys Ala Asp Phe Gln His Pro Ala Gly Ala Val Gly Pro Glu Pro  
500 505 510

Thr Asp Arg Arg Leu Gln Trp Arg Ser Ser Pro Ala Ala Asp Ala Gln  
515 520 525

Glu Glu Asn Leu Tyr Ala Ala Val Lys His Thr Gln Pro Glu Asp Gly  
530 535 540

Val Glu Met Asp Thr Arg Gln Ser Pro His Asp Glu Asp Pro Gln Ala  
545 550 555 560

Val Thr Tyr Ala Glu Val Lys His Ser Arg Pro Arg Arg Glu Met Ala  
565 570 575

Ser Pro Pro Ser Pro Leu Ser Gly Glu Phe Leu Asp Thr Lys Asp Arg  
580 585 590

Gln Ala Glu Glu Asp Arg Gln Met Asp Thr Glu Ala Ala Ala Ser Glu  
595 600 605

10

20

30

40

【 0 2 5 5】

【数 4 6】

Ala Pro Gln Asp Val Thr Tyr Ala Gln Leu His Ser Leu Thr Leu Arg  
610 615 620

Arg Lys Ala Thr Glu Pro Pro Pro Ser Gln Glu Gly Pro Ser Pro Ala  
625 630 635 640

Val Pro Ser Ile Tyr Ala Thr Leu Ala Ile His \*  
645 650

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/00	A
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 P	37/06 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	37/06	
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	C 1 2 P	21/08	
		A 6 1 P	35/00	

- (72)発明者 ゴセ ジャン アデマ  
オランダ国 エヌエル - 6 5 6 1 イーディー グロエスピーク, ハイドンスタート 5 3
- (72)発明者 リンデ メイヤード  
オランダ国 エヌエル - 1 0 1 3 ケイダブリュー アムステルダム, リーレングラシュト 6 8
- (72)発明者 ダニエル エム. ゴーマン  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 6 0, ニューアーク, セントラル アベニュー 6 3 7 1
- (72)発明者 テリル ケイ. マクラナハン  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 7, サニーベイル, ウィンチェスター ドライブ 1 0 8 1
- (72)発明者 サンドラ エム. ブラウスキー  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 5 0 4 5, サン フアン ボーティスタ, スクール ロード 2 0 0 5
- (72)発明者 ジェラルド ブラウスキー  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 5 0 4 5, サン フアン ボーティスタ, スクール ロード 2 0 0 5
- (72)発明者 ルイス エル. ラニエール  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 2 4, ロス アルトス, フロンテロ アベニュー 1 5 2 8
- (72)発明者 ジョセフ エイチ. フィリップス  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 3 0 3, パロ アルト, ウォルナット ドライブ 1 5 1 1

F ターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA44 BA63 CA04 CA05 CA06 CA07 CA09 CA10  
CA12 DA02 DA06 EA04 FA02 FA07 FA10 GA05 GA11 GA18  
GA19 GA27 HA03 HA08 HA12 HA14  
4B064 AG20 AG27 CA02 CA10 CA19 CA20 CC24 CE12 DA01 DA13  
4B065 AA26X AA94Y AB01 AC14 BA02 BA25 CA24 CA44 CA46  
4C085 AA13 AA14 BB31 CC21 DD88 EE01  
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA42 DA50 DA76 DA86  
EA20 EA50 FA72 FA74 GA26

专利名称(译)	分离的哺乳动物单核细胞基因;相关试剂		
公开(公告)号	<a href="#">JP2008109932A</a>	公开(公告)日	2008-05-15
申请号	JP2007290225	申请日	2007-11-07
[标]申请(专利权)人(译)	先灵公司 先灵葆雅有限公司		
申请(专利权)人(译)	先灵公司		
[标]发明人	ゴセジャンアデマ リンデメイヤード ダニエルエムゴーマン テリルケイマクラナハン サンドラエムズラウスキー ジェラルドズラウスキー ルイスエルラニエール ジョセフエイチフィリップス		
发明人	ゴセ ジャン アデマ リンデ メイヤード ダニエル エム. ゴーマン テリル ケイ. マクラナハン サンドラ エム. ズラウスキー ジェラルド ズラウスキー ルイス エル. ラニエール ジョセフ エイチ. フィリップス		
IPC分类号	C12N15/09 C07K14/705 C07K19/00 C07K16/28 C12P21/02 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A61K39/395 A61P37/06 A61P29/00 C12P21/08 A61P35/00 G01N33/53 A61P37/02 C07K14/47 C07K16/18 C12N15/13		
CPC分类号	A61P29/00 A61P35/00 A61P37/02 A61P37/06 C07K14/70503 C07K2319/00		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K14/705 C07K19/00 C07K16/28 C12P21/02.C C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.A A61K39/395.D A61K39/395.N A61P37/06 A61P29/00 C12P21/08 A61P35/00 C12N15/00. A C12N15/00.AZN.A C12N5/00.101 C12N5/10		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA44 4B024/BA63 4B024/CA04 4B024/CA05 4B024/CA06 4B024 /CA07 4B024/CA09 4B024/CA10 4B024/CA12 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024/FA07 4B024/FA10 4B024/GA05 4B024/GA11 4B024/GA18 4B024/GA19 4B024/GA27 4B024 /HA03 4B024/HA08 4B024/HA12 4B024/HA14 4B064/AG20 4B064/AG27 4B064/CA02 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/CE12 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA26X 4B065 /AA94Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/BA25 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB31 4C085/CC21 4C085/DD88 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045 /AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA42 4H045/DA50 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74 4H045/GA26		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	60/032252 1996-12-06 US 08/762187 1996-12-09 US 60/033181 1996-12-16 US 60/041279 1997-03-21 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

要解决的问题：提供在哺乳动物免疫系统的发育和分化中起作用的基因和/或生理功能的控制。ZSOLUTION：描述了衍生自灵长类动物并编码各种单核细胞蛋白的核酸，与其相关的试剂（包括特异性抗体）和纯化的蛋白质。还提供了使用试剂的方法和相关的诊断试剂盒。本公开内容旨在与在单核细胞中发现的基因相关的组合物，所述单核细胞是在免疫系统中起作用的细胞。这些基因在哺乳动物免疫系统的发育和分化中起作用，和/或控制生理功能。在本公开中，尤其提供了核酸，蛋白质，抗体和使用它们的方法。Z

(51) Int. Cl.	F 1	テーマコード (参考)
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00 ZNAA	4B024
CO7K 14/705 (2006.01)	CO7K 14/705	4B064
CO7K 19/00 (2006.01)	CO7K 19/00	4B065
CO7K 16/28 (2006.01)	CO7K 16/28	4C085
C12P 21/02 (2006.01)	C12P 21/02 C	4H045
	審査請求 有 請求項の数 49 O L (全 90 頁) 最終頁に	
(21) 出願番号	特願2007-290225 (P2007-290225)	(71) 出願人
(22) 出願日	平成19年11月7日(2007.11.7)	596129215
(62) 分類の表示	特願平10-525809の分類	シェリング コーポレーション
原出願日	平成9年12月5日(1987.12.5)	Schering Corporat n
(31) 優先権主張番号	60/032, 252	アメリカ合衆国 ニュージャージー
(32) 優先日	平成8年12月6日(1996.12.6)	033-0530, ケニルワース, キ
(33) 優先権主張国	米国 (US)	ッピング ヒル ロード 2000
(31) 優先権主張番号	08/762, 187	(74) 代理人
(32) 優先日	平成8年12月9日(1996.12.9)	100078282
(33) 優先権主張国	米国 (US)	弁理士 山本 秀策
(31) 優先権主張番号	60/033, 181	(74) 代理人
(32) 優先日	平成8年12月16日(1996.12.16)	100062409
(33) 優先権主張国	米国 (US)	弁理士 安村 高明
(31) 優先権主張番号	60/041, 279	(74) 代理人
(32) 優先日	平成9年3月21日(1997.3.21)	100113413
(33) 優先権主張国	米国 (US)	弁理士 森下 夏樹
		最終頁に続