(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2009-114
(P2009-114A)
(43)公開日　平成21年1月8日(2009.1.8)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	4B024
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4B063
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4B064
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21		4B065
C12N 5/10	(2006.01)	C12N	5/00	A	4H045

審査請求 有　請求項の数 24　ＯＬ　外国語出願　（全 176 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2008-166460 (P2008-166460)
(22)出願日　平成20年6月25日 (2008.6.25)
(62)分割の表示　特願2000-603371 (P2000-603371)の分割
原出願日　平成11年12月2日 (1999.12.2)
(31)優先権主張番号　PCT/US99/05028
(32)優先日　平成11年3月8日 (1999.3.8)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　PCT/US99/20111
(32)優先日　平成11年9月1日 (1999.9.1)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　60/162,506
(32)優先日　平成11年10月29日 (1999.10.29)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　596168317
ジェネンテック・インコーポレーテッド
ＧＥＮＥＮＴＥＣＨ，ＩＮＣ．
アメリカ合衆国カリフオルニア・９４０８０－４９９０・サウス・サン・フランシスコ・ディーエヌエー・ウェイ・１
(74)代理人　100109726
弁理士　園田　吉隆
(74)代理人　100101199
弁理士　小林　義教
(72)発明者　ボッツタイン，デーヴィッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４００２，ベルモント，サマセット　ドライブ　２５３９

最終頁に続く

(54)【発明の名称】腫瘍治療のための組成物及び方法

(57)【要約】　（修正有）
【課題】ヒトを含む哺乳動物における腫瘍細胞成長及び増殖の診断及び治療のための組成物及び方法を提供する。
【解決手段】腫瘍細胞のゲノムにおいて増幅される遺伝子の同定方法。このような遺伝子増幅は、同じ組織型の正常細胞と比較して遺伝子産物の過剰な発現に関連し、腫瘍形成に寄与すると予測される。従って、増幅された遺伝子にコードされるタンパク質は、或る種の癌の診断及び／または治療（予防を含む）に有用であると考えられ、腫瘍治療の予後を予知するように作用する。新規なポリペプチド及び当該ポリペプチドをコードする核酸分子。また、当該核酸配列を含むベクター及び宿主細胞、異種ポリペプチド配列に融合した本発明のポリペプチドを含んでなるキメラポリペプチド分子、本発明のポリペプチドに結合する抗体、及びポリペプチドの製造方法。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに結合する単離された抗体。
【請求項２】
前記ポリペプチドに特異的に結合する請求項１に記載の抗体。
【請求項３】
前記ポリペプチドを発現する細胞の死を誘発する請求項１に記載の抗体。
【請求項４】
前記細胞が前記ポリペプチドを同じ組織型の正常細胞に比較して過剰に発現する癌細胞である請求項３に記載の抗体。
【請求項５】
モノクローナル抗体である請求項１に記載の抗体。
【請求項６】
非ヒトの相補性決定領域（ＣＤＲ）又はヒトフレームワーク領域（ＦＲ）を含む請求項５に記載の抗体。
【請求項７】
標識された請求項１に記載の抗体。
【請求項８】
抗体断片又は一本鎖抗体である請求項１に記載の抗体。
【請求項９】
製薬的に許容される担体と混合された請求項１に記載の抗体を含む物質の組成物。
【請求項１０】
前記抗体の治療的有効量を含有する請求項９に記載の物質の組成物。
【請求項１１】
細胞毒性又は化学治療薬をさらに含有する請求項９に記載の物質の組成物。
【請求項１２】
請求項１に記載の抗体をコードする単離された核酸分子。
【請求項１３】
請求項１２に記載の核酸分子を含むベクター。
【請求項１４】
請求項１３に記載のベクターを含む宿主細胞。
【請求項１５】
ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに結合する抗体の製造方法において、請求項１４に記載の宿主細胞を前記抗体を発現させるのに十分な条件下で培養し、細胞培養物から前記抗体を回収することを含んでなる方法。
【請求項１６】
ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドのアンタゴニスト。
【請求項１７】

前記アンタゴニストが腫瘍細胞成長を阻害する請求項１６に記載のアンタゴニスト。
【請求項１８】
ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードする核酸配列もしくはその相補鎖にハイブリダイズする単離された核酸分子。
【請求項１９】
前記ハイブリッド形成が緊縮性のハイブリッド形成及び洗浄条件下である請求項１８に記載の単離された核酸分子。
【請求項２０】
ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを含有すると推測される試料中で前記ポリペプチドの存在を測定する方法において、当該試料を抗-ＰＲＯ３８１、抗-ＰＲＯ１２６９、抗-ＰＲＯ１４１０、抗-ＰＲＯ１７５５、抗-ＰＲＯ１７８０、抗-ＰＲＯ１７８８、抗-ＰＲＯ３４３４、抗-ＰＲＯ１９２７、抗-ＰＲＯ３５６７、抗-ＰＲＯ１２９５、抗-ＰＲＯ１２９３、抗-ＰＲＯ１３０３、抗-ＰＲＯ４３４４、抗-ＰＲＯ４３５４、抗-ＰＲＯ４３９７、抗-ＰＲＯ４４０７、抗-ＰＲＯ１５５５、抗-ＰＲＯ１０９６、抗-ＰＲＯ２０３８又は抗-ＰＲＯ２２６２抗体に曝露し、前記抗体の試料中の前記ポリペプチドへの結合を測定することを含んでなる方法。
【請求項２１】
前記試料が、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを含むと推測される細胞を含有する請求項２０に記載の方法。
【請求項２２】
前記細胞が癌細胞である請求項２１に記載の方法。
【請求項２３】
哺乳動物における腫瘍を診断する方法において、（ａ）哺乳動物から得た組織細胞の試験試料中、及び（ｂ）同じ細胞型の知られた正常組織細胞の対照試料中でのＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードする遺伝子の発現レベルを検出することを含んでなり、対照試料に比較した試験試料における高い発現レベルが、当該試験組織細胞を得た哺乳動物における腫瘍の存在を示す方法。
【請求項２４】
哺乳動物における腫瘍を診断する方法において、（ａ）抗-ＰＲＯ３８１、抗-ＰＲＯ１２６９、抗-ＰＲＯ１４１０、抗-ＰＲＯ１７５５、抗-ＰＲＯ１７８０、抗-ＰＲＯ１７８８、抗-ＰＲＯ３４３４、抗-ＰＲＯ１９２７、抗-ＰＲＯ３５６７、抗-ＰＲＯ１２９５、抗-ＰＲＯ１２９３、抗-ＰＲＯ１３０３、抗-ＰＲＯ４３４４、抗-ＰＲＯ４３５４、抗-ＰＲＯ４３９７、抗-ＰＲＯ４４０７、抗-ＰＲＯ１５５５、抗-ＰＲＯ１０９６、抗-ＰＲＯ２０３８又は抗-ＰＲＯ２２６２抗体を哺乳動物から得た組織細胞の試験試料と接触させ、そして（ｂ）前記抗体と試験試料中のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０

、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドとの間の複合体の形成を検出することを含んでなり、複合体の形成が前記哺乳動物における腫瘍の存在を示す方法。

【請求項２５】

前記抗体が検出可能に標識された請求項２４に記載の方法。

【請求項２６】

前記組織細胞の試験試料が、腫瘍性細胞成長又は増殖を有すると推測される個体から得られる請求項２４に記載の方法。

【請求項２７】

抗-ＰＲＯ３８１、抗-ＰＲＯ１２６９、抗-ＰＲＯ１４１０、抗-ＰＲＯ１７５５、抗-ＰＲＯ１７８０、抗-ＰＲＯ１７８８、抗-ＰＲＯ３４３４、抗-ＰＲＯ１９２７、抗-ＰＲＯ３５６７、抗-ＰＲＯ１２９５、抗-ＰＲＯ１２９３、抗-ＰＲＯ１３０３、抗-ＰＲＯ４３４４、抗-ＰＲＯ４３５４、抗-ＰＲＯ４３９７、抗-ＰＲＯ４４０７、抗-ＰＲＯ１５５５、抗-ＰＲＯ１０９６、抗-ＰＲＯ２０３８又は抗-ＰＲＯ２２６２抗体及び担体を適切な包装内に含んでなる癌診断用キット。

【請求項２８】

前記抗体が、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを含有することが推測される試料中のそれらの存在を検出するために用いられるという説明書をさらに具備する請求項２７に記載のキット。

【請求項２９】

腫瘍細胞の成長を阻害する方法において、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを発現する腫瘍細胞を、前記ポリペプチドの生物学的活性を阻害する薬剤の有効量に曝露することを含んでなり、それにより前記腫瘍細胞の成長が阻害される方法。

【請求項３０】

前記腫瘍細胞が、同じ組織型の正常細胞に比較して前記ポリペプチドを過剰発現する請求項２９に記載の方法。

【請求項３１】

前記薬剤が、抗-ＰＲＯ３８１、抗-ＰＲＯ１２６９、抗-ＰＲＯ１４１０、抗-ＰＲＯ１７５５、抗-ＰＲＯ１７８０、抗-ＰＲＯ１７８８、抗-ＰＲＯ３４３４、抗-ＰＲＯ１９２７、抗-ＰＲＯ３５６７、抗-ＰＲＯ１２９５、抗-ＰＲＯ１２９３、抗-ＰＲＯ１３０３、抗-ＰＲＯ４３４４、抗-ＰＲＯ４３５４、抗-ＰＲＯ４３９７、抗-ＰＲＯ４４０７、抗-ＰＲＯ１５５５、抗-ＰＲＯ１０９６、抗-ＰＲＯ２０３８又は抗-ＰＲＯ２２６２抗体である請求項２９に記載の方法。

【請求項３２】

前記抗-ＰＲＯ３８１、抗-ＰＲＯ１２６９、抗-ＰＲＯ１４１０、抗-ＰＲＯ１７５５、抗-ＰＲＯ１７８０、抗-ＰＲＯ１７８８、抗-ＰＲＯ３４３４、抗-ＰＲＯ１９２７、抗-ＰＲＯ３５６７、抗-ＰＲＯ１２９５、抗-ＰＲＯ１２９３、抗-ＰＲＯ１３０３、抗-ＰＲＯ４３４４、抗-ＰＲＯ４３５４、抗-ＰＲＯ４３９７、抗-ＰＲＯ４４０７、抗-ＰＲＯ１５５５、抗-ＰＲＯ１０９６、抗-ＰＲＯ２０３８又は抗-ＰＲＯ２２６２抗体が細胞死を誘発する請求項３１に記載の方法。

【請求項３３】

前記腫瘍細胞に、放射線処理、細胞毒性薬又は化学治療薬をさらに施す請求項２９に記載の方法。
【請求項３４】
腫瘍細胞の成長を阻害する方法において、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを発現する腫瘍細胞を、前記ポリペプチドの発現を阻害する薬剤の有効量に曝露することを含んでなり、それにより前記腫瘍細胞の成長が阻害される方法。
【請求項３５】
前記腫瘍細胞が、同じ組織型の正常細胞に比較して前記ポリペプチドを過剰発現する請求項３４に記載の方法。
【請求項３６】
前記薬剤が、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードする核酸もしくはその相補鎖にハイブリッド形成するアンチセンスオリゴヌクレオチド、である請求項３４に記載の方法。
【請求項３７】
前記腫瘍細胞に、放射線処理、細胞毒性薬又は化学治療薬をさらに施す請求項３６に記載の方法。
【請求項３８】
容器；
当該容器上のラベル；及び
当該容器内に収容された活性剤を含有する組成物とを具備し、当該組成物が腫瘍細胞の成長を阻害するのに有効であり、容器上のラベルが当該組成物は前記腫瘍細胞中での同じ組織型の正常細胞に比較してＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの過剰発現を特徴とする状態の治療に有効であることを表示する製造品。
【請求項３９】
前記活性剤が、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの生物学的活性及び／又は発現を阻害する請求項３８に記載の製造品。
【請求項４０】
前記活性剤が抗-ＰＲＯ３８１、抗-ＰＲＯ１２６９、抗-ＰＲＯ１４１０、抗-ＰＲＯ１７５５、抗-ＰＲＯ１７８０、抗-ＰＲＯ１７８８、抗-ＰＲＯ３４３４、抗-ＰＲＯ１９２７、抗-ＰＲＯ３５６７、抗-ＰＲＯ１２９５、抗-ＰＲＯ１２９３、抗-ＰＲＯ１３０３、抗-ＰＲＯ４３４４、抗-ＰＲＯ４３５４、抗-ＰＲＯ４３９７、抗-ＰＲＯ４４０７、抗-ＰＲＯ１５５５、抗-ＰＲＯ１０９６、抗-ＰＲＯ２０３８又は抗-ＰＲＯ２２６２抗体である請求項３９に記載の製造品。
【請求項４１】
前記活性剤が、アンチセンスオリゴヌクレオチドである請求項３９に記載の製造品。

【請求項４２】
ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの生物学的又は免疫学的活性を阻害する化合物を同定する方法において、候補化合物を前記ポリペプチドと、２つの成分が相互作用するのに十分な条件下及び時間で接触させ、前記ポリペプチドの生物学的又は免疫学的活性が阻害されるか否かを測定することを含んでなる方法。
【請求項４３】
前記候補化合物が、抗-ＰＲＯ３８１、抗-ＰＲＯ１２６９、抗-ＰＲＯ１４１０、抗-ＰＲＯ１７５５、抗-ＰＲＯ１７８０、抗-ＰＲＯ１７８８、抗-ＰＲＯ３４３４、抗-ＰＲＯ１９２７、抗-ＰＲＯ３５６７、抗-ＰＲＯ１２９５、抗-ＰＲＯ１２９３、抗-ＰＲＯ１３０３、抗-ＰＲＯ４３４４、抗-ＰＲＯ４３５４、抗-ＰＲＯ４３９７、抗-ＰＲＯ４４０７、抗-ＰＲＯ１５５５、抗-ＰＲＯ１０９６、抗-ＰＲＯ２０３８又は抗-ＰＲＯ２２６２抗体である請求項４２に記載の方法。
【請求項４４】
前記候補化合物又はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドが固体支持体に固定化される請求項４２に記載の方法。
【請求項４５】
非固定化成分が検出可能に標識される請求項４４に記載の方法。
【請求項４６】
ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの活性を阻害する化合物を同定する方法において、（ａ）細胞とスクリーニングすべき候補化合物とを、前記ポリペプチドの存在下で、前記ポリペプチドによって通常誘発される細胞性反応の誘発に適した条件下で接触させ、そして（ｂ）前記細胞性反応の誘発を測定して試験化合物が有効なアンタゴニストか否かを決定することを含んでなり、前記細胞性反応の誘発を欠くことが前記化合物が有効なアンタゴニストであることを示す方法。
【請求項４７】
ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを発現する細胞で前記ポリペプチドの発現を阻害する化合物を同定する方法において、前記細胞を候補化合物と接触させ、前記ポリペプチドの発現が阻害されるか否かを測定することを含んでなる方法。
【請求項４８】
前記候補化合物がアンチセンスオリゴヌクレオチドである請求項４７に記載の方法。
【請求項４９】
Ｆｉｇ２（配列番号：２）、Ｆｉｇ４（配列番号：７）、Ｆｉｇ６（配列番号：９）、Ｆｉｇ８（配列番号：１１）、Ｆｉｇ１０（配列番号：１３）、Ｆｉｇ１２（配列番号：１８）、Ｆｉｇ１４（配列番号：２３）、Ｆｉｇ１６（配列番号：２５）、Ｆｉｇ１８（配列番号：２７）、Ｆｉｇ２０（配列番号：２９）、Ｆｉｇ２２（配列番号：３１）、Ｆｉ

ｇ２４（配列番号：３３）、Ｆｉｇ２６（配列番号：３５）、Ｆｉｇ２８（配列番号：４０）、Ｆｉｇ３０（配列番号：４２）、Ｆｉｇ３２（配列番号：４７）、Ｆｉｇ３４（配列番号：４９）、Ｆｉｇ３６（配列番号：５１）、Ｆｉｇ３８（配列番号：５３）、及びＦｉｇ４０（配列番号：５５）に示すアミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列と少なくとも８０％の核酸配列同一性を持つ単離された核酸。

【請求項５０】

Ｆｉｇ１（配列番号：１）、Ｆｉｇ３（配列番号：６）、Ｆｉｇ５（配列番号：８）、Ｆｉｇ７（配列番号：１０）、Ｆｉｇ９（配列番号：１２）、Ｆｉｇ１１（配列番号：１７）、Ｆｉｇ１３（配列番号：２２）、Ｆｉｇ１５（配列番号：２４）、Ｆｉｇ１７（配列番号：２６）、Ｆｉｇ１９（配列番号：２８）、Ｆｉｇ２１（配列番号：３０）、Ｆｉｇ２３（配列番号：３２）、Ｆｉｇ２５（配列番号：３４）、Ｆｉｇ２７（配列番号：３９）、Ｆｉｇ２９（配列番号：４１）、Ｆｉｇ３１（配列番号：４６）、Ｆｉｇ３３（配列番号：４８）、Ｆｉｇ３５（配列番号：５０）、Ｆｉｇ３７（配列番号：５２）、及びＦｉｇ３９（配列番号：５４）に示すヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも８０％の核酸配列同一性を持つ単離された核酸。

【請求項５１】

Ｆｉｇ１（配列番号：１）、Ｆｉｇ３（配列番号：６）、Ｆｉｇ５（配列番号：８）、Ｆｉｇ７（配列番号：１０）、Ｆｉｇ９（配列番号：１２）、Ｆｉｇ１１（配列番号：１７）、Ｆｉｇ１３（配列番号：２２）、Ｆｉｇ１５（配列番号：２４）、Ｆｉｇ１７（配列番号：２６）、Ｆｉｇ１９（配列番号：２８）、Ｆｉｇ２１（配列番号：３０）、Ｆｉｇ２３（配列番号：３２）、Ｆｉｇ２５（配列番号：３４）、Ｆｉｇ２７（配列番号：３９）、Ｆｉｇ２９（配列番号：４１）、Ｆｉｇ３１（配列番号：４６）、Ｆｉｇ３３（配列番号：４８）、Ｆｉｇ３５（配列番号：５０）、Ｆｉｇ３７（配列番号：５２）、及びＦｉｇ３９（配列番号：５４）に示すヌクレオチド配列の完全長コード化配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも８０％の核酸配列同一性を持つ単離された核酸。

【請求項５２】

ＡＴＣＣ登録番号２０９８０８、２０３２２６、２０３２７７、２０３４７１、２０３４６７、２０３４８０、２０３６５１、２０３５３７、２０３６６２、２０３２８７、２０３２９２、２０３２３２、２０３８６５、２０３８９１、１３２-ＰＴＡ、２０３９６９又は２０３３２２

の下で寄託されたＤＮＡの完全長コード化配列と少なくとも８０％の核酸配列同一性を持つ単離された核酸。

【請求項５３】

請求項４９から５２のいずれか一項に記載の核酸を含むベクター。

【請求項５４】

当該ベクターで形質転換された宿主細胞によって認識されるコントロール配列に作用可能に結合した請求項５３に記載のベクター。

【請求項５５】

請求項５３に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項５６】

前記細胞がＣＨＯ細胞である請求項５５に記載の宿主細胞。

【請求項５７】

前記細胞が大腸菌である請求項５５に記載の宿主細胞。

【請求項５８】

前記細胞が酵母菌細胞である請求項５５に記載の宿主細胞。

【請求項５９】

前記細胞がバキュウロウイルス感染昆虫細胞である請求項５５に記載の宿主細胞。

【請求項６０】

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの製造方法において、請求項５５に記載の宿主細胞を前記ポリペプチドを発現させるのに十分な条件下で培養し、細胞培地から前記ポリペプチドを回収することを含んでなる方法。

【請求項６１】

Ｆｉｇ２（配列番号：２）、Ｆｉｇ４（配列番号：７）、Ｆｉｇ６（配列番号：９）、Ｆｉｇ８（配列番号：１１）、Ｆｉｇ１０（配列番号：１３）、Ｆｉｇ１２（配列番号：１８）、Ｆｉｇ１４（配列番号：２３）、Ｆｉｇ１６（配列番号：２５）、Ｆｉｇ１８（配列番号：２７）、Ｆｉｇ２０（配列番号：２９）、Ｆｉｇ２２（配列番号：３１）、Ｆｉｇ２４（配列番号：３３）、Ｆｉｇ２６（配列番号：３５）、Ｆｉｇ２８（配列番号：４０）、Ｆｉｇ３０（配列番号：４２）、Ｆｉｇ３２（配列番号：４７）、Ｆｉｇ３４（配列番号：４９）、Ｆｉｇ３６（配列番号：５１）、Ｆｉｇ３８（配列番号：５３）、及びＦｉｇ４０（配列番号：５５）に示すアミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配と少なくとも８０％のアミノ酸配列同一性を持つ単離されたポリペプチド。

【請求項６２】

Ｆｉｇ２（配列番号：２）、Ｆｉｇ４（配列番号：７）、Ｆｉｇ６（配列番号：９）、Ｆｉｇ８（配列番号：１１）、Ｆｉｇ１０（配列番号：１３）、Ｆｉｇ１２（配列番号：１８）、Ｆｉｇ１４（配列番号：２３）、Ｆｉｇ１６（配列番号：２５）、Ｆｉｇ１８（配列番号：２７）、Ｆｉｇ２０（配列番号：２９）、Ｆｉｇ２２（配列番号：３１）、Ｆｉｇ２４（配列番号：３３）、Ｆｉｇ２６（配列番号：３５）、Ｆｉｇ２８（配列番号：４０）、Ｆｉｇ３０（配列番号：４２）、Ｆｉｇ３２（配列番号：４７）、Ｆｉｇ３４（配列番号：４９）、Ｆｉｇ３６（配列番号：５１）、Ｆｉｇ３８（配列番号：５３）、及びＦｉｇ４０（配列番号：５５）に示すアミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列と比較した場合、少なくとも８０％ポジティブのスコアをつけられる単離されたポリペプチド。

【請求項６３】

ＡＴＣＣ登録番号２０９８０８、２０３２２６、２０３２７７、２０３４７１、２０３４６７、２０３４８０、２０３６５１、２０３５３７、２０３６６２、２０３２８７、２０３２９２、２０３２３２、２０３８６５、２０３８９１、１３２-ＰＴＡ、２０３９６９又は２０３３２２の下で寄託されたＤＮＡの完全長コード化配列によってコードされるアミノ酸配列と少なくとも８０％のアミノ酸配列同一性を持つ単離されたポリペプチド。

【請求項６４】

異種アミノ酸配列に結合した請求項６１から６３のいずれか一項に記載のポリペプチドを含んでなるキメラ分子。

【請求項６５】

異種アミノ酸配列がエピトープタグ配列である請求項６４に記載のキメラ分子。

【請求項６６】

異種アミノ酸配列が免疫グロブリンのＦｃ領域である請求項６４に記載のキメラ分子。

【請求項６７】

請求項６１から６３のいずれか一項に記載のポリペプチドに特異的に結合する抗体。

【請求項６８】

前記抗体がモノクローナル抗体、ヒト化抗体又は一本鎖抗体である請求項６７に記載の抗体。

【請求項６９】

（ａ）Ｆｉｇ２（配列番号：２）、Ｆｉｇ４（配列番号：７）、Ｆｉｇ６（配列番号：９）、Ｆｉｇ８（配列番号：１１）、Ｆｉｇ１０（配列番号：１３）、Ｆｉｇ１２（配列番号：１８）、Ｆｉｇ１４（配列番号：２３）、Ｆｉｇ１６（配列番号：２５）、Ｆｉｇ１

８（配列番号：２７）、Ｆｉｇ２０（配列番号：２９）、Ｆｉｇ２２（配列番号：３１）、Ｆｉｇ２４（配列番号：３３）、Ｆｉｇ２６（配列番号：３５）、Ｆｉｇ２８（配列番号：４０）、Ｆｉｇ３０（配列番号：４２）、Ｆｉｇ３２（配列番号：４７）、Ｆｉｇ３４（配列番号：４９）、Ｆｉｇ３６（配列番号：５１）、Ｆｉｇ３８（配列番号：５３）、及びＦｉｇ４０（配列番号：５５）に示すポリペプチドであって付随するシグナルペプチドを欠くものをコードするヌクレオチド配列；

（ｂ）Ｆｉｇ２（配列番号：２）、Ｆｉｇ４（配列番号：７）、Ｆｉｇ６（配列番号：９）、Ｆｉｇ８（配列番号：１１）、Ｆｉｇ１０（配列番号：１３）、Ｆｉｇ１２（配列番号：１８）、Ｆｉｇ１４（配列番号：２３）、Ｆｉｇ１６（配列番号：２５）、Ｆｉｇ１８（配列番号：２７）、Ｆｉｇ２０（配列番号：２９）、Ｆｉｇ２２（配列番号：３１）、Ｆｉｇ２４（配列番号：３３）、Ｆｉｇ２６（配列番号：３５）、Ｆｉｇ２８（配列番号：４０）、Ｆｉｇ３０（配列番号：４２）、Ｆｉｇ３２（配列番号：４７）、Ｆｉｇ３４（配列番号：４９）、Ｆｉｇ３６（配列番号：５１）、Ｆｉｇ３８（配列番号：５３）、及びＦｉｇ４０（配列番号：５５）に示すポリペプチドの細胞外ドメインであってそれに付随するシグナルペプチドを持つものをコードするヌクレオチド配列；又は

（ｃ）Ｆｉｇ２（配列番号：２）、Ｆｉｇ４（配列番号：７）、Ｆｉｇ６（配列番号：９）、Ｆｉｇ８（配列番号：１１）、Ｆｉｇ１０（配列番号：１３）、Ｆｉｇ１２（配列番号：１８）、Ｆｉｇ１４（配列番号：２３）、Ｆｉｇ１６（配列番号：２５）、Ｆｉｇ１８（配列番号：２７）、Ｆｉｇ２０（配列番号：２９）、Ｆｉｇ２２（配列番号：３１）、Ｆｉｇ２４（配列番号：３３）、Ｆｉｇ２６（配列番号：３５）、Ｆｉｇ２８（配列番号：４０）、Ｆｉｇ３０（配列番号：４２）、Ｆｉｇ３２（配列番号：４７）、Ｆｉｇ３４（配列番号：４９）、Ｆｉｇ３６（配列番号：５１）、Ｆｉｇ３８（配列番号：５３）、及びＦｉｇ４０（配列番号：５５）に示すポリペプチドの細胞外ドメインであってそれに付随するシグナルペプチドを欠くものをコードするヌクレオチド配列と少なくとも８０％の核酸配列同一性を持つ単離された核酸。

【請求項７０】

（ａ）Ｆｉｇ２（配列番号：２）、Ｆｉｇ４（配列番号：７）、Ｆｉｇ６（配列番号：９）、Ｆｉｇ８（配列番号：１１）、Ｆｉｇ１０（配列番号：１３）、Ｆｉｇ１２（配列番号：１８）、Ｆｉｇ１４（配列番号：２３）、Ｆｉｇ１６（配列番号：２５）、Ｆｉｇ１８（配列番号：２７）、Ｆｉｇ２０（配列番号：２９）、Ｆｉｇ２２（配列番号：３１）、Ｆｉｇ２４（配列番号：３３）、Ｆｉｇ２６（配列番号：３５）、Ｆｉｇ２８（配列番号：４０）、Ｆｉｇ３０（配列番号：４２）、Ｆｉｇ３２（配列番号：４７）、Ｆｉｇ３４（配列番号：４９）、Ｆｉｇ３６（配列番号：５１）、Ｆｉｇ３８（配列番号：５３）、及びＦｉｇ４０（配列番号：５５）に示すポリペプチドであって付随するシグナルペプチドを欠くもの；

（ｂ）Ｆｉｇ２（配列番号：２）、Ｆｉｇ４（配列番号：７）、Ｆｉｇ６（配列番号：９）、Ｆｉｇ８（配列番号：１１）、Ｆｉｇ１０（配列番号：１３）、Ｆｉｇ１２（配列番号：１８）、Ｆｉｇ１４（配列番号：２３）、Ｆｉｇ１６（配列番号：２５）、Ｆｉｇ１８（配列番号：２７）、Ｆｉｇ２０（配列番号：２９）、Ｆｉｇ２２（配列番号：３１）、Ｆｉｇ２４（配列番号：３３）、Ｆｉｇ２６（配列番号：３５）、Ｆｉｇ２８（配列番号：４０）、Ｆｉｇ３０（配列番号：４２）、Ｆｉｇ３２（配列番号：４７）、Ｆｉｇ３４（配列番号：４９）、Ｆｉｇ３６（配列番号：５１）、Ｆｉｇ３８（配列番号：５３）、及びＦｉｇ４０（配列番号：５５）に示すポリペプチドの細胞外ドメインであってそれに付随するシグナルペプチドを持つもの；又は

（ｃ）Ｆｉｇ２（配列番号：２）、Ｆｉｇ４（配列番号：７）、Ｆｉｇ６（配列番号：９）、Ｆｉｇ８（配列番号：１１）、Ｆｉｇ１０（配列番号：１３）、Ｆｉｇ１２（配列番号：１８）、Ｆｉｇ１４（配列番号：２３）、Ｆｉｇ１６（配列番号：２５）、Ｆｉｇ１８（配列番号：２７）、Ｆｉｇ２０（配列番号：２９）、Ｆｉｇ２２（配列番号：３１）、Ｆｉｇ２４（配列番号：３３）、Ｆｉｇ２６（配列番号：３５）、Ｆｉｇ２８（配列番号：４０）、Ｆｉｇ３０（配列番号：４２）、Ｆｉｇ３２（配列番号：４７）、Ｆｉｇ

３４（配列番号：４９）、Ｆｉｇ３６（配列番号：５１）、Ｆｉｇ３８（配列番号：５３）、及びＦｉｇ４０（配列番号：５５）に示すポリペプチドの細胞外ドメインであってそれに付随するシグナルペプチドを欠くもの
と少なくとも８０％のアミノ酸配列同一性を持つ単離されたポリペプチド。
【発明の詳細な説明】
【発明の詳細な説明】
【０００１】
（発明の分野）
本発明は、腫瘍の診断及び治療のための組成物及び方法に関する。
【０００２】
（発明の背景）
悪性腫瘍（癌）は、米国において心臓疾患に続き第２の主要な死亡原因である（Boring等, CA Cancel J. Clin., 43: 7 [1993]）。
癌は、正常な組織から誘導されて腫瘍実体を形成する異常な、又は腫瘍形成性の細胞数の増加、これらの腫瘍形成性腫瘍細胞による隣接組織の侵襲、及び最終的に血液やリンパ系を介して局所のリンパ節及び離間部位に拡散（転移）する悪性細胞の生成を特徴とする。癌性状態においては、正常細胞が成長しない条件下で細胞が増殖する。癌自体は、異なる侵襲及び攻撃性の程度で特徴付けられる広範な種々の形態で顕現する。
遺伝子発現の変化は制御不能な細胞成長及び脱分化に強く関連しており、全ての癌に共通する特徴である。或る種の良く研究された癌のゲノムにおいて、通常は腫瘍抑制遺伝子と呼ばれ、正常には悪性細胞成長又は或る種の優性遺伝子、例えば悪性成長を促進する用に作用するオンコジーンの過剰発現を防止するように作用する劣性遺伝子発現の減少を示すことが見出された。これらの遺伝子変化は、凝集して完全な腫瘍形成性フェノタイプを示す形質の幾つかが移入される原因であることが明らかとなった（Hunter, Cell 64: 1129 [1991]; Bishop, Cell 64: 235-248 [1991]）。
【０００３】
癌細胞における良く知られた遺伝子（例えばオンコジーン）過剰発現のメカニズムは遺伝子増幅である。これは、祖先細胞の染色体において特定遺伝子の多重コピーが生成されるプロセスである。このプロセスは、遺伝子を含む染色体の領域の計画性のない複製、次いで複製されたセグメントが染色体へ戻る再組換えを含む（Alitalo等, Adv. Cancer Res. 47: 235-281 [1986]）。遺伝子の過剰発現は、遺伝子増幅と並行して起こる、即ち、作成されるコピーの数に比例すると考えられる。
成長因子及び成長因子レセプターをコードするプロトオンコジーンは、乳癌を含む、様々なヒトの悪性腫瘍の原因に重要な役割を担っていることが確認されている。例えば、表皮成長因子レセプター(ＥＧＦＲ)に関連した１８５-ｋｄの膜貫通糖タンパク質レセプター(ｐ１８５^{ＨＥＲ２}、ＨＥＲ２又はｃ-ｅｒｂＢ-２)をコードするヒトＥｒｂＢ２遺伝子(ｅｒｂＢ２、ｈｅｒ２としても知られている、又はｃ-ｅｒｂＢ-２)は、ヒトの乳癌の約２５％～３０％で過剰発現されていることが見出されている(Slamon等, Science 235:177-182[1987]；Slamon等, Science 244:707-712[1989])。
【０００４】
プロトオンコジーンの遺伝子増幅は、典型的には癌のより悪性の形態に関わる事象であり、臨床的結果の予言者として作用しうることが報告されている（Schwab等, Genes Chromosome Cancer 1, 181-193 [1990]; Alitalo等, 上掲）。即ち、ｅｒｂＢ２の過剰発現は、特に腋窩のリンパ節を含む一次疾患を持つ患者において、不完全な予後の前兆と一般に見なされており（Slamon等, [1987]及び[1989], 上掲; Ravdin及びChamness, Gene 159: 19-27 [1995]; 及びHynes及びStern, Biochem Biophys Acta 1198: 165-184 [1994]）、ホルモン療法及びＣＭＦ（シクロホスファミド、メトトレキセート、及びフルオロウラシル）を含む化学治療薬に対する感受性又は耐性と関連付けられていた（Baselga等, Oncology 11 (3 Suppl 1): 43-48 [1997]）。しかしながら、ｅｒｂＢ２過剰発現と不完全な予後との関連にも関わらず、ＨＥＲ２-ポジティブな患者のタキサンでの処理に臨床的に反

応する可能性は、ＨＥＲ２-ネガティブ患者の３倍も大きかった（上掲）。組換えヒト化抗-ＥｒｂＢ２（抗-ＨＥＲ２）モノクローナル抗体（マウス抗-ＥｒｂＢ２抗体４Ｄ５のヒト化型、ｒｈｕＭＡｂ ＨＥＲ２又はHerceptin(商品名)と呼ばれる）は、広範な従来の抗癌治療を受けたＥｒｂＢ２を過剰発現する転移性乳癌を持つ患者で臨床的に活性である。（Baselga等, J. Clin. Oncol. 14: 737-744[1996]）。

上記に照らして遺伝子増幅に関連する腫瘍の診断及び治療に有用な新規な方法及び組成物を同定することに明らかな興味がある。

【０００５】

（発明の概要）

Ａ．実施態様

本発明は、ヒトを含む哺乳動物における腫瘍細胞成長及び増殖の診断及び治療のための組成物及び方法に関する。本発明は、腫瘍細胞のゲノムにおいて増幅される遺伝子の同定に基づく。このような遺伝子増幅は、遺伝子産物の過剰発現に関連し、腫瘍形成に寄与すると予測される。従って、増幅された遺伝子にコードされるタンパク質は、或る種の癌の診断及び治療（予防を含む）に有用であると考えられ、腫瘍治療の予後を予測する手掛かりとして作用する。

一実施態様では、本発明は、ここでＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドと命名されるポリペプチドに結合する単離された抗体に関する。一態様では、単離された抗体は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに特異的に結合する。他の態様では、抗体はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを発現する細胞の死を誘発する。多くの場合、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを発現する細胞は、同じ組織型の正常細胞に比較して当該ポリペプチドを過剰に発現する腫瘍細胞である。さらに他の態様では、抗体はモノクローナル抗体であり、それは好ましくは非ヒトの相補性決定領域（ＣＤＲ）及びヒトフレームワーク領域（ＦＲ）残基を有する。抗体は標識されても固体支持体に固定化されてもよい。さらに他の態様では、抗体は抗体断片、一本鎖抗体、又はヒト化抗体であって、好ましくはＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに特異的に結合する。

【０００６】

他の実施態様では、本発明は、製薬的に許容される担体と混合された、好ましくはＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ

４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに特異的に結合する抗体とを含む物質の組成物に関する。一態様では、この物質の組成物は抗体の治療的有効量を含有する。他の態様では、この組成物は、例えば更なる抗体又は細胞毒性又は化学治療薬であってよい更なる成分を含有する。好ましくは、この組成物は無菌である。

さらなる実施態様では、本発明は抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体をコードする単離された核酸分子、及びそのような核酸分子を含むベクター及び組換え宿主細胞に関する。

またさらなる実施態様では、本発明は抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体の製造方法に関し、当該方法は、その抗体をコードする核酸分子で形質転換した宿主細胞を当該抗体を発現させるのに十分な条件下で培養し、細胞培地から抗体を回収することを含んでなる。

さらに本発明は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの生物学的及び／又は免疫学的機能又は活性の一又は複数を阻害するＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドのアンタゴニストに関する。

【０００７】

さらなる実施態様では、本発明は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド、をコードする核酸配列もしくはその相補鎖にハイブリッド形成する単離された核酸分子に関する。単離された核酸分子は、好ましくはＤＮＡであり、ハイブリッド形成は好ましくは緊縮性ハイブリッド形成及び洗浄条件下で起こる。このような核酸分子は、ここで同定される増幅された遺伝子のアンチセンス分子として作用でき、また翻って各増幅遺伝子の転写及び／又は翻訳の変調において、又は増幅反応におけるアンチセンスプライマーとしての用途が見出される。さらに、このような配列は、リボザイム(ribozyme)及び／又は三重螺旋配列の一部として使用することができ、それは翻って増幅遺伝子の調節において使用してもよい。

他の実施態様では、本発明は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを含有すると推測される試料中でＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９

３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの存在を測定する方法を提供し、当該方法は、当該試料を抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体に曝露し、当該抗体の試料中のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドへの結合を測定することを含んでなる。他の実施態様では、本発明は、細胞中でのＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの存在を測定する方法を提供し、当該方法は、当該細胞を抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体に接触させ、抗体の細胞への結合を測定することを含んでなる。

【０００８】

さらに他の実施態様では、本発明は、哺乳動物において腫瘍を診断する方法に関し、（ａ）哺乳動物から得た組織細胞の試験試料中、及び（ｂ）同じ細胞型の知られた正常組織細胞の対照試料中におけるＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードする遺伝子の発現レベルを検出することを含んでなり、対照試料に比較した試験試料における高いレベルが、当該試験組織細胞を得た哺乳動物における腫瘍の存在を示す。

他の実施態様においては、本発明は、哺乳類動物において腫瘍を診断する方法に関し、（ａ）抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体を哺乳動物から得た組織細胞の試験試料と接触させ、そして（ｂ）抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体と試験試料中のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２

ポリペプチドとの間の複合体の形成を検出することを含んでなり、複合体の形成が前記哺乳動物における腫瘍の存在を示す。検出は定性的でも定量的でもよく、同じ細胞型の知られた正常組織細胞の対照試料における複合体形成の検出状況とと比較することで実施してもよい。試験試料中の複合体形成量の増加が、試験試料を得た哺乳動物における腫瘍の存在を示す。抗体は、好ましくは検出可能な標識を担持する。複合体形成は、例えば、光学顕微鏡、フローサイトメトリー、蛍光定量法、又はこの分野で公知の他の技術によって検出できる。

試験試料は通常、腫瘍性細胞成長又は増殖（例えば癌性細胞）を有すると推測される個体から得る。

【０００９】

他の実施態様では、本発明は、抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体及び担体（例えばバッファー）を適切な包装内に含んでなる癌診断用キットに関する。このキットは、好ましくは当該抗体が、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを含有することが推測される試料中のそれらの存在ををを検出するために用いられるという説明書を具備する。

さらに他の実施態様では、本発明は腫瘍細胞の成長を阻害する方法に関し、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを発現する腫瘍細胞を、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの生物学的及び／又は免疫学的活性及び／又は発現を阻害する薬剤の有効量に曝露することを含んでなり、それにより当該腫瘍細胞の成長が阻害される。この薬剤は、好ましくは抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体、小さな有機及び無機分子、ペプチド、リンペプチド、アンチセンス又はリボザイム分子、又は三重螺旋分子である。

特別な態様では、薬剤、例えば抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体は細胞死を誘発する。さらなる態様では、腫瘍細胞には、放射線処理、細胞毒性薬又は化学治療薬がさらに施される。

さらなる実施態様では、本発明は、

容器；

当該容器上のラベル；及び
当該容器内に収容された活性剤を含有する組成物とを具備し、当該組成物が腫瘍細胞の成長を阻害するのに有効であり、容器上のラベルが当該組成物は前記腫瘍細胞中で同じ組織型の正常細胞に比較してＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの過剰発現を特徴とする状態の治療に有効であることを表示する製造品に関する。特別な態様では、組成物中の活性剤は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの活性及び／又は発現を阻害する薬剤である。好ましい態様では、活性剤は抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体又はアンチセンスオリゴヌクレオチドである。

【００１０】
また本発明は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの生物学的又は免疫学的活性を阻害する化合物を同定する方法を提供し、候補化合物をＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドと、２つの成分が相互作用するのに十分な条件下及び時間で接触させ、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの生物学的及び／又は免疫学的活性が阻害されるか否かを測定することを含んでなる。特別な態様では、候補化合物又はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドのいずれかが固体支持体に固定化される。他の態様では、非固定化成分が検出可能な標識を担持している。好ましい態様では、この方法は、（ａ）細胞とスクリーニングすべき候補化合物とを、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの存在下で、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５

４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドによって通常誘発される細胞性反応の誘発に適した条件下で接触させ、そして（ｂ）前記細胞性反応の誘発を測定して試験化合物が有効なアンタゴニストか否かを決定することを含んでなる。

他の実施態様では、本発明はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを発現する細胞で前記ポリペプチドの発現を阻害する化合物を同定する方法を提供し、当該細胞を候補化合物と接触させ、前記ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの発現が阻害されるか否かを測定することを含んでなる。好ましい態様では、この方法は、（ａ）細胞とスクリーニングすべき候補化合物とを、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの発現に適した条件下ででで接触させ、（ｂ）前記ポリペプチド発現の阻害を測定する工程を具備する。

【００１１】

Ｂ．　さらなる実施態様

本発明の他の実施態様では、当該発明は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードする核酸配列を含む単離された核酸分子を提供する。

一態様では、単離された核酸分子は、（ａ）ここに開示する完全長アミノ酸配列、ここに開示するシグナルペプチドを欠くアミノ酸配列、ここに開示するシグナルペプチド有又は無の膜貫通タンパク質の細胞外ドメイン、又はここに開示する完全長アミノ酸配列の特に同定された他の断片を持つＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードするＤＮＡ分子、又は（ｂ）（ａ）のＤＮＡ分子の相補鎖に対して少なくとも約８０％の配列同一性、好ましくは少なくとも約８１％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８２％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８３％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８４％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８５％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８６％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８７％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８８％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８９％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９０％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９１％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９２％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９３％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９４％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９５％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９６％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９７％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９８％の配列同一性、そして、より好ましくは少なくとも約９９％の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む。

【００１２】
他の態様では、単離された核酸分子は、（ａ）ここに開示するＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドｃＤＮＡコード化配列、ここに開示するシグナルペプチドを欠くＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドのコード化配列、ここに開示するシグナルペプチド有又は無のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの細胞外ドメインのコード化配列、又はここに開示する完全長アミノ酸配列の特に同定された他の断片のコード化配列を持つＤＮＡ分子、又は（ｂ）（ａ）のＤＮＡ分子の相補鎖に対して少なくとも約８０％の配列同一性、好ましくは少なくとも約８１％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８２％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８３％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８４％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８５％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８６％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８７％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８８％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８９％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９０％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９１％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９２％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９３％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９４％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９５％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９６％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９７％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９８％の配列同一性、そして、より好ましくは少なくとも約９９％の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む。

【００１３】
さらなる態様では、本発明は（ａ）ここに開示するＡＴＣＣに寄託されたヒトタンパク質ｃＤＮＡの任意のものにコードされるのと同じ成熟ポリペプチドをコードするＤＮＡ分子、又は（ｂ）（ａ）のＤＮＡ分子の相補鎖に対して少なくとも約８０％の配列同一性、好ましくは少なくとも約８１％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８２％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８３％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８４％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８５％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８６％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８７％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８８％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８９％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９０％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９１％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９２％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９３％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９４％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９５％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９６％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９７％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９８％の配列同一性、そして、より好ましくは少なくとも約９９％の配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子に関する。

【００１４】
本発明の他の態様は、膜貫通ドメインが欠失しているか又は膜貫通ドメインが不活性化されているＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１

２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、又はそのようなコード化ヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子を提供し、そのようなポリペプチドの膜貫通ドメインはここに開示される。従って、ここに記載されるＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの可溶性細胞外ドメインが考慮される。

【００１５】

他の実施態様はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドコード化配列の断片、又はその相補鎖に向けられ、それらは、例えば、場合によっては抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体に対する結合部位を含むポリペプチドをコードするＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドのコード化断片のハイブリッド形成プローブとして、又はアンチセンスオリゴヌクレオチドプローブとしての用途が見いだされる。このような核酸断片は、通常は少なくとも約２０ヌクレオチド長、好ましくは少なくとも約３０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約４０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約５０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約６０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約７０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約８０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約９０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約１００ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約１１０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約１２０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約１３０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約１４０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約１５０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約１６０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約１７０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約１８０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約１９０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約２００ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約２５０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約３００ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約３５０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約４００ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約４５０ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約５００ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約６００ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約７００ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約８００ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約９００ヌクレオチド長、より好ましくは少なくとも約１０００ヌクレオチド長であり、ここで「約」という語の内容は参照する長さのプラス又はマイナス１０％のヌクレオチド配列長を指すことを意味する。ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０

７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドコード化ヌクレオチド配列の新規な断片は、多くの良く知られた配列アラインメントプログラムの任意のものを用いてＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドコード化ヌクレオチド配列と他の公知のヌクレオチド配列とを整列させ、いずれのＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドコード化ヌクレオチド配列断片が新規であるかを決定することにより、日常的な手法で同定してもよい。このようなＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドコード化ヌクレオチド配列は全てここで考慮される。また、これらのヌクレオチド分子断片、好ましくは抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８抗体又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体に対する結合部位を含むＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド断片によってコードされるＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド断片も考慮される。

【００１６】

他の実施態様では、本発明は、上記で特定された単離された核酸配列の任意のものにコードされる単離されたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを提供する。

或る態様では、本発明は、ここに開示する完全長アミノ酸配列、ここに開示するシグナルペプチドを欠くアミノ酸配列、ここに開示するシグナルペプチド有又は無の膜貫通タンパク質の細胞外ドメイン、又はここに開示する完全長アミノ酸配列の特に同定された他の断片を持つＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに対して少なくとも約８０％の配列同一性、好ましくは少なくとも約８１％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８２％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８３％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８４％の配列同一性、

より好ましくは少なくとも約８５％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８６％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８７％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８８％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８９％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９０％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９１％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９２％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９３％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９４％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９５％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９６％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９７％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９８％の配列同一性、そして、より好ましくは少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む単離されたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに関する。

【００１７】

さらなる態様では、本発明は、ここに開示するＡＴＣＣに寄託されたヒトタンパク質ｃＤＮＡの任意のものにコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも約８０％の配列同一性、好ましくは少なくとも約８１％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８２％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８３％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８４％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８５％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８６％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８７％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８８％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約８９％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９０％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９１％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９２％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９３％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９４％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９５％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９６％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９７％の配列同一性、より好ましくは少なくとも約９８％の配列同一性、そして、より好ましくは少なくとも約９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む単離されたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに関する。

【００１８】

さらなる態様では、本発明は、ここに開示する完全長アミノ酸配列、ここに開示するシグナルペプチドを欠くアミノ酸配列、ここに開示するシグナルペプチド有又は無の膜貫通タンパク質の細胞外ドメイン、又はここに開示する完全長アミノ酸配列の特に同定された他の断片を持つＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドと比較したときに、少なくとも約８０％ポジティブ、好ましくは少なくとも約８１％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約８２％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約８３％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約８４％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約８５％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約８６％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約８７％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約８８％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約８９％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約９０％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約９１％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約９２％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約９３％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約９４％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約９５％ポジ

ティブ、より好ましくは少なくとも約９６％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約９７％ポジティブ、より好ましくは少なくとも約９８％ポジティブ、そして、より好ましくは少なくとも約９９％ポジティブのスコアとされるアミノ酸配列を含む単離されたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに関する。

【００１９】

特別な実施態様では、本発明は、Ｎ-末端シグナル配列及び／又は開始メチオニンを持たず、上記したようなアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列によってコードされる単離されたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを提供する。それらを製造する方法もここに記載され、それらの方法は、適当なコード化核酸分子を含むベクターを含む宿主細胞をＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、培養培地からＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを回収することを含む。

本発明の他の態様は、膜貫通ドメインの欠失した又は膜貫通ドメインが不活性化された、単離されたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを提供する。それらを製造する方法もここに記載され、それらの方法は、適当なコード化核酸分子を含むベクターを含む宿主細胞をＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、培養培地からＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを回収することを含む。

【００２０】

さらに他の実施態様では、本発明は、ここで同定されるＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドのアゴニストに関する。特別な実施態様では、アゴニストは抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－Ｐ

ＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８抗体又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体又は小分子である。

さらなる実施態様では、本発明は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドのアゴニストを同定する方法に関し、それは、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを候補分子と接触させ、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドによって媒介される生物学的活性を監視することを含む。好ましくは、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドである。

さらに他の実施態様では、本発明は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド、又はここに記載するＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドのアンタゴニストは抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８抗体又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体を、担体と組み合わせて含有する物質の組成物に関する。場合によっては、担体は製薬的に許容される担体である。

本発明の他の実施態様は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド、又は上記したようなそのアンタゴニスト、又は抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８抗体又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体の、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１

７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド、そのアンタゴニスト又は抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体に起因する状態の治療において有用な医薬の調製のための使用に向けられる。

【００２１】

本発明の他の実施態様では、本発明は、ここに記載するポリペプチドの任意のものをコードするＤＮＡを含むベクターを提供する。そのようなベクターの任意のものを含む宿主細胞も提供される。例として、宿主細胞はＣＨＯ細胞、大腸菌、又はバキュウロウイルス感染昆虫細胞であってよい。ここに記載する任意のポリペプチドの製造方法がさらに提供され、それは、宿主細胞を所望のポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、細胞培地から所望のポリペプチドを回収することを含む。

他の実施態様では、本発明は、異種ポリペプチド又はアミノ酸配列に融合した、ここに記載する任意のポリペプチドを含んでなるキメラ分子を提供する。そのようなキメラ分子の例は、エピトープタグ配列又は免疫グロブリンのＦｃ領域に融合したここに記載の任意のポリペプチドを含む。

他の実施態様では、本発明は、上記又は下記のポリペプチドの任意のものに特異的に結合する抗体を提供する。場合によっては、抗体はモノクローナル抗体、ヒト化抗体、抗体断片又は一本鎖抗体である。

さらに他の実施態様では、本発明は、ゲノム及びｃＤＮＡヌクレオチド配列又はアンチセンスプローブの単離に有用なオリゴヌクレオチドプローブを提供し、それらのプローブは上記又は下記のヌクレオチド配列の任意のものから誘導されうる。

【００２２】

（好適な実施態様の詳細な説明）

Ｉ．定義

「遺伝子増幅」及び「遺伝子重複」なる語句は交換可能に用いられ、遺伝子又は遺伝子断片の複数のコピーが特定の細胞又は細胞系で生成されるプロセスを意味する。重複された領域（増幅されたＤＮＡの伸展）は、しばしば「単位複製配列」と呼ばれる。通常は、生成されるメッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）の量、即ち遺伝子発現レベルも、発現された特定遺伝子の作成されたコピー数に比例して増加する。

ここで用いられる「腫瘍」は、悪性又は良性に関わらず、全ての腫瘍形成細胞成長及び増殖、及び全ての前癌性及び癌性細胞及び組織を意味する。

「癌」及び「癌性」という用語は、典型的には調節されない細胞成長を特徴とする、哺乳動物における生理学的状態を指すか記述する。癌の例には、これらに限定されるものではないが、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、及び白血病が含まれる。このような癌のより特定の例には、乳癌、前立腺癌、大腸癌、扁平上皮細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、胃腸癌、膵臓癌、神経膠芽細胞腫、子宮頸管癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、肝細胞腫、結腸直腸癌、子宮内膜癌、唾液腺癌、腎臓癌、肝臓癌、産卵口癌、甲状腺癌、肝癌及び様々な種類の頭部及び頸部の癌が含まれる。

「治療」とは、疾患の進行を阻害する、もしくは病理を変化させることを意図して、行う処置のことである。従って、「治療」は治療的処置及び予防的又は保護的手段の両方を指す。治療が必要なものは、既に疾患に罹っているもの並びに疾患が防止されるべきものを含む。腫瘍（例えば、癌）治療では、治療薬は直接的に腫瘍細胞の病理を低下させてもよいし、又は腫瘍細胞を他の治療媒介物、例えば放射線及び／又は化学治療に対してより敏感にしてもよい。

癌の「病理」は、患者の良好な生存を損なう全ての現象を含む。これは、限定されるものではないが、異常又は制御不能な細胞成長、転移、隣接細胞の正常機能の阻害、サイトカイン又は他の分泌生成物の異常レベルでの放出、炎症又は免疫反応の抑制又は悪化などを含む。

【００２３】

治療の目的とされる「哺乳動物」は、哺乳類に分類される任意の動物を意味し、ヒト、家畜用及び農場用動物、動物園、スポーツ用、又はペット動物、例えばイヌ、ウマ、ネコ、ウシ、ブタ、ヒツジなどを含む。好ましくは、哺乳動物はヒトである。

ここで用いられる「担体」は製薬的に許容される担体、賦形剤、又は安定化剤を含み、それらは、用いられる用量及び濃度でそれに曝露される細胞又は哺乳動物に対して非毒性である。生理学的に許容される担体は、ｐＨ緩衝水溶液であることが多い。生理学的に許容される担体の例は、リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸バッファー；アスコルビン酸を含む酸化防止剤；低分子量（約１０残基未満）のポリペプチド；タンパク質、例えば血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン；ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー、グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン又はリジン等のアミノ酸；グルコース、マンノース又はデキストラン等の単糖類、二糖類及び他の炭水化物；ＥＤＴＡ等のキレート化剤；マンニトール又はソルビトール等の糖アルコール；ナトリウム等の塩形成対イオン；及び／又はTWEEN(商品名)、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、及びPLURONICS(商品名)等の非イオン性界面活性剤を含む。

一又は複数のさらなる治療薬「と組み合わせて」の投与は、同時（一時）及び任意の順序での連続投与を含む。

ここで用いられる「細胞毒性薬」なる用語は、細胞の機能を阻害又は抑制する及び／又は細胞破壊を生ずる物質を意味する。この用語は、放射性同位体（例えば、I^{131}、I^{125}、Y^{90}及びRe^{186}）、化学治療薬、及び細菌、真菌、植物又は動物由来の酵素的活性毒素といった毒素、又はその断片を含むとされる。

【００２４】

「化学治療薬」は、癌の治療に有用な化合物である。化学治療薬の例は、アドリアマイシン、ドキソルビシン、エピルビシン、５-フルオロウラシル、シトシンアラビノシド（「Ａｒａ－Ｃ」）、シクロホスファミド、チオテパ、ブスルファン、サイトキシン、タキソイド、例えばパクリタキセル（Taxol(商品名), Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ）及びドキセタキセル（Taxotere, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France）、トキソテール、メトトレキセート、シスプラチン、メルファラン、ビンブラスチン、ブレオマイシン、エトポシド、イフォスファミド、マイトマイシンＣ、マイトキサントロン、ビンクリスチン、ビノレルビン、カルボプラチン、テニポシド、ダウノマイシン、カルミノマイシン、アミノプテリン、ダクチノマイシン、マイトマイシン、エスペラマイシン（米国特許第4,675,187号）、５-ＦＵ、６-チオグアニン、６-メルカプトプリン、アクチノマイシンＤ、ＶＰ-１６、クロランブシル、メルファラン、及び他の関連するナイトロジェンマスタードを含む。また、この定義に含まれるのは、タモキシフェン及びオナプリストンなどの腫瘍へのホルモン作用を調節又は阻害するように作用するホルモン様薬剤である。

ここで用いられる際の「成長阻害剤」は、細胞、特にここで同定される任意の遺伝子を過剰発現する癌細胞の成長を、インビトロ又はインビボで阻害する化合物又は組成物を意味する。即ち、成長阻害剤は、Ｓ期でそのような遺伝子を過剰発現する細胞の割合を有意に減少させるものである。成長阻害剤の例は、細胞周期の進行を（Ｓ期以外の位置で）阻害する薬剤、例えばＧ１停止又はＭ期停止を誘発する薬剤を含む。古典的なＭ期ブロッカーは、ビンカス（ビンクリスチン及びビンブラスチン）、タキソール、及びトポＩＩ阻害剤、例えばドキソルビシン、エピルビシン、ダウノルビシン、エトポシド、及びブレオマイシンを含む。またＧ１停止させるこれらの薬剤は、Ｓ期停止にも波及し、例えば、ＤＮＡアルキル化剤、例えば、タモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチン、メトトレキセート、５-フルオロウラシル、及びａｒａ-Ｃである。さ

らなる情報は、The Molecular Basis of Cancer, Mendelsohn及びIsrael, 編, Chapter 1, 表題「Cell cycle regulation, oncogene, and antineoplastic drugs」, Murakami等, (WB Saunders: Philadelphia, 1995)、特にp13に見出すことができる。

「ドキソルビシン」はアントラサイクリン抗生物質である。ドキソルビシンの完全な化学名は、(８Ｓ-シス)-１０-[(３-アミノ-２，３，６-トリデオキシ-α-Ｌ-リキソ-ヘキサピラノシル)オキシ]-７，８，９，１０-テトラヒドロ-６，８，１１-トリヒドロキシ-８-(ヒドロキシアセチル)-１-メトキシ-５，１２-ナフタセンジオンである。

【００２５】

「サイトカイン」なる用語は、１つの細胞集団から放出され、他の細胞に細胞間メディエータとして作用するタンパク質の一般用語である。このようなサイトカインの例は、リンホカイン、モノカイン、及び伝統的なポリペプチドホルモンである。サイトカインに含まれるのは、成長ホルモン、例えばヒト成長ホルモン、Ｎ-メチオニルヒト成長ホルモン、及びウシ成長ホルモン；副甲状腺ホルモン；チロキシン；インシュリン；プロインシュリン；レラキシン；プロレラキシン；糖タンパク質ホルモン、例えば濾胞刺激ホルモン（ＦＳＨ）、甲状腺刺激ホルモン（ＴＳＨ）、及び黄体化ホルモン（ＬＨ）；肝臓成長因子；線維芽成長因子；プロラクチン；胎盤ラクトゲン；腫瘍壊死因子-α及び-β；ミューラー阻害因子；マウス生殖腺刺激ホルモン関連ペプチド；インヒビン；アクチビン；血管内皮成長因子；インテグリン；トロンボポエチン（ＴＰＯ）；ＮＧＦ-β等の神経成長因子；血小板成長因子；ＴＧＦ-α及びＴＧＦ-β等のトランスフォーミング成長因子（ＴＧＦｓ）；インシュリン様成長因子-Ｉ及びＩＩ；エリスロポエチン（ＥＰＯ）；骨誘発因子；インターフェロン-α、-β、及び-γ等のインターフェロン；コロニー刺激因子（ＣＳＦｓ）、例えばマクロファージ-ＣＳＦ（Ｍ-ＣＳＦ）；顆粒球-マクロファージ-ＣＳＦ（ＧＭ-ＣＳＦ）；及び顆粒球-ＣＳＦ（Ｇ-ＣＳＦ）；インターロイキン（ＩＬｓ）、例えばＩＬ-１、ＩＬ-１ａ、ＩＬ-２、ＩＬ-３、ＩＬ-４、ＩＬ-５、ＩＬ-６、ＩＬ-７、ＩＬ-８、ＩＬ-９、ＩＬ-１１、ＩＬ-１２；腫瘍壊死因子、例えばＴＮＦ-α及びＴＮＦ-β；及びＬＩＦ及びキットリガンド（ＫＬ）を含む他のポリペプチド因子である。ここで用いられる際、用語サイトカインは、天然供給源から、又は組換え細胞培養からのタンパク質、及び天然配列サイトカインの生物学的な活性等価物を含む。

この出願で用いられる用語「プロドラッグ」は、親薬剤に比較して腫瘍細胞に対する細胞毒性が低く、酵素的に活性化又はより活性な親形態に変換される製薬的活性物質の前駆体又は誘導体形態を意味する。例えば、Wilman, 「Prodrugs in Cancer Chemotherapy」, Biochemical Society Transactions, 14, : 375-382, 615th Meeting, Belfast (1986), 及びStella 等, 「Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery」、Directed Drug Delivery, Borchardt等（編）, pp.147-267, Humana Press (1985)参照。本発明のプロドラッグは、これらに限られないが、ホスファート含有プロドラッグ、チオホスファート含有プロドラッグ、スルファート含有プロドラッグ、ペプチド含有プロドラッグ、Ｄ-アミノ酸変性プロドラッグ、グリコシル化プロドラッグ、β-ラクタム含有プロドラッグ、任意に置換されたフェノキシアセトアミド含有プロドラッグ又は任意に置換されたフェニルアセトアミド含有プロドラッグ、より活性のある細胞毒のない薬剤に転換可能な５-フルオロシトシン及び他の５-フルオロウリジンプロドラッグを含む。限定するものではないが、本発明で使用されるプロドラッグ形態に誘導体化可能な細胞毒性薬の例には、前記の化学療法剤が含まれる。

【００２６】

ここに開示されるポリペプチド又はそのアンタゴニストの「有効量」とは、腫瘍性細胞成長、腫瘍成長又は癌細胞成長の阻害に関しては、標的細胞の成長を或る程度阻害できる量である。この用語は、標的細胞の成長阻害、細胞分裂停止及び／又は細胞毒性効果及び／又はアポトーシスを誘起することのできる量を含む。腫瘍性細胞成長、腫瘍成長又は癌細胞成長の阻害の目的のためのＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ

４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドのアンタゴニストの「有効量」は、経験的に日常的手法で決定できる。

「治療的有効量」は、腫瘍の治療に関しては、次の効果：（１）遅延化及び完全な成長停止を含む、腫瘍成長の或る程度の阻害；（２）腫瘍細胞数の減少；（３）腫瘍サイズの縮小；（４）腫瘍細胞の末梢器官への浸潤の阻害（即ち、減少、遅延化又は完全な停止）；（５）転移の阻害（即ち、減少、遅延化又は完全な停止）；（６）抗腫瘍免疫反応の促進、これは、腫瘍の退行又は拒絶をもたらしてもよいが、必ずしも必要ではない；及び／又は（７）疾患に伴う徴候の１つ又は複数の或る程度の軽減の１つ又は複数を誘起することのできる量を意味する。腫瘍の治療の目的のためのＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドのアンタゴニストの「治療的有効量」は、経験的に日常的手法で決定できる。

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２アンタゴニストの「成長阻害量」は、細胞、特に腫瘍、例えば癌細胞の成長をインビトロ又はインビボで阻害できる量である。腫瘍性細胞成長の阻害の目的のためのＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２アンタゴニストの「成長阻害量」は、経験的に日常的手法で決定できる。

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２アンタゴニストの「細胞毒性量」は、細胞、特に腫瘍、例えば癌細胞をインビトロ又はインビボで破壊できる量である。腫瘍性細胞成長の阻害の目的のためのＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２アンタゴニストの「細胞毒性量」は、経験的に日常的手法で決定できる。

【００２７】

ここで使用される際の「ＰＲＯ３８１」、「ＰＲＯ１２６９」、「ＰＲＯ１４１０」、「ＰＲＯ１７５５」、「ＰＲＯ１７８０」、「ＰＲＯ１７８８」、「ＰＲＯ３４３４」、「ＰＲＯ１９２７」、「ＰＲＯ３５６７」、「ＰＲＯ１２９５」、「ＰＲＯ１２９３」、「ＰＲＯ１３０３」、「ＰＲＯ４３４４」、「ＰＲＯ４３５４」、「ＰＲＯ４３９７」、「ＰＲＯ４４０７」、「ＰＲＯ１５５５」、「ＰＲＯ１０９６」、「ＰＲＯ２０３８」又は「ＰＲＯ２２６２」ポリペプチド又はタンパク質という用語は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド及びＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１

２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド変異体（ここで更に詳細に定義する）を含む。ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドは、ヒト組織型又は他の供給源といった種々の供給源から単離してもよく、あるいは組換え又は合成方法によって調製してもよい。

【００２８】

「天然配列ＰＲＯ３８１」、「天然配列ＰＲＯ１２６９」、「天然配列ＰＲＯ１４１０」、「天然配列ＰＲＯ１７５５」、「天然配列ＰＲＯ１７８０」、「天然配列ＰＲＯ１７８８」、「天然配列ＰＲＯ３４３４」、「天然配列ＰＲＯ１９２７」、「ＰＲＯ３５６７」、「天然配列ＰＲＯ１２９５」、「天然配列ＰＲＯ１２９３」、「天然配列ＰＲＯ１３０３」、「天然配列ＰＲＯ４３４４」、「天然配列ＰＲＯ４３５４」、「天然配列ＰＲＯ４３９７」、「天然配列ＰＲＯ４４０７」、「天然配列ＰＲＯ１５５５」、「天然配列ＰＲＯ１０９６」、「天然配列ＰＲＯ２０３８」又は「天然配列ＰＲＯ２２６２」は、天然由来のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドポリペプチドと同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。このようなＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドは、自然から単離することもできるし、組換え又は合成手段により生産することもできる。「天然配列」ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドという用語には、特に、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの自然に生じる切断又は分泌形態（例えば、細胞外ドメイン配列）、自然に生じる変異形態(例えば、選択的にスプライシングされた形態)及びＰＲＯ２０１、ＰＲＯ２９２、ＰＲＯ３２７、ＰＲＯ１２６５、ＰＲＯ３４４、ＰＲＯ３４３、ＰＲＯ３４７、ＰＲＯ３５７、ＰＲＯ７１５、ＰＲＯ１０１７、ＰＲＯ１１１２、ＰＲＯ５０９、ＰＲＯ８５３又はＰＲＯ８８２ポリペプチドの自然に生じる対立遺伝子変異体が含まれる。本発明の一実施態様では、天然配列ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドは、各々図２（配列番号：２）、図４（配列番号：７）、図６（配列番号：９）、図８（配列番号：１１）、図１０（配列番号：１３）、図１２（配列番号：１８）、図１４（配列番号：２３）、図１６（配列番号：２５）、又は図１８（配列番号：２７）、図２０（配列番号：２９）、図２２（配列番号：３１）、図２４（配列番号：３３）、図２６（配列番号：３５）、図２８（配列番号：４０）、図３０（配列番号：

４２）、図３２（配列番号：４７）、図３４（配列番号：４９）、図３６（配列番号：５１）、図３８（配列番号：５３）又は図４０（配列番号：５５）のアミノ酸配列を含む成熟又は完全長のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドである。また、各々図２（配列番号：２）、図４（配列番号：７）、図６（配列番号：９）、図８（配列番号：１１）、図１０（配列番号：１３）、図１２（配列番号：１８）、図１４（配列番号：２３）、図１６（配列番号：２５）、又は図１８（配列番号：２７）、図２０（配列番号：２９）、図２２（配列番号：３１）、図２４（配列番号：３３）、図２６（配列番号：３５）、図２８（配列番号：４０）、図３０（配列番号：４２）、図３２（配列番号：４７）、図３４（配列番号：４９）、図３６（配列番号：５１）、図３８（配列番号：５３）又は図４０（配列番号：５５）に開示したＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドは、そこにアミノ酸位置１として表示したメチオニン残基で開始するように示されているが、各々図２（配列番号：２）、図４（配列番号：７）、図６（配列番号：９）、図８（配列番号：１１）、図１０（配列番号：１３）、図１２（配列番号：１８）、図１４（配列番号：２３）、図１６（配列番号：２５）、又は図１８（配列番号：２７）、図２０（配列番号：２９）、図２２（配列番号：３１）、図２４（配列番号：３３）、図２６（配列番号：３５）、図２８（配列番号：４０）、図３０（配列番号：４２）、図３２（配列番号：４７）、図３４（配列番号：４９）、図３６（配列番号：５１）、図３８（配列番号：５３）又は図４０（配列番号：５５）におけるアミノ酸位置１から上流又は下流のいずれかに位置する他のメチオニン残基がＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの開始アミノ酸残基として用いられることも考えられ可能である。

【００２９】

ここに開示するポリペプチドの「細胞外ドメイン」又は「ＥＣＤ」は、膜貫通及び細胞質ドメインを実質的に有しないポリペプチドの形態を意味する。通常、ポリペプチドＥＣＤは、それらの膜貫通及び／又は細胞質ドメインを１％未満、好ましくはそのようなドメインを０．５％未満しか持たない。本発明のポリペプチドについて同定された任意の膜貫通ドメインは、疎水性ドメインのその型を同定するために当該分野において日常的に使用される基準に従い同定されることが理解されるであろう。膜貫通ドメインの厳密な境界は変わり得るが、最初に同定され添付した図面に示されるドメインのいずれかの末端から約５アミノ酸を越えない可能性が高い。従って、本発明の一実施態様では、本発明のポリペプチド細胞外ドメインは、成熟アミノ酸配列のアミノ酸１～Ｘを含み、ここでＸは細胞外ドメイン／膜貫通ドメイン境界のいずれかの末端から５を越えないアミノ酸内の任意のアミノ酸である。

ここに開示する種々のＰＲＯポリペプチドの「シグナルペプチド」の適切な位置は、添付の図面に示す。しかし、注記するように、シグナルペプチドのＣ-末端境界は変化しうるが、ここで最初に定義したようにシグナルペプチドＣ-末端境界のいずれかの側で約５アミノ酸未満である可能性が最も高く、シグナルペプチドのＣ-末端境界は、そのような型のアミノ酸配列成分を同定するのに日常的に使用される基準に従って同定しうる（例えば、Nielsen等, Prot. Eng. 10: 1-6 (1997)及びvon Heinje等, Nucl. Acids. Res. 14: 4683-4690 (1986)）。さらに、幾つかの場合には、分泌ポリペプチドからのシグナルペプ

チドの切断は完全に均一ではなく、一以上の分泌種をもたらすことも認められる。シグナルペプチドがここに定義されるシグナルペプチドのC-末端境界の何れかの側の約５アミノ酸未満内で切断されるこれらの成熟ポリペプチド、及びそれらをコードするポリヌクレオチドは、本発明で考慮される。

【００３０】

「ＰＲＯ３８１ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１２６９ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１４１０ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１７５５ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１７８０ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１７８８ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ３４３４ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１９２７ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ３５６７ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１２９５ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１２９３ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１３０３ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ４３４４ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ４３５４ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ４３９７ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ４４０７ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１５５５ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１０９６ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ２０３８ポリペプチド変異体」又は「ＰＲＯ２２６２ポリペプチド変異体」とは、上記又は下記に定義されるように、ここに開示されるＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド、ここに開示されたシグナルペプチドを欠くＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド配列、シグナルペプチド有無のここに開示されたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの細胞外ドメイン又はここに開示されたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの任意の他の断片と、少なくとも約８０％のアミノ酸配列同一性を有する活性なＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを意味する。このようなＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド変異体には、例えば、完全長天然アミノ酸配列のN-又はC-末端において一又は複数のアミノ酸残基が付加、もしくは欠失されたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドが含まれる。通常、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、Ｐ

ＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド変異体は、ここに開示される完全長天然配列ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド、ここに開示されたシグナルペプチドを欠く完全長天然配列ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド配列、シグナルペプチド有無のここに開示されたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの細胞外ドメイン又はここに開示されたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの任意の他の断片と、少なくとも約８０％のアミノ酸配列同一性、好ましくは少なくとも約８１％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８２％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８３％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８４％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８５％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８６％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８７％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８８％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８９％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９０％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９１％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９２％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９３％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９４％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９５％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９６％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９７％のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９８％のアミノ酸配列同一性、そして、より好ましくは少なくとも約９９％のアミノ酸配列同一性を有している。通常は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２変異体ポリペプチドは、少なくとも約１０アミノ酸長、より多くは少なくとも約２０アミノ酸長、より多くは少なくとも約３０アミノ酸長、より多くは少なくとも約４０アミノ酸長、より多くは少なくとも約５０アミノ酸長、より多くは少なくとも約６０アミノ酸長、より多くは少なくとも約７０アミノ酸長、より多くは少なくとも約８０アミノ酸長、より多くは少なくとも約９０アミノ酸長、より多くは少なくとも約１００アミノ酸長、より多くは少なくとも約１５０アミノ酸長、より多くは少なくとも約２００アミノ酸長、より多くは少なくとも約３００アミノ酸長、又はそれ以上である。

【００３１】

以下に示すように、表１はALIGN-2配列比較コンピュータプログラムの完全なソースコードを与える。このソースコードは、UNIX(登録商標)オペレーティングシステムでの使用のために日常的にコンパイルされ、ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムを与える。

さらに、表２Ａ-Ｄは、ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムを用いた％アミノ酸配列同一性（表２Ａ-２Ｂ）及び％核酸配列同一性（表２Ｃ-２Ｄ）を決定するために下記の方法を使用する仮説的な例を示し、「ＰＲＯ」は対象とする仮説的ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２のアミノ酸配列を示し、「比較タンパク質」は対象とする「ＰＲＯ」ポリペプチドが比較されるポリペプチドのアミノ酸配列を示し、「ＰＲＯ-ＤＮＡ」は対象とする仮説的ＰＲＯ３８１-、ＰＲＯ１２６９-、ＰＲＯ１４１０-、ＰＲＯ１７５５-、ＰＲＯ１７８０-、ＰＲＯ１７８８-、ＰＲＯ３４３４-、ＰＲＯ１９２７-、ＰＲＯ３５６７-、ＰＲＯ１２９５-、ＰＲＯ１２９３-、ＰＲＯ１３０３-、ＰＲＯ４３４４-、ＰＲＯ４３５４-、ＰＲＯ４３９７-、ＰＲＯ４４０７-、ＰＲＯ１５５５-、ＰＲＯ１０９６-、ＰＲＯ２０３８-又はＰＲＯ２２６２-コード化核酸配列を示し、「比較ＤＮＡ」は対象とする「ＰＲＯ-ＤＮＡ」核酸分子が比較される核酸分子のヌクレオチド配列を示し、「Ｘ」、「Ｙ」及び「Ｚ」は各々異なる仮説的アミノ酸残基を示し、「Ｎ」、「Ｌ」及び「Ｖ」は各々異なる仮説的ヌクレオチドを示す。

【００３２】

表1

```
/*
 *
 * C-C increased from 12 to 15
 * Z is average of EQ
 * B is average of ND
 * match with stop is _M; stop-stop = 0; J (joker) match = 0
 */
#define _M      -8       /* value of a match with a stop */

int       _day[26][26] = {
/*      A  B  C  D  E  F  G  H  I  J  K  L  M  N  O  P  Q  R  S  T  U  V  W  X  Y  Z */
/* A */    { 2, 0,-2, 0, 0,-4, 1,-1,-1, 0,-1,-2,-1, 0,_M, 1, 0,-2, 1, 1, 0, 0,-6, 0,-3, 0},
/* B */    { 0, 3,-4, 3, 2,-5, 0, 1,-2, 0, 0,-3,-2, 2,_M,-1, 1, 0, 0, 0, 0,-2,-5, 0,-3, 1},
/* C */    {-2,-4,15,-5,-5,-4,-3,-3,-2, 0,-5,-6,-5,-4,_M,-3,-5,-4, 0,-2, 0,-2,-8, 0, 0,-5},
/* D */    { 0, 3,-5, 4, 3,-6, 1, 1,-2, 0, 0,-4,-3, 2,_M,-1, 2,-1, 0, 0, 0,-2,-7, 0,-4, 2},
/* E */    { 0, 2,-5, 3, 4,-5, 0, 1,-2, 0, 0,-3,-2, 1,_M,-1, 2,-1, 0, 0, 0,-2,-7, 0,-4, 3},
/* F */    {-4,-5,-4,-6,-5, 9,-5,-2, 1, 0,-5, 2, 0,-4,_M,-5,-5,-4,-3,-3, 0,-1, 0, 0, 7,-5},
/* G */    { 1, 0,-3, 1, 0,-5, 5,-2,-3, 0,-2,-4,-3, 0,_M,-1,-1,-3, 1, 0, 0,-1,-7, 0,-5, 0},
/* H */    {-1, 1,-3, 1, 1,-2,-2, 6,-2, 0, 0,-2,-2, 2,_M, 0, 3, 2,-1,-1, 0,-2,-3, 0, 0, 2},
/* I */    {-1,-2,-2,-2,-2, 1,-3,-2, 5, 0,-2, 2, 2,-2,_M,-2,-2,-2,-1, 0, 0, 4,-5, 0,-1,-2},
/* J */    { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0,_M, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* K */    {-1, 0,-5, 0, 0,-5,-2, 0,-2, 0, 5,-3, 0, 1,_M,-1, 1, 3, 0, 0, 0,-2,-3, 0,-4, 0},
/* L */    {-2,-3,-6,-4,-3, 2,-4,-2, 2, 0,-3, 6, 4,-3,_M,-3,-2,-3,-3,-1, 0, 2,-2, 0,-1,-2},
/* M */    {-1,-2,-5,-3,-2, 0,-3,-2, 2, 0, 0, 4, 6,-2,_M,-2,-1, 0,-2,-1, 0, 2,-4, 0,-2,-1},
/* N */    { 0, 2,-4, 2, 1,-4, 0, 2,-2, 0, 1,-3,-2, 2,_M,-1, 1, 0, 1, 0, 0,-2,-4, 0,-2, 1},
/* O */    {_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M, 0,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M,_M},
/* P */    { 1,-1,-3,-1,-1,-5,-1, 0,-2, 0,-1,-3,-2,-1,_M, 6, 0, 0, 1, 0, 0,-1,-6, 0,-5, 0},
/* Q */    { 0, 1,-5, 2, 2,-5,-1, 3,-2, 0, 1,-2,-1, 1,_M, 0, 4, 1,-1,-1, 0,-2,-5, 0,-4, 3},
/* R */    {-2, 0,-4,-1,-1,-4,-3, 2,-2, 0, 3,-3, 0, 0,_M, 0, 1, 6, 0,-1, 0,-2, 2, 0,-4, 0},
/* S */    { 1, 0, 0, 0, 0,-3, 1,-1,-1, 0, 0,-3,-2, 1,_M, 1,-1, 0, 2, 1, 0,-1,-2, 0,-3, 0},
/* T */    { 1, 0,-2, 0, 0,-3, 0,-1, 0, 0, 0,-1,-1, 0,_M, 0,-1,-1, 1, 3, 0, 0,-5, 0,-3, 0},
/* U */    { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0,_M, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* V */    { 0,-2,-2,-2,-2,-1,-1,-2, 4, 0,-2, 2, 2,-2,_M,-1,-2,-2,-1, 0, 0, 4,-6, 0,-2,-2},
/* W */    {-6,-5,-8,-7,-7, 0,-7,-3,-5, 0,-3,-2,-4,-4,_M,-6,-5, 2,-2,-5, 0,-6,17, 0, 0,-6},
/* X */    { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0,_M, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* Y */    {-3,-3, 0,-4,-4, 7,-5, 0,-1, 0,-4,-1,-2,-2,_M,-5,-4,-4,-3,-3, 0,-2, 0, 0,10,-4},
/* Z */    { 0, 1,-5, 2, 3,-5, 0, 2,-2, 0, 0,-2,-1, 1,_M, 0, 3, 0, 0, 0, 0,-2,-6, 0,-4, 4}
};
```

【００３３】

```
/*
 */
#include <stdio.h>
#include <ctype.h>

#define  MAXJMP      16      /* max jumps in a diag */
#define  MAXGAP      24      /* don't continue to penalize gaps larger than this */
#define  JMPS        1024    /* max jmps in an path */
#define  MX          4       /* save if there's at least MX-1 bases since last jmp */

#define  DMAT        3       /* value of matching bases */
#define  DMIS        0       /* penalty for mismatched bases */
#define  DINS0       8       /* penalty for a gap */
#define  DINS1       1       /* penalty per base */
#define  PINS0       8       /* penalty for a gap */
#define  PINS1       4       /* penalty per residue */

struct jmp {
        short           n[MAXJMP];      /* size of jmp (neg for dely) */
        unsigned short  x[MAXJMP];      /* base no. of jmp in seq x */
};                                      /* limits seq to 2^16 -1 */

struct diag {
        int             score;          /* score at last jmp */
        long            offset;         /* offset of prev block */
        short           ijmp;           /* current jmp index */
        struct jmp      jp;             /* list of jmps */
};

struct path {
        int     spc;            /* number of leading spaces */
        short   n[JMPS];        /* size of jmp (gap) */
        int     x[JMPS];        /* loc of jmp (last elem before gap) */
};

char            *ofile;                 /* output file name */
char            *namex[2];              /* seq names: getseqs() */
char            *prog;                  /* prog name for err msgs */
char            *seqx[2];                       /* seqs: getseqs() */
int             dmax;                   /* best diag: nw() */
int             dmax0;                  /* final diag */
int             dna;                    /* set if dna: main() */
int             endgaps;                /* set if penalizing end gaps */
int             gapx, gapy;             /* total gaps in seqs */
int             len0, len1;             /* seq lens */
int             ngapx, ngapy;           /* total size of gaps */
int             smax;                   /* max score: nw() */
int             *xbm;                   /* bitmap for matching */
long            offset;                 /* current offset in jmp file */
struct  diag    *dx;                    /* holds diagonals */
struct  path    pp[2];                  /* holds path for seqs */

char            *calloc(), *malloc(), *index(), *strcpy();
char            *getseq(), *g_calloc();
```

【００３４】

```
/* Needleman-Wunsch alignment program
 *
 * usage: progs file1 file2
 *   where file1 and file2 are two dna or two protein sequences.
 *   The sequences can be in upper- or lower-case an may contain ambiguity
 *   Any lines beginning with ';', '>' or '<' are ignored
 *   Max file length is 65535 (limited by unsigned short x in the jmp struct)
 *   A sequence with 1/3 or more of its elements ACGTU is assumed to be DNA
 *   Output is in the file "align.out"
 *
 * The program may create a tmp file in /tmp to hold info about traceback.
 * Original version developed under BSD 4.3 on a vax 8650
 */
#include "nw.h"
#include "day.h"

static    _dbval[26] = {
        1,14,2,13,0,0,4,11,0,0,12,0,3,15,0,0,0,5,6,8,8,7,9,0,10,0
};

static    _pbval[26] = {
        1, 2|(1<<('D'-'A'))|(1<<('N'-'A')), 4, 8, 16, 32, 64,
        128, 256, 0xFFFFFFF, 1<<10, 1<<11, 1<<12, 1<<13, 1<<14,
        1<<15, 1<<16, 1<<17, 1<<18, 1<<19, 1<<20, 1<<21, 1<<22,
        1<<23, 1<<24, 1<<25|(1<<('E'-'A'))|(1<<('Q'-'A'))
};

main(ac, av)                                                    main
        int     ac;
        char    *av[];
{
        prog = av[0];
        if (ac != 3) {
                fprintf(stderr,"usage: %s file1 file2\n", prog);
                fprintf(stderr,"where file1 and file2 are two dna or two protein sequences.\n");
                fprintf(stderr,"The sequences can be in upper- or lower-case\n");
                fprintf(stderr,"Any lines beginning with ';' or '<' are ignored\n");
                fprintf(stderr,"Output is in the file \"align.out\"\n");
                exit(1);
        }
        namex[0] = av[1];
        namex[1] = av[2];
        seqx[0] = getseq(namex[0], &len0);
        seqx[1] = getseq(namex[1], &len1);
        xbm = (dna)? _dbval : _pbval;

        endgaps = 0;                    /* 1 to penalize endgaps */
        ofile = "align.out";            /* output file */

        nw();           /* fill in the matrix, get the possible jmps */
        readjmps();     /* get the actual jmps */
        print();        /* print stats, alignment */

        cleanup(0);     /* unlink any tmp files */
}
```

【0035】

```
/* do the alignment, return best score: main()
 * dna: values in Fitch and Smith, PNAS, 80, 1382-1386, 1983
 * pro: PAM 250 values
 * When scores are equal, we prefer mismatches to any gap, prefer
 * a new gap to extending an ongoing gap, and prefer a gap in seqx
 * to a gap in seq y.
 */
nw()
{                                                                    nw
        char            *px, *py;               /* seqs and ptrs */
        int             *ndely, *dely;  /* keep track of dely */
        int             ndelx, delx;    /* keep track of delx */
        int             *tmp;           /* for swapping row0, row1 */
        int             mis;            /* score for each type */
        int             ins0, ins1;     /* insertion penalties */
        register        id;             /* diagonal index */
        register        ij;             /* jmp index */
        register        *col0, *col1;   /* score for curr, last row */
        register        xx, yy;         /* index into seqs */

        dx = (struct diag *)g_calloc("to get diags", len0+len1+1, sizeof(struct diag));

        ndely = (int *)g_calloc("to get ndely", len1+1, sizeof(int));
        dely = (int *)g_calloc("to get dely", len1+1, sizeof(int));
        col0 = (int *)g_calloc("to get col0", len1+1, sizeof(int));
        col1 = (int *)g_calloc("to get col1", len1+1, sizeof(int));
        ins0 = (dna)? DINS0 : PINS0;
        ins1 = (dna)? DINS1 : PINS1;

        smax = -10000;
        if (endgaps) {
                for (col0[0] = dely[0] = -ins0, yy = 1; yy <= len1; yy++) {
                        col0[yy] = dely[yy] = col0[yy-1] - ins1;
                        ndely[yy] = yy;
                }
                col0[0] = 0;            /* Waterman Bull Math Biol 84 */
        }
        else
                for (yy = 1; yy <= len1; yy++)
                        dely[yy] = -ins0;

        /* fill in match matrix
         */
        for (px = seqx[0], xx = 1; xx <= len0; px++, xx++) {
                /* initialize first entry in col
                 */
                if (endgaps) {
                        if (xx == 1)
                                col1[0] = delx = -(ins0+ins1);
                        else
                                col1[0] = delx = col0[0] - ins1;
                        ndelx = xx;
                }
                else {
                        col1[0] = 0;
                        delx = -ins0;
                        ndelx = 0;
                }
```

【００３６】

...nw

```
for (py = seqx[1], yy = 1; yy <= len1; py++, yy++) {
        mis = col0[yy-1];
        if (dna)
                mis += (xbm[*px-'A']&xbm[*py-'A'])? DMAT : DMIS;
        else
                mis += _day[*px-'A'][*py-'A'];

        /* update penalty for del in x seq;
         * favor new del over ongong del
         * ignore MAXGAP if weighting endgaps
         */
        if (endgaps || ndely[yy] < MAXGAP) {
                if (col0[yy] - ins0 >= dely[yy]) {
                        dely[yy] = col0[yy] - (ins0+ins1);
                        ndely[yy] = 1;
                } else {
                        dely[yy] -= ins1;
                        ndely[yy]++;
                }
        } else {
                if (col0[yy] - (ins0+ins1) >= dely[yy]) {
                        dely[yy] = col0[yy] - (ins0+ins1);
                        ndely[yy] = 1;
                } else
                        ndely[yy]++;
        }

        /* update penalty for del in y seq;
         * favor new del over ongong del
         */
        if (endgaps || ndelx < MAXGAP) {
                if (col1[yy-1] - ins0 >= delx) {
                        delx = col1[yy-1] - (ins0+ins1);
                        ndelx = 1;
                } else {
                        delx -= ins1;
                        ndelx++;
                }
        } else {
                if (col1[yy-1] - (ins0+ins1) >= delx) {
                        delx = col1[yy-1] - (ins0+ins1);
                        ndelx = 1;
                } else
                        ndelx++;
        }

        /* pick the maximum score; we're favoring
         * mis over any del and delx over dely
         */
```

【００３７】

...nw

```
                id = xx - yy + len1 - 1;
                if (mis >= delx && mis >= dely[yy])
                        col1[yy] = mis;
                else if (delx >= dely[yy]) {
                        col1[yy] = delx;
                        ij = dx[id].ijmp;
                        if (dx[id].jp.n[0] && (!dna || (ndelx >= MAXJMP
                        && xx > dx[id].jp.x[ij]+MX) || mis > dx[id].score+DINS0)) {
                                dx[id].ijmp++;
                                if (++ij >= MAXJMP) {
                                        writejmps(id);
                                        ij = dx[id].ijmp = 0;
                                        dx[id].offset = offset;
                                        offset += sizeof(struct jmp) + sizeof(offset);
                                }
                        }
                        dx[id].jp.n[ij] = ndelx;
                        dx[id].jp.x[ij] = xx;
                        dx[id].score = delx;
                }
                else {
                        col1[yy] = dely[yy];
                        ij = dx[id].ijmp;
        if (dx[id].jp.n[0] && (!dna || (ndely[yy] >= MAXJMP
                        && xx > dx[id].jp.x[ij]+MX) || mis > dx[id].score+DINS0)) {
                                dx[id].ijmp++;
                                if (++ij >= MAXJMP) {
                                        writejmps(id);
                                        ij = dx[id].ijmp = 0;
                                        dx[id].offset = offset;
                                        offset += sizeof(struct jmp) + sizeof(offset);
                                }
                        }
                        dx[id].jp.n[ij] = -ndely[yy];
                        dx[id].jp.x[ij] = xx;
                        dx[id].score = dely[yy];
                }
                if (xx == len0 && yy < len1) {
                        /* last col
                         */
                        if (endgaps)
                                col1[yy] -= ins0+ins1*(len1-yy);
                        if (col1[yy] > smax) {
                                smax = col1[yy];
                                dmax = id;
                        }
                }
        }
        if (endgaps && xx < len0)
                col1[yy-1] -= ins0+ins1*(len0-xx);
        if (col1[yy-1] > smax) {
                smax = col1[yy-1];
                dmax = id;
        }
        tmp = col0; col0 = col1; col1 = tmp;
    }
    (void) free((char *)ndely);
    (void) free((char *)dely);
    (void) free((char *)col0);
    (void) free((char *)col1);
}
```

【００３８】

```
/*
 *
 * print() -- only routine visible outside this module
 *
 * static:
 * getmat() -- trace back best path, count matches: print()
 * pr_align() -- print alignment of described in array p[]: print()
 * dumpblock() -- dump a block of lines with numbers, stars: pr_align()
 * nums() -- put out a number line: dumpblock()
 * putline() -- put out a line (name, [num], seq, [num]): dumpblock()
 * stars() - -put a line of stars: dumpblock()
 * stripname() -- strip any path and prefix from a seqname
 */

#include "nw.h"

#define SPC     3
#define P_LINE  256     /* maximum output line */
#define P_SPC   3       /* space between name or num and seq */

extern  _day[26][26];
int     olen;           /* set output line length */
FILE    *fx;            /* output file */

print()
{
        int     lx, ly, firstgap, lastgap;      /* overlap */

        if ((fx = fopen(ofile, "w")) == 0) {
                fprintf(stderr,"%s: can't write %s\n", prog, ofile);
                cleanup(1);
        }
        fprintf(fx, "< first sequence: %s (length = %d)\n", namex[0], len0);
        fprintf(fx, "< second sequence: %s (length = %d)\n", namex[1], len1);
        olen = 60;
        lx = len0;
        ly = len1;
        firstgap = lastgap = 0;
        if (dmax < len1 - 1) {          /* leading gap in x */
                pp[0].spc = firstgap = len1 - dmax - 1;
                ly -= pp[0].spc;
        }
        else if (dmax > len1 - 1) {     /* leading gap in y */
                pp[1].spc = firstgap = dmax - (len1 - 1);
                lx -= pp[1].spc;
        }
        if (dmax0 < len0 - 1) {         /* trailing gap in x */
                lastgap = len0 - dmax0 -1;
                lx -= lastgap;
        }
        else if (dmax0 > len0 - 1) { /* trailing gap in y */
                lastgap = dmax0 - (len0 - 1);
                ly -= lastgap;
        }
        getmat(lx, ly, firstgap, lastgap);
        pr_align();
}
```

print

【0039】

getmat

```
/*
 * trace back the best path, count matches
 */
static
getmat(lx, ly, firstgap, lastgap)
        int     lx, ly;                 /* "core" (minus endgaps) */
        int     firstgap, lastgap;      /* leading trailing overlap */
{
        int             nm, i0, i1, siz0, siz1;
        char            outx[32];
        double          pct;
        register        n0, n1;
        register char   *p0, *p1;

        /* get total matches, score
         */
        i0 = i1 = siz0 = siz1 = 0;
        p0 = seqx[0] + pp[1].spc;
        p1 = seqx[1] + pp[0].spc;
        n0 = pp[1].spc + 1;
        n1 = pp[0].spc + 1;

        nm = 0;
        while ( *p0 && *p1 ) {
                if (siz0) {
                        p1++;
                        n1++;
                        siz0--;
                }
                else if (siz1) {
                        p0++;
                        n0++;
                        siz1--;
                }
                else {
                        if (xbm[*p0-'A']&xbm[*p1-'A'])
                                nm++;
                        if (n0++ == pp[0].x[i0])
                                siz0 = pp[0].n[i0++];
                        if (n1++ == pp[1].x[i1])
                                siz1 = pp[1].n[i1++];
                        p0++;
                        p1++;
                }
        }

        /* pct homology:
         * if penalizing endgaps, base is the shorter seq
         * else, knock off overhangs and take shorter core
         */
        if (endgaps)
                lx = (len0 < len1)? len0 : len1;
        else
                lx = (lx < ly)? lx : ly;
        pct = 100.*(double)nm/(double)lx;
        fprintf(fx, "\n");
        fprintf(fx, "< %d match%s in an overlap of %d: %.2f percent similarity\n",
                nm, (nm == 1)? "" : "es", lx, pct);
```

【００４０】

...getmat

```
        fprintf(fx, "< gaps in first sequence: %d", gapx);
        if (gapx) {
                (void) sprintf(outx, " (%d %s%s)",
                        ngapx, (dna)? "base":"residue", (ngapx == 1)? "":"s");
                fprintf(fx,"%s", outx);

        fprintf(fx, ", gaps in second sequence: %d", gapy);
        if (gapy) {
                (void) sprintf(outx, " (%d %s%s)",
                        ngapy, (dna)? "base":"residue", (ngapy == 1)? "":"s");
                fprintf(fx,"%s", outx);
        }
        if (dna)
                fprintf(fx,
                "\n< score: %d (match = %d, mismatch = %d, gap penalty = %d + %d per base)\n",
                smax, DMAT, DMIS, DINS0, DINS1);
        else
                fprintf(fx,
                "\n< score: %d (Dayhoff PAM 250 matrix, gap penalty = %d + %d per residue)\n",
                smax, PINS0, PINS1);
        if (endgaps)
                fprintf(fx,
                "< endgaps penalized. left endgap: %d %s%s, right endgap: %d %s%s\n",
                firstgap, (dna)? "base" : "residue", (firstgap == 1)? "" : "s",
                lastgap, (dna)? "base" : "residue", (lastgap == 1)? "" : "s");
        else
                fprintf(fx, "< endgaps not penalized\n");
}

static          nm;             /* matches in core -- for checking */
static          lmax;           /* lengths of stripped file names */
static          ij[2];          /* jmp index for a path */
static          nc[2];          /* number at start of current line */
static          ni[2];          /* current elem number -- for gapping */
static          siz[2];
static char     *ps[2];         /* ptr to current element */
static char     *po[2];         /* ptr to next output char slot */
static char     out[2][P_LINE]; /* output line */
static char     star[P_LINE];   /* set by stars() */

/*
 * print alignment of described in struct path pp[]
 */
static
```

pr_align

```
pr_align()
{
        int             nn;     /* char count */
        int             more;
        register        i;

        for (i = 0, lmax = 0; i < 2; i++) {
                nn = stripname(namex[i]);
                if (nn > lmax)
                        lmax = nn;

                nc[i] = 1;
                ni[i] = 1;
                siz[i] = ij[i] = 0;
                ps[i] = seqx[i];
                po[i] = out[i];
        }
```

【0041】

...pr_align

```
        for (nn = nm = 0, more = 1; more; ) {
                for (i = more = 0; i < 2; i++) {
                        /*
                         * do we have more of this sequence?
                         */
                        if (!*ps[i])
                                continue;

                        more++;

                        if (pp[i].spc) {        /* leading space */
                                *po[i]++ = ' ';
                                pp[i].spc--;
                        }
                        else if (siz[i]) {      /* in a gap */
                                *po[i]++ = '-';
                                siz[i]--;
                        }
                        else {                  /* we're putting a seq element
                                                 */
                                *po[i] = *ps[i];
                                if (islower(*ps[i]))
                                        *ps[i] = toupper(*ps[i]);
                                po[i]++;
                                ps[i]++;

                                /*
                                 * are we at next gap for this seq?
                                 */
                                if (ni[i] == pp[i].x[ij[i]]) {
                                        /*
                                         * we need to merge all gaps
                                         * at this location
                                         */
                                        siz[i] = pp[i].n[ij[i]++];
                                        while (ni[i] == pp[i].x[ij[i]])
                                                siz[i] += pp[i].n[ij[i]++];
                                }
                                ni[i]++;
                        }
                }
                if (++nn == olen || !more && nn) {
                        dumpblock();
                        for (i = 0; i < 2; i++)
                                po[i] = out[i];
                        nn = 0;
                }
        }
}

/*
 * dump a block of lines, including numbers, stars: pr_align()
 */
static
dumpblock()
{
        register  i;

        for (i = 0; i < 2; i++)
                *po[i]-- = '\0';
```

dumpblock

【0042】

...dumpblock

```
        (void) putc('\n', fx);
        for (i = 0; i < 2; i++) {
                if (*out[i] && (*out[i] != ' ' || *(po[i]) != ' ')) {
                        if (i == 0)
                                nums(i);
                        if (i == 0 && *out[1])
                                stars();
                        putline(i);
                        if (i == 0 && *out[1])
                                fprintf(fx, star);
                        if (i == 1)
                                nums(i);
                }
        }
}

/*
 * put out a number line: dumpblock()
 */
static
nums(ix)                                                        nums
        int     ix;     /* index in out[] holding seq line */
{
        char            nline[P_LINE];
        register        i, j;
        register char   *pn, *px, *py;

        for (pn = nline, i = 0; i < lmax+P_SPC; i++, pn++)
                *pn = ' ';
        for (i = nc[ix], py = out[ix]; *py; py++, pn++) {
                if (*py == ' ' || *py == '-')
                        *pn = ' ';
                else {
                        if (i%10 == 0 || (i == 1 && nc[ix] != 1)) {
                                j = (i < 0)? -i : i;
                                for (px = pn; j; j /= 10, px--)
                                        *px = j%10 + '0';
                                if (i < 0)
                                        *px = '-';
                        }
                        else
                                *pn = ' ';
                        i++;
                }
        }
        *pn = '\0';
        nc[ix] = i;
        for (pn = nline; *pn; pn++)
                (void) putc(*pn, fx);
        (void) putc('\n', fx);
}

/*
 * put out a line (name, [num], seq, [num]): dumpblock()
 */
static
putline(ix)                                                     putline
        int     ix;
{
```

【００４３】

...putline

```
        int             i;
        register char   *px;

        for (px = namex[ix], i = 0; *px && *px != ':'; px++, i++)
                (void) putc(*px, fx);
        for (; i < lmax+P_SPC; i++)
                (void) putc(' ', fx);

        /* these count from 1:
         * ni[] is current element (from 1)
         * nc[] is number at start of current line
         */
        for (px = out[ix]; *px; px++)
                (void) putc(*px&0x7F, fx);
        (void) putc('\n', fx);
}

/*
 * put a line of stars (seqs always in out[0], out[1]): dumpblock()
 */
static
stars()                                                          stars
{
        int             i;
        register char   *p0, *p1, cx, *px;

        if (!*out[0] || (*out[0] == ' ' && *(po[0]) == ' ') ||
           !*out[1] || (*out[1] == ' ' && *(po[1]) == ' '))
                return;
        px = star;
        for (i = lmax+P_SPC; i; i--)
                *px++ = ' ';

        for (p0 = out[0], p1 = out[1]; *p0 && *p1; p0++, p1++) {
                if (isalpha(*p0) && isalpha(*p1)) {

                        if (xbm[*p0-'A']&xbm[*p1-'A']) {
                                cx = '*';
                                nm++;
                        }
                        else if (!dna && _day[*p0-'A'][*p1-'A'] > 0)
                                cx = '.';
                        else
                                cx = ' ';
                }
                else
                        cx = ' ';
                *px++ = cx:
        }
        *px++ = '\n';
        *px = '\0';
}
```

【0044】

```
/*
 * strip path or prefix from pn, return len: pr_align()
 */
static
stripname(pn)
        char    *pn;    /* file name (may be path) */
{
        register char   *px, *py;

        py = 0;
        for (px = pn; *px; px++)
                if (*px == '/')
                        py = px + 1;
        if (py)
                (void) strcpy(pn, py);
        return(strlen(pn));

}
```

stripname

【００４５】

```
/*
 * cleanup() -- cleanup any tmp file
 * getseq() -- read in seq, set dna, len, maxlen
 * g_calloc() -- calloc() with error checkin
 * readjmps() -- get the good jmps, from tmp file if necessary
 * writejmps() -- write a filled array of jmps to a tmp file: nw()
 */
#include "nw.h"
#include <sys/file.h>

char    *jname = "/tmp/homgXXXXXX";             /* tmp file for jmps */
FILE    *fj;

int     cleanup();                              /* cleanup tmp file */
long    lseek();

/*
 * remove any tmp file if we blow
 */
cleanup(i)                                                              cleanup
        int     i;
{
        if (fj)
                (void) unlink(jname);
        exit(i);
}

/*
 * read, return ptr to seq, set dna, len, maxlen
 * skip lines starting with ';', '<', or '>'
 * seq in upper or lower case
 */
char    *
getseq(file, len)                                                       getseq
        char    *file;  /* file name */
        int     *len;   /* seq len */
{
        char            line[1024], *pseq;
        register char   *px, *py;
        int             natgc, tlen;
        FILE            *fp;

        if ((fp = fopen(file,"r")) == 0) {
                fprintf(stderr,"%s: can't read %s\n", prog, file);
                exit(1);
        }
        tlen = natgc = 0;
        while (fgets(line, 1024, fp)) {
                if (*line == ';' || *line == '<' || *line == '>')
                        continue;
                for (px = line; *px != '\n'; px++)
                        if (isupper(*px) || islower(*px))
                                tlen++;
        }
        if ((pseq = malloc((unsigned)(tlen+6))) == 0) {
                fprintf(stderr,"%s: malloc() failed to get %d bytes for %s\n", prog, tlen+6, file);
                exit(1);
        }
        pseq[0] = pseq[1] = pseq[2] = pseq[3] = '\0';
```

...getseq

```
        py = pseq + 4;
        *len = tlen;
        rewind(fp);

        while (fgets(line, 1024, fp)) {
                if (*line == ';' || *line == '<' || *line == '>')
                        continue;
                for (px = line; *px != '\n'; px++) {
                        if (isupper(*px))
                                *py++ = *px;
                        else if (islower(*px))
                                *py++ = toupper(*px);
                        if (index("ATGCU",*(py-1)))
                                natgc++;
                }
        }
        *py++ = '\0';
        *py = '\0';
        (void) fclose(fp);
        dna = natgc > (tlen/3);
        return(pseq+4);
}

char    *
g_calloc(msg, nx, sz)
        char    *msg;           /* program, calling routine */
        int     nx, sz;         /* number and size of elements */
{
        char            *px, *calloc();

        if ((px = calloc((unsigned)nx, (unsigned)sz)) == 0) {
                if (*msg) {
                        fprintf(stderr, "%s: g_calloc() failed %s (n=%d, sz=%d)\n", prog, msg, nx, sz);
                        exit(1);
                }
        }
        return(px);
}

/*
 * get final jmps from dx[] or tmp file, set pp[], reset dmax: main()
 */
readjmps()
{
        int             fd = -1;
        int             siz, i0, i1;
        register  i, j, xx;

        if (fj) {
                (void) fclose(fj);
                if ((fd = open(jname, O_RDONLY, 0)) < 0) {
                        fprintf(stderr, "%s: can't open() %s\n", prog, jname);
                        cleanup(1);
                }
        }
        for (i = i0 = i1 = 0, dmax0 = dmax, xx = len0; ; i++) {
                while (1) {
                        for (j = dx[dmax].ijmp; j >= 0 && dx[dmax].jp.x[j] >= xx; j--)
                                ;
```

g_calloc

readjmps

【００４７】

...readjmps

```
                if (j < 0 && dx[dmax].offset && fj) {
                        (void) lseek(fd, dx[dmax].offset, 0);
                        (void) read(fd, (char *)&dx[dmax].jp, sizeof(struct jmp));
                        (void) read(fd, (char *)&dx[dmax].offset, sizeof(dx[dmax].offset));
                        dx[dmax].ijmp = MAXJMP-1;
                }
                else
                        break;
        }
        if (i >= JMPS) {
                fprintf(stderr, "%s: too many gaps in alignment\n", prog);
                cleanup(1);
        }
        if (j >= 0) {
                siz = dx[dmax].jp.n[j];
                xx = dx[dmax].jp.x[j];
                dmax += siz;
                if (siz < 0) {                  /* gap in second seq */
                        pp[1].n[i1] = -siz;
                        xx += siz;
                        /* id = xx - yy + len1 - 1
                         */
                        pp[1].x[i1] = xx - dmax + len1 - 1;
                        gapy++;
                        ngapy -= siz;
/* ignore MAXGAP when doing endgaps */
                        siz = (-siz < MAXGAP || endgaps)? -siz : MAXGAP;
                        i1++;
                }
                else if (siz > 0) {  /* gap in first seq */
                        pp[0].n[i0] = siz;
                        pp[0].x[i0] = xx;
                        gapx++;
                        ngapx += siz;
/* ignore MAXGAP when doing endgaps */
                        siz = (siz < MAXGAP || endgaps)? siz : MAXGAP;
                        i0++;
                }
        }
        else
                break;
    }

    /* reverse the order of jmps
     */
    for (j = 0, i0--; j < i0; j++, i0--) {
            i = pp[0].n[j]; pp[0].n[j] = pp[0].n[i0]; pp[0].n[i0] = i;
            i = pp[0].x[j]; pp[0].x[j] = pp[0].x[i0]; pp[0].x[i0] = i;
    }
    for (j = 0, i1--; j < i1; j++, i1--) {
            i = pp[1].n[j]; pp[1].n[j] = pp[1].n[i1]; pp[1].n[i1] = i;
            i = pp[1].x[j]; pp[1].x[j] = pp[1].x[i1]; pp[1].x[i1] = i;
    }
    if (fd >= 0)
            (void) close(fd);
    if (fj) {
            (void) unlink(jname);
            fj = 0;
            offset = 0;
    }
}
```

【００４８】

writejmps

```
/*
 * write a filled jmp struct offset of the prev one (if any): nw()
 */
writejmps(ix)
        int     ix;
{
        char    *mktemp();

        if (!fj) {
                if (mktemp(jname) < 0) {
                        fprintf(stderr, "%s: can't mktemp() %s\n", prog, jname);
                        cleanup(1);
                }
                if ((fj = fopen(jname, "w")) == 0) {
                        fprintf(stderr, "%s: can't write %s\n", prog, jname);
                        exit(1);
                }
        }
        (void) fwrite((char *)&dx[ix].jp, sizeof(struct jmp), 1, fj);
        (void) fwrite((char *)&dx[ix].offset, sizeof(dx[ix].offset), 1, fj);
}
```

【００４９】

表２Ａ

PRO	XXXXXXXXXXXXXXX	(長さ = 15 アミノ酸)
比較タンパク質	XXXXXYYYYYYY	(長さ = 12 アミノ酸)

% アミノ酸配列同一性 =

（ALIGN-2によって決定した二つのポリペプチド配列間で等しく一致するアミノ酸残基の数）
を（PROポリペプチドの全アミノ酸残基の数）で割る＝

5 ÷ 15 = 33.3%

【００５０】

表２Ｂ

PRO	XXXXXXXXXX	(長さ = 10 アミノ酸)
比較タンパク質	XXXXXYYYYYYZZYZ	(長さ = 15 アミノ酸)

% アミノ酸配列同一性 =

（ALIGN-2によって決定した二つのポリペプチド配列間で等しく一致するアミノ酸残基の数）
を（PROポリペプチドの全アミノ酸残基の数）で割る＝

5 ÷ 10 = 50%

【００５１】

表２Ｃ

PRO-DNA	NNNNNNNNNNNNN	(長さ ＝14 ヌクレオチド)
比較DNA	NNNNNNLLLLLLLLL	(長さ ＝16 ヌクレオチド)

% 核酸配列同一性 ＝

(ALIGN-2によって決定した二つの核酸配列間で等しく一致するヌクレオチド残基の数)を(PRO-DNA核酸配列の全ヌクレオチド数)で割る＝

6 ÷ 14 = 42.9%

【００５２】

表２Ｄ

PRO-DNA	NNNNNNNNNNN	(長さ ＝12ヌクレオチド)
比較DNA	NNNNLLLVV	(長さ ＝9 ヌクレオチド)

% 核酸配列同一性 ＝

(ALIGN-2によって決定した二つの核酸配列間で等しく一致するヌクレオチド残基の数)を(PRO-DNA核酸配列の全ヌクレオチド数)で割る＝

4 ÷ 12 = 33.3%

【００５３】

ここに定義されるＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド配列に対する「パーセント(%)アミノ酸配列同一性」は、配列を整列させ、最大のパーセント配列同一性を得るために必要ならば間隙を導入し、如何なる保存的置換も配列同一性の一部と考えないとした、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２配列のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセントとして定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、当業者の技量の範囲にある種々の方法、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN、ALIGN-2又はMegalign(DNASTAR)ソフトウエアのような公に入手可能なコンピュータソフトウエアを使用することにより達成可能である。当業者であれば、比較される配列の全長に対して最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。しかし、ここでの目的のためには、%アミノ酸配列同一性値は、以下に記載するように、ALIGN-2プログラム用の完全なソースコードが表１に与えられている配列比較プログラムALIGN-2を用いて得られる。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムはジェネンテク社によって作成され、表１に示したソースコードは米国著作権事務所, Washingt

on D.C., 20559に使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号TXU510087の下で登録されている。ALIGN-2はジェネンテク社、South San Francisco, Californiaを通して公的に入手可能であり、また表１に与えたソースコードからコンパイルしてもよい。ALIGN-2プログラムは、UNIX(登録商標)オペレーティングシステム、好ましくはデジタルUNIX(登録商標)V4.0Dでの使用のためにコンパイルされる。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムによって設定され変動しない。

【００５４】

ここでの目的のためには、与えられたアミノ酸配列Ａの、与えられたアミノ酸配列Ｂとの、又はそれに対する％アミノ酸配列同一性（あるいは、与えられたアミノ酸配列Ｂと、又はそれに対して或る程度の％アミノ酸配列同一性を持つ又は含む与えられたアミノ酸配列Ａと言うこともできる）は次のように計算される：

分率Ｘ／Ｙの１００倍

ここで、Ｘは配列アラインメントプログラムALIGN-2のＡ及びＢのアラインメントによって同一であると一致したスコアのアミノ酸残基の数であり、ＹはＢの全アミノ酸残基数である。アミノ酸配列Ａの長さがアミノ酸配列Ｂの長さと異なる場合、ＡのＢに対する％アミノ酸配列同一性は、ＢのＡに対する％アミノ酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。この方法を用いた％アミノ酸配列同一性の計算の例として、表２Ａ-Ｂは、「比較タンパク質」と称されるアミノ酸配列の「ＰＲＯ」と称されるアミノ酸配列に対する％アミノ酸配列同一性の計算方法を示す。

【００５５】

特に断らない限りは、ここでの全ての％アミノ酸配列同一性値は上記のようにALIGN-2配列比較コンピュータプログラムを用いて得られる。しかしながら、％アミノ酸配列同一性は、配列比較プログラムNCBI-BLAST2（Altschul等, Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402 (1997)）を用いて決定してもよい。NCBI-BLAST2配列比較プログラムは、http://ww.ncbi.nlm.nih.govからダウンロードできる。NCBI-BLAST2は幾つかの検索パラメータを使用し、それら検索パラメータの全ては初期値に設定され、例えば、unmask＝可、鎖＝全て、予測される発生＝10、最小低複合長＝15/5、マルチパスｅ-値＝0.01、マルチパスの定数＝25、最終ギャップアラインメントのドロップオフ＝25、及びスコアリングマトリクス＝BLOSUM62を含む。

【００５６】

アミノ酸配列比較にNCBI-BLAST2が用いられる状況では、与えられたアミノ酸配列Ａの、与えられたアミノ酸配列Ｂとの、又はそれに対する％アミノ酸配列同一性（あるいは、与えられたアミノ酸配列Ｂと、又はそれに対して或る程度の％アミノ酸配列同一性を持つ又は含む与えられたアミノ酸配列Ａと言うこともできる）は次のように計算される：

分率Ｘ／Ｙの１００倍

ここで、Ｘは配列アラインメントプログラムNCBI-BLAST2のＡ及びＢのアラインメントによって同一であると一致したスコアのアミノ酸残基の数であり、ＹはＢの全アミノ酸残基数である。アミノ酸配列Ａの長さがアミノ酸配列Ｂの長さと異なる場合、ＡのＢに対する％アミノ酸配列同一性は、ＢのＡに対する％アミノ酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。

さらに、％アミノ酸配列同一性値は、WU-BLAST-2コンピュータプログラム（Altschul等, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて決定してもよい。殆どのWU-BLAST-2検索パラメータは初期値に設定される。初期値に設定されない、即ち調節可能なパラメータは以下の値に設定する：オーバーラップスパン＝1、オーバーラップフラクション＝0.125、ワード閾値（Ｔ）＝11、及びスコアリングマトリクス＝BLOSUM62。ここでの目的のために、％アミノ酸配列同一性値は、（ａ）天然ＰＲＯポリペプチドから誘導された配列を有する対象とするＰＲＯポリペプチドのアミノ酸配列と、対象とする比較アミノ酸配列（即ち、対象とするＰＲＯポリペプチドが比較されるＰＲＯポリペプチド変異体であってもよい配列）との間の、WU-BLAST-2によって決定した一致する同一アミノ酸残基の数を、（ｂ）対象とするＰＲＯポリペプチドの残基の総数で除した商によって決定される

。例えば、「アミノ酸配列Ｂに対して少なくとも８０％のアミノ酸配列同一性を持つ又は持っているアミノ酸配列Ａを含んでなるポリペプチド」という表現では、アミノ酸配列Ａが対象とする比較アミノ酸配列であり、アミノ酸配列Ｂが対象とするＰＲＯポリペプチドのアミノ酸配列である。

【００５７】

「ＰＲＯ３８１ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１２６９ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１４１０ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１７５５ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１７８０ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１７８８ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ３４３４ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１９２７ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ３５６７ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１２９５ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１２９３ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１３０３ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ４３４４ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ４３５４ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ４３９７ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ４４０７ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１５５５ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ１０９６ポリペプチド変異体」、「ＰＲＯ２０３８ポリペプチド変異体」及び「ＰＲＯ２２６２ポリペプチド変異体」、又は「ＰＲＯ３８１変異体核酸配列」、「ＰＲＯ１２６９変異体核酸配列」、「ＰＲＯ１４１０変異体核酸配列」、「ＰＲＯ１７５５変異体核酸配列」、「ＰＲＯ１７８０変異体核酸配列」、「ＰＲＯ１７８８変異体核酸配列」、「ＰＲＯ３４３４変異体核酸配列」、「ＰＲＯ１９２７変異体核酸配列」、「ＰＲＯ３５６７変異体核酸配列」、「ＰＲＯ１２９５変異体核酸配列」、「ＰＲＯ１２９３変異体核酸配列」、「ＰＲＯ１３０３変異体核酸配列」、「ＰＲＯ４３４４変異体核酸配列」、「ＰＲＯ４３５４変異体核酸配列」、「ＰＲＯ４３９７変異体核酸配列」、「ＰＲＯ４４０７変異体核酸配列」、「ＰＲＯ１５５５変異体核酸配列」、「ＰＲＯ１０９６変異体核酸配列」、「ＰＲＯ２０３８変異体核酸配列」及び「ＰＲＯ２２６２変異体核酸配列」は、以下に定義するような活性なＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードする核酸分子を意味し、ここに開示するＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチド配列、ここに開示するシグナルペプチドを欠くＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチド配列、ここに開示するシグナルペプチド有又は無のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチド細胞外ドメイン、又はここに開示するＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチド配列の任意の他の断片をコードする核酸配列に対して少なくとも約８０％の核酸配列同一性を有する。通常は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲ

Ｏ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２変異体ポリヌクレオチドは、ここに開示する完全長天然配列ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチド配列、ここに開示するシグナルペプチドを欠く完全長天然配列ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチド配列、ここに開示するシグナルペプチド有又は無のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチド細胞外ドメイン、又はここに開示する完全長ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチド配列の任意の他の断片をコードする核酸配列と少なくとも約８０％の核酸配列同一性、好ましくは少なくとも約８１％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８２％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８３％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８４％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８５％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８６％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８７％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８８％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８９％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９０％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９１％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９２％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９３％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９４％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９５％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９６％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９７％の核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９８％の核酸配列同一性、そして、より好ましくは少なくとも約９９％の核酸配列同一性を有している。変異体は、天然のヌクレオチド配列を含まない。

【００５８】

通常は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２変異体ポリヌクレオチドは、少なくとも約３０ヌクレオチド長、より多くは少なくとも約６０ヌクレオチド長、より多くは少なくとも約９０ヌクレオチド長、より多くは少なくとも約１２０ヌクレオチド長、より多くは少なくとも約１５０ヌクレオチド長、より多くは少なくとも約１８０ヌクレオチド長、より多くは少なくとも約２１０ヌクレオチド長、より多くは少なくとも約２４０ヌクレオチド長、より多くは少なくとも約２７０ヌクレオチド長、より多くは少なくとも約３００ヌクレオチド長、より多くは少なくとも約４５０ヌクレオチド長、より多くは少なくとも約６００ヌクレオチド長、より多くは少なくとも約９００ヌクレオチド長、又はそれ以上である。

【００５９】

ここに同定されるＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、

ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチド-コード化核酸配列に対して同定されている「パーセント(%)核酸配列同一性」は、配列を整列させ、最大のパーセント配列同一性を得るために必要ならば間隙を導入し、如何なる保存的置換も配列同一性の一部と考えないとした、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド-コード化配列のヌクレオチドと同一である候補配列中のヌクレオチドのパーセントとして定義される。パーセント核酸配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、当業者の技量の範囲にある種々の方法、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN、ALIGN-2又はMegalign(DNASTAR)ソフトウエアのような公に入手可能なコンピュータソフトウエアを使用することにより達成可能である。当業者であれば、比較される配列の全長に対して最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。しかし、ここでの目的のためには、％核酸配列同一性値は、以下に記載するように、ALIGN-2プログラム用の完全なソースコードが表１に与えられている配列比較プログラムALIGN-2を用いて得られる。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムはジェネンテク社によって作成され、表１に示したソースコードは米国著作権庁，Washington D.C.，20559に使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号TXU510087の下で登録されている。ALIGN-2はジェネンテク社、South San Francisco，Californiaを通して公的に入手可能であり、また図２Ａ-Ｐに与えたソースコードからコンパイルしてもよい。ALIGN-2プログラムは、UNIX(登録商標)オペレーティングシステム、好ましくはデジタルUNIX(登録商標)V4.0Dでの使用のためにコンパイルされる。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムによって設定され変動しない。

【００６０】

ここでの目的のためには、与えられた核酸配列Ｃの、与えられた核酸配列Ｄとの、又はそれに対する％核酸配列同一性（あるいは、与えられた核酸配列Ｄと、又はそれに対して或る程度の％核酸配列同一性を持つ又は含む与えられたアミノ酸配列Ｃと言うこともできる）は次のように計算される：

分率Ｗ／Ｚの１００倍

ここで、Ｗは配列アラインメントプログラムALIGN-2のＣ及びＤのアラインメントによって同一であると一致したスコアのヌクレオチドの数であり、ＺはＤの全ヌクレオチド数である。核酸配列Ｃの長さが核酸配列Ｄの長さと異なる場合、ＣのＤに対する％核酸配列同一性は、ＤのＣに対する％核酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。この方法を用いた％核酸配列同一性の計算の例として、表２Ｃ-Ｄは、「比較ＤＮＡ」と称される核酸配列の「ＰＲＯ-ＤＮＡ」と称される核酸配列に対する％核酸配列同一性の計算方法を示す。

特に断らない限りは、ここでの全ての％核酸配列同一性値は上記のようにALIGN-2配列比較コンピュータプログラムを用いて得られる。しかしながら、％核酸配列同一性は、配列比較プログラムNCBI-BLAST2（Altschul等，Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402 (1997)）を用いて決定してもよい。NCBI-BLAST2配列比較プログラムは、http://ww.ncbi.nlm.nih.govからダウンロードできる。NCBI-BLAST2は幾つかの検索パラメータを使用し、それら検索パラメータの全ては初期値に設定され、例えば、unmask＝可、鎖＝全て、予測される発生＝10、最小低複合長＝15/5、マルチパスｅ-値＝0.01、マルチパスの定数＝25、最終ギャップアラインメントのドロップオフ＝25、及びスコアリングマトリクス＝BLOSUM62を含む。

【００６１】

配列比較にNCBI-BLAST2が用いれれる状況では、与えられた核酸配列Ｃの、与えられた

核酸配列Ｄとの、又はそれに対する％核酸配列同一性（あるいは、与えられた核酸配列Ｄと、又はそれに対して或る程度の％核酸配列同一性を持つ又は含む与えられた核酸配列Ｃと言うこともできる）は次のように計算される：

分率Ｗ／Ｚの１００倍

ここで、Ｗは配列アラインメントプログラムNCBI-BLAST2のＣ及びＤのアラインメントによって同一であると一致したスコアのヌクレオチドの数であり、ＺはＤの全ヌクレオチド数である。核酸配列Ｃの長さが核酸配列Ｄの長さと異なる場合、ＣのＤに対する％核酸配列同一性は、ＤのＣに対する％核酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。

さらに、％核酸配列同一性値は、WU-BLAST-2コンピュータプログラム（Altschul等，Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて決定してもよい。殆どのWU-BLAST-2検索パラメータは初期値に設定される。初期値に設定されない、即ち調節可能なパラメータは以下の値に設定する：オーバーラップスパン＝1、オーバーラップフラクション＝0.125、ワード閾値（Ｔ）＝11、及びスコアリングマトリクス＝BLOSUM62。ここでの目的のために、％核酸配列同一性値は、（ａ）天然配列ＰＲＯポリペプチド-コード化核酸から誘導された配列を有する対象とするＰＲＯポリペプチド-コード化配列の核酸配列と、対象とする比較核酸分子（即ち、対象とするＰＲＯポリペプチド-コード化核酸分子の配列が比較される変異体ポリヌクレオチドであってもよい配列）との間の、WU-BLAST-2によって決定した一致する同一ヌクレオチドの数を、（ｂ）対象とするＰＲＯポリペプチド-コード化核酸のヌクレオチドの総数で除した商によって決定される。例えば、「核酸配列Ｂに対して少なくとも８０％のアミノ酸配列同一性を持つ又は持っている核酸配列Ａを含んでなる単離された核酸分子」という表現では、核酸配列Ａが対象とする比較核酸配列であり、核酸配列Ｂが対象とするＰＲＯポリペプチド-コード化核酸分子の核酸配列である。

【００６２】

他の実施態様では、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２変異体ポリヌクレオチドは、活性なＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードする核酸分子であり、好ましくは厳しいハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で、各々図２（配列番号：２）、図４（配列番号：７）、図６（配列番号：９）、図８（配列番号：１１）、図１０（配列番号：１３）、図１２（配列番号：１８）、図１４（配列番号：２３）、図１６（配列番号：２５）、又は図１８（配列番号：２７）、図２０（配列番号：２９）、図２２（配列番号：３１）、図２４（配列番号：３３）、図２６（配列番号：３５）、図２８（配列番号：４０）、図３０（配列番号：４２）、図３２（配列番号：４７）、図３４（配列番号：４９）、図３６（配列番号：５１）、図３８（配列番号：５３）又は図４０（配列番号：５５）に示すＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列にハイブリッド形成できる。ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２変異体ポリペプチドは、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ

３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２変異体ポリヌクレオチドにコードされるものであってもよい。

【００６３】

上記のように実施されるアミノ酸配列同一性比較の文脈における「ポジティブ（陽性）」という用語は、比較された配列において同一であるアミノ酸残基ばかりでなく類似の性質を有するものも含む。対象とするアミノ酸残基に対してポジティブ値をスコアされるアミノ酸残基は、対象とするアミノ酸残基と同一であるか、又は対象とするアミノ酸残基の（下記の表３で特定するように）好ましい置換とされるものである。

ここでの目的のために、与えられたアミノ酸配列Ａの、与えられたアミノ酸配列Ｂとの、又はそれに対する％ポジティブ値（あるいは、与えられたアミノ酸配列Ｂと、又はそれに対して或る程度の％ポジティブを持つ又は含む与えられたアミノ酸配列Ａと言うこともできる）は次のように計算される：

分率Ｘ／Ｙの１００倍

ここで、Ｘは配列アラインメントプログラムALIGN-2のＡ及びＢのアラインメントによってポジティブであるとのスコアのアミノ酸残基の数であり、ＹはＢの全アミノ酸残基数である。アミノ酸配列Ａの長さがアミノ酸配列Ｂの長さと異なる場合、ＡのＢに対する％ポジティブは、ＢのＡに対する％ポジティブとは異なることは理解されるであろう。

【００６４】

「単離された」とは、ここで開示された種々のポリペプチドを記述するために使用するときは、その自然環境の成分から同定され分離され及び／又は回収されたポリペプチドを意味する。好ましくは、単離されたポリペプチドはそれに自然に付随する全ての狭雑物を伴わない。その自然環境の狭雑成分とは、そのポリペプチドの診断又は治療への使用を典型的には妨害する物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質様又は非タンパク質様溶質が含まれる。好ましい実施態様において、ポリペプチドは、(１)スピニングカップシークエネーターを使用することにより、少なくとも１５残基のＮ末端あるいは内部アミノ酸配列を得るのに充分なほど、あるいは、(２) 非還元あるいは還元条件下でのＳＤＳ-ＰＡＧＥを行い、クーマシーブルーあるいは好ましくは銀染色によって、均一になるまで精製される。単離されたポリペプチドには、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの自然環境の少なくとも１つの成分が存在しないため、組換え細胞由来のポリペプチドが含まれる。しかしながら、通常は、単離されたポリペプチドは少なくとも１つの精製工程により調製される。

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードする「単離された」核酸分子、又は抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体をコードする「単離された」核酸は、同定され、ＰＲＯ３８１-、ＰＲＯ１２６９-、ＰＲＯ１４１０-、ＰＲＯ１７５５-、ＰＲＯ１７８０-、ＰＲＯ１７８８-、ＰＲＯ３４３４-、ＰＲＯ１９２７-、ＰＲＯ３５６７-、ＰＲＯ１２９５-、ＰＲＯ１２９３-、ＰＲＯ１３０３-、ＰＲＯ４３４４-、ＰＲＯ４３５４-、ＰＲＯ４３９７-、ＰＲＯ４４０７-、ＰＲＯ１５５５-、ＰＲＯ１０９

６-、ＰＲＯ２０３８-又はＰＲＯ２２６２-コード化核酸又は抗－ＰＲＯ３８１-、抗－ＰＲＯ１２６９-、抗－ＰＲＯ１４１０-、抗－ＰＲＯ１７５５-、抗－ＰＲＯ１７８０-、抗－ＰＲＯ１７８８-、抗－ＰＲＯ３４３４-、抗－ＰＲＯ１９２７-、抗－ＰＲＯ３５６７-、抗－ＰＲＯ１２９５-、抗－ＰＲＯ１２９３-、抗－ＰＲＯ１３０３-、抗－ＰＲＯ４３４４-、抗－ＰＲＯ４３５４-、抗－ＰＲＯ４３９７-、抗－ＰＲＯ４４０７-、抗－ＰＲＯ１５５５-、抗－ＰＲＯ１０９６-、抗－ＰＲＯ２０３８-又は抗－ＰＲＯ２２６２-コード化核酸の天然源に通常付随している少なくとも１つの狭雑核酸分子から分離された核酸分子である。好ましくは、単離された核酸はそれに自然に付随する全ての成分を伴わない。単離されたＰＲＯ３８１-、ＰＲＯ１２６９-、ＰＲＯ１４１０-、ＰＲＯ１７５５-、ＰＲＯ１７８０-、ＰＲＯ１７８８-、ＰＲＯ３４３４-、ＰＲＯ１９２７-、ＰＲＯ３５６７-、ＰＲＯ１２９５-、ＰＲＯ１２９３-、ＰＲＯ１３０３-、ＰＲＯ４３４４-、ＰＲＯ４３５４-、ＰＲＯ４３９７-、ＰＲＯ４４０７-、ＰＲＯ１５５５-、ＰＲＯ１０９６-、ＰＲＯ２０３８-又はＰＲＯ２２６２-コード化核酸分子又は抗－ＰＲＯ３８１-、抗－ＰＲＯ１２６９-、抗－ＰＲＯ１４１０-、抗－ＰＲＯ１７５５-、抗－ＰＲＯ１７８０-、抗－ＰＲＯ１７８８-、抗－ＰＲＯ３４３４-、抗－ＰＲＯ１９２７-、抗－ＰＲＯ３５６７-、抗－ＰＲＯ１２９５-、抗－ＰＲＯ１２９３-、抗－ＰＲＯ１３０３-、抗－ＰＲＯ４３４４-、抗－ＰＲＯ４３５４-、抗－ＰＲＯ４３９７-、抗－ＰＲＯ４４０７-、抗－ＰＲＯ１５５５-、抗－ＰＲＯ１０９６-、抗－ＰＲＯ２０３８-又は抗－ＰＲＯ２２６２-コード化核酸分子は、天然に見出される形態あるいは設定以外のものである。ゆえに、単離された核酸分子は、天然の細胞中に存在するＰＲＯ３８１-、ＰＲＯ１２６９-、ＰＲＯ１４１０-、ＰＲＯ１７５５-、ＰＲＯ１７８０-、ＰＲＯ１７８８-、ＰＲＯ３４３４-、ＰＲＯ１９２７-、ＰＲＯ３５６７-、ＰＲＯ１２９５-、ＰＲＯ１２９３-、ＰＲＯ１３０３-、ＰＲＯ４３４４-、ＰＲＯ４３５４-、ＰＲＯ４３９７-、ＰＲＯ４４０７-、ＰＲＯ１５５５-、ＰＲＯ１０９６-、ＰＲＯ２０３８-又はＰＲＯ２２６２-コード化核酸分子又は抗－ＰＲＯ３８１-、抗－ＰＲＯ１２６９-、抗－ＰＲＯ１４１０-、抗－ＰＲＯ１７５５-、抗－ＰＲＯ１７８０-、抗－ＰＲＯ１７８８-、抗－ＰＲＯ３４３４-、抗－ＰＲＯ１９２７-、抗－ＰＲＯ３５６７-、抗－ＰＲＯ１２９５-、抗－ＰＲＯ１２９３-、抗－ＰＲＯ１３０３-、抗－ＰＲＯ４３４４-、抗－ＰＲＯ４３５４-、抗－ＰＲＯ４３９７-、抗－ＰＲＯ４４０７-、抗－ＰＲＯ１５５５-、抗－ＰＲＯ１０９６-、抗－ＰＲＯ２０３８-又は抗－ＰＲＯ２２６２-コード化核酸分子とは区別される。しかし、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド又は抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体をコードする単離された核酸分子は、例えば、核酸分子が天然細胞のものとは異なった染色体位置にある、通常はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを発現する又は抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体を発現する細胞に含まれるＰＲＯ３８１-、Ｐ

ＲＯ１２６９-、ＰＲＯ１４１０-、ＰＲＯ１７５５-、ＰＲＯ１７８０-、ＰＲＯ１７８８-、ＰＲＯ３４３４-、ＰＲＯ１９２７-、ＰＲＯ３５６７-、ＰＲＯ１２９５-、ＰＲＯ１２９３-、ＰＲＯ１３０３-、ＰＲＯ４３４４-、ＰＲＯ４３５４-、ＰＲＯ４３９７-、ＰＲＯ４４０７-、ＰＲＯ１５５５-、ＰＲＯ１０９６-、ＰＲＯ２０３８-又はＰＲＯ２２６２-核酸分子又は抗－ＰＲＯ３８１-、抗－ＰＲＯ１２６９-、抗－ＰＲＯ１４１０-、抗－ＰＲＯ１７５５-、抗－ＰＲＯ１７８０-、抗－ＰＲＯ１７８８-、抗－ＰＲＯ３４３４-、抗－ＰＲＯ１９２７-、抗－ＰＲＯ３５６７-、抗－ＰＲＯ１２９５-、抗－ＰＲＯ１２９３-、抗－ＰＲＯ１３０３-、抗－ＰＲＯ４３４４-、抗－ＰＲＯ４３５４-、抗－ＰＲＯ４３９７-、抗－ＰＲＯ４４０７-、抗－ＰＲＯ１５５５-、抗－ＰＲＯ１０９６-、抗－ＰＲＯ２０３８-又は抗－ＰＲＯ２２６２-コード化核酸分子を含む。

【００６５】

「コントロール配列」という用語は、特定の宿主生物において作用可能に結合したコード配列を発現するために必要なＤＮＡ配列を指す。例えば原核生物に好適なコントロール配列は、プロモーター、場合によってはオペレータ配列、及びリボソーム結合部位を含む。真核生物の細胞は、プロモーター、ポリアデニル化シグナル及びエンハンサーを利用することが知られている。

核酸は、他の核酸配列と機能的な関係にあるときに「作用可能に結合し」ている。例えば、プレ配列あるいは分泌リーダーのＤＮＡは、ポリペプチドの分泌に関与するプレタンパク質として発現されているなら、そのポリペプチドのＤＮＡに作用可能に結合している；プロモーター又はエンハンサーは、配列の転写に影響を及ぼすならば、コード化配列に作用可能に結合している；又はリボソーム結合部位は、もしそれが翻訳を容易にするような位置にあるなら、コード化配列と作用可能に結合している。一般的に、「作用可能に結合している」とは、結合したＤＮＡ配列が近接しており、分泌リーダーの場合には近接していて翻訳枠があっていることを意味する。しかし、エンハンサーは必ずしも近接している必要はない。結合は簡便な制限酵素サイトにおけるライゲーションにより行われる。そのような部位が存在しない場合は、従来の手法に従って、合成オリゴヌクレオチドアダプターあるいはリンカーが使用される。

「抗体」という用語は最も広い意味において使用され、例えば、単一の抗－ＰＲＯ３８１-、抗－ＰＲＯ１２６９-、抗－ＰＲＯ１４１０-、抗－ＰＲＯ１７５５-、抗－ＰＲＯ１７８０-、抗－ＰＲＯ１７８８-、抗－ＰＲＯ３４３４-、抗－ＰＲＯ１９２７-、抗－ＰＲＯ３５６７-、抗－ＰＲＯ１２９５-、抗－ＰＲＯ１２９３-、抗－ＰＲＯ１３０３-、抗－ＰＲＯ４３４４-、抗－ＰＲＯ４３５４-、抗－ＰＲＯ４３９７-、抗－ＰＲＯ４４０７-、抗－ＰＲＯ１５５５-、抗－ＰＲＯ１０９６-、抗－ＰＲＯ２０３８-又は抗－ＰＲＯ２２６２モノクローナル抗体(アゴニスト、アンタゴニスト、及び中和抗体を含む)、多エピトープ特異性を持つ抗－ＰＲＯ３８１-、抗－ＰＲＯ１２６９-、抗－ＰＲＯ１４１０-、抗－ＰＲＯ１７５５-、抗－ＰＲＯ１７８０-、抗－ＰＲＯ１７８８-、抗－ＰＲＯ３４３４-、抗－ＰＲＯ１９２７-、抗－ＰＲＯ３５６７-、抗－ＰＲＯ１２９５-、抗－ＰＲＯ１２９３-、抗－ＰＲＯ１３０３-、抗－ＰＲＯ４３４４-、抗－ＰＲＯ４３５４-、抗－ＰＲＯ４３９７-、抗－ＰＲＯ４４０７-、抗－ＰＲＯ１５５５-、抗－ＰＲＯ１０９６-、抗－ＰＲＯ２０３８-又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体組成物、一本鎖抗－ＰＲＯ３８１-、抗－ＰＲＯ１２６９-、抗－ＰＲＯ１４１０-、抗－ＰＲＯ１７５５-、抗－ＰＲＯ１７８０-、抗－ＰＲＯ１７８８-、抗－ＰＲＯ３４３４-、抗－ＰＲＯ１９２７-、抗－ＰＲＯ３５６７-、抗－ＰＲＯ１２９５-、抗－ＰＲＯ１２９３-、抗－ＰＲＯ１３０３-、抗－ＰＲＯ４３４４-、抗－ＰＲＯ４３５４-、抗－ＰＲＯ４３９７-、抗－ＰＲＯ４４０７-、抗－ＰＲＯ１５５５-、抗－ＰＲＯ１０９６-、抗－ＰＲＯ２０３８-又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体、及び抗－ＰＲＯ３８１-、抗－ＰＲＯ１２６９-、抗－ＰＲＯ１４１０-、抗－ＰＲＯ１７５５-、抗－ＰＲＯ１７８０-、抗－ＰＲＯ１７８８-、抗－ＰＲＯ３４３４-、抗－ＰＲＯ１９２７-、抗－ＰＲＯ３５６７-、抗－ＰＲＯ１２９５-、抗－ＰＲＯ１２９３-、抗－ＰＲＯ１３０３-、抗－ＰＲＯ４３４４-、抗－ＰＲＯ４３５４-、抗－ＰＲＯ４３９７-、抗－ＰＲＯ４４０７-、抗－ＰＲＯ１５５５-、抗－ＰＲＯ１０９６-、抗－ＰＲＯ２０３８-又

は抗－ＰＲＯ２２６２抗体の断片を包含している（下記参照）。ここで使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体の集団、すなわち、構成する個々の抗体が、少量存在しうる自然に生じる可能性のある突然変異を除いて同一である集団から得られる抗体を称する。

【００６６】

ハイブリッド形成反応の「緊縮性」は、当業者によって容易に決定され、一般的にプローブ長、洗浄温度、及び塩濃度に依存する経験的な値である。一般に、プローブが長くなると適切なアニーリングのための温度が高くなり、プローブが短くなると温度は低くなる。ハイブリッド形成は、一般的に、相補鎖がその融点より低い環境に存在する場合における変性ＤＮＡの再アニールする能力に依存する。プローブとハイブリッドされる側の配列との所望される相同性のレベルが高い程、使用できる相対温度が高くなる。その結果、より高い相対温度は、反応条件をより緊縮させる傾向にあるが、低い温度は緊縮性を低下させる。ハイブリッド形成反応における緊縮性の更なる詳細及び説明は、Ausubel等, Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience Publishers, (1995)を参照のこと。

ここで定義される「緊縮条件」又は「高緊縮性条件」は、（１）洗浄のために低イオン強度及び高温度、例えば、５０℃において０．０１５Ｍの塩化ナトリウム／０．００１５Ｍのクエン酸ナトリウム／０．１％のドデシル硫酸ナトリウムを用いるもの；（２）ハイブリッド形成中にホルムアミド等の変性剤、例えば、４２℃において５０％（v/v）ホルムアミドと０．１％ウシ血清アルブミン／０．１％フィコール／０．１％のポリビニルピロリドン／５０ｍＭのｐＨ６．５のリン酸ナトリウムバッファー、及び７５０ｍＭの塩化ナトリウム、７５ｍＭクエン酸ナトリウムを用いるもの；（３）４２℃における５０％ホルムアミド、５ｘＳＳＣ（０．７５ＭのＮａＣｌ、０．０７５Ｍのクエン酸ナトリウム）、５０ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ６．８）、０．１％のピロリン酸ナトリウム、５ｘデンハード液、超音波処理サケ精子ＤＮＡ（５０μｇ／ｍｌ）、０．１％ＳＤＳ、及び１０％のデキストラン硫酸と、４２℃における０．２ｘＳＳＣ（塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム）中の洗浄及び５５℃での５０％ホルムアミド、次いで５５℃におけるＥＤＴＡを含む０．１ｘＳＳＣからなる高緊縮性洗浄を用いるものによって同定される。

「中程度の緊縮条件」は、Sambrook等, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Press, 1989に記載されているように同定され、上記の緊縮性より低い洗浄溶液及びハイブリッド形成条件（例えば、温度、イオン強度及び％ＳＤＳ）の使用を含む。中程度のストリンジェントな条件の例は、２０％ホルムアミド、５ｘＳＳＣ（１５０ｍＭのＮａＣｌ、１５ｍＭのクエン酸三ナトリウム）、５０ｍＭリン酸ナトリウム（ｐＨ７．６）、５ｘデンハード液、１０％デキストラン硫酸、及び２０ｍｇ／ｍｌの変性剪断サケ精子ＤＮＡを含む溶液中の３７℃での終夜インキュベーション、次いで１ｘＳＳＣ中約３５℃－５０℃でのフィルターの洗浄といった条件である。当業者であれば、プローブ長などの因子に適合させる必要に応じて、どのようにして温度、イオン強度等を調節するかを認識するであろう。

「エピトープタグ」なる用語は、ここで用いられるときは、「タグポリペプチド」に融合したＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド含んでなるキメラポリペプチドを指す。タグポリペプチドは、その抗体が産生され得るエピトープを提供するに十分な数の残基を有しているが、それに融合したポリペプチドの活性を阻害しないよう充分に短い。また、タグポリペプチドは、好ましくは、抗体が他のエピトープと実質的に交差反応をしないようにかなり独特である。適切なタグポリペプチドは、一般に、少なくとも６のアミノ酸残基、通常は約８～約５０のアミノ酸残基(好ましくは約１０～約２０の残基)を有する。

【００６７】

ここで意図している「活性な」及び「活性」とは、天然又はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの生物学的及び／又は免疫学的活性を保持するＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの形態を意味し、ここで「生物学的」活性とは、天然又はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドによって生ずる（阻害性又は増進性の）生物学的機能であって、天然又はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドが有する抗原性エピトープに対して抗体を生成する能力を除くものを意味し、「免疫学的」活性とは、天然又はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドが有する抗原性エピトープに対して抗体を生成する能力を意味する。

ここに開示されるスクリーニングアッセイによって同定できる抗体又は他のアンタゴニスト分子（例えば、有機又は無機小分子、ペプチド等）の文脈における「生物学的活性」は、それらの分子がここに同定される増幅された遺伝子にコードされるペプチドと結合又は複合体形成する能力、又はコード化ポリペプチドと他の細胞性タンパク質との相互作用を妨害する能力、又はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの転写又は翻訳を妨害する能力を指す。好ましい生物学的活性は、標的細胞の成長阻害である。他の好ましい生物学的活性は、標的腫瘍細胞の死をもたらす細胞毒性活性である。

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの文脈における「生物学的活性」という用語は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドが腫瘍形成細胞成長又は制御されない細胞成長を誘発する能力を意味する。

「免疫学的活性」という語は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲ

Ｏ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの少なくとも１つのエピトープとの免疫学的交差反応性を意味する。

【００６８】

ここで用いられる「免疫学的交差反応性」とは、候補ポリペプチドが、この活性を持つＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの定性的生物学的活性を、活性が周知のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに対して生じたポリクローナル抗血清と競合的に阻害できることを意味する。そのような抗血清は、例えばヤギ又はウサギに、完全フロイントアジュバント中の周知の活性類似物を皮下注射し、次いで不完全フロイント中で腹膜内又は皮下に追加免疫することにより従来の方法で調製される。免疫学的交差反応性は好ましくは「特異的」であり、これは同定される免疫学的交差反応性分子（例えば抗体）の対応するＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに対する結合親和性が、その分子の他の任意の知られた天然ポリペプチドに対する結合親和性より有意に高い（好ましくは少なくとも約２倍、より好ましくは少なくとも約４倍、さらにより好ましくは少なくとも約８倍、最も好ましくは少なくとも約１０倍高い）ことを意味する。

【００６９】

「アンタゴニスト」なる用語は最も広い意味で用いられ、ここに開示した天然ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの生物学的活性又はその転写又は翻訳を全体的又は部分的に阻止、阻害、又は中和する任意の分子を含む。好適なアンタゴニスト分子は特に、アンタゴニスト抗体又は抗体断片、断片、ペプチド、有機小分子、アンチセンス核酸などを含む。ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドのアンタゴニストの同定方法は、候補アンタゴニスト分子と接触させ、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに通常付随する一又は複数の生物学的活性の変化を測定することを含みうる。

「小分子」は、ここで約５００ダルトン未満の分子量を有すると定義される。

【００７０】

「抗体」（Ａｂｓ）及び「免疫グロブリン」（Ｉｇｓ）は同じ構造的特徴を持つ糖タンパク質である。抗体は特定の抗原に対する結合特異性を示すが、免疫グロブリンは抗体及び抗原特異性を持たない他の抗体様分子の両方を含む。後者の種類のポリペプチドは、例

えば、リンパ系では低レベルで産生され、ミエローマにおいて産生レベルが増加する。「抗体」という用語は最も広い意味で使用され、限定されることなく、無傷のモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、少なくとも２つの無傷の抗体から形成される多重特異的抗体（例えば二重特異的抗体）、及びそれらが所望の生物学的活性を有している限り抗体断片を包含する。

「天然抗体」及び「天然免疫グロブリン」は、通常、２つの同一の軽(Ｌ)鎖及び２つの同一の重(Ｈ)鎖からなる、約１５０,０００ダルトンの異種四量体糖タンパク質である。各軽鎖は一つの共有ジスルフィド結合により重鎖に結合しており、異なる免疫グロブリンアイソタイプ重鎖中のジスルフィド結合の数は相違する。また各重鎖と軽鎖は、規則的に離間した部位との間で鎖内ジスルフィド架橋を有している。各重鎖は、多くの定常ドメインに続いて可変ドメイン(V_H)を一端に有する。各軽鎖は、一端に可変ドメイン(V_L)を、他端に定常ドメインを有し；軽鎖の定常ドメインは重鎖の第一定常ドメインと整列し、軽鎖の可変ドメインは重鎖の可変ドメインと整列している。特定のアミノ酸残基が、軽鎖及び重鎖可変ドメイン間の界面を形成すると考えられている。

【００７１】

「可変」という用語は、可変ドメインのある部位が、抗体の中で配列が広範囲に異なるという事を意味し、その特定の抗原に対する各特定の抗体の結合及び特異性に利用される。しかしながら、可変性は抗体の可変ドメインにわたって一様には分布していない。軽鎖及び重鎖の可変ドメインの両方の高頻度可変領域又は相補性決定領域(ＣＤＲｓ)と呼ばれる３つのセグメントに濃縮される。可変ドメインのより高度に保存された部分はフレームワーク領域(ＦＲ)と呼ばれる。天然の重鎖及び軽鎖の可変ドメインは、βシート構造を結合し、ある場合にはその一部を形成するループ結合を形成する、３つのＣＤＲにより連結されたβシート配置を主にとる４つのＦＲ領域をそれぞれ含んでいる。各鎖のＣＤＲは、ＦＲ領域により近接して結合せしめられ、他の鎖のＣＤＲと共に、抗体の抗原結合部位の形成に寄与している(Kabat等, NIH Publ. No.91-3242, Vol.I, 647-669頁(1991)を参照のこと)。定常ドメインは、抗体の抗原への結合に直接関連しているものではないが、種々のエフェクター機能、例えば抗体依存性細胞毒性活性での抗体の関与を示す。

ここで使用される場合、「高頻度可変領域」なる用語は、抗原結合において重要な抗体のアミノ酸残基を意味する。高頻度可変領域は、「相補性決定領域」又は「ＣＤＲ」からのアミノ酸残基(すなわち、軽鎖可変ドメインの残基２４－３４(Ｌ１)、５０－５６(Ｌ２)及び８９-９７(Ｌ３)及び重鎖可変ドメインの３１－３５(Ｈ１)、５０－６５(Ｈ２)及び９５－１０２(Ｈ３)；Kabat等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5版, Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda, MD.[1991])及び／又は「高頻度可変ループ」からの残基(すなわち、軽鎖可変ドメインの残基２６－３２(Ｌ１)、５０－５２(Ｌ２)及び９１－９６(Ｌ３)及び重鎖可変ドメインの残基２６－３２(Ｈ１)、５３－５５(Ｈ２)及び９６－１０１(Ｈ３);Chothia及びLesk J.Mol.Biol. 196:901-917 [1987])を含む。「フレームワーク」又は「ＦＲ」残基はここに定義した高頻度可変領域残基以外の可変ドメイン残基である。

【００７２】

「抗体断片」は、未変性の抗体の一部、好ましくは未変性の抗体の抗原結合又は可変領域を含む。抗体断片の例は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、$F(ab')^2$、及びＦｖ断片；ダイアボディ(diabody)；直鎖状抗体（Zapata等, Protein Eng., 8(10): 1057-1062 [1995]）；一本鎖抗体分子；及び抗体断片から形成される多重特異的抗体を含む。

抗体のパパイン消化は、「Ｆａｂ」断片と呼ばれ、各々単一の抗原結合部位を持つ２つの同一な抗原結合断片、及び、その名称が容易に結晶化する能力を反映している残りの「Ｆｃ」断片を生成する。ペプシン処理により、２つの抗原結合部位を有するが、交差結合抗原であり得る$F(ab')_2$断片が生成される。

「Ｆｖ」は、完全な抗原認識及び結合部位を含む最小抗体断片である。この領域は、緊密に非共有的に結合した１つの重鎖と１つの軽鎖の可変ドメインの二量体からなる。この配置では、V_H－V_L二量体の表面における抗原結合部位を決定するために各可変ドメイ

ンの３つのＣＤＲが相互作用する。正確には、６つのＣＤＲが抗体に抗原結合特異性を与える。しかし、単一の可変ドメイン（又は抗原特異的な３つのＣＤＲしか含まないＦｖの半分）でさえも抗原を認識し結合する能力を持つが、結合部位全体よりは親和性が低い。

また、Ｆａｂ断片は軽鎖の定常ドメイン及び重鎖の第１の定常ドメイン（ＣＨ１）も含む。Ｆａｂ断片は、抗体ヒンジ領域からの１つ又は複数のシステインを含む重鎖ＣＨ１ドメインのカルボキシル末端における数個の残基の付加によりＦａｂ断片と相違する。Ｆａｂ'-ＳＨは、ここにおいて、定常ドメインのシステイン残基が遊離のチオール基を持つＦａｂ'の記号である。Ｆ(ａｂ')$_2$抗体断片は、元々、それらの間にヒンジシステインを持つＦａｂ'断片の対として生成された。抗体断片の他の化学的結合も知られている。

任意の脊椎動物種からの抗体（免疫グロブリン）の「軽鎖」は、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（κ）及びラムダ（λ）と呼ばれる２つの明らかに異なる型の１つに分類できる。

重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、免疫グロブリンは異なるクラスに分けられる。免疫グロブリンには５つの主要なクラス：ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、及びＩｇＭがあり、これらの幾つかは、更にサブクラス（アイソタイプ）、例えばＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ及びＩｇＡ２に分けられる。異なるクラスの免疫グロブリンに対応する重鎖定常ドメインは、各々α、δ、ε、γ、及びμと呼ばれる。異なるクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造及び三次元配置は良く知られている。

【００７３】

ここで用いられる「モノクローナル抗体」なる用語は、実質的に均一な抗体の集団、即ち、集団を構成する個々の抗体が少量存在する起こりうる自然発生突然変異体以外は同一であるような集団から得られる抗体を意味する。モノクローナル抗体は高度に特異的であり、単一の抗原部位に向けられている。さらに、通常は、異なる決定基（エピトープ）に対して作られた様々な抗体を含む従来の（ポリクローナル）抗体調製物とは違い、各モノクローナル抗体は抗原上の単一の決定基に対して向けられている。それらの特異性に加えて、モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ培養によって合成され、他の免疫グロブリンに汚染されていない点において有利である。「モノクローナル」という修飾語は、実質的に均一な抗体集団から得られという抗体の特徴を示すものであって、ある特定の方法による抗体の生産を必要とすることを意味するためのものではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、Kohler等, Nature, 256: 495 [1975]によって最初に記載されたハイブリドーマ法により作成してもよいし、組換えＤＮＡ法（例えば、米国特許第4,816,567号参照）により作成してもよい。また「モノクローナル抗体」はファージ抗体ライブラリから、例えば、Clackson等, Nature, 352: 624-628 [1991]及び Marks等, Ｊ. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991)に記載された技術を用いて単離してもよい。

ここで、モノクローナル抗体は特に、「キメラ」抗体（免疫グロブリン）を含み、それは、重鎖及び／又は軽鎖の一部が特定の種から誘導された又は特定の抗体クラス又はサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一又は相同であるが、鎖の残りの部分は他の種から誘導された又は他の抗体クラス又はサブクラスに属する抗体、並びにそれらが所望の生物学的活性を示す限りにおいてそれらの抗体の断片の対応する配列と同一又は相同である（米国特許第4,816,567号；Morrison等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 [1984]）。

【００７４】

非ヒト（例えばマウス）抗体の「ヒト化」型は、非ヒト免疫グロブリンから誘導された最小配列を含有する特定のキメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖又はそれらの断片（例えば、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ'、Ｆ(ａｂ')$_2$あるいは抗体の他の抗原結合性配列）である。大部分において、ヒト化抗体はヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）であって、そのレシピエントＣＤＲ由来の残基が、マウス、ラット又はウサギなどのヒト以外の種のＣＤＲ（ドナー抗体）に由来する所望の特異性、親和性及び容量を持つ残基で置換されている。ある場合は、ヒト免疫グロブリンのＦｖＦＲ残基が対応する非ヒト残基で置換される。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にも、移植されるＣＤＲ又は枠配列にも見

られない残基を含んでもよい。これらの修飾は、抗体の性能をさらに精密かつ最適化するために施される。一般にヒト化抗体は、ＣＤＲ領域の全て又は実質上全てが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、ＦＲ領域の全て又は実質上全てがヒト免疫グロブリン配列のものである少なくとも１つ、典型的には２つの可変ドメインの実質的に全部を含有するであろう。また、最適なヒト化抗体は、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）、典型的にはヒト免疫グロブリンのものの少なくとも一部も含有するであろう。さらなる詳細については、Jones等, Nature 321: 522-525 (1986)；Reichmann等, Nature 332: 323-329 (1988)；及びPresta, Curr. Op. Struct. Biol. 2: 593-596 (1992)を参照のこと。ヒト化抗体は、抗体の抗原結合領域が、関心のある抗原でマカクザルを免疫化することにより生産された抗体から由来するPRIMATIZED(商品名)抗体を含む。

【００７５】

「一本鎖Ｆｖ」又は「ｓＦｖ」抗体断片は、抗体のV_H及びV_Lドメインを含み、これらのドメインは単一のポリペプチド鎖に存在する。好ましくは、ＦｖポリペプチドはV_H及びV_Lドメイン間にポリペプチドリンカーを更に含み、それはｓＦｖが抗原結合に望まれる構造を形成するのを可能にする。ｓＦｖの概説については、The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg及びMoore編, Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)のPluckthunを参照のこと。

「ダイアボディ」なる用語は、二つの抗原結合部位を持つ小さい抗体断片を指し、その断片は同一のポリペプチド鎖(V_H－V_L)内で軽鎖可変ドメイン(V_L)に重鎖可変ドメイン(V_H)が結合している。非常に短いために同一鎖上で二つのドメインの対形成を不可能にするリンカーを使用して、ドメインを他の鎖の相補ドメインと強制的に対形成させ、二つの抗原結合部位を形成する。ダイアボディーは、例えば、ＥＰ４０４０９７；ＷＯ９３／１１１６１；及びHollingerら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)に更に詳細に記載されている。

「単離された」抗体とは、その自然環境の成分から同定され分離され及び／又は回収されたものを意味する。その自然環境の狭雑成分とは、抗体の診断又は治療への使用を妨害する物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質様又は非タンパク質様溶質が含まれる。好ましい実施態様において、抗体は、(１)ローリー(Lowry)法によって決定した場合９５重量％以上の、最も好ましくは９９重量％の抗体まで、（２）スピニングカップシークエネーターを使用することにより、少なくとも１５のＮ末端あるいは内部アミノ酸配列の残基を得るのに充分な程度まで、あるいは（３）非還元あるいは還元条件下でのＳＤＳ-ＰＡＧＥを行い、クーマシーブルーあるいは好ましくは銀染色によって、均一になるまで精製されうる。単離された抗体には、組換え細胞内のインサイツの抗体が含まれるが、これは抗体の自然環境の少なくとも１つの成分が存在しないからである。しかしながら、通常は、単離された抗体は少なくとも１つの精製工程により調製される。

【００７６】

「標識」という語は、ここで用いられる場合、「標識化」抗体を作製するために、抗体に直接的又は間接的に結合させる検出可能な化合物又は組成物を意味する。標識はそれ自身によって検出可能でもよく（例えば、放射性同位体標識又は蛍光標識）、あるいは、酵素標識の場合には、検出可能な基質化合物又は組成物の化学的変換を触媒してもよい。検出可能な標識を提供しうる放射性ヌクレオチドは、例えば、Ｉ-１３１、Ｉ-１２３、Ｉ-１２５、Ｙ-９０、Ｒｅ-１８８、Ｒｅ-１８６、Ａｔ-２１１、Ｃｕ-６７、Ｂｉ-２１２、及びＰｄ-１０９を含む。標識は、毒素のような非検出性の物質でもよい。

「固相」とは、本発明の抗体が接着できる非水性マトリクスを意味する。ここに包含される固相の例は、部分的又は全体的にガラス（例えば、径の調整されたガラス）、ポリサッカリド（例えばアガロース）、ポリアクリルアミド、ポリスチレン、ポリビニルアルコール及びシリコーンで形成されたものを含む。或る実施態様では、前後関係に応じて、固相はアッセイ用プレートのウェル；その他では精製用カラム（例えばアフィニティクロマトグラフィカラム）を含むことができる。また、この用語は、米国特許第4,275,149号に記載されたような別々の粒子の不連続な固相も含む。

「リポソーム」は、哺乳動物への薬物（例えばＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド又はそれらに対する抗体、場合によっては化学治療薬）輸送に有用な、脂質、リン脂質及び／又は界面活性剤を含む種々のタイプの小胞体である。リポソームの成分は、通常は細胞膜の脂質配向に類似した２層構造に配列される。

ここで用いる「イムノアドヘシン」という用語は、免疫グロブリン定常ドメインのエフェクター機能を持つ異種タンパク質（「アドヘシン」）の結合特異性を付与した抗体様分子を指す。構造的には、イムノアドヘシンは抗体の抗原認識及び結合部位以外の所望の結合特異性を持つアミノ酸配列（即ち「異種」）と免疫グロブリン定常ドメイン配列との融合物である。イムノアドヘシン分子のアドヘシン部分は、典型的には少なくともレセプター又はリガンドの結合部位を含む近接アミノ酸配列を含む。イムノアドヘシンの免疫グロブリン定常ドメイン配列は、ＩｇＧ-１、ＩｇＧ-２、ＩｇＧ-３、又はＩｇＧ-４サブタイプ、ＩｇＡ（ＩｇＡ-１及びＩｇＡ-２を含む）、ＩｇＥ、ＩｇＤ又はＩｇＭなどの任意の免疫グロブリンから得ることができる。

【００７７】

ＩＩ．本発明の組成物と方法

Ａ．完全長ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチド

本発明は、本出願においてＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２と称されるポリペプチドをコードする、新規に同定され単離されたヌクレオチド配列を提供する。特に、以下の実施例で更に詳細に開示するように、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードするｃＤＮＡを同定し単離した。異なる発現ラウンドで生成されたタンパク質は異なるＰＲＯ番号が与えられるが、ＵＮＱ番号は任意の与えられたＤＮＡ及びコードされたタンパク質に独特であり変化しない。しかしながら、単純化のために、本明細書では、ここに開示される核酸配列によりコードされるタンパク質並びに前述のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２の定義に含まれる更なる天然相同体及び変異体は、それらの起源又は調製方法に関わらず「ＰＲＯ３８１」、「ＰＲＯ１２６９」、「ＰＲＯ１４１０」、「ＰＲＯ１７５５」、「ＰＲＯ１７８０」、「ＰＲＯ１７８８」、「ＰＲＯ３４３４」、「ＰＲＯ１９２７」、「ＰＲＯ３５６７」、「ＰＲＯ１２９５」、「ＰＲＯ１２９３」、「ＰＲＯ１３０３」、「ＰＲＯ４３４４」、「ＰＲＯ４３５４」、「ＰＲＯ４３９７」、「ＰＲＯ４４０７」、「ＰＲＯ１５５５」、「ＰＲＯ１０９６」、「ＰＲＯ２０３８」又は「ＰＲＯ２２６２」と呼ばれる。

下記の実施例に開示するように、ｃＤＮＡクローンは、既知のＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２を除いて、ＡＴＣＣに寄託されている。クローンの実際のヌ

クレオチド配列は、この分野での日常的方法を用いて寄託されたクローンを配列決定することにより当業者により容易に決定される。ここに記載したＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド及びコード化核酸について、本出願人は、現時点で入手可能な配列情報で最も同定可能なリーディングフレームがどれと考えられるかを特定した。

【００７８】

Ｂ．ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２変異体

ここに記載した完全長天然配列ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチドに加えて、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２変異体も調製できると考えられる。ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２変異体は、公知のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ＤＮＡに適当なヌクレオチド変化を導入することにより、及び／又は所望のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチドを合成することにより調製できる。当業者は、適切なアミノ酸変化がＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチドの翻訳後プロセスを変えうること、例えばグリコシル化部位の数の変化又は膜固着特性の改変を理解するであろう。

天然完全長配列ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２もしくは、ここに記載したＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４

４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の種々のドメインにおける変異は、例えば、米国特許第5,364,934号に記載されている保存的及び非保存的変異についての任意の技術及び指針を用いてなすことができる。変異は、結果として天然配列ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２と比較してＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２のアミノ酸配列が変化するようなＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２をコードする一又は複数のコドンの置換、欠失又は挿入であってよい。場合によっては、変異は少なくとも１つのアミノ酸のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の一又は複数のドメインの任意の他のアミノ酸による置換である。いずれのアミノ酸残基が所望の活性に悪影響を与えることなく挿入、置換又は欠失されるかの指針は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の配列を相同性の知られたタンパク質分子の配列と比較し、相同性の高い領域内でなされるアミノ酸配列変化を最小にすることによって見出される。アミノ酸置換は、一のアミノ酸を類似した構造又は化学特性を持つ他のアミノ酸で置換した結果、例えばロイシンのセリンでの置換、即ち保存的アミノ酸置換とすることができる。挿入及び欠失は、場合によっては１から５のアミノ酸の範囲内とすることができる。許容される変異は、配列においてアミノ酸の挿入、欠失又は置換を系統的に作成し、得られた変異体を完全長又は成熟天然配列によって発揮される活性について試験することにより決定される。

【００７９】

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチドの断片がここに提供される。このような断片はＮ-末端又はＣ-末端で切断されていてもよいし、例えば完全長又は天然タンパク質と比較した場合に内部残基を欠いていてもよい。或る種の断片はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの所望の生物活性に対して必須ではないアミノ酸残基を欠く。

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、

ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２断片は多くの一般的な方法の任意のものによって調製することができる。所望のペプチド断片を化学的に合成してもよい。他のアプローチ法は、酵素消化により、例えば特定のアミノ酸残基により定まる部位でタンパク質を切断することが知られている酵素でタンパク質を処理するか、適当な制限酵素でＤＮＡを消化させることによりＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２断片を産生し、所望の断片を単離することを含む。さらに他の好適な技術は、ポリメラーゼ連鎖反応法(ＰＣＲ)により、所望のポリペプチド断片をコードするＤＮＡ断片を単離し増幅することを含む。ＤＮＡ断片の所望の末端を定めるオリゴヌクレオチドを、ＰＣＲにおいて５'及び３'プライマーとして使用する。好ましくは、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド断片は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドと少なくとも１つの生物学的及び／又は免疫学的活性を共有する。

特別の実施態様では、対象とする保存的置換を、好ましい置換という見出しで表３に示す。このような置換が生物学的活性の変化をもたらす場合、表３に例示的置換と名前を付け、又は以下にアミノ酸分類を参照して更に記載するような、より大幅な変化が導入され生成物がスクリーニングされる。

【００８０】

表３

元の残基	例示的置換	好ましい置換
Ala (A)	val; leu; ile	val
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gln; his; lys; arg	gln
Asp (D)	glu	glu
Cys (C)	ser	ser
Gln (Q)	asn	asn
Glu (E)	asp	asp
Gly (G)	pro; ala	ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; ﾉﾙﾛｲｼﾝ	leu
Leu (L)	ﾉﾙﾛｲｼﾝ ; ile; val; met; ala; phe	ile
Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	leu
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; ﾉﾙﾛｲｼﾝ	leu

【００８１】
ポリペプチドの機能及び免疫学的同一性の実質的な修飾は、（ａ）置換領域のポリペプチド骨格の構造、例えばシート又はヘリックス構造、（ｂ）標的部位の電荷又は疎水性、又は（ｃ）側鎖の嵩を維持しながら、それらの効果において有意に異なる置換基を選択することにより達成される。天然に生じる残基は共通の側鎖特性に基づいてグループに分けられる：
（１）疎水性：ノルロイシン，met ala，val，leu，ile;
（２）中性の親水性：cys，ser，thr;
（３）酸性：asp，glu;
（４）塩基性：asn，gln，his，lys，arg;
（５）鎖配向に影響する残基：gly，pro；及び
（６）芳香族：trp，tyr，phe
非保存的置換は、これらの分類の一つのメンバーを他の分類のメンバーに交換することを必要とするであろう。また、そのように置換された残基は、保存的置換部位、又はより好ましくは残された（非保存）部位に導入されうる。
【００８２】
変異は、オリゴヌクレオチド媒介（部位特異的）突然変異誘発、アラニンスキャンニング、及びＰＣＲ突然変異誘発等のこの分野で周知の技術を用いてなすことができる。部位特異的突然変異誘発［Carter等，Nucl. Acids Res.，13: 4331 (1986); Zoller等，Nucl. Acids Res.，10: 6487 (1987)］、カセット突然変異誘発［Wells等，Gene，34: 315 (1985)］、制限的選択突然変異誘発［Wells等，Philos. Trans. R. Soc. London SerA，317: 415 (1986)］又は他のこの分野で知られた技術をクローニングしたＤＮＡに実施して、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２変異体ＤＮＡを作成することもできる。
また、隣接配列に沿って一又は複数のアミノ酸を同定するのにスキャンニングアミノ酸分析を用いることができる。中でも好ましいスキャンニングアミノ酸は、比較的小さく、中性のアミノ酸である。そのようなアミノ酸は、アラニン、グリシン、セリン、及びシステインを含む。アラニンは、ベータ炭素を越える側鎖を排除し変異体の主鎖構造を変化させにくいので、この群の中で典型的に好ましいスキャンニングアミノ酸である［Cunningham及びWells，Science，244: 1081-1085 (1989)］。また、アラニンは最もありふれたアミノ酸であるため典型的には好ましい。さらに、それは埋もれた及び露出した位置の両方に見られることが多い［Creighton，The Proteins，(W.H. Freeman & Co.，N.Y.); Chothia，J. Mol. Biol.，150: 1 (1976)］。アラニン置換が十分な量の変異体を生じない場合は、アイソテリック(isoteric)アミノ酸を用いることができる。
【００８３】
Ｃ．ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２の修飾
ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２の共有結合的修飾は本発明の範囲内に含まれる。共有結合的修飾の一型は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３

、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの標的とするアミノ酸残基を、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の選択された側鎖又はＮ-又はＣ-末端残基と反応できる有機誘導体化試薬と反応させることを含む。二官能性試薬での誘導体化が、例えばＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２を水不溶性支持体マトリクスあるいは抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体の精製方法に用いるため、又はその逆に用いるための表面に架橋させるのに有用である。通常用いられる架橋剤は、例えば、１，１-ビス(ジアゾアセチル)-２-フェニルエタン、グルタルアルデヒド、Ｎ-ヒドロキシスクシンイミドエステル、例えば４-アジドサリチル酸、３，３’-ジチオビス(スクシンイミジルプロピオネート)等のジスクシンイミジルエステルを含むホモ二官能性イミドエステル、ビス-Ｎ-マレイミド-１，８-オクタン等の二官能性マレイミド、及びメチル-３-[(ｐ-アジドフェニル)ジチオ]プロピオイミダート等の試薬を含む。

他の修飾は、グルタミニル及びアスパラギニル残基の各々対応するグルタミル及びアスパルチル残基への脱アミノ化、プロリン及びリシンのヒドロキシル化、セリル又はトレオニル残基のヒドロキシル基のリン酸化、リシン、アルギニン、及びヒスチジン側鎖のα-アミノ基のメチル化[T.E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W.H. Freeman & Co., San Francisco, pp.79-86 (1983)]、Ｎ-末端アミンのアセチル化、及び任意のＣ末端カルボキシル基のアミド化を含む。

【００８４】

本発明の範囲内に含まれるＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの共有結合的修飾の他の型は、ポリペプチドの天然グリコシル化パターンを変更することを含む。「天然グリコシル化パターンの変更」とは、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２に見出される１つ又は複数の炭水化物部分の欠失（存在するグリコシル化部位の除去又は化学的及び／又は酵素的手段によるグリコシル化の削除による）、及び／又はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２に存在しない１つ又は複数のグリコシル化部位の付加を意味する。さらに、この語句は、存在する種々の炭水化物部分の性質及び比率の変化を含む、天然タンパク質のグリコシル化の定性的変化を含む。

【００８５】
ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドへのグリコシル化部位の付加は、アミノ酸配列の変更によって達成されうる。この変更は、例えば、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２への一又は複数のセリン又はスレオニン残基の付加、又はこれによる置換によってもなされる(Ｏ-結合グリコシル化部位の場合)。場合によっては、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２アミノ酸配列はＤＮＡレベルでの変化によって、特に所望のアミノ酸に翻訳されるコドンが産生されるように予め選んだ塩基でＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードしているＤＮＡを突然変異させることによって変更される。

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド上の炭水化物部分の数を増加させる他の手段は、ポリペプチドへのグリコシドの化学的又は酵素的結合による。これらの方法は1987年9月11日公開の国際特許出願第WO 87/05330号及びAplin及びWriston, CRC Crit. Rev. Biochem., pp259-306 (1981)に記載されている。

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド上に存在する炭水化物部分の除去は、化学的又は酵素的あるいはグリコシル化の標的となるアミノ酸残基をコードするコドンの突然変異的置換によりなされる。例えば、化学的脱グリコシル化技術は、この分野で知られており、例えば、Hakimuddin等, Arch. Biochem Biophys., 259:52 (1987)及びEdge等, Anal. Biochem., 118:131 (1981)により記載されている。ポリペプチド上の炭水化物部分の酵素的開裂は、Thotakura等, Meth. Enzymol., 138:350 (1987)に記載されているように種々のエンド-及びエキソ-グリコシダーゼを使用して達成することができる。

【００８６】
ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の共有結合的修飾の他の型は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ

４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの、種々の非タンパク質様ポリマー、例えばポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、又はポリオキシアルキレンの一つへの、米国特許第4,640,835号；第4,496,689号；第4,301,144号；第4,670,417号；第4,791,192号又は第4,179,337号に記載された方法での結合を含む。

また、本発明のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２は、他の異種ポリペプチド又はアミノ酸配列に融合したＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２を含むキメラ分子を形成する方法で修飾してもよい。

【００８７】

一実施態様では、このようなキメラ分子は、抗-タグ抗体が選択的に結合できるエピトープを提供するタグポリペプチドとＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２との融合を含む。エピトープタグは、一般的にはＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２のアミノ-又はカルボキシル-末端に位置する。このようなＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２のエピトープタグ形態の存在は、タグポリペプチドに対する抗体を用いて検出することができる。また、エピトープタグの提供は、抗タグ抗体又はエピトープタグに結合する他の型の親和性マトリクスを用いたアフィニティ精製によってＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２を容易に精製できるようにする。種々のタグポリペプチド及びそれら各々の抗体はこの分野で良く知られている。例としては、ポリ-ヒスチジン（poly-his）又はポリ-ヒスチジン-グリシン（poly-his-gly）タグ；flu HAタグポリペプチド及びその抗体１２ＣＡ５［Field等, Mol. Cell. Biol., 8:2159-2165 (1988)］；c-mycタグ及びそれに対する８Ｆ９、３Ｃ７、６Ｅ１０、Ｇ４、Ｂ７及び９Ｅ１０抗体［Evan等, Molecular and Cellular Biology, 5:3610-3616 (1985)］；及び単純ヘルペスウイルス糖タンパク質Ｄ（gD）タグ及びその抗体［Paborsky等, Protein Engineering, 3(6):547-553 (1990)］を含む。他のタグポリペプチドは、フラッグ(Flag)-ペプチド［Hopp等, BioTechnology, 6:1204-1210 (1988)］；ＫＴ３エピトープペプチド［Martin等, Science, 255:192-194 (1992)］；α-チューブリンエピトープペプチド［Skinner等, J. Biol. Chem., 266:15163-15166 (1991)］；及びＴ７遺伝子１０タンパク質ペプチドタグ［Lutz-Freyermuth等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6393-6397 (1990)］を含む。

これに換わる実施態様では、キメラ分子はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４

１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の免疫グロブリン又は免疫グロブリンの特定領域との融合体を含んでもよい。キメラ分子の二価形態（「イムノアドヘシン」とも呼ばれる）については、そのような融合体はＩｇＧ分子のＦｃ領域であり得る。Ｉｇ融合体は、好ましくはＩｇ分子内の少なくとも１つの可変領域に換えてＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの可溶化（膜貫通ドメイン欠失又は不活性化）形態を含む。特に好ましい実施態様では、免疫グロブリン融合体は、ＩｇＧ１分子のヒンジ、ＣＨ２及びＣＨ３、又はヒンジ、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３領域を含む。免疫グロブリン融合体の製造については、1995年6月27日発行の米国特許第5,428,130号を参照のこと。

【００８８】

Ｄ．ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８及びＰＲＯ２２６２ポリペプチドの調製

以下の説明は、主として、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２核酸を含むベクターで形質転換又は形質移入された細胞を培養することによりＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２を生産する方法に関する。もちろん、当該分野において良く知られている他の方法を用いてＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２を調製することもできると考えられる。例えば、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２配列、又はその一部は、固相技術を用いた直接ペプチド合成によって生産してもよい［例えば、Stewart等, Solid-Phase Peptide Synthesis, W.H. Freeman Co., San Francisco, CA (1969)；Merrifield, J. Am. Chem. Soc., 85:2149-2154 (1963)参照］。手動技術又は自動によるインビトロタンパク質合成を行ってもよい。自動合成は、例えば、アプライド・バイオシステムズ・ペプチド合成機（Foster City, CA）を用いて、製造者の指示により実施してもよい。ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の種々の部分を、別々に化学的に合成し、化学的又は酵素的方法を用いて結合させてＰＲＯ３８１

、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２を製造してもよい。

【００８９】

ａ．ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードするＤＮＡの単離

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２をコードするＤＮＡは、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ｍＲＮＡを保有し、それを検出可能なレベルで発現すると考えられる組織から調製されたｃＤＮＡライブラリから得ることができる。従って、ヒトＰＲＯ３８１、ヒトＰＲＯ１２６９、ヒトＰＲＯ１４１０、ヒトＰＲＯ１７５５、ヒトＰＲＯ１７８０、ヒトＰＲＯ１７８８、ヒトＰＲＯ３４３４、ヒトＰＲＯ１９２７、ヒトＰＲＯ３５６７、ヒトＰＲＯ１２９５、ヒトＰＲＯ１２９３、ヒトＰＲＯ１３０３、ヒトＰＲＯ４３４４、ヒトＰＲＯ４３５４、ヒトＰＲＯ４３９７、ヒトＰＲＯ４４０７、ヒトＰＲＯ１５５５、ヒトＰＲＯ１０９６、ヒトＰＲＯ２０３８又はヒトＰＲＯ２２６２ＤＮＡは、実施例に記載されるように、ヒトの組織から調製されたｃＤＮＡライブラリから簡便に得ることができる。また

ＰＲＯ３８１-、ＰＲＯ１２６９-、ＰＲＯ１４１０-、ＰＲＯ１７５５-、ＰＲＯ１７８０-、ＰＲＯ１７８８-、ＰＲＯ３４３４-、ＰＲＯ１９２７-、ＰＲＯ３５６７-、ＰＲＯ１２９５-、ＰＲＯ１２９３-、ＰＲＯ１３０３-、ＰＲＯ４３４４-、ＰＲＯ４３５４-、ＰＲＯ４３９７-、ＰＲＯ４４０７-、ＰＲＯ１５５５-、ＰＲＯ１０９６-、ＰＲＯ２０３８-又はＰＲＯ２２６２-コード化遺伝子は、ゲノムライブラリから又はオリゴヌクレオチド合成により得てもよい。

ライブラリは、対象となる遺伝子あるいはその遺伝子によりコードされるタンパク質を同定するために設計された(ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに対する抗体又は少なくとも約２０－８０塩基のオリゴヌクレオチド等の)プローブによってスクリーニングできる。選択されたプローブによるｃＤＮＡ又はゲノムライブラリのスクリーニングは、例えばSambrook等, Molecular Cloning: A Laboratory Manual(New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)に記載されている標準的な手順を使用して実施することができる。ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２をコードする遺伝子を単離する他の方法はＰＣＲ法を使用するものである［Sambrook等,上掲；Dieffenbach等, PCR Primer：A Laboratory Manual(Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1995)］。

【００９０】
下記の実施例は、ｃＤＮＡライブラリのスクリーニング技術を記載している。プローブとして選択されたオリゴヌクレオチド配列は、充分な長さで、疑陽性が最小化されるよう充分に明瞭でなければならない。オリゴヌクレオチドは、スクリーニングされるライブラリ内のＤＮＡとのハイブリッド形成時に検出可能であるように標識されていることが好ましい。標識化の方法は当該分野において良く知られており、^{32}Ｐ標識されたＡＴＰのような放射線標識、ビオチン化あるいは酵素標識の使用が含まれる。中程度の緊縮性及び高度の緊縮性を含むハイブリッド形成条件は、上掲のSambrook等に与えられている。
このようなライブラリースクリーニング法において同定された配列は、GenBank等の公共データベース又は他の個人の配列データベースに寄託され利用可能とされている他の周知の配列と比較及びアラインメントすることができる。分子の所定領域内又は完全長配列に渡っての（アミノ酸又はヌクレオチドレベルのいずれかでの）配列同一性は、この分野で知られここに記載する方法を用いて決定できる。
タンパク質コード化配列を有する核酸は、初めてここで開示された推定アミノ酸配列を使用し、また必要ならば、ｃＤＮＡに逆転写されなかったｍＲＮＡの生成中間体及び先駆物質を検出する上掲のSambrook等に記述されているような従来のプライマー伸展法を使用して選択したｃＤＮＡ又はゲノムライブラリのスクリーニングにより得られる。
【００９１】
ｂ．宿主細胞の選択及び形質転換
宿主細胞を、ここに記載したＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２生産のための発現又はクローニングベクターで形質移入又は形質転換し、プロモーターを誘導し、形質転換体を選択し、又は所望の配列をコードする遺伝子を増幅するために適当に改変された常套的栄養培地で培養する。培養条件、例えば培地、温度、ｐＨ等々は、過度の実験をすることなく当業者が選ぶことができる。一般に、細胞培養の生産性を最大にするための原理、プロトコール、及び実用技術は、Mammalian Cell Biotechnology: a Practical Approach, M. Butler編 (IRL Press, 1991)及びSambrook等，上掲に見出すことができる。
原核細胞形質移入及び真核細胞形質移入の方法、例えば、$CaCl_2$、$CaPO_4$、リポソーム媒介及びエレクトロポレーションが当業者に知られている。用いられる宿主細胞に応じて、その細胞に対して適した標準的な方法を用いて形質転換はなされる。一般に上掲のSambrook等に記載された塩化カルシウムを用いるカルシウム処理又はエレクトロポレーションが、原核生物に対して用いられる。アグロバクテリウム・トゥメファシエンスによる感染が、Shaw等，Gene，23:315 (1983)及び1989年6月29日公開のWO 89/05859に記載されているように、或る種の植物細胞の形質転換に用いられる。このような細胞壁のない哺乳動物細胞に対しては、Graham及びvan der Eb, Virology, 52:456-457 (1978)のリン酸カルシウム沈降法を使用することができる。哺乳動物細胞の宿主系形質転換の一般的な態様は米国特許第4,399,216号に記載されている。酵母菌中への形質転換は、典型的には、Van Solingen等，J. Bact., 130:946 (1977)及びHsiao等，Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 76:3829 (1979)の方法に従って実施される。しかしながら、ＤＮＡを細胞中に導入する他の方法、例えば、核マイクロインジェクション、エレクトロポレーション、無傷の細胞、又はポリカチオン、例えばポリブレン、ポリオルニチン等を用いる細菌プロトプラスト融合法もまた用いることもできる。哺乳動物細胞を形質転換するための種々の技術については、Keown等，Methods in Enzymology, 185:527-537 (1990)及び Mansour等，Nature, 336:348-352 (1988)を参照のこと。
【００９２】
ここに記載のベクターにおいてＤＮＡをクローン化あるいは発現するために適切な宿主細胞は、原核生物、酵母菌、又は高等真核細胞である。適切な原核生物は、限定するもの

ではないが、真正細菌、例えばグラム陰性又はグラム陽性生物体、例えば大腸菌のような腸内細菌科を含む。種々の大腸菌株、例えば、大腸菌Ｋ１２株ＭＭ２９４（ATCC31,446）；大腸菌Ｘ１７７６（ATCC31,537）；大腸菌株Ｗ３１１０（ATCC27,325）及び大腸菌Ｋ５７７２（ATCC53,635）が公衆に利用可能である。他の適した原核生物宿主細胞は、例えば、大腸菌(Escherichia)、例えば大腸菌(E. coli)、エンテロバクター、エルウィニア(Erwinia)、クレブシエラ、プロテウス、サルモネラ、例えばネズミチフス菌、セラチア、例えば霊菌、及び赤痢菌等の腸内細菌科、並びに枯草菌及びビー・リシェニフォルミス(B. licheniformis)等の桿菌（例えば、1989年4月12日に発行されたDD266,710に開示されたビー・リシェニフォルミス４１Ｐ）、緑膿菌等のシュードモナス、及びストレプトマイセスである。これらの例は例示的であり限定するものではない。大腸菌株Ｗ３１１０は、組み換えＤＮＡ生産発酵の共通の宿主株であるので好ましい宿主又は親宿主である。好ましくは、宿主細胞は最小量のタンパク質分解酵素を分泌する。例えば、株Ｗ３１１０は宿主に内因性のタンパク質をコードする遺伝子において遺伝子変異をもたらすために修飾してもよく、そのような宿主の例は、完全な遺伝子型ｔｏｎＡを有する大腸菌Ｗ３１１０株１Ａ２；完全な遺伝子型ｔｏｎＡ ｐｔｒ３を有する大腸菌Ｗ３１１０株９Ｅ４；完全な遺伝子型ｔｏｎＡ ｐｔｒ３ ｐｈｏＡ Ｅ１５（ａｒｇＦ-ｌａｃ）１６９ ｄｅｇＰ ｏｍｐＴ ｋａｎ^{r}を有する大腸菌Ｗ３１１０株２７Ｃ７(ATCC 55,244)；完全な遺伝子型ｔｏｎＡ ｐｔｒ３ ｐｈｏＡ Ｅ１５（ａｒｇＦ-ｌａｃ）１６９ ｄｅｇＰ ｏｍｐＴ ｋａｎ^{r}を有する大腸菌Ｗ３１１０株３７Ｄ６；株３７Ｄ６の非カナマイシン耐性ｄｅｇＰ欠失変異体である大腸菌Ｗ３１１０株４０Ｂ４；及び1990年8月7日に発行された米国特許第4,946,783号に記載された変異体周辺質プロテアーゼを有する大腸菌株を含む。あるいは、インビトロのクローニング法、例えばＰＣＲ又は他の核酸ポリメラーゼ反応が適している。

【００９３】

原核生物に加えて、糸状菌又は酵母菌のような真核微生物は、ＰＲＯ３８１-、ＰＲＯ１２６９-、ＰＲＯ１４１０-、ＰＲＯ１７５５-、ＰＲＯ１７８０-、ＰＲＯ１７８８-、ＰＲＯ３４３４-、ＰＲＯ１９２７-、ＰＲＯ３５６７-、ＰＲＯ１２９５-、ＰＲＯ１２９３-、ＰＲＯ１３０３-、ＰＲＯ４３４４-、ＰＲＯ４３５４-、ＰＲＯ４３９７-、ＰＲＯ４４０７-、ＰＲＯ１５５５-、ＰＲＯ１０９６-、ＰＲＯ２０３８-又はＰＲＯ２２６２-コード化ベクターのための適切なクローン化又は発現宿主である。サッカロミセス・セレヴィシアは、通常用いられる下等真核生物宿主微生物である。他に、シゾサッカロミセスポンベ(Schizosaccharomyces prombe)（Beach及びNurse, Nature, 290: 140 [1981]; 1985年5月2日発行のEP 139,383）；クルベロミセスホスツ(Kluveromyces hosts)（米国特許第4,943,529号; Fleer等, Bio/Technology, 9: 968-975 (1991)）、例えばケーラクチス(K. lactis)（MW98-8C, CBS683, CBS4574; Louvencourt等, J. Bacteriol. 737 [1983]）、ケーフラギリス(K. fragilis)（ATCC 12,424）、ケーブルガリクス(K. bulgaricus)（ATCC 16,045）、ケーウィケラミイ(K. wickeramii)（ATCC 24,178）、ケーワルチイ(K. waltii)（ATCC 56,500）、ケードロソフィラルム(K. drosophilarum)（ATCC 36,906; Vanden Berg等, Bio/Technology, 8: 135 (1990)）、ケーテモトレランス(K. themotolerans)及びケーマルキシアナス(K. marxianus)；ヤロウィア(yarrowia)（EP 402,226）；ピッチャパストリス(Pichia pastoris)（EP 183,070; Sreekrishna等, J. Basic Microbiol, 28: 265-278 [1988]）；カンジダ；トリコデルマレーシア(reesia)（EP 244,234）；アカパンカビ（Case等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 5259-5263 [1979]）；シュワニオマイセス(Schwanniomyces)、例えばシュワニオマイセスオクシデンタリス(occidentalis)（1990年10月31日発行のEP 394,538）；及び糸状真菌、例えば、ニューロスポラ、ペニシリウム、トリポクラジウム(Tolypocladium)（1991年1月10日発行のWO 91/00357）；及びコウジ菌宿主、例えば偽巣性コウジ菌（Ballance等, Biochem. Biophys. Res. Commun., 112: 284-289 [1983]; Tilburn等, Gene, 26: 205-221 [1983]; Yelton等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 1470-1474 [1984]）及びクロカビ（Kelly及びHynes, EMBO J., 4: 475-479 [1985]）が含まれる。ここで好ましいメチロトロピック(Methylotropic)酵母は、これらに限られないが、ハンセヌラ(Hansenula)、カンジダ、クロエケラ(Kloeckera)、ピ

チア(Pichia)、サッカロミセス、トルロプシス(Torulopsis)、及びロドトルラ(Rhodotorula)からなる属から選択されるメタノールで成長可能な酵母を含む。この酵母の分類の例示である特定の種のリストは、C. Anthony, The Biochemistry of Methylotrophs, 269 (1982)に記載されている。

グリコシル化されたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の発現に適切な宿主細胞は、多細胞生物から誘導される。無細胞の例としては、ショウジョウバエＳ２及びスポドスペラＳｆ９等の昆虫細胞並びに植物細胞が含まれる。有用な哺乳動物宿主細胞系の例は、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）及びＣＯＳ細胞を含む。より詳細な例は、ＳＶ４０によって形質転換されたサル腎臓ＣＶ１株 (COS-7, ATCC CRL 1651);ヒト胚腎臓株（293又は懸濁培養での増殖のためにサブクローン化された293細胞、Graham等, J. Gen Virol., 36:59 (1977)）;チャイニーズハムスター卵巣細胞／-ＤＨＦＲ(CHO), （Urlaub及びChasin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216 (1980)）；マウスのセルトリ細胞（TM4, Mather, Biol. Reprod., 23:243-251 (1980)）；ヒト肺細胞 (W138, ATCC CCL 75)；ヒト肝細胞 (Hep G2, HB 8065)；及びマウス乳房腫瘍細胞 (MMT 060562, ATTC CCL51)を含む。適切な宿主細胞の選択は、この分野の技術常識内にある。

【００９４】

ｃ．複製可能なベクターの選択及び使用

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２をコードする核酸(例えば、ｃＤＮＡ又はゲノムＤＮＡ)は、クローニング(ＤＮＡの増幅)又は発現のために複製可能なベクター内に挿入される。様々なベクターが公的に入手可能である。ベクターは、例えば、プラスミド、コスミド、ウイルス粒子、又はファージの形態とすることができる。適切な核酸配列が、種々の手法によってベクターに挿入される。一般に、ＤＮＡはこの分野で周知の技術を用いて適当な制限エンドヌクレアーゼ部位に挿入される。ベクター成分としては、一般に、これらに制限されるものではないが、一又は複数のシグナル配列、複製開始点、一又は複数のマーカー遺伝子、エンハンサーエレメント、プロモーター、及び転写終結配列を含む。これらの成分の一又は複数を含む適当なベクターの作成には、当業者に知られた標準的なライゲーション技術を用いる。

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２は直接組換え的に生産されるだけではなく、シグナル配列あるいは成熟タンパク質あるいはポリペプチドのＮ末端に特異的切断部位を有する他のポリペプチドである異種性ポリペプチドとの融合ペプチドとしても生産される。一般に、シグナル配列はベクターの成分であるか、ベクターに挿入されるＰＲＯ３８１-、ＰＲＯ１２６９-、ＰＲＯ１４１０-、ＰＲＯ１７５５-、ＰＲＯ１７８０-、ＰＲＯ１７８８-、ＰＲＯ３４３４-、ＰＲＯ１９２７-、ＰＲＯ３５６７-、ＰＲＯ１２９５-、ＰＲＯ１２９３-、ＰＲＯ１３０３-、ＰＲＯ４３４４-、ＰＲＯ４３５４-、ＰＲＯ４３９７-、ＰＲＯ４４０７-、ＰＲＯ１５５５-、ＰＲＯ１０９６-、ＰＲＯ２０３８-又はＰＲＯ２２６２-コード化ＤＮＡの一部である。シグナル配列は、例えばアルカリホスファターゼ、ペニシリナーゼ、ｌｐｐあるいは熱安定なエンテロトキシンIIリーダーの群から選択される原核生物シグナル配列であってよい。酵母の分泌に関しては、シグナル配列は、例えば酵母インベルターゼリーダー、アルファ因子リーダー(酵母菌属(Saccharomyces)及びクルイベロマイシス(Kluyveromyces)α因子

リーダーを含み、後者は米国特許第5,010,182号に記載されている)、又は酸ホスフォターゼリーダー、白体(C.albicans)グルコアミラーゼリーダー(1990年4月4日発行のEP 362,179)、又は1990年11月15日に公開された国際特許出願第WO 90/13646号に記載されているシグナルであり得る。哺乳動物細胞の発現においては、同一あるいは関連する種の分泌ポリペプチド由来のシグナル配列、並びにウイルス分泌リーダーのような他の哺乳動物のシグナル配列をタンパク質の直接分泌に使用してもよい。

【００９５】

発現及びクローニングベクターは共に一又は複数の選択された宿主細胞においてベクターの複製を可能にする核酸配列を含む。そのような配列は多くの細菌、酵母菌及びウイルスに対してよく知られている。プラスミドｐＢＲ３２２に由来する複製開始点は大部分のグラム陰性細菌に好適であり、２μプラスミド開始点は酵母菌に適しており、様々なウイルス開始点(ＳＶ４０、ポリオーマ、アデノウイルス、ＶＳＶ又はＢＰＶ)は哺乳動物細胞におけるクローニングベクターに有用である。

発現及びクローニングベクターは、典型的には、選べるマーカーとも称される選択遺伝子を含む。典型的な選択遺伝子は、(a)アンピシリン、ネオマイシン、メトトレキセートあるいはテトラサイクリンのような抗生物質あるいは他の毒素に耐性を与え、(b)栄養要求性欠陥を補い、又は(c)例えばバシリに対する遺伝子コードD-アラニンラセマーゼのような、複合培地から得られない重要な栄養素を供給するタンパク質をコードする。

哺乳動物細胞に適切な選べるマーカーの他の例は、ＤＨＦＲあるいはチミジンキナーゼのように、ＰＲＯ３８１-、ＰＲＯ１２６９-、ＰＲＯ１４１０-、ＰＲＯ１７５５-、ＰＲＯ１７８０-、ＰＲＯ１７８８-、ＰＲＯ３４３４-、ＰＲＯ１９２７-、ＰＲＯ３５６７-、ＰＲＯ１２９５-、ＰＲＯ１２９３-、ＰＲＯ１３０３-、ＰＲＯ４３４４-、ＰＲＯ４３５４-、ＰＲＯ４３９７-、ＰＲＯ４４０７-、ＰＲＯ１５５５-、ＰＲＯ１０９６-、ＰＲＯ２０３８-又はＰＲＯ２２６２-コード化核酸を取り込むことのできる細胞の同定を可能にするものである。野生型ＤＨＦＲを用いた場合の好適な宿主細胞は、Urlaub 等により, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216 (1980)に記載されているようにして調製され増殖維持されたＤＨＦＲ活性に欠陥のあるＣＨＯ細胞系である。酵母菌中での使用に好適な選択遺伝子は酵母菌プラスミドＹＲｐ７に存在するｔｒｐ１遺伝子である［Stinchcomb等, Nature, 282：39(1979)；Kingman等, Gene, 7：141(1979)；Tschemper等, Gene, 10：157(1980)］。ｔｒｐ１遺伝子は、例えば、ＡＴＣＣ第４４０７６号あるいはＰＥＰ４-１のようなトリプトファン内で成長する能力を欠く酵母菌の突然変異株に対する選択マーカーを提供する［Jones, Genetics, 85:12 (1977)］。

【００９６】

発現及びクローニングベクターは、通常、ＰＲＯ３８１-、ＰＲＯ１２６９-、ＰＲＯ１４１０-、ＰＲＯ１７５５-、ＰＲＯ１７８０-、ＰＲＯ１７８８-、ＰＲＯ３４３４-、ＰＲＯ１９２７-、ＰＲＯ３５６７-、ＰＲＯ１２９５-、ＰＲＯ１２９３-、ＰＲＯ１３０３-、ＰＲＯ４３４４-、ＰＲＯ４３５４-、ＰＲＯ４３９７-、ＰＲＯ４４０７-、ＰＲＯ１５５５-、ＰＲＯ１０９６-、ＰＲＯ２０３８-又はＰＲＯ２２６２コード化核酸配列に作用可能に結合し、ｍＲＮＡ合成を制御するプロモーターを含む。種々の可能な宿主細胞により認識される好適なプロモーターが知られている。原核生物宿主での使用に好適なプロモーターはβ-ラクタマーゼ及びラクトースプロモーター系［Cahng等, Nature, 275:615 (1978)； Goeddel等, Nature, 281:544 (1979)］、アルカリホスファターゼ、トリプトファン(trp)プロモーター系［Goeddel, Nucleic Acids Res., 8:4057 (1980); EP 36,776］、及びハイブリッドプロモーター、例えばｔａｃプロモーター［deBoer 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80:21-25 (1983)］を含む。細菌系で使用するプロモータもまたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２をコードするＤＮＡと作用可能に結合したシャイン・ダルガーノ(S.D.)配列を有する。

酵母菌宿主と共に用いて好適なプロモーター配列の例としては、３-ホスホグリセラートキナーゼ［Hitzeman 等, J. Biol. Chem., 255:2073 (1980)］又は他の糖分解酵素［Hess 等, J. Adv. Enzyme Reg., 7:149 (1968)；Holland, Biochemistry, 17：4900(1978)］、例えばエノラーゼ、グリセルアルデヒド-３-リン酸デヒドロゲナーゼ、ヘキソキナーゼ、ピルビン酸デカルボキシラーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、グルコース-６-リン酸イソメラーゼ、３-ホスホグリセレートムターゼ、ピルビン酸キナーゼ、トリオセリン酸イソメラーゼ、ホスホグルコースイソメラーゼ、及びグルコキナーゼが含まれる。

【００９７】

他の酵母菌プロモーターとしては、成長条件によって転写が制御される付加的効果を有する誘導可能なプロモーターであり、アルコールデヒドロゲナーゼ２、イソチトクロムＣ、酸ホスファターゼ、窒素代謝と関連する分解性酵素、メタロチオネイン、グリセルアルデヒド-３-リン酸デヒドロゲナーゼ、及びマルトース及びガラクトースの利用を支配する酵素のプロモーター領域がある。酵母菌での発現に好適に用いられるベクターとプロモータはEP 73,657に更に記載されている。

哺乳動物の宿主細胞におけるベクターからのＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２転写は、例えば、ポリオーマウィルス、伝染性上皮腫ウィルス(1989年7月5日公開のUK 2,211,504)、アデノウィルス(例えばアデノウィルス２)、ウシ乳頭腫ウィルス、トリ肉腫ウィルス、サイトメガロウィルス、レトロウィルス、Ｂ型肝炎ウィルス及びサルウィルス４０(SV40)のようなウィルスのゲノムから得られるプロモーター、異種性哺乳動物から得られるプロモーター、例えばアクチンプロモーター又は免疫グロブリンプロモーター、及び熱衝撃プロモーターから得られるプロモーターによって、このようなプロモーターが宿主細胞系に適合し得る限り制御される。

【００９８】

より高等の真核生物によるＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２をコードするＤＮＡの転写は、ベクター中にエンハンサー配列を挿入することによって増強され得る。エンハンサーは、通常は約１０から３００塩基対で、プロモーターに作用してその転写を増強するＤＮＡのシス作動性因子である。哺乳動物遺伝子由来の多くのエンハンサー配列が現在知られている(グロビン、エラスターゼ、アルブミン、α-フェトプロテイン及びインスリン)。しかしながら、典型的には、真核細胞ウィルス由来のエンハンサーが用いられるであろう。例としては、複製起点の後期側のＳＶ４０エンハンサー(１００－２７０塩基対)、サイトメガロウィルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の後期側のポリオーマエンハンサー及びアデノウィルスエンハンサーが含まれる。エンハンサーは、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２コード化配列の５'又は３'位でベクター中にスプライシングされ得るが、好ましくはプロモーターから５'位に位置している。

また真核生物宿主細胞(酵母菌、真菌、昆虫、植物、動物、ヒト、又は他の多細胞生物由来の有核細胞)に用いられる発現ベクターは、転写の終結及びｍＲＮＡの安定化に必要な配列も含む。このような配列は、真核生物又はウィルスのＤＮＡ又はｃＤＮＡの通常は５'、ときには３'の非翻訳領域から取得できる。これらの領域は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ

１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２をコードするｍＲＮＡの非翻訳部分にポリアデニル化断片として転写されるヌクレオチドセグメントを含む。

組換え細胞培養でのＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の合成に適応化するのに適切なさらに他の方法、ベクター及び宿主細胞は、Gething等, Nature, 293:620-625 (1981); Mantei等, Nature, 281:40-46 (1979); EP 117,060; 及びEP 117,058に記載されている。

【００９９】

ｄ．遺伝子増幅／発現の検出

遺伝子の増幅及び/又は発現は、ここで提供された配列に基づき、適切に標識されたプローブを用い、例えば、従来よりのサザンブロット法、ｍＲＮＡの転写を定量化するノーザンブロット法［Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA,77:5201-5205 (1980)］、ドットブロット法(ＤＮＡ分析)、又はインサイツハイブリッド形成法によって、直接的に試料中で測定することができる。あるいは、ＤＮＡ二本鎖、ＲＮＡ二本鎖及びＤＮＡ-ＲＮＡハイブリッド二本鎖又はＤＮＡ-タンパク二本鎖を含む、特異的二本鎖を認識することができる抗体を用いることもできる。次いで、抗体を標識し、アッセイを実施することができ、ここで二本鎖は表面に結合しており、その結果二本鎖の表面での形成の時点でその二本鎖に結合した抗体の存在を検出することができる。

あるいは、遺伝子の発現は、遺伝子産物の発現を直接的に定量する免疫学的な方法、例えば細胞又は組織切片の免疫組織化学的染色及び細胞培養又は体液のアッセイによって、測定することもできる。試料液の免疫組織化学的染色又はアッセイに有用な抗体は、モノクローナルでもポリクローナルでもよく、任意の哺乳動物で調製することができる。簡便には、抗体は、天然配列ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに対して、又はここで提供されるＤＮＡ配列をベースとした合成ペプチドに対して、又はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ＤＮＡに融合し特異的抗体エピトープをコードする外因性配列に対して調製され得る。

【０１００】

ｅ．ポリペプチドの精製

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の形態は、培地又は宿主細胞の溶解液から回収することができる。膜結合性であるならば、適切な洗浄液(例えばトリトン-X100)又は酵素的切断を用いて膜から引き離すことができる。ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の発現に用いられる細胞は、凍結融解サイクル、超音波処理、機械的破壊、又は細胞溶解剤などの種々の化学的又は物理的手段によって破壊することができる。

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２を、組換え細胞タンパク又はポリペプチドから精製することが望ましい。適切な精製手順の例である次の手順により精製される：すなわち、イオン交換カラムでの分画；エタノール沈殿；逆相ＨＰＬＣ；シリカ又はカチオン交換樹脂、例えばＤＥＡＥによるクロマトグラフィー；クロマトフォーカシング；ＳＤＳ-ＰＡＧＥ；硫酸アンモニウム沈殿；例えばセファデックスＧ-７５を用いるゲル濾過;ＩｇＧのような狭雑物を除くプロテインＡセファロースカラム；及びＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２のエピトープタグ形態を結合させる金属キレート化カラムである。この分野で知られ、例えば、Deutcher, Methods in Enzymology, 182 (1990)；Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, Springer-Verlag, New York (1982)に記載された多くのタンパク質精製方法を用いることができる。選ばれる精製過程は、例えば、用いられる産生方法及び特に産生されるＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の性質に依存する。

【０１０１】

Ｅ．ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードする遺伝子の腫瘍組織及び細胞系での増幅

この発明は或る種の癌細胞で増幅される遺伝子の同定及び特徴付けに基づいている。

原核生物及び真核生物ゲノムに２つの見掛け上は矛盾する要件が課されている。一方は、遺伝情報としてのＤＮＡのその最初の形態での保存及び繁殖であり、複数の世代を通して安定な遺伝を確保する。他方では、細胞又は生物は、永続する環境変化に対して適用しなければならない。適応メカニズムは遺伝子物質の質的又は量的改変を含みうる。質的改変は、コード化配列が変化して構造的及び／又は機能的に異なるタンパク質を生ずるＤＮＡ変異を含む。遺伝子増幅は量的改変であり、それにより実際の完全なコード化配列、即ち遺伝子の数が増加し、転写に利用できるテンプレート数の増加、翻訳可能な転写物の数の増加、及び最終的には増幅された遺伝子にコードされるタンパク質の量の増加をもたらす。

遺伝子増幅の現象及びそこに存在するメカニズムは、幾つかの原核及び真核生物細胞培養系でインビトロ実験されている。遺伝子増幅の最も特徴づけられた例は、種々の濃度の細胞毒性薬メトトレキセート（ＭＴＸ）を含有する培地での真核細胞の培養を含む。ＭＴＸは葉酸類似物であり酵素デヒドロフォレートレダクターゼ（ＤＨＦＲ）のブロックによりＤＮＡ合成を妨害する。低濃度のＭＴＸに最初に曝露すると殆どの細胞（＞99.9%）が死亡する。少量の細胞は生き残り、多量のＤＨＦＲ-ＲＮＡ及びタンパク質を生産することによりＭＴＸ濃度を増加させても成長できる。この過剰生産の基礎は単一のＤＨＦＲ遺伝子の増幅である。遺伝子のさらなるコピーは、小さく過剰な染色体（二重微小）の形態で染色体外コピーとして、又は一体化染色体コピーとして見られる。

【０１０２】

遺伝子増幅は、細胞毒性薬（細菌に対する抗生物質及び真核生物に対する化学治療薬）への耐性の進行及び腫瘍形成性形質転換において最も普通に起こる。自発的事象としての

又はウイルス又は化学／環境侵襲による真核生物の形質転換は典型的にその細胞の遺伝物質における変化を伴う。ヒト悪性腫瘍で観察される最も通常の遺伝的変化の１つはｐ５３タンパク質の突然変異である。ｐ５３は、静止期（Ｇ１）から複製期（Ｓ）への細胞の移行を制御し、ＤＮＡ損傷の存在下でこの移行を阻害する。言い換えれば、ｐ５３変異不全の主な結果の一つは、ＤＮＡ損傷の蓄積及び遺伝、即ち遺伝的変化である。腫瘍形成細胞における遺伝的変化の通常の型は、点変異に加えて、増幅及び全体的、構造的変化、例えば転座である。

ＤＮＡ配列の増幅は、ＤＨＦＲ実験系で例示したように特定の機能的要件を示す。従って、悪性におけるある種のオンコジーンの増幅は悪性形質転換及び形質転換フェノタイプの維持のプロセスにおけるこれらの遺伝子の原因となる役割を示す。この仮説が最近の研究で支持されている。例えば、ｂｃｌ-２タンパク質はある型の非ホジキンリンパ腫において増幅されることが見いだされた。このタンパク質はアポトーシスを阻害して腫瘍形成細胞の蓄積を進行させる。成長因子レセプターの遺伝子ファミリのメンバーが種々の型の癌で増幅されることが見いだされ、これらのレセプターの過剰発現が、腫瘍細胞の制限された量の利用可能な成長因子に対する感受性を低下させる。例としては、アンドロゲン欠乏治療の間の再発前立腺癌におけるアンドロゲンレセプターの増幅、及び乳癌における成長因子レセプター相同体ＥＲＢ２の増幅を含む。最近、細胞間シグナル伝達及び細胞周期進行の制御に関係する遺伝子が悪性形質転換の間に増幅を受けうる。これは、種々の上皮及びリンパ腫瘍形成におけるｂｃｌ-Ｉ及びｒａｓ遺伝子の増幅によって例示される。

【０１０３】

これらの初期の研究は、これらの方法が悪性形質転換に重要な遺伝子の同定が可能であるため、腫瘍形成において増幅されたＤＮＡ配列の同定の可能性を示す。ＥＲＢ２の場合も、形質転換タンパク質が腫瘍治療のための新規で特異的な標的を示すので、治療的立場からの可能性を示す。

増幅されたゲノム配列を示すのに幾つかの異なる技術を使用できる。癌細胞から調製した染色体展開の古典的な細胞遺伝学的分析は、転座、欠失及び逆位といった全体構造変化を同定するには十分である。増幅ゲノム領域は、それらが高いコピー数を有する広い領域を含むか染色体外物質として存在する場合にのみ可視化される。細胞遺伝学は特定の腫瘍形成を持つ特定の染色体変化の一貫した関係を示すための第１の技術だが、操作可能なＤＮＡ配列の同定及び単離には不十分である。より最近に開発された技術の競合ゲノムハイブリッド形成（ＣＧＨ）は腫瘍形成におけるゲノム増幅の広範な現象を例示する。腫瘍及び正常ＤＮＡは正常細胞の分裂中期に同時にハイブリッド形成し、腫瘍に高頻度で存在するＤＮＡ配列についての画像分析で全ゲノムをスクリーニングする（WO 93/18,186; Gray等, Radiation Res. 137: 275-289 [1994]）。スクリーニング法として、このタイプの分析は、種々のヒト腫瘍における再発アンプリコン（増幅ＤＮＡの伸展）の多数を明らかにした。ＣＧＨは古典的細胞遺伝学的分析よりＤＮＡの増幅伸展の同定において感度が高いが、それは標準的な分子遺伝学技術によりアンプリコン内のコード化配列の迅速な同定及び単離ができない。

【０１０４】

遺伝子増幅の検出に最も感度の良い方法はポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）ベースのアッセイである。これらのアッセイは極めて少量の腫瘍ＤＮＡを出発材料として用い、精巧で感度が良く、配列決定などの更なる分析に利用できるＤＮＡを提供し、高容量スループット分析に適している。

上記のアッセイは相互に排他的ではなく、腫瘍形成における増幅の同定にしばしば組み合わせて使用される。細胞遺伝学的分析及びＣＧＨは増幅領域の全ゲノムの概観のためのスクリーニング法を代表し、ＰＣＲベースのアッセイはコード化配列、即ち増幅領域の遺伝子を最終的に同定するのに最も適している。

本発明により、このような遺伝子は定量的ＰＣＲ（S. Gelmini等, Clin, Chem. 43: 752 [1997]）により、乳、肺、大腸、前立腺、脳、肝臓、腎臓、膵臓、脾臓、胸腺、精巣、卵巣、子宮など、腫瘍、又は腫瘍細胞系を含む種々の原発腫瘍からのＤＮＡを健常ドナー

からのプールしたＤＮＡと比較することにより同定される。定量的ＰＣＲは、TaqMan装置（ABI）を用いて実施された。遺伝子特異的プライマー及び蛍光発生プローブは、ＤＮＡのコード化配列に基づいて設計される。

【０１０５】

ヒト肺癌細胞系は、Ａ５４９(ＳＲＣＣ７６８)、Ｃａｌｕ-1(ＳＲＣＣ７６９)、Ｃａｌｕ-6(ＳＲＣＣ７７０)、Ｈ１５７(ＳＲＣＣ７７１)、Ｈ４４１(ＳＲＣＣ７７２)、Ｈ４６０(ＳＲＣＣ７７３)、ＳＫＭＥＳ-1(ＳＲＣＣ７７４)、ＳＷ９００(ＳＲＣＣ７７５)、Ｈ５２２(ＳＲＣＣ８３２)、及びＨ８１０(ＳＲＣＣ８３３)、を含み、全てＡＴＣＣから入手可能である。原発ヒト肺腫瘍細胞は通常は腺癌、扁平上皮細胞癌、大細胞癌、非-小細胞癌、小細胞癌、及び気管支肺胞癌から誘導され、例えば、ＳＲＣＣ７２４（「AdenoCa」と略記される腺癌）（ＬＴ１）、ＳＲＣＣ７２５(「SqCCa」と略記される扁平上皮細胞癌)(ＬＴ１ａ)、ＳＲＣＣ７２６(腺癌)(ＬＴ２)、ＳＲＣＣ７２７(腺癌)(ＬＴ３)、ＳＲＣＣ７２８（腺癌）(ＬＴ４)、ＳＲＣＣ７２９(扁平上皮細胞癌)(ＬＴ６)、ＳＲＣＣ７３０(腺／扁平上皮細胞癌)(ＬＴ７)、ＳＲＣＣ７３１(腺癌)(ＬＴ９)、ＳＲＣＣ７３２（扁平上皮細胞癌）(ＬＴ１０)、ＳＲＣＣ７３３（扁平上皮細胞癌）(ＬＴ１１)、ＳＲＣＣ７３４(腺癌)(ＬＴ１２)、ＳＲＣＣ７３５(腺／扁平上皮細胞癌)(ＬＴ１３)、ＳＲＣＣ７３６（扁平上皮細胞癌）(ＬＴ１５)、ＳＲＣＣ７３７（扁平上皮細胞癌）(ＬＴ１６)、ＳＲＣＣ７３８(扁平上皮細胞癌)(ＬＴ１７)、ＳＲＣＣ７３９(扁平上皮細胞癌)(ＬＴ１８)、ＳＲＣＣ７４０(扁平上皮細胞癌)(ＬＴ１９)、ＳＲＣＣ７４１(肺細胞癌、「LCCa」と略記)(ＬＴ２１)、ＳＲＣＣ８１１(腺癌)(ＬＴ２２)、ＳＲＣＣ８２５（腺癌）（ＬＴ８）、ＳＲＣＣ８８６（腺癌）（ＬＴ２５）、ＳＲＣＣ８８７(扁平上皮細胞癌)(ＬＴ２６)、ＳＲＣＣ８８８(腺-BAC癌)(ＬＴ２７)、ＳＲＣＣ８８９（扁平上皮細胞癌）(ＬＴ２８)、ＳＲＣＣ８９０（扁平上皮細胞癌）(ＬＴ２９)、ＳＲＣＣ８９１(腺癌)(ＬＴ３０)、ＳＲＣＣ８９２(扁平上皮細胞癌)(ＬＴ３１)、ＳＲＣＣ８９４（腺癌）(ＬＴ３３)を含む。また、ＳＲＣＣ１１２５［HF-000631］、ＳＲＣＣ１１２７［HF-000641］、ＳＲＣＣ１１２９［HF-000643］、ＳＲＣＣ１１３３［HF-000840］、ＳＲＣＣ１１３５［HF-000842］、ＳＲＣＣ１２２７［HF-001291］、ＳＲＣＣ１２２９［HF-001293］、ＳＲＣＣ１２３０［HF-001294］、ＳＲＣＣ１２３１［HF-001295］、ＳＲＣＣ１２３２［HF-001296］、ＳＲＣＣ１２３３［HF-001297］、ＳＲＣＣ１２３５［HF-001299］、及びＳＲＣＣ１２３６［HF-001300］と称されるヒト肺腫瘍も含まれる。

【０１０６】

大腸癌細胞系は、例えば、ＡＴＣＣ細胞系ＳＷ４８０(腺癌、ＳＲＣＣ７７６)、ＳＷ６２０(結腸腺癌のリンパ節転移、ＳＲＣ７７７)、Ｃｏｌｏ３２０(癌、ＳＲＣＣ７７８)、ＨＴ２９（腺癌、ＳＲＣＣ７７９）、ＨＭ７(ＡＴＣＣ大腸腺癌細胞系高ムチン産生変異体、ＳＲＣＣ７８０、Robert Warren博士，UCSFから得た)、ＣａＷｉＤｒ(腺癌、ＳＲＣＣ７８１)、ＨＣＴ１１６(癌、ＳＲＣＣ７８２)、ＳＫＣＯ１(腺癌、ＳＲＣＣ７８３)、ＳＷ４０３(腺癌、ＳＲＣＣ７８４)、ＬＳ１７４Ｔ(癌、ＳＲＣＣ７８５)、Ｃｏｌｏ２０５(癌、ＳＲＣＣ８２８)、ＨＣＴ１５（癌、ＳＲＣＣ８２９）、ＨＣＣ２９９８(癌、ＳＲＣＣ８３０)、及びＫＭ１２(癌、ＳＲＣＣ８３１)を含む。原発結腸腫瘍は、ＣＴ２(ＳＲＣＣ７４２)、ＣＴ３(ＳＲＣＣ７４３)、ＣＴ８(ＳＲＣＣ７４４)、ＣＴ１０(ＳＲＣＣ７４５)、ＣＴ１２(ＳＲＣＣ７４６)、ＣＴ１４(ＳＲＣＣ７４７)、ＣＴ１５(ＳＲＣＣ７４８)、ＣＴ１６(ＳＲＣＣ７４９)、ＣＴ１７(ＳＲＣＣ７５０)、ＣＴ１（ＳＲＣＣ７５１）、ＣＴ４(ＳＲＣＣ７５２)、ＣＴ５(ＳＲＣＣ７５３)、ＣＴ６(ＳＲＣＣ７５４)、ＣＴ７(ＳＲＣＣ７５５)、ＣＴ９(ＳＲＣＣ７５６)、ＣＴ１１(ＳＲＣＣ７５７)、ＣＴ１８(ＳＲＣＣ７５８)、ＣＴ１９(腺癌、ＳＲＣＣ９０６)、ＣＴ２０(腺癌、ＳＲＣＣ９０７)、ＣＴ２１(腺癌、ＳＲＣＣ９０８)、ＣＴ２２(腺癌、ＳＲＣＣ９０９)、ＣＴ２３(腺癌、ＳＲＣＣ９１０)、ＣＴ２４(腺癌、ＳＲＣＣ９１１)、ＣＴ２５(腺癌、ＳＲＣＣ９１２)、ＣＴ２６(腺癌、ＳＲＣＣ９１３)、ＣＴ２７(腺癌、ＳＲＣＣ９１４)、ＣＴ２８(腺癌、ＳＲＣＣ９１５)、ＣＴ２９(腺癌、ＳＲＣＣ９１６)、ＣＴ３０(腺癌、ＳＲＣＣ９１７)、ＣＴ３１(腺癌、ＳＲＣＣ９１８)、ＣＴ３２(腺癌、ＳＲＣＣ９１９)、ＣＴ３３(腺癌

、ＳＲＣＣ９２０)、ＣＴ３５(腺癌、ＳＲＣＣ９２１)、及びＣＴ３６(腺癌、ＳＲＣＣ９２２)と称される結腸腺癌を含む。また、ＳＲＣＣ１０５１［HF-000499］、ＳＲＣＣ１０５２［HF-000539］、ＳＲＣＣ１０５３［HF-000575］、ＳＲＣＣ１０５４［HF-000698］、ＳＲＣＣ１１４２［HF-000762］、ＳＲＣＣ１１４４［HF-000789］、ＳＲＣＣ１１４６［HF-000795］及びＳＲＣＣ１１４８［HF-000811］と称されるヒト結腸腫瘍中心も含まれる。

【０１０７】

ヒト乳癌細胞系は、例えば、ＨＢＬ１００(ＳＲＣＣ７５９)、ＭＢ４３５ｓ(ＳＲＣＣ７６０)、Ｔ４７Ｄ(ＳＲＣＣ７６１)、ＭＢ４６８(ＳＲＣＣ７６２)、ＭＢ１７５(ＳＲＣＣ７６３)、ＭＢ３６１(ＳＲＣＣ７６４)、ＢＴ２０(ＳＲＣＣ７６５)、ＭＣＦ７(ＳＲＣＣ７６６)及びＳＫＢＲ３（ＳＲＣＣ７６７）、及びＳＲＣＣ１０５７［HF-000545］と称されるヒト乳房腫瘍中心を含む。また、ＳＲＣＣ１０９４、ＳＲＣＣ１０９５、ＳＲＣＣ１０９６、ＳＲＣＣ１０９７、ＳＲＣＣ１０９８、ＳＲＣＣ１０９９、ＳＲＣＣ１１００及びＳＲＣＣ１１０１と称されるヒト乳房腫瘍、及びＳＲＣ８９３［ＬＴ３２］と称されるヒト乳房-met-肺-ＮＳ腫瘍も含まれる。

ヒト腎臓腫瘍中心は、ＳＲＣＣ９８９［HF-000611］及びＳＲＣＣ１０１４［HF-000613］を含む。

ヒト精巣腫瘍中心はＳＲＣＣ１００１［HF-000733］そして精巣腫瘍辺縁はＳＲＣＣ９９９［HF-000716］を含む。

ヒト副甲状腺腫瘍はＳＲＣＣ１００２［HF-000831］及びＳＲＣＣ１００３［HF-000832］を含む。

【０１０８】

Ｆ．組織分布

ここでの遺伝子増幅アッセイの結果は、種々のヒト組織でのｍＲＮＡ発現の測定などのさらなる実験により確認できる。

上記したように、種々の組織における遺伝子増幅及び／又は遺伝子発現は、ｍＲＮＡの転写の定量化のための従来のサザンブロット、ノーザンブロット（Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 5201-5205 [1980]）、ドットブロット（ＤＮＡ分析）、又はインサイツハイブリッド形成により、ここに提供する配列にもとづいて適切な標識プローブを用いて測定できる。あるいは、ＤＮＡ二重鎖、ＲＮＡ二重鎖、及びＤＮＡ-ＲＮＡハイブリッド二重鎖又はＤＮＡ-タンパク質二重鎖を含む特定の二重鎖を認識する抗体を用いてもよい。

あるいは、種々の組織における遺伝子発現は、遺伝子産物を直接定量化するための、細胞培地又は体液のアッセイ及び組織断片の免疫組織化学的染色などの免疫的方法によっても測定できる。免疫組織化学的染色及び／又は試料液のアッセイに有用な抗体は、モノクローナルでもポリクローナルでもよく、任意の哺乳動物から調製される。便利には、抗体はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに対して、又はここに提供するＤＮＡ配列に基づく合成ペプチドに対して、又はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ＤＮＡに融合し特異的抗体エピトープをコードする細胞外配列に対して調製される。抗体を生成する一般的技術、及びノーザンブロット及びインサイツハイブリッド形成の特定のプロトコールは以下に提供する。

【０１０９】

Ｇ．染色体マッピング

与えられた遺伝子の増幅が機能的に関連する場合は、その遺伝子は、腫瘍生存に重要でない隣接ゲノム領域より多く増幅すべきである。これを試験するために、例えば放射性ハイブリッド分析により、遺伝子を特定染色体にマッピングできる。次いで、増幅レベルを特定した位置及び隣接ゲノム領域において測定する。遺伝子がマッピングされたゲノム領域での選択的又は優先的増幅は、観察された遺伝子増幅が腫瘍成長又は生存を促進する可能性と一致する。染色体マッピングはフレームワーク及びエピセンターマッピングの両方を含む。さらなる詳細は、例えば、Stewart等, Genome Research 7, 422-433 (1997)を参照。

【０１１０】

Ｈ．抗体結合実験

遺伝子増幅実験の結果は、腫瘍（癌）細胞上でのＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの発現を阻害する抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体の能力が試験される抗体結合実験によって更に確認できる。例示的な抗体は、ポリクローナル、モノクローナル、ヒト化、二重特異性、及びヘテロ抱合体抗体を含み、その調製は以下に記載する。

抗体結合実験は、競合的結合アッセイ、直接及び間接サンドウィッチアッセイ、及び免疫沈降アッセイなどの既知のアッセイ法で実施してよい。Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, pp.147-158 (CRC Press, Inc., 1987)。

【０１１１】

競合的結合アッセイは、標識標準物の、限られた量の抗体との結合について試験分析物と競合する能力による。試験試料中の（腫瘍細胞で増幅された遺伝子にコードされる）標的タンパク質の量は、抗体に結合し始める標準物の量に逆比例する。結合し始める標準物の量の測定を促進するために、抗体は好ましくは競合の前又は後に固定化し、抗体に結合した標準品及び分析物が未結合で残っている標準物及び分析物から容易に分離できるようにする。

サンドウィッチアッセイは２つの抗体の使用を含み、各々が検出すべきタンパク質の異なる免疫原部分、又はエピトープに結合できる。サンドウィッチアッセイにおいて試験試料分析物は固体支持体上に固定化された第１の抗体に結合し、その後第２の抗体が分析物に結合し、よって不溶性の３成分複合体が形成される。例えば米国特許第4,376,110号参照。第２の抗体は検出可能部分で標識され（直接サンドウィッチアッセイ）、あるいは検出可能部分で標識された抗-免疫グロブリン抗体を用いて測定してもよい（間接サンドウィッチアッセイ）。例えば、サンドウィッチアッセイの一形態はＥＬＩＳＡアッセイであり、この場合の検出可能部分は酵素である。

免疫組織化学のために、腫瘍試料は新鮮でも凍結したものでもよく、パラフィンに包埋して、例えばホルマリン等の保存剤で固定してもよい。

【０１１２】

Ｉ．細胞ベースの腫瘍アッセイ

細胞ベースアッセイ及び腫瘍（例えば、癌）の動物モデルを用いて、遺伝子増幅アッセイの知見を確認し、ここでの遺伝子増幅と腫瘍形成細胞成長の進行及び病理との関係をさらに理解することができる。ここで同定された遺伝子産物の腫瘍又は癌の進行及び病理における役割は、ここで遺伝子を増幅すると同定された原発腫瘍細胞又は細胞系を用いて試験することができる。このような細胞は、例えば、上記した乳房、大腸及び肺癌細胞及び

細胞系を含む。

異なる方法では、特定の腫瘍に含まれることが知られた細胞型の細胞をここのｃＤＮＡで形質移入し、これらのｃＤＮＡの過剰成長誘発能力を分析する。適当な細胞は、例えば、Ｂ１０４-1-１細胞株（ｎｅｕプロトオンコジーンで形質移入された安定なＮＩＨ-３Ｔ３細胞系）及びｒａｓ-形質移入ＮＩＨ-３Ｔ３細胞等の安定な腫瘍細胞系を含み、これらは所望の遺伝子で形質移入し、そして腫瘍形成的成長を観察できる。このような形質移入細胞系は、次いで、形質転換細胞の成長に対する細胞分裂停止又は細胞毒性活性の発揮により、又は抗体依存性細胞性細胞毒性（ＡＤＣＣ）の媒介により、ポリー又はモノクローナル抗体又は抗体組成物の腫瘍形成細胞成長を阻害する能力を試験するのに使用できる。ここに同定した遺伝子のコード化配列で形質移入した細胞は、さらに、癌治療用の候補薬の同定に使用できる。

さらに、（下記のような）トランスジェニック動物の腫瘍に由来する初代培養は、ここでの細胞ベースアッセイに使用できるが、安定な細胞系が好ましい。トランスジェニック動物から連続細胞系を誘導する技術はこの分野で良く知られている（Small等, Mol. Cell. Biol. 5: 642-648 [1985]参照）。

【０１１３】

Ｊ. 動物モデル

種々の良く知られた動物モデルは、腫瘍の進行及び原因に関しここで同定された遺伝子の役割を更に理解するために利用でき、さらに抗体、及び小分子アゴニストを含む天然ポリペプチドの他のアゴニストを含む候補治療薬の有効性を試験するために使用することができる。これらのモデルのインビボ性質により、特にヒト患者における反応を予測できる。腫瘍及び癌（例えば、乳癌、大腸癌、前立腺癌、肺癌など）の動物モデルは、非組換え及び組換え（トランスジェニック）動物の両方を含む。非組換え動物モデルは、例えば、齧歯類、例えばマウスモデルを含む。このようなモデルは、標準的な技術、例えば、皮下注射、尾部静脈注射、脾臓移植、腹膜内移植、腎被膜下移植、又はオルトピン(orthopin)移植、例えば大腸組織に移植された大腸癌細胞により、腫瘍細胞を同系マウスに導入することにより作成される。（1997年9月18日に発行されたＰＣＴ公報WO 97/33551参照。）

癌遺伝子の研究におそらく最もしばしば用いられる動物種は、免疫不全マウス、特にヌードマウスである。低下／形成不全を持つヌードマウスがヒト腫瘍異種移植の宿主としての役割を演じるという観察は、この目的のための広い用途を導いた。常染色体劣性ｎｕ遺伝子が、例えば、ＡＳＷ、Ａ／Ｈｅ、ＡＫＲ、ＢＡＬＢ／ｃ、Ｂ１０．ＬＰ、Ｃ１７、Ｃ３Ｈ、Ｃ５７ＢＬ、Ｃ５７、ＣＢＡ、ＤＢＡ、ＤＤＤ、Ｉ／ｓｔ、ＮＣ、ＮＦＲ、ＮＦＳ、ＮＦＳ／Ｎ、ＮＺＢ、ＮＺＣ、ＮＺＷ、Ｐ、ＲＩＩＩ及びＳＪＬを含むヌードマウスの極めて多数の異なる共通遺伝子系統に導入された。さらに、ヌードマウス以外の遺伝的な免疫不全を持つ広範な他の動物が生育され、腫瘍異種移植のレシピエントとして用いられた。さらなる詳細については、The Nude Mouse in Oncology Research, E. Boven 及び B. Winograd 編, CRC Press, Inc., 1991を参照。

【０１１４】

これらの動物に導入される細胞は、周知の腫瘍／癌細胞系、例えば上記列挙した腫瘍細胞系、及び、例えばＢ１０４-１-１細胞系（ｎｅｕプロトオンコジーンで形質移入された安定ＮＩＨ-３Ｔ３細胞系）；ｒａｓ-形質移入ＮＩＨ-３Ｔ３細胞：Ｃａｃｏ-２（ATCC HTB-37）、中程度に良く分化したグレードＩＩヒト大腸腺癌細胞系、ＨＴ-２９（ATCC HTB-38）から、あるいは腫瘍及び癌から誘導することができる。腫瘍又は癌細胞の試料は、手術を受けている患者から、液体窒素中での凍結及び保存を含む標準的な条件を用いて得ることができる（Karmali等, Br. J. Cancer 48, 689-696 [1983]）。

腫瘍細胞は、ヌードマウスなどの動物に、種々の手法によって導入できる。マウスの皮下（ｓ．ｃ．）空間は、腫瘍移植に非常に好ましい。腫瘍は、固体ブロックとして、トロチャー(trochar)を用いてニードル生検として、細胞懸濁物としてｓ．ｃ．移植できる。固体ブロック又はトロチャー移植のために、適切な大きさの腫瘍組織断片がｓ．ｃ．空間に導入される。細胞懸濁物は、原発腫瘍又は安定な腫瘍細胞系から新たに調製され、皮下

注射される。また腫瘍細胞は、皮下移植として注射することもできる。この位置において、移植細胞が皮膚結合組織の下層とｓ．ｃ．組織との間に着床される。Boven及びWinograd (1991), 上掲。

乳癌の動物モデルは、例えば、ラット神経芽腫細胞（それからｎｅｕ癌遺伝子が最初に単離される）、又はｎｅｕ形質転換ＮＩＨ-３Ｔ３細胞をヌードマウスに移植することにより、基本的にはDrebin等, PNAS USA 83, 9129-9133 (1986)に記載されているように生成される。

【０１１５】

同様に、大腸癌の動物モデルは、大腸癌細胞を動物、例えばヌードマウスに継代し、これらの動物における腫瘍の発現を導くことにより生成される。ヌードマウスにおけるヒト大腸癌の同所性移植モデルは、例えば、Wang等, Cancer Research 54, 4726-4728 (1994)及びToo等, Cancer Research 55, 681-684 (1995)に記載されている。このモデルは、いわゆるAntiCancer, Inc. (San Diego, California)から市販の「METAMOUSE」に基づく。

動物に生じた腫瘍は、取り出してインビトロで培養することができる。インビトロ培地からの細胞は、次いで動物に継代することができる。これらの腫瘍は、さらなる試験及び薬物スクリーニングの標的として提供され得る。あるいは、継代から得られる腫瘍は単離でき、継代前細胞及び１又はそれ以上の継代後に単離した細胞のＲＮＡを、対象とする遺伝子の識別可能な発現について分析する。このような継代技術は、周知の腫瘍又は癌細胞系で実施することができる。

例えば、Ｍｅｔｈ Ａ、ＣＭＳ４、ＣＭＳ５、ＣＭＳ２１、及びＷＥＨＩ-１６４がＢＡＬＢ／ｃ雌マウスの線維肉腫に化学的に導入され（DeLeo等, Ｊ. Exp. Med. 146, 720 [1977]）、それは、種々の薬剤の抗-腫瘍活性の研究のための高度に制御可能なモデル系を提供する（Palladino等, Ｊ. Immunol. 138, 4023-4032 [1987]）。簡便には、腫瘍細胞は細胞培地中でインビトロで成長させる。動物に注射する前に、細胞系は洗浄してバッファー中に約１０ｘ１０^{6}から１０ｘ１０^{7}細胞／ｍｌの細胞密度で懸濁する。次いで動物を１０から１００μｌの細胞懸濁物で皮下感染し、腫瘍が現れるまで１から３週間放置する。

【０１１６】

さらに、最も完全に研究された実験的腫瘍の一つであるマウスのルイス肺（３ＬＬ）癌腫は、研究用腫瘍モデルとして用いることができる。この腫瘍モデルにおける有効性は、肺の小細胞癌腫（ＳＣＣＬ）と診断されたヒト患者の治療における有利な効果と相関していた。この腫瘍は、影響を受けたマウスからの腫瘍断片又は培養により維持された細胞を注射することで正常マウスに導入でき（Zupi等, Br. J. Cancer 41: suppl. 4: 309 [1980]）、証拠は、腫瘍がたった一つの細胞の注射から開始され、極めて高い割合で感染した腫瘍細胞が生存することを示している。この腫瘍モデルに関する更なる情報については、Zacharski, Haemostasis 16, 300-320 [1986]を参照のこと。

移植された腫瘍の動物モデルにおける試験化合物の有効性を評価する一つの方法は、治療前後での腫瘍の大きさを測定することである。伝統的に、移植した腫瘍の大きさは、二又は三次元のスライドキャリパーで測定される。二次元に制限された測定は、腫瘍の大きさを正確に反映せず、従って、通常は数式を用いて対応する容積に換算される。しかしながら、腫瘍の大きさの測定は極めて不正確である。候補薬の治療効果は、治療-誘発性の成長遅延及び特異的な成長遅延としてより良く記述できる。腫瘍成長の記述における他の重要な変数は、腫瘍容積倍加時間である。Rygaard及びSpang-Thomsen, Proc. 6th Int. Workshop on Immune-Deficient Animals, Wu及びSheng編, Basel, 1989, 301によって報告されたプログラムなどの、腫瘍成長の計算及び記述のためのコンピュータプログラムも利用可能である。しかし、処置後の壊死及び炎症反応が実際には少なくとも初期に腫瘍の大きさを増大させ得ることを注記しておく。従って、これらの変化は、形態学的方法及びフローサイトメトリー分析を組み合わせて、注意深く観察する必要がある。

【０１１７】

組換え（トランスジェニック）動物モデルは、ここに同定された遺伝子のコード部分を、トランスジェニック動物作成のための標準的技術を用いて、対象とする動物のゲノムに

導入することにより加工できる。トランスジェニック操作の標的として提供できる動物は、限定されないが、マウス、ラット、ウサギ、モルモット、ブタ、ヒツジ、ヤギ、及び非-ヒト霊長類、例えばヒヒ、チンパンジー及びサルを含む。これらの動物に導入遺伝子を導入するのにこの分野で知られた技術は、全核マイクロインジェクション（Hoppe及びWanger, 米国特許第4,873,191号）；胚系列へのレトロウイルス媒介遺伝子転移（例えば、Van der Putten等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 6148-615 [1985]）；胚性肝細胞での遺伝子標的化（Thompson等, Cell 56, 313-321 [1989]）；胚のエレクトロポレーション（Lo, Mol. Cel. Biol. 3, 1803-1814 [1983]）；精子媒介遺伝子転移（Lavitrano等, Cell 57, 717-73 [1989]）を含む。概説のためには、例えば、米国特許第4,736,866号を参照のこと。

本発明の目的のために、トランスジェニック動物は、その一部にのみ導入遺伝子を有するもの（「モザイク動物」）を含む。導入遺伝子は、単一の導入遺伝子として、又はコンカテマー、例えば頭部対頭部又は頭部対尾部の直列型として組み込まれる。特定の細胞型への導入遺伝子の選択的導入も、例えば、Lasko等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 6232-636 (1992)の技術に従って可能である。

トランスジェニック動物における導入遺伝子の発現は、標準的技術によって監視できる。例えば、導入遺伝子の組み込みの確認にサザンブロット分析又はＰＣＲ増幅が用いられる。次いで、ｍＲＮＡ発現のレベルは、インサイツハイブリッダイゼーション、ノーザンブロット分析、ＰＣＲ、又は免疫組織化学などの技術を用いて分析できる。動物は、腫瘍又は癌発生の徴候についてさらに調べられる。

【０１１８】

あるいは、動物の胚性細胞に導入されたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードする変更ゲノムＤＮＡと、そのポリペプチドをコードする内在性遺伝子との間の相同的組換えによって、ここに同定するＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードする欠陥又は変更遺伝子を有する「ノックアウト」動物を作成することができる。例えば、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードするｃＤＮＡは、確立された技術に従って当該ポリペプチドをコードするゲノムＤＮＡのクローニングに使用できる。特にＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードするゲノムＤＮＡの一部を欠失したり、組み込みを確認するために使用する選択可能なマーカーをコードする遺伝子等の他の遺伝子で置換することができる。典型的には、ベクターは変異の無いフランキングＤＮＡ(５'と３'末端の両方)を数キロベース含む［例えば、相同的組換えベクターについてはThomas and Capecchi, Cell, 51: 503 (1987)を参照のこと］。ベクターは胚性幹細胞系に(例えばエレクトロポレーションによって)導入し、導入されたＤＮＡが内在性ＤＮＡと相同的に組換えられた細胞を選択する［例えば、Li等, Cell,69:915 (1992)参照］。選択された細胞は次に動物(例えばマウス又はラット)の胚盤胞内に注入され、キメラ集合体を形成する［例えば、Bradley, Teratocarcin

omas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach, E. J. Robertson, ed. (IRL, Oxford, 1987), pp. 113-152参照］。その後、キメラ性胚を適切な偽妊娠の雌性乳母に移植し、「ノックアウト」動物を作ると言われる。胚細胞に相同的に組換えられたＤＮＡを有する子孫は標準的な技術により同定され、それらを利用して動物の全細胞が相同的に組換えられたＤＮＡを含む動物を繁殖させることができる。ノックアウト動物は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドが存在しないことによるある種の病理的状態及び病理的状態の進行に対して防御する能力によって特徴付けられる。

【０１１９】

ここに同定されるポリペプチドに特異的に結合する抗体、及び他の候補薬の有効性も、自然発生の動物腫瘍の治療において調べることができる。このような研究のための適切な標的は、ネコ口腔扁平上皮癌（ＳＣＣ）である。ネコ口腔ＳＣＣは高度に浸潤性の悪性腫瘍で、ネコに最も普通に見られる口腔悪性腫瘍であり、この種に報告される口腔腫瘍の６０％以上を占める。それは、離れた部位には殆ど転移しないが、この転移の低い発生率は単にこの腫瘍を持つネコの短い生存期間を反映しているにすぎない。これらの腫瘍は通常手術できないが、主にネコの口腔の解剖学的形状による。現在では、この腫瘍の有効な治療法は存在しない。研究に入る前に、各々のネコに完全な臨床検査、生体組織検査を施し、コンピュータ断層撮影（ＣＴ）によりスキャンした。舌下口腔扁平上皮細胞腫瘍を持つと診断されたネコは研究から排除した。舌はこの腫瘍のために麻痺し始め、治療によりこの腫瘍が消滅した後でも、動物は自分で餌を取ることができないであろう。各々のネコを長期に渡って繰り返し治療する。治療期間中、毎日及び引き続き行われる再チェックの時点で腫瘍の写真を撮影した。治療の後、各ネコに再度ＣＴスキャンを施した。ＣＴスキャン及び胸部レントゲンは、その後８週間ごとに評価した。データは、対照群と比較した生存数、反応性及び毒性における相違について評価した。ポジティブ反応は、腫瘍の縮小、好ましくは生存の質の向上又は生存期間の延長を必要とする。

さらに、他の自発的動物腫瘍、例えばイヌ、ネコ、及びヒヒの線維肉腫、腺癌、リンパ腫、クロンドローマ(chrondroma)、平滑筋肉腫も試験できる。これらのイヌ及びネコでの乳腺癌は、その発現及び挙動がヒトのものに極めて類似しているので、好ましいモデルである。しかし、このモデルの使用は動物におけるこの型の腫瘍の発生比率によって制限される。

【０１２０】

Ｋ．候補薬についてのスクリーニングアッセイ

候補薬のスクリーニングアッセイは、ここで同定される遺伝子にコードされるポリペプチドと結合又は複合体を」形成する化合物、あるいはコードされるポリペプチドと他の細胞性タンパク質との相互作用を阻害する化合物を同定するために計画される。このようなスクリーニングアッセイは、化学的ライブラリの高スループットスクリーニングに利用可能なアッセイ、特に小分子候補薬の同定に適したものにするアッセイを含む。小分子とは、合成有機又は無機化合物を含むと考え、それらは、ペプチド、好ましくは可溶性ペプチド、（ポリ）ペプチド-免疫グロブリン融合体、特に、限定されないが、ポリ-及びモノクローナル抗体及び抗体断片、一本鎖抗体、抗-イディオタイプ抗体、及びそれらの抗体又は断片のキメラ又はヒト化形、並びにヒト抗体及び抗体断片を含む抗体を含んでいる。アッセイは、種々の形式で実施でき、この分野で良く特徴付けられたタンパク質-タンパク質結合アッセイ、生化学的スクリーニングアッセイ、イムノアッセイ及び細胞ベースのアッセイを含む。

全てのアッセイは、それらが候補薬をここで同定される核酸にコードされるポリペプチドと、それら２成分が相互作用するのに十分な時間接触させることで共通している。

【０１２１】

結合アッセイにおいて、相互作用は結合であり、形成された複合体は単離されるか、又は反応混合物中で検出される。特別な実施態様では、ここに同定された遺伝子にコードされるポリペプチドのレセプター即ち候補薬が、共有又は非共有結合により固相、例えばマイクロタイタープレートに固定化される。非共有結合は、一般的に固体表面をポリペプチドの溶液で被覆し乾燥させることにより達成される。あるいは、固定化すべきペプチドに特異的な固定化抗体、例えばモノクローナル抗体を、そのペプチドを固体表面に固着させるために用いることができる。アッセイは、固定化成分、例えば固着成分を含む被覆表面に、検出可能な標識で標識されていてもよい非固定化成分を添加することにより実施される。反応が完了したとき、未反応成分を例えば洗浄により除去し、固体表面に固着した複合体を検出する。最初の非固定化成分が検出可能な標識を有している場合、表面に固定化された標識の検出は複合体形成が起こったことを示す。最初の非固定化成分が標識を持たない場合は、複合体形成は、例えば、固定化された複合体に特異的に結合する標識抗体によって検出できる。

【０１２２】

候補化合物がここで同定される遺伝子にコードされる特定のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドと相互作用するが結合しない場合、その相互作用は、タンパク質－タンパク質相互作用を検出するために良く知られた方法によってアッセイすることができる。そのようなアッセイは、架橋、共免疫沈降、及び密度勾配遠心又はクロマトグラフィカラムを通す共精製などの伝統的な手法を含む。さらに、タンパク質－タンパク質相互作用は、Fields及び共同研究者等［Fields及びSong, Nature 340, 245-246 (1989); Chien等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 9578-9582 (1991)］に記載された酵母菌ベースの遺伝子系を用いることにより、Chevray及びNathans［Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 5789-5793 (1991)］に開示されているように観察することができる。酵母菌ＧＡＬ４などの多くの転写活性化因子は、２つの物理的に別個のモジュラードメインからなり、一方はＤＮＡ結合ドメインとして作用し、他方は転写活性化ドメインとして機能する。以前の文献に記載された酵母菌発現系（一般に「２-ハイブリッド系」と呼ばれる）は、この特性の長所を利用して、２つのハイブリッドタンパク質を用い、一方では標的タンパク質がＧＡＬ４のＤＮＡ結合ドメインに融合し、他方では、候補となる活性化タンパク質が活性化ドメインに融合している。ＧＡＬ１-ｌａｃＺリポーター遺伝子のＧＡＬ４活性化プロモーターの制御下での発現は、タンパク質-タンパク質相互作用を介したＧＡＬ４活性の再構築に依存する。相互作用するポリペプチドを含むコロニーは、β-ガラクトシダーゼに対する色素生産性物質で検出される。２-ハイブリッド技術を用いた２つの特定なタンパク質間のタンパク質-タンパク質相互作用を同定するための完全なキット（MATCHMAKER(商品名)）は、Clontechから商業的に入手可能である。この系は、特定のタンパク質相互作用に含まれるタンパク質ドメインのマッピング、並びにこの相互作用にとって重要なアミノ酸残基の特定にも拡張することができる。

ここで同定されるＰＲＯ３８１-、ＰＲＯ１２６９-、ＰＲＯ１４１０-、ＰＲＯ１７５５-、ＰＲＯ１７８０-、ＰＲＯ１７８８-、ＰＲＯ３４３４-、ＰＲＯ１９２７-、ＰＲＯ３５６７-、ＰＲＯ１２９５-、ＰＲＯ１２９３-、ＰＲＯ１３０３-、ＰＲＯ４３４４-、ＰＲＯ４３５４-、ＰＲＯ４３９７-、ＰＲＯ４４０７-、ＰＲＯ１５５５-、ＰＲＯ１０９６-、ＰＲＯ２０３８-又はＰＲＯ２２６２-コード化遺伝子と他の細胞内又は細胞外成分との相互作用を阻害する化合物は、次のように試験することができる：通常は、増幅された遺伝子の生成物及び細胞内又は外成分を含む反応混合物を、条件下で２つの生成物が相互作用及び結合する時間に渡って調製する。試験化合物が結合を阻害する能力を試験するために、反応は試験化合物有り又は無しで実施する。さらに、第３の反応混合物に偽薬を添加してポジティブ対照としてもよい。混合物中に存在する試験化合物と細胞内又は外成

分との結合（複合体形成）は上記のように観察する。対照反応において複合体が形成され、試験化合物を含む反応混合物ではしないことは、試験化合物が試験化合物とその反応パートナーとの相互作用を妨害することを示す。

【０１２３】

アンタゴニストを検定するために、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドを、特定の活性についてスクリーニングする化合物とともに細胞に添加してもよく、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド存在下で対象とする活性を阻害する当該化合物の能力が、当該化合物がＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドのアンタゴニストであることを示す。あるいは、アンタゴニストは、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド及び潜在的アンタゴニストを、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドレセプター又は組換えレセプターと、競合的阻害アッセイに適した条件下で結合させることにより検出してもよい。ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドは、放射活性等で標識でき、レセプターに結合したＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド分子の数を潜在的アンタゴニストの有効性を決定するのに使用できる。レセプターをコードする遺伝子は、当業者に知られた多くの方法、例えばリガンドパンニング及びＦＡＣＳソーティングにより同定できる。Coligan等, Current Protocols in Immun., 1(2): Chapter 5 (1991)。好ましくは発現クローニングが用いられ、そこではポリアデニル化ＲＮＡがＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに反応性の細胞から調製され、このＲＮＡから生成されたｃＤＮＡライブラリがプールに分配され、ＣＯＳ細胞又は他のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ

４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに反応性でない細胞の形質移入に使用される。スライドガラスで増殖させた形質移入細胞を標識したＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドにエクスポーズする。ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドは、ヨウ素化又は部位特異的タンパク質キナーゼの認識部位を含む種々の手段で標識できる。固定及びインキュベーションの後、スライドにオートラジオグラフ分析を施す。ポジティブプールを同定し、相互作用サブプール化及び再スクリーニング工程を用いてサブプールを調製して再形質移入し、結果的に推定レセプターをコードする単一のクローンを生成する。

【０１２４】

レセプター同定の代替的方法として、標識したＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをレセプター分子を発現する細胞膜又は抽出調製物に光親和性結合させることができる。架橋材料はＰＡＧＥにより分離し、Ｘ線フィルムにエクスポーズする。レセプターを含む標識複合体をゲルから切り出し、ペプチド断片を分離し、タンパク質マイクロ配列決定を施すことができる。マイクロ配列決定から得たアミノ酸配列は、推定レセプターをコードする遺伝子を同定するｃＤＮＡライブラリをスクリーニングする縮重オリゴヌクレオチドプローブの設計に用いられる。

アンタゴニストの他の解析において、レセプターを発現する哺乳動物細胞又は膜調製物を、候補化合物の存在下でＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドとともにインキュベートする。次いで、この相互作用を促進又は阻止する化合物の活性を測定する。

潜在的なアンタゴニストのより特別な例は、免疫グロブリンとＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドとの融合体に結合するオリゴヌクレオチド、特に、限られないが、ポリペプチド-及びモノクローナル抗体及び抗体断片、一本鎖抗体、抗-イディオタイプ抗体、及びこれらの抗体又は断片のキメラ又はヒト化形態、並びにヒト抗体及び抗体断片を含む抗体を含んでいる。あるいは、潜在的アンタゴニストは、密接に関連したタンパク質、例えば、レセプターを認識するが効果を与えず、よってＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの作用を競合的に阻害するＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４

３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの変異形態であってもよい。

【０１２５】

他の潜在的なＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドアンタゴニストは、アンチセンス技術を用いて調製されたアンチセンスＲＮＡ又はＤＮＡ作成物であり、例えば、アンチセンスＲＮＡ又はＤＮＡは、標的ｍＲＮＡにハイブリッド形成してタンパク質翻訳を妨害することによりｍＲＮＡの翻訳を直接阻止するように作用する。アンチセンス技術は、トリプルヘリックス形成又はアンチセンスＤＮＡ又はＲＮＡを通して遺伝子発現を制御するのに使用でき、それらの方法はともに、ポリペプチドヌクレオチドのＤＮＡ又はＲＮＡへの結合に基づく。例えば、ここでのＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列の５'コード化部分は、約１０から４０塩基対長のアンチセンスＲＮＡオリゴヌクレオチドの設計に使用される。ＤＮＡオリゴヌクレオチドは、転写に含まれる遺伝子の領域に相補的であるように設計され（三重螺旋－Lee等, Nucl, Acid Res., 6: 3073 (1979); Cooney等, Science, 241: 456 (1988); Dervan等, Science, 251: 1360 (1991)参照）、それによりＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの転写及び生成を防止する。アンチセンスＲＮＡオリゴヌクレオチドはインビボでｍＲＮＡにハイブリッド形成してｍＲＮＡ分子のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドへの翻訳を阻止する（アンチセンス－Okano, Neurochem., 56: 560 (1991); Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression (CRC Press: Boca Raton, FL, 1988)）。また上記のオリゴヌクレオチドは、細胞に輸送され、アンチセンスＲＮＡ又はＤＮＡをインビボで発現させて、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの産生を阻害することもできる。アンチセンスＤＮＡが用いられる場合、翻訳開始部位、例えば標的遺伝子ヌクレオチド配列の－１０から＋１０位置の間から誘導されるオリゴデオキシリボヌクレオチドが好ましい。

【０１２６】

アンチセンスＲＮＡ又はＤＮＡは、一般的に少なくとも約５塩基長、約１０塩基長、約１５塩基長、約２０塩基長、約２５塩基長、約３０塩基長、約３５塩基長、約４０塩基長、約４５塩基長、約５０塩基長、約５５塩基長、約６０塩基長、約６５塩基長、約７０塩基長、約７５塩基長、約８０塩基長、約８５塩基長、約９０塩基長、約９５塩基長、約１００塩基長、又はそれ以上である。

潜在的アンタゴニストは、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの活性部位、レセプター結合部位、又は成長因子又は他の関連結合部位に結合し、それによりＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの正常な生物学的活性を阻害する小分子を含む。小分子の例は、これらに限られないが、小型ペプチド又はペプチド様分子、好ましくは可溶性ペプチド、及び合成非ペプチド有機又は無機化合物を含む。

リボザイムは、ＲＮＡの特異的切断を触媒できる酵素的ＲＮＡ分子である。リボザイムは、相補的標的ＲＮＡへの配列特異的ハイブリッド形成、次いでヌクレオチド鎖切断的切断により作用する。潜在的ＲＮＡ標的内の特異的リボザイム切断部位は、既知の技術で同定できる。更なる詳細は、例えば、Rossi, Current Biology 4: 469-471 (1994)及びＰＣＴ公報、番号WO 97/33551（1997年9月18日発行）を参照。

転写阻害に用いられる三重螺旋形成における核酸分子は一本鎖でデオキシヌクレオチドからなる。これらのオリゴヌクレオチドの基本組成は、フーグスチン塩基対則を介するトリプルヘリックス形成を促進するように設計され、それは一般に二重鎖の一方の鎖上のプリン又はピリミジンのサイズ変更可能な伸展を必要とする。さらなる詳細は、例えば、ＰＣＴ公報、番号WO 97/33551, 上掲を参照。

これらの小分子は、上記で議論したスクリーニングアッセイの一又は複数の任意のものにより及び／又は当業者に良く知られた他の任意のスクリーニング技術により同定できる。

【０１２７】

Ｌ．腫瘍治療のための組成物及び方法

ここで同定した遺伝子の増幅を伴う腫瘍の治療に有用な組成物は、限定されないが、抗体、小有機及び無機分子、ペプチド、ホスホペプチド、アンチセンス及びリボザイム分子、三重螺旋分子などを含み、標的遺伝子産物の発現及び／又は活性を阻害するものである。

例えば、アンチセンスＲＮＡ及びＲＮＡ分子は、標的ｍＲＮＡにハイブリッド形成してタンパク質翻訳を防止することによりｍＲＮＡの翻訳を直接阻止する。アンチセンスＤＮＡが用いられる場合、翻訳開始部位、例えば標的遺伝子ヌクレオチド配列の－１０から＋１０位置の間から誘導されるオリゴデオキシリボヌクレオチドが好ましい。

リボザイムは、ＲＮＡの特異的切断を触媒できる酵素的ＲＮＡ分子である。リボザイムは、相補的標的ＲＮＡへの配列特異的ハイブリッド形成、次いでヌクレオチド鎖切断的切断により作用する。潜在的ＲＮＡ標的内の特異的リボザイム切断部位は、既知の技術で同定できる。更なる詳細は、例えば、Rossi, Current Biology 4: 469-471 (1994)及びＰＣＴ公報、番号WO 97/33551（1997年9月18日発行）を参照。

転写阻害に用いられる三重螺旋形成における核酸分子は一本鎖でデオキシヌクレオチドからなる。これらのオリゴヌクレオチドの基本組成は、フーグスチン塩基対則を介する三重螺旋形成を促進するように設計され、それは一般に二重鎖の一方の鎖上のプリン又はピリミジンのサイズ変更可能な伸展を必要とする。さらなる詳細は、例えば、ＰＣＴ公報、番号WO 97/33551, 上掲を参照。

これらの分子は上記のスクリーニングアッセイの任意のもの又は任意の組み合わせにより、及び／又は当業者に知られた任意の他のスクリーニング技術により同定できる。

【０１２８】

Ｍ．抗体

本発明で最も有望な候補薬剤の幾つかは、ここで同定される増幅遺伝子の生成又は遺伝

子産物を阻害する及び／又は遺伝子産物の活性を低下させる抗体及び抗体断片である。

１．ポリクローナル抗体

ポリクローナル抗体の調製方法は当業者に知られている。哺乳動物においてポリクローナル抗体は、例えば免疫化剤、及び所望するのであればアジュバントを、一又は複数回注射することで発生させることができる。典型的には、免疫化剤及び／又はアジュバントを複数回皮下又は腹腔内注射により、哺乳動物に注射する。免疫化剤は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド又はその融合タンパク質を含みうる。免疫化剤を免疫化された哺乳動物において免疫原性が知られているタンパク質に結合させるのが有用である。このような免疫原タンパク質の例は、これらに限られないが、キーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリン及び大豆トリプシンインヒビターが含まれる。使用され得るアジュバントの例には、フロイント完全アジュバント及びＭＰＬ-ＴＤＭアジュバント(モノホスホリル脂質Ａ、合成トレハロースジコリノミコラート)が含まれる。免疫化プロトコールは、過度の実験なく当業者により選択されるであろう。

【０１２９】

２．モノクローナル抗体

あるいは、抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体であってもよい。モノクローナル抗体は、Kohler及びMilstein, Nature, 256:495 (1975)に記載されているようなハイブリドーマ法を使用することで調製することができる。ハイブリドーマ法では、マウス、ハムスター又は他の適切な宿主動物を典型的には免疫化剤により免疫化することで、免疫化剤に特異的に結合する抗体を生成するかあるいは生成可能なリンパ球を誘発する。また、リンパ球をインビトロで免疫化することもできる。

免疫化剤は、典型的には断片を含むＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチド、又はそのタンパク質又はその断片の融合タンパク質を含む。一般にヒト由来の細胞が望まれる場合には末梢血リンパ球(「ＰＢＬ」)が使用されるか、あるいは非ヒト哺乳動物源が望まれている場合は、脾臓細胞又はリンパ節細胞が使用される。次いで、ポリエチレングリコール等の適当な融合剤を用いてリンパ球を不死化細胞系と融合させ、ハイブリドーマ細胞を形成する［Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, (1986) pp. 59-103］。不死化細胞系は、通常は、形質転換した哺乳動物細胞、特に齧歯動物、ウシ、及びヒト由来の骨髄腫細胞である。通常、ラット又はマウスの骨髄腫細胞系が使用される。ハイブリドーマ細胞は、好ましくは、未融合の不死化細胞の生存又は成長を阻害する一又は複数の物質を含有する適切な培地で培養される。例えば、親細胞が、酵素のヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HGPRT又はHPRT)を欠いていると、ハイブリドーマの培地は、典型的には、ヒポキサチン、アミノプテリン及びチミジンを含み(「ＨＡＴ培地」)、この物質がＨＧＰＲＴ欠乏性細胞の増殖を阻止する。

【０１３０】

好ましい不死化細胞系は、効率的に融合し、選択された抗体生成細胞による安定した高レベルの抗体発現を支援し、ＨＡＴ培地のような培地に対して感受性のものである。より

好ましい不死化細胞系はマウス骨髄腫系であり、これは例えばカリフォルニア州サンディエゴのSalk Institute Cell Distribution Centerやヴァージニア州マナッサスのアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（ＡＴＣＣ）より入手可能である。ヒトモノクローナル抗体を生成するためのヒト骨髄腫及びマウス-ヒト異種骨髄腫細胞系も開示されている［Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984)、Brodeur等, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, Marcel Dekker, Inc., New York, (1987) pp. 51-63］。

次いでハイブリドーマ細胞が培養される培養培地を、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２に対するモノクローナル抗体の存在の有無に関し分析する。好ましくは、ハイブリドーマ細胞によって生成されたモノクローナル抗体の結合特異性は免疫沈降又はラジオイムノアッセイ(ＲＩＡ)や酵素結合免疫測定法(ＥＬＩＳＡ)等のインビトロ結合検定法によって測定する。このような技術及びアッセイは、当該分野において公知である。モノクローナル抗体の結合親和性は、例えばMunson及びPollard, Anal. Biochem., 107:220 (1980)によるスキャッチャード分析法によって測定することができる。

所望のハイブリドーマ細胞が同定された後、クローンを限界希釈工程によりサブクローニングし、標準的な方法で成長させることができる［Goding, 上掲］。この目的のための適当な培地には、例えば、ダルベッコの改変イーグル培地及びＲＰＭＩ-１６４０倍地が含まれる。あるいは、ハイブリドーマ細胞は哺乳動物においてインビボで腹水として成長させることもできる。

【０１３１】

サブクローンによって分泌されたモノクローナル抗体は、例えばプロテインＡ－セファロース法、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー法、ゲル電気泳動法、透析法又はアフィニティークロマトグラフィー等の従来の免疫グロブリン精製方法によって培養培地又は腹水液から単離又は精製される。

また、モノクローナル抗体は、組換えＤＮＡ法、例えば米国特許第4,816,567号に記載された方法により作成することができる。本発明のモノクローナル抗体をコードするＤＮＡは、常套的な方法を用いて(例えば、マウス抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合可能なオリゴヌクレオチドプローブを使用して)、容易に単離し配列決定することができる。本発明のハイブリドーマ細胞はそのようなＤＮＡの好ましい供給源となる。ひとたび単離されたら、ＤＮＡは発現ベクター内に挿入することができ、これが宿主細胞、例えばサルＣＯＳ細胞、チャイニーズハムスター卵巣(ＣＨＯ)細胞、あるいは免疫グロブリンタンパク質を生成などしない骨髄腫細胞内に形質移入され、組換え宿主細胞内でモノクローナル抗体の合成をすることができる。また、ＤＮＡは、例えば相同マウス配列に換えてヒト重鎖及び軽鎖定常ドメインのコード配列を置換することにより［US. Patent No.4,816,567；Morrison等, 上掲］、又は免疫グロブリンコード配列に非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の一部又は全部を共有結合することにより修飾することができる。このような非免疫グロブリンポリペプチドは、本発明の抗体の不変ドメインの代わりに置換するか、本発明の抗体の一つの抗原結合部位の可変ドメインの代わりに置換し、キメラ性二価抗体を産生することができる。このような非免疫グロブリンポリペプチドは、本発明の抗体の不変ドメインに置換でき、あるいは本発明の抗体の１つの抗原結合部位の可変ドメインに置換でき、キメラ性二価抗体を生成する。

【０１３２】

抗体は一価抗体であってもよい。一価抗体の調製方法は当該分野においてよく知られてる。例えば、一つの方法は免疫グロブリン軽鎖と修飾重鎖の組換え発現を含む。重鎖は一般的に、重鎖の架橋を防止するようにＦｃ領域の任意のポイントで切断される。あるいは、関連するシステイン残基を他のアミノ酸残基で置換するか欠失させて架橋を防止する。

一価抗体の調製にはインビトロ法がまた適している。抗体の消化による、その断片、特にＦａｂ断片の生成は、当該分野において知られている慣用的技術を使用して達成できる。

【０１３３】

３．ヒト及びヒト化抗体

抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体は、さらにヒト化抗体又はヒト抗体を含む。非ヒト(例えばマウス)抗体のヒト化形とは、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖あるいはその断片(例えばＦｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ'、$F(ab')_2$あるいは抗体の他の抗原結合サブ配列)であって、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含むものである。ヒト化抗体はレシピエントの相補性決定領域(ＣＤＲ)の残基が、マウス、ラット又はウサギのような所望の特異性、親和性及び能力を有する非ヒト種(ドナー抗体)のＣＤＲの残基によって置換されたヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)を含む。幾つかの例では、ヒト免疫グロブリンのＦｖフレームワーク残基は、対応する非ヒト残基によって置換されている。また、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にも、移入されたＣＤＲもしくはフレームワーク配列にも見出されない残基を含んでいてもよい。一般に、ヒト化抗体は、全てあるいはほとんど全てのＣＤＲ領域が非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、全てあるいはほとんど全てのＦＲ領域がヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである、少なくとも１つ、典型的には２つの可変ドメインの実質的に全てを含む。ヒト化抗体は、最適には免疫グロブリン定常領域(Ｆｃ)、典型的にはヒトの免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部を含んでなる［Jones等, Nature, 321:522-525 (1986); Riechmann等, Nature, 332:323-329 (1988); 及びPresta, Curr. Op Struct. Biol., 2:593-596 (1992)］。

【０１３４】

非ヒト抗体をヒト化する方法はこの分野でよく知られている。一般的に、ヒト化抗体には非ヒト由来の一又は複数のアミノ酸残基が導入される。これら非ヒトアミノ酸残基は、しばしば、典型的には「移入」可変ドメインから得られる「移入」残基と称される。ヒト化は基本的に齧歯動物のＣＤＲ又はＣＤＲ配列でヒト抗体の該当する配列を置換することによりウィンター(Winter)及び共同研究者［Jones等, Nature, 321:522-525 (1986)；Riechmann等, Nature, 332:323-327 (1988)；Verhoeyen等, Science, 239:1534-1536 (1988)］の方法に従って、齧歯類ＣＤＲ又はＣＤＲ配列をヒト抗体の対応する配列に置換することにより実施される。よって、このような「ヒト化」抗体は、無傷のヒト可変ドメインより実質的に少ない分が非ヒト種由来の対応する配列で置換されたキメラ抗体(米国特許第4,816,567号)である。実際には、ヒト化抗体は典型的には幾つかのＣＤＲ残基及び場合によっては幾つかのＦＲ残基が齧歯類抗体の類似する部位からの残基によって置換されたヒト抗体である。

また、ヒト抗体は、ファージ表示ライブラリ［Hoogenboom及びWinter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991)；Marks等, J. Mol. Biol., 222:581 (1991)］を含むこの分野で知られた種々の方法を用いて作成することもできる。また、Cole等及びBoerner等の技術も、ヒトモノクローナル抗体の調製に利用することができる［Cole等, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss. p.77(1985)及びBoerner等, J. Immunol., 147(1):86-95(1991) ］。同様に、ヒト抗体はヒト免疫グロブリン座位をトランスジェニック動物、例えば内在性免疫グロブリン遺伝子は部分的又は完全に不活性化されたマウスに導入することにより産生することができる。投与の際に、遺伝子再配列、組立、及び抗体レパートリーを含むあらゆる観点においてヒトに見られるものに非常に類似しているヒト抗体の生産が観察される。このアプローチは、例えば米国特許第5,545,807号；同第5,545,806号；同第5,569,825号；同第5,625,126号；同第5,633,425号；同第5,661,016号、及び次の科

学文献：Marks等，Bio/Technology 10，779-783 (1992)；Lonberg等，Nature，368:856-859 (1994)；Morrison，Nature，368：812-13 (1994)；Fishwild等，Nature Biotechnology，14：845-51 (1996)；Neuberger，Nature Biotechnology，14：826 (1996)；Lonberg及びHuszar，Intern. Rev. Immunol.，13：65-93 (1995)に記載されている。

【０１３５】

４．抗体依存性酵素媒介性プロドラッグ治療法(ＡＤＥＰＴ)

また、本発明の抗体は、プロドラッグ(例えばペプチジル化学療法剤、国際公開81/01145号を参照)を活性な抗癌剤に転化させるプロドラッグ活性化酵素に抗体をコンジュゲートさせることにより、ＡＤＥＰＴにおいて使用することができる。例えば国際公開88/07378及び米国特許第4,975,278号を参照されたい。

ＡＤＥＰＴに有用な免疫コンジュゲートの酵素成分には、より活性な細胞毒形態に転化するように、プロドラッグに作用し得る任意の酵素が含まれる。

限定するものではないが、この発明の方法に有用な酵素には、グリコシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、ヒトリゾチーム、ヒトグルクロニダーゼ、ホスフェート含有プロドラッグを遊離の薬剤に転化するのに有用なアルカリ性ホスファターゼ；スルファート含有プロドラッグを遊離の薬剤に転化するのに有用なアリールスルファターゼ；非毒性５-フルオロシトシンを抗癌剤５-フルオロウラシルに転化するのに有用なシトシンデアミナーゼ；プロテアーゼ、例えばセラチアプロテアーゼ、サーモリシン、サブチリシン、カルボキシペプチダーゼ（例えば、カルボキシペプチダーゼＧ２及びカルボキシペプチダーゼＡ）及びカテプシン(例えば、カテプシンＢ及びＬ)で、ペプチド含有プロドラッグを遊離の薬剤に転化するのに有用なもの；Ｄ-アミノ酸置換基を含有するプロドラッグの転化に有用なＤ-アラニルカルボキシペプチダーゼ；炭水化物切断酵素、例えばグリコシル化プロドラッグを遊離の薬剤に転化するのに有用なノイラミニダーゼ及びβガラクトシダーゼ；βラクタムで誘導体化された薬剤を遊離の薬剤に転化させるのに有用なβラクタマーゼ；及びペニシリンアミダーゼ、例えばそれぞれフェノキシアセチル又はフェニルアセチル基で、それらのアミン性窒素において誘導体化された薬剤を遊離の薬剤に転化するのに有用なペニシリンＶアミダーゼ又はペニシリンＧアミダーゼが含まれる。あるいは、「アブザイム」としてもまた公知の酵素活性を有する抗体を、遊離の活性薬剤に本発明のプロドラッグを転化させるために使用することもできる(例えば、Massey，Nature 328:457-458[1987]を参照)。抗体-アブザイムコンジュゲートは、ここで記載されているようにして、腫瘍細胞個体群にアブザイムを輸送するために調製することができる。

この発明の酵素は、当該分野においてよく知られている技術、例えば上で検討したヘテロ二官能性架橋試薬を使用することにより、抗－ＰＲＯ３８１、抗－ＰＲＯ１２６９、抗－ＰＲＯ１４１０、抗－ＰＲＯ１７５５、抗－ＰＲＯ１７８０、抗－ＰＲＯ１７８８、抗－ＰＲＯ３４３４、抗－ＰＲＯ１９２７、抗－ＰＲＯ３５６７、抗－ＰＲＯ１２９５、抗－ＰＲＯ１２９３、抗－ＰＲＯ１３０３、抗－ＰＲＯ４３４４、抗－ＰＲＯ４３５４、抗－ＰＲＯ４３９７、抗－ＰＲＯ４４０７、抗－ＰＲＯ１５５５、抗－ＰＲＯ１０９６、抗－ＰＲＯ２０３８又は抗－ＰＲＯ２２６２抗体に共有的に結合させることができる。あるいは、本発明の抗体の少なくとも結合領域を本発明の酵素の少なくとも機能的に活性な部位に結合せしめてなる融合タンパク質を、当該技術においてよく知られている組換えＤＮＡ技術を使用して作成することができる(Neuberger等，Nature 312:604-608[1984])。

【０１３６】

５．二重特異性抗体

二重特異性抗体は、少なくとも２つの異なる抗原に対して結合特異性を有するモノクローナル抗体、好ましくはヒトもしくはヒト化抗体である。本発明の場合において、結合特異性の一方はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２に対してであり、他方は任意の他の抗原、好ましくは細胞表面タンパク質又は

レセプター又はレセプターサブユニットに対してである。

二重特異性抗体を作成する方法は当該技術分野において周知である。伝統的には、二重特異性抗体の組換え生産は、二つの重鎖が異なる特異性を持つ二つの免疫グロブリン重鎖／軽鎖対の同時発現に基づく［Milstein及びCuello, Nature, 305:537-539 (1983)］。免疫グロブリンの重鎖と軽鎖を無作為に取り揃えるため、これらハイブリドーマ(クアドローマ)は１０種の異なる抗体分子の潜在的混合物を生成し、その内一種のみが正しい二重特異性構造を有する。正しい分子の精製は、アフィニティークロマトグラフィー工程によって通常達成される。同様の手順が1993年5月13日公開のWO 93/08829、及びTraunecker等, EMBO J.,10:3655-3656 (1991)に開示されている。

【０１３７】

所望の結合特異性(抗体-抗原結合部位)を有する抗体可変ドメインを免疫グロブリン定常ドメイン配列に融合できる。融合は、好ましくは少なくともヒンジ部、ＣＨ２及びＣＨ３領域の一部を含む免疫グロブリン重鎖定常ドメインとのものである。少なくとも一つの融合には軽鎖結合に必要な部位を含む第一の重鎖定常領域(ＣＨ１)が存在することが望ましい。免疫グロブリン重鎖融合体をコードするＤＮＡ、及び望むのであれば免疫グロブリン軽鎖を、別々の発現ベクターに挿入し、適当な宿主生物に同時形質移入する。二重特異性抗体を作成するための更なる詳細については、例えばSuresh等, Methods in Enzymology, 121:210(1986)を参照されたい。

国際公開WO 96/27011号に記載された他のアプローチ法によれば、一対の抗体分子間の界面を操作して組換え細胞培養から回収されるヘテロ二量体のパーセントを最大にすることができる。好適な界面は抗体定常ドメインのＣＨ３ドメインの少なくとも一部を含む。この方法では、第１抗体分子の界面からの一又は複数の小さいアミノ酸側鎖がより大きな側鎖(例えばチロシン又はトリプトファン)と置換される。大きな側鎖と同じ又はより小さいサイズの相補的「キャビティ」を、大きなアミノ酸側鎖を小さいもの(アラニン又はスレオニン)と置き換えることにより第２の抗体分子の界面に作り出す。これにより、ホモ二量体のような不要の他の最終産物に対してヘテロダイマーの収量を増大させるメカニズムが提供される。

二重特異性抗体は、完全長抗体又は抗体断片（例えば、Ｆ(ａｂ')$_2$二重特異性抗体）として調製できる。抗体断片から二重特異性抗体を産生する技術もまた文献に記載されている。例えば、化学結合を使用して二重特異性抗体を調製することができる。Brennan等, Science, 229:81 (1985) は無傷の抗体をタンパク分解性に切断してＦ(ａｂ')$_2$断片を産生する手順を記述している。これらの断片は、ジチオール錯体形成剤亜砒酸ナトリウムの存在下で還元して近接ジチオールを安定化させ、分子間ジスルフィド形成を防止する。産生されたＦａｂ'断片はついでチオニトロベンゾアート(ＴＮＢ)誘導体に転換される。Ｆａｂ'-ＴＮＢ誘導体の一つをついでメルカプトエチルアミンでの還元によりＦａｂ'-チオールに再転換し、他のＦａｂ'-ＴＮＢ誘導体の等モル量と混合して二重特異性抗体を形成する。作られた二重特異性抗体は酵素の選択的固定化用の薬剤として使用することができる。

【０１３８】

大腸菌からＦａｂ'フラグメントを直接回収でき、これは化学的に結合して二重特異性抗体を形成することができる。Shalaby等, Ｊ. Exp. Med., 175:217-225 (1992) は完全にヒト化された二重特異性抗体Ｆ(ａｂ')$_2$分子の製造を記述している。各Ｆａｂ'フラグメントは大腸菌から別個に分泌され、インビトロで定方向化学共役を受けて二重特異性抗体を形成する。このようにして形成された二重特異性抗体は、正常なヒトＴ細胞及びＥｒｂＢ２レセプターを過剰発現する細胞に結合可能で、ヒト乳房腫瘍標的に対するヒト細胞障害性リンパ球の細胞溶解活性の誘因となる。

組換え細胞培養から直接的に二重特異性抗体フラグメントを作成し分離する様々な方法もまた記述されている。例えば、二重特異性抗体はロイシンジッパーを使用して生産されている。Kostelny等, Ｊ. Immunol. 148(5):1547-1553 (1992)。Ｆｏｓ及びＪｕｎタンパク質からのロイシンジッパーペプチドを遺伝子融合により二つの異なった抗体のＦａｂ'

部分に結合させる。抗体ホモダイマーをヒンジ領域で還元してモノマーを形成し、ついで再酸化して抗体ヘテロダイマーを形成する。この方法はまた抗体ホモダイマーの生産に対して使用することができる。Hollinger等, Proc.Natl.Acad.Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)により記述された「ダイアボディ」技術は二重特異性抗体フラグメントを作成する別のメカニズムを提供した。フラグメントは、同一鎖上の２つのドメイン間の対形成を可能にするには十分に短いリンカーにより軽鎖可変ドメイン(V_L)に重鎖可変ドメイン(V_H)を結合してなる。従って、一つのフラグメントのV_H及びV_Lドメインは他のフラグメントの相補的V_L及びV_Hドメインと強制的に対形成させられ、２つの抗原結合部位を形成する。単鎖Ｆｖ(ｓＦｖ)ダイマーの使用により二重特異性抗体フラグメントを製造する他の方策もまた報告されている。Gruber等, J. Immunol. 152:5368 (1994)を参照されたい。

【０１３９】

二価より多い抗体も考えられる。例えば、三重特異性抗体を調製することができる。Tutt等 J. Immunol. 147:60(1991)。

例示的二重特異性抗体は、ここで与えられるタンパク質上の２つの異なるエピトープに結合しうる。あるいは、抗-ポリペプチドアームは、Ｔ細胞レセプター分子（例えばＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ２８又はＢ７）等の白血球上のトリガー分子、又はＦｃγＲＩ(ＣＤ６４)、ＦｃγＲＩＩ(ＣＤ３２)及びＦｃγＲＩＩＩ(ＣＤ１６)等のＩｇＧのＦｃレセプター（ＦｃγＲ）に結合するアームに結合し、細胞防御メカニズムを特定のタンパク質発現細胞に集中するようにしてもよい。二重特異性抗体は、特定のポリペプチドを発現する細胞に対する局所的細胞毒性薬として使用してもよい。これらの抗体は、ポリペプチド結合アーム及び細胞毒性薬又はキレート化剤、例えばＥＯＴＵＢＥ、ＤＰＴＡ、ＤＯＴＡ、又はＴＥＴＡに結合するアームを有する。他の対象とする二重特異性抗体は、ポリペプチドに結合し、さらに組織因子（ＴＦ）に結合する。

【０１４０】

６．ヘテロ結合抗体

ヘテロ結合抗体もまた本発明の範囲に入る。ヘテロ結合抗体は、２つの共有結合した抗体からなる。このような抗体は、例えば、免疫系細胞を不要な細胞に対してターゲティングさせるため［米国特許第4,676,980号］及びＨＩＶ感染の治療のために［WO 91/00360; WO 92/200373; EP 03089］提案されている。この抗体は、架橋剤に関連したものを含む合成タンパク化学における既知の方法を使用して、インビトロで調製することができると考えられる。例えば、ジスルフィド交換反応を使用するか又はチオエーテル結合を形成することにより、免疫毒素を作成することができる。この目的に対して好適な試薬の例には、イミノチオレート及びメチル-４-メルカプトブチリミデート、及び例えば米国特許第4,676,980号に開示されているものが含まれる。

【０１４１】

７．エフェクター機能の設計

本発明の抗体をエフェクター機能について改変し、例えばガンの治療における抗体の効能を増強することが望ましい。例えば、システイン残基をＦｃ領域に導入して、この領域における鎖間ジスルフイド結合を形成させる。このようにして産生されたホモダイマー抗体は改善されたインターナリゼーション能力及び／又は増加した補体媒介細胞死滅及び抗体依存性細胞障害活性(ＡＤＣＣ)を有しうる。Caron等, J. Exp. Med. 176:1191-1195 (1992)及びShopes, B. J. Immunol. 148:2918-2922 (1992)を参照されたい。抗腫瘍活性が高められたホモダイマー抗体は、Wolff等, Cancer Research 53:2560-2565(1993)に記載されているようなヘテロ二官能性架橋剤を使用して調製することもできる。あるいは二重Ｆｃ領域を有し、よって増強された補体溶解及びＡＤＣＣ能を有しうる抗体を設計することができる。Stevensonら, Anti-cancer Drug Design 3:219-230 (1989)を参照。

【０１４２】

８．免疫複合体

本発明はまた、化学治療薬、毒素（例えば、細菌、真菌、植物又は動物由来の酵素活性

毒素、又はその断片）などの細胞毒性薬、あるいは放射性同位体（即ち、放射性結合）に結合された抗体を含む免疫複合体にも関する。

このような免疫複合体の生成に有用な化学治療薬は上記した。用いることのできる酵素活性毒素及びその断片は、ジフテリアＡ鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、コレラ毒素、ボツリヌス毒素、（緑膿菌からの）外毒素Ａ鎖、リシンＡ鎖、アブリンＡ鎖、モデクシン(modeccin)Ａ鎖、アルファ-サルシン、アレウリテス・フォーディ(Aleurites fordii)タンパク質、ジアンチン(dianthin)タンパク質、フィトラカ・アメリカーナ(Phytolaca americana)タンパク質（ＰＡＰＩ、ＰＡＰＩＩ、及びＰＡＰ-Ｓ）、モモルディカ・チャランチア(momordica charantia)インヒビター、クルシン(curcin)、クロチン(crotin)、サパオナリア・オフィシナリス(sapaonaria officinalis)インヒビター、ゲロニン(gelonin)、サポリン、ミトゲリン(mitogellin)、レストリクトシン(restrictocin)、フェノマイシン(phenomycin)、エノマイシン(enomycin)及びトリコテセン(tricothecene)を含む。小分子毒素は例えばカリキアミシン(calicheamicins)、マイタンシノイド(maytansinoids)、パリトキシン及びＣＣ１０６５を含む。様々な放射性ヌクレオチドが放射性抱合抗体の生成に利用可能である。例として、^{212}Ｂｉ、^{131}Ｉ、^{131}Ｉｎ、^{90}Ｙ及び^{186}Ｒｅを含む。

【０１４３】

抗体及び細胞毒性薬の複合体は、種々の二官能性タンパク質カップリング剤、例えば、Ｎ-スクシンイミジル-３-(２-ピリジルジチオール)プロピオネート（ＳＰＤＰ）、イミノチオラン（ＩＴ）、イミドエステルの二官能性誘導体（ジメチルアジピミデートＨＣＬ等）、活性エステル（ジスクシンイミジルスベレート等）、アルデヒド（グルタルアルデヒド等）、ビス-アジド化合物（ビス(ｐ-アジドベンゾイル)ヘキサンジアミン等）、ビス-ジアゾニウム誘導体（ビス-(ｐ-ジアゾニウムベンゾイル)-エチレンジアミン等）、ジイソシアネート（トリエン２，６-ジイソシアネート等）、及びビス-活性フッ素化合物（１，５-ジフルオロ-２，４-ジニトロベンゼン等）を用いて作成できる。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta等, Science 238: 1098 (1987)に記載されたように調製することができる。カーボン-１４-標識１-イソチオシアナトベンジル-３-メチルジエチレントリアミン五酢酸（ＭＸ-ＤＴＰＡ）は、放射性ヌクレオチドの抗体への抱合のためのキレート剤の例である。WO 94/11026参照。

他の実施態様では、腫瘍の予備標的化で使用するために、抗体は「レセプター」（ストレプトアビジン等）に結合されてもよく、抗体-レセプター複合体は患者に投与され、次いで清澄化剤を用いて未結合複合体を循環から除去し、次に細胞毒性薬（例えば、放射性ヌクレオチド等）に抱合された「リガンド」（例えばアビジン）を投与する。

【０１４４】

９．免疫リポソーム

また、ここに開示する抗体は、免疫リポソームとして調製してもよい。抗体を含むリポソームは、Epstein等, Proc. Natl. acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwang等, Proc. natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); 及び米国特許第4,485,045号及び第4,544,545号に記載されたような、この分野で知られた方法で調製される。向上した循環時間を持つリポソームは、米国特許第5,013,556号に開示されている。

特に有用なリポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロール及びＰＥＧ-誘導ホスファチジルエタノールアミン（ＰＥＧ-ＰＥ）を含む脂質組成物での逆相蒸発法によって生成される。リポソームは、所定サイズのフィルターを通して押し出され、所望の径を有するリポソームが生成される。本発明の抗体のＦａｂ’断片は、Martin等, J. Biol. Chem. 257: 286-288 (1982)に記載されているように、ジスルフィド交換反応を介してリポソームに抱合され得る。化学治療薬（ドキソルビシン等）は、場合によってはリポソーム内に包含される。Gabizon等, J. National Cancer Inst. 81(19) 1484 (1989)参照。

【０１４５】

Ｎ．製薬組成物

ここで同定される増幅遺伝子の産物に特異的に結合するアゴニスト抗体、並びに上記に開示したスクリーニングアッセイで同定された他の分子は、癌を含む腫瘍、ウイルス性疾患などの上記で議論した種々の病理学的状態の治療のために、免疫調節剤として、製薬組成物の形態で投与することができる。

増幅された遺伝子にコードされるタンパク質が細胞内であり、全抗体が阻害剤として用いられる場合、内在化抗体が好ましい。しかし、リポフェクション又はリポソームは、抗体又は抗体断片を細胞に導入するのに使用できる。　抗体断片が用いられる場合、標的タンパク質の結合ドメインに特異的に結合する最小阻害断片が通常は好ましい。例えば、抗体の可変領域配列に基づいて、標的タンパク質配列に結合する能力を保持したペプチド分子が設計できる。このようなペプチドは、化学的に合成でき、又は組換えＤＮＡ技術によって生成できる（例えば、Marasco等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 7889-7893 [1993]）。

抗体の治療用製剤は、所望される程度の純度を持つ抗体を、親油性製剤又は水性溶液の形態で、任意の製薬上許容される担体、賦形剤又は安定化剤と混合することにより調製され保存される（Remington's Pharmaceutical Science 16th edition, Osol, A. Ed. [1980]）。許容される担体、賦形剤、又は安定化剤は、用いられる用量及び濃度で受容者に非毒性であり、リン酸、クエン酸、及び他の有機酸などのバッファー；アスコルビン酸及びメチオニンを含む酸化防止剤；防腐剤（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド；ヘキサメトニウムクロライド；ベンズアルコニウムクロライド；ベンズエトニウムクロライド；フェノール；ブチル又はベンジルアルコール；メチル又はプロピルパラベン等のアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３-ペンタノール；及びm-クレゾールなど）；低分子量（約１０残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリン等のタンパク質；ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、又はリシン等のアミノ酸；グルコース、マンノース、又はデキストリンを含む単糖類、二糖類、及び他の炭水化物ＥＤＴＡ等のキレート剤、スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトールなどの糖；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えば、Ｚｎ-タンパク質錯体）又はトゥイーン(TWEEN)（商品名）、プルロニクス(PLURONICS)（商品名）、及びポリエチレングリコール（ＰＥＧ）等の非イオン性界面活性剤を含む。

【０１４６】

本発明のスクリーニングアッセイで同定された非-抗体化合物は、同様の方式で、この分野で知られた標準技術を用いて製剤される。

ここでの製剤は、治療すべき特定の徴候に必要な場合に１以上の活性化合物、好ましくは互いに悪影響を及ぼさない相補的仮性を持つものも含んでよい。あるいは、又はそれに加えて、組成物は、細胞毒性薬、サイトカイン又は成長阻害剤を含んでもよい。これらの分子は、適切には、意図する目的に有効な量の組み合わせで存在する。

また、活性成分は、例えばコアセルベーション技術により又は界面重合により調製されたマイクロカプセル、例えば、各々ヒドロキシメチルセルロース又はゼラチン-マイクロカプセル及びポリ（メタクリル酸メチル）マイクロカプセル中、コロイド状薬物送達系<BR（例えば、リポソーム、アルブミン小球、マイクロエマルション、ナノ粒子及びナノカプセル）中、又はマイクロエマルション中に包括されていてもよい。これらの技術は、Remington's Pharmaceutical Science 16th edition, Osol, A. Ed. [1980]に開示されている。

【０１４７】

インビボ投与に使用される製剤は無菌でなけらばならない。これは、滅菌濾過膜を通した濾過により容易に達成される。

徐放性製剤を調製してもよい。徐放性製剤の好適な例は、抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスを含み、このマトリクスは成形された物品、例えばフィルム、又はマイクロカプセルの形状である。除放性マトリクスの例は、ポリエステルヒドロゲル（例えば、ポリ(２-ヒドロキシエチル-メタクリレート)又はポリ(ビニルアルコール））

、ポリアクチド（米国特許第3,773,919号）、Ｌ-グルタミン酸及びγ-エチル-Ｌ-グルタメート、非分解性エチレン-酢酸ビニル、LUPRON DEPOT(商品名)（乳酸-グリコール酸コポリマーと酢酸リュープロリドの注射可能な小球）などの分解性乳酸-グリコール酸コポリマー、ポリ-(Ｄ)-３-ヒドロキシブチル酸を含む。エチレン-酢酸ビニル及び乳酸-グリコール酸などのポリマーは分子を１００日に渡って放出することができるが、ある種のヒドロゲルはより短時間でタンパク質を放出してしまう。カプセル化された抗体が身体内に長時間残ると、それらは３７℃の水分に露出されることにより変性又は凝集し、その結果、生物学的活性の低下及び起こりうる免疫原性の変化をもたらす。合理的な方法は、含まれる機構に依存する安定化について工夫することができる。例えば、凝集機構がチオ－ジスルフィド交換を通した分子間Ｓ-Ｓ結合形成であると発見された場合、安定化はスルフヒドリル残基の修飾、酸性溶液からの凍結乾燥、水分含有量の制御、適切な添加剤の付加、及び特異的ポリマーマトリクス組成物の開発によって達成されうる。

【０１４８】

Ｏ．治療方法

本発明の抗体及び他の抗腫瘍化合物は、ここで同定される増幅遺伝子の過剰発現及び／又は活性化を特徴とするものを含む種々の状態の治療に用いてもよいと考えられる。このような抗体及び、これらに限られないが有機及び無機小分子、ペプチド、アンチセンス分子等を含む他の化合物で治療される状態又は疾患の例としては、良性又は悪性腫瘍（例えば、腎臓(renal)、肝臓、腎臓(kidney)、膀胱、乳房、胃、卵巣、大腸直腸、前立腺、膵臓、肺、外陰部、甲状、肝臓の癌；肉腫；膠芽細胞腫；及び種々の頭部及び頸部の腫瘍）；白血病及びリンパ悪性疾患；ニューロン、グリア、星状細胞、視床下部及び他の腺、マクロファージ、上皮、間質及び胞胚腔の他の疾患；及び炎症、脈管形成及び免疫学的な疾患が含まれる。

本発明の抗腫瘍剤、例えば抗体は、哺乳動物、好ましくはヒトに、周知の方法、例えば、ボーラスとして又は所定時間に渡る連続注入による静脈内投与、筋肉内、腹膜内、脳脊髄内、皮下、関節間、滑膜内、鞘内、経口、局所、又は吸入経路などにより投与される。抗体の静脈内投与が好ましい。

【０１４９】

他の治療的養生法を抗癌剤、例えば本発明の抗体の投与と組み合わせてもよい。例えば、このような抗癌剤で治療される患者は放射線治療を受けてもよい。あるいは、又はそれに加えて、患者に化学治療薬を投与してもよい。このような化学治療薬の調製法及び用量スケジュールは、製造者の指示に従って使用されるか、熟練した実務者により経験的に決定される。そのような化学治療に対する調製法及び用量スケジュールはまたChemotherapy Service M.C. Perry編, Williams & Wilkins, Baltimore, MD (1992)にも記載されている。化学治療薬は、本発明の抗腫瘍剤、例えば抗体の投与に先立って、又は続いて投与してもよく、あるいはそれらと同時に投与してもよい。抗体は、タモキシフェン等の抗エストロゲン化合物又はオナプリストンなどの抗プロゲステロン（EP 616812参照）の、それらの分子について知られた用量と組み合わせてもよい。

また、腫瘍関連抗原に対する抗体、例えばＥｒｂＢ２、ＥＧＦＲ、ＥｒｂＢ３、ＥｒｂＢ４、又は血管内皮因子（ＶＥＧＦ）に結合する抗体を投与することも好ましい。あるいは、又は加えて、患者に、ここで開示される同一の又は２以上の異なる抗原に結合する２以上の抗体を一緒に投与してもよい。ときどきは、患者に一又は複数のサイトカインを投与することも有利である。好ましい実施態様では、ここでの抗体は、成長阻害剤と同時投与される。例えば、まず成長阻害剤を投与し、続いて本発明の抗体を投与する。しかしながら、同時投与、又は本発明の抗体を最初に投与することも考えられる。成長阻害剤についての適切な用量は現在用いられている量であるが、成長阻害剤とこの抗体との組み合わせ（相乗）効果により減少させ得る。

【０１５０】

疾患の予防又は治療のための、抗腫瘍剤、例えばここでの抗体の適切な用量は、上記で定義したような治療される疾患の型、疾患の重篤さ及び経過、予防又は治療目的で薬剤が

投与されるか否か、従前の治療、患者の臨床履歴及び薬剤に対する反応、及び主治医の裁量に依存する。薬剤は、適切には患者に一回又は一連の治療に渡って適切に投与される。

例えば、疾患の型及び重篤さに応じて、約１μｇ／ｋｇから１５ｍｇ／ｋｇ（例えば、０．１－２０ｍｇ／ｋｇ）の抗体が、例えば、１又はそれ以上の別々の投与あるいは連続注入のいずれにしても、患者に投与するための最初の候補用量である。典型的な１日の用量は、上記の要因に応じて、約１μｇ／ｋｇから１００ｍｇ／ｋｇ又はそれ以上であろう。数日以上に渡る繰り返し投与のためには、状態に応じて、疾患の徴候に所望の抑制が現れるまで治療が続けられる。しかしながら、他の用量計画が有用であることもある。この治療の進行は、従来の技術及びアッセイによって容易に観察される。

【０１５１】

Ｐ．製造品

本発明の他の実施態様では、上記の疾患の診断又は治療に有用な物質を含む製造品が提供される。この製造品は容器とラベルとを含んでなる。好適な容器は、例えば、ビン、バイアル、シリンジ、及び試験管を含む。容器は、ガラス又はプラスチックなどの材料から形成されてよい。容器は、状態を診断し治療するのに有効な組成物を収容し、無菌のアクセスポートを有し得る（例えば、容器は皮下注射針で貫通可能なストッパーを有する静脈内溶液バッグ又はバイアルであってよい）。組成物中の活性剤は通常、ここで同定される遺伝子産物の活性を妨害することのできる抗腫瘍剤、例えば抗体である。容器上又は添付されるラベルは、組成物が選択した状態の診断又は治療のために使用されることを示す。製造品はさらに、リン酸緩衝塩水、リンガー液及びデキストロース溶液などの製薬的に許容されるバッファーを含む第２の容器を具備してもよい。さらに、他のバッファー、希釈剤、フィルター、針、シリンジ、及び使用上の指示を付けたパッケージ挿入物を含む商業的及び使用者の見地から望ましい他の材料を含んでもよい。

【０１５２】

Ｑ．腫瘍の診断及び予知

或る種の腫瘍で過剰発現される成長レセプター等の細胞表面タンパク質は候補薬剤又は腫瘍（例えば、癌）治療の優れた標的であるが、同じタンパク質は腫瘍細胞で増幅された遺伝子にコードされる分泌タンパク質とともに腫瘍の診断及び予知に用途が見出される。例えば、腫瘍細胞で増幅された遺伝子のタンパク質産物に対する抗体は腫瘍診断又は予知として使用できる。

例えば、抗体断片を含む抗体は、増幅された遺伝子にコードされるタンパク質（「マーカー遺伝子産物」）の発現の定性的又は定量的検出に用いることができる。抗体は、好ましくは検出可能な、例えば蛍光標識を備え、結合は光学顕微鏡、フローサイトメトリー、フルオロメトリー、又はこの分野で知られた他の技術によって観察できる。これらの技術は、増幅された遺伝子が細胞表面タンパク質、例えば成長因子をコードする場合に特に好ましい。このような結合アッセイは、上記５節に実質的に記載されたように実施される。

マーカー遺伝子産物に結合する抗体のインサイツ検出は、例えば、免疫蛍光又は免疫電子顕微鏡によって実施できる。この目的のために、組織学的試料を患者から取り出し、好ましくは生物学的試料に抗体を重層させることにより、標識抗体をそれに適用する。この手法はまた、試験される組織におけるマーカー遺伝子産物の分布も決定できるようにする。当業者には、インサイツ検出のために広範な組織学的方法が容易に利用できることは明らかであろう。

【０１５３】

以下の実施例は例示するためにのみ提供されるものであって、本発明の範囲を決して限定することを意図するものではない。

本明細書で引用した全ての特許及び文献の全体を、出典明示によりここに取り込む。

（実施例）

実施例で言及されている全ての他の市販試薬は、特に示さない限りは製造者の使用説明に従い使用した。ＡＴＣＣ受託番号により以下の実施例及び明細書全体を通して特定されている細胞の供給源はアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション、１０８０１ユニ

ヴァーシティー・ビルディング、マナッサス、ＶＡ２０１１０－２２０９である。本出願で言及される全ての元の寄託は、特許手続き上の微生物の寄託の国際的承認に関するブダペスト条約及びその規則(ブダペスト条約)の規定の下でなされた。これは、寄託の日付から３０年間、寄託の生存可能な培養が維持されることを保証するものである。寄託物はブダペスト条約の条項に従い、またジェネンテク社とＡＴＣＣとの間の合意に従い、ＡＴＣＣから入手することができ、これは、どれが最初であろうとも、関連した米国特許の発行時又は任意の米国又は外国特許出願の公開時に、寄託培養物の後代を永久かつ非制限的に入手可能とすることを保証し、米国特許法第１２２条及びそれに従う特許庁長官規則(特に参照番号８８６ＯＧ６３８の３７ＣＦＲ第１．１４条を含む)に従って権利を有すると米国特許庁長官が決定した者に子孫を入手可能とすることを保証するものである。

特に記さない限り、本発明は上記及び以下の教科書に記載されたもののような組換えＤＮＡ技術の標準的な手法を用いた：Sambrook等, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press N.Y., 1989; Ausubel等, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y., 1989; Innis等, PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press, Inc., N.Y.., 1990; Harlow等, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, 1988; Gait, Oligonucleotide Synthesis, IRL Press, Oxford, 1984; R.I. Freshney, Animal Cell Culture, 1987; Coligan等, Current Protocols in Immunology, 1991。

【０１５４】

実施例１

新規なポリペプチド及びそれをコードするｃＤＮＡを同定するための細胞外ドメイン相同性スクリーニング

Swiss-Prot公的データベースからの約９５０の既知の分泌タンパク質からの細胞外ドメイン（ＥＣＤ）配列（もしあれば、分泌シグナル配列を含む）を、ＥＳＴデータベースの検索に使用した。ＥＳＴデータベースは、公的データベース（例えば、Dayhoff、GenBank）及び企業のデータベース（例えば、LIFESEQ(商品名)、Incyte Pharmaceuticals、Palo Alto, CA）を含む。検索は、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST-2（Altschul等, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて、ＥＣＤタンパク質配列のＥＳＴ配列の６フレーム翻訳との比較として実施した。既知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア７０（９０の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green, University of Washington, Seattle, WA）で集団化してコンセンサスＤＮＡ配列を構築した。

この細胞外ドメイン相同性スクリーニングを用いて、phrapを用いて他の同定されたＥＳＴ配列に対してコンセンサスＤＮＡ配列を構築した。さらに、得られたコンセンサスＤＮＡ配列を、しばしば（常にではない）BLAST又はBLAST-2及びphrapの繰り返しサイクルを用いて伸長し、コンセンサス配列を上で議論したＥＳＴ配列の供給源を用いて可能な限り伸長させた。

上記のように得られたコンセンサス配列に基づいて、次いでオリゴヌクレオチドを合成し、ＰＣＲにより対象とする配列を含むｃＤＮＡライブラリを同定するため、及びＰＲＯポリペプチドの完全長コード化配列のクローンを単離するプローブとして用いるために使用した。正方向及び逆方向ＰＣＲプライマーは一般的に２０から３０ヌクレオチドの範囲であり、しばしば約１００－１０００ｂｐ長のＰＣＲ産物を与えるために設計される。プローブ配列は、典型的に４０－５５ｂｐ長である。幾つかの場合には、コンセンサス配列が約１－１．５ｋｂｐより大きいときに付加的なオリゴヌクレオチドが合成される。完全長クローンについて幾つかのライブラリをスクリーニングするために、ライブラリからのＤＮＡを、Ausubel等, Current Protocols in Molecular Biology, のように、ＰＣＲプライマー対でのＰＣＲによりスクリーニングした。ポジティブライブラリを、次いで、プローブオリゴヌクレオチド及びプライマー対の一方を用いて対象とする遺伝子をコードするクローンの単離するのに使用した。

ｃＤＮＡクローンの単離に用いたｃＤＮＡライブラリは、Invitrogen, San Diego, CAからのもの等の市販試薬を用いて標準的な方法によって作成した。ｃＤＮＡは、ＮｏｔＩ部位を含むオリゴｄＴでプライムし、平滑末端でＳａｌＩヘミキナーゼアダプターに結合させ、ＮｏｔＩで切断し、ゲル電気泳動でおよそのサイズ分類し、そして適切なクローニングベクター（ｐＲＫＢ又はｐＲＫＤ等；ｐＲＫ５ＢはＳｆｉＩ部位を含まないｐＲＫ５Ｄの前駆体である；Holmes等, Science, 253: 1278-1280 (1991)参照）に、独特のＸｈｏＩ及びＮｏｔＩ部位において、所定の方向でクローニングした。

【０１５５】

実施例２

シグナルアルゴリズム分析を用いたｃＤＮＡクローンの単離

種々のポリペプチド-コード化核酸配列は、ジェネンテク，インク（South San Francisco, CA）によって開発された独自の配列発見アルゴリズムを、公的（例えば、GenBank）及び／又は私的（LIFESEQ(登録商標), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA）データベースからのＥＳＴｓ並びに集団化及び構築されたＥＳＴ断片に適用することにより同定した。シグナル配列アルゴリズムは、考慮している配列又は配列断片の５'-末端の第１の、場合によっては第２のメチオニンコドン（ＡＴＧ）を取り囲むＤＮＡヌクレオチドの文字に基づく分泌シグナルスコアを計算する。第１のＡＴＧに続くヌクレオチドは、停止コドンを持たない少なくとも３５の不明瞭でないアミノ酸をコードしなければならない。第１のＡＴＧが必要なアミノ酸を有する場合、第２のものは解析しない。何れも要件を満たさない場合、候補配列にスコアをつけなかった。ＥＳＴ配列が真正のシグナル配列を含むか否かを決定するために、ＡＴＧコドンを取り囲むＤＮＡ及び対応するアミノ酸配列を、分泌シグナルに関連することが知られた７つのセンサー（評価パラメータ）の組を用いてスコアをつけた。このアルゴリズムの使用により、多くのポリペプチド-コード化核酸配列の同定がなされた。

【０１５６】

実施例３

ヒトＰＲＯ３８１をコードするｃＤＮＡクローンの単離

上記実施例１において記述されているように、phrapを用いて他のＥＳＴ配列に関し、コンセンサスＤＮＡ配列を構築させた。このコンセンサス配列は、ここにおいてＤＮＡ３９６５１と命名する。ＤＮＡ３９６５１コンセンサス配列に基づいて、オリゴヌクレオチドを：１)所望の配列を含むcDNAライブラリーをPCRにより同定するために、および２）ＰＲＯ３８１の完全長コード化配列のクローンを単離ためのプローブとして使用するために合成した。

一組のPCR用プライマー（正方向および逆方向）が合成された：

正方向PCR用プライマー（39651.f1）：

5'-ＣＴＴＴＣＣＴＴＧＣＴＴＣＡＧＣＡＡＣＡＴＧＡＧＧＣ-3'(配列番号：３)

逆方向PCR用プライマー（39651.r1）：

5'-ＧＣＣＣＡＧＡＧＣＡＧＧＡＧＧＡＡＴＧＡＴＧＡＧＣ-3'(配列番号：４)

さらに、合成オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブは、以下のヌクレオチド配列を持つコンセンサスＤＮＡ３９６５１配列から構築された。

ハイブリダイゼーションプローブ（39651.pl）

5'-ＧＴＧＧＡＡＣＧＣＧＧＴＣＴＴＧＡＣＴＣＴＧＴＴＣＧＴＣＡＣＴＴＣＴＴＴＧＡＴＴＧＧＧＧＣＴＴＴＧ-3'(配列番号：５)

【０１５７】

完全長クローンのソースとして幾つかのライブラリーをスクリーンするために、上記のごとく同定したＰＣＲプライマー組によりライブラリーから調製したＤＮＡをＰＣＲ増幅によりスクリーニングした。その後、ポジティブなライブラリーは、オリゴヌクレオチドプローブおよびＰＣＲプライマーの一つを用い、ＰＲＯ３８１遺伝子をコードするクローンを単離するために用いた。ｃＤＮＡライブラリー構築のためのＲＮＡは、ヒト胎児腎臓組織（ＬＩＢ２２７）から単離した。

上記のように単離された単離クローンのＤＮＡ配列は、ＤＮＡ４４１９４－１３１７（図１；配列番号：１）の完全長ＤＮＡ配列を含んでおり；ＰＲＯ３８１のタンパク質配列をコードするものであった。

ＤＮＡ４４１９４－１３１７の全コード化配列は、図１（配列番号：１）に含まれている。ＤＮＡ４４１９４－１３１７のクローンは、一つのオープンリーディングフレーム含み、ヌクレオチド位置１７４－１７６に見かけの翻訳開始部位及びヌクレオチド位置８０７－８０９の停止シグナルを有していた。予測されるポリペプチド前駆体は２１１アミノ酸長である。図２（配列番号：２）に示した完全長ＰＲＯ３８１の分析は、図２に示したような種々の重要なポリペプチドドメインの存在を明らかにし、ここで重要なポリペプチドドメインに与えた位置は上記のようにおよそのものである。図２に示した完全長ＰＲＯ３８１配列の分析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸２０のシグナルペプチド；約アミノ酸１７６～約アミノ酸１８０の潜在的Ｎ－グリコシル化部位；約アミノ酸２０８～約アミノ酸２１２の小胞体標的配列；約アミノ酸７８～約アミノ酸１１５、約アミノ酸１１８～約アミノ酸１３２のＦＫＢＰ型ペプチジループロリルシストランスイソメラーゼ部位；約アミノ酸１９１～約アミノ酸２０４、約アミノ酸１８４～約アミノ酸２０４、約アミノ酸１４０～約アミノ酸１６０のＥＦハンドカルシウム結合ドメイン；約アミノ酸１８３～約アミノ酸２０４のＳ－１００/ＩＣａＢＰ型カルシウム結合ドメイン。クローンＤＮＡ４４１９４－１３１７は1998年4月28日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号２０９８０８が付与されている。図２に示されている完全長ＰＲＯ３８１タンパク質は分子量約24,172ダルトンと推定され、ｐＩは約5.99である。

完全長ＰＲＯ３８１ポリペプチドのアミノ酸配列の解析より、ＦＫＢＰイムノフィリンタンパク質と顕著な配列類似性を有することが示唆され、これにより、ＰＲＯ３８１は新規ＦＫＢＰイムノフィリンホモログである可能性が示される。さらに特筆すべきは、図２（配列番号：２）に示される完全長配列のＷＵ-ＢＬＡＳＴ２を用いた配列相同性比較分析によるDayhoffデータベースの解析から、ＰＲＯ３８１アミノ酸配列と以下のDayhoff配列との間の配列同一性が明らかになった：AF040252_1, I49669, P_R93551, S71238, CELC05C8_1, CEU27353-1, MIP_TRYCR, CEZC455_3, FKB4_HUMAN 及び I40718.

【０１５８】

実施例４

ヒトＰＲＯ１２６９をコードするｃＤＮＡクローンの単離

ＤＮＡ６６５２０-１５３６は、上記実施例２に示されている独自のシグナル配列検索アルゴリズムを適用する事により同定された。上記シグナル配列アルゴリズムを利用することで、ＬＩＦＥＳＥＱデータベース（登録商標）からのＥＳＴクラスター、ＩｎｃｙｔｅＥＳＴクラスター番号101920で表されるものであるが、このクラスターの同定を可能ならしめた。その後、存在する相同性を同定するために、このＥＳＴクラスター配列を公的（例えば、GenBank）及び／又は私的（LIFESEQ(登録商標), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA）データベースを含む様々な発現配列タグ（ＥＳＴ）データベースと比較した。ホモロジーサーチは、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2（Altschul等, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて実施した。既知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア７０（９０の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington）で集団化してコンセンサスＤＮＡ配列を構築した。そこから得られたコンセンサス配列を、ここでＤＮＡ５６５０９と命名する。

ＤＮＡ５６５０９配列とIncyteＥＳＴ番号103157との間の配列相同性に鑑みて、IncyteＥＳＴ番号103157を購入し、ｃＤＮＡ挿入物を得て配列決定した。このｃＤＮＡ挿入物の配列を図３（配列番号：６）に示し、ここでＤＮＡ６６５２０－１５３６と命名する。

【０１５９】

クローンＤＮＡ６６５２０－１５３６は単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置２６－２８に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置６１４－６１６の停止コドンで終端する（図３）。予測されるポリペプチド前駆体は１９６

アミノ酸長である（図４；配列番号：７）。図４に示す完全長ＰＲＯ１２６９タンパク質は、約２１，７３１の見積もり分子量及び約８．９７のｐＩを有する。図４（配列番号：７）に示した完全長ＰＲＯ１２６９配列の分析により、種々の重要なポリペプチドドメインの存在が明らかになり、それらの重要なポリペプチドドメインに与えられた位置は上記のようにおよそのものである。図４に示した完全長ＰＲＯ１２６９配列の分析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸２０のシグナルペプチド；約アミノ酸１１２～約アミノ酸１１６のＮ-グリコシル化部位。クローンＤＮＡ６６５２０－１５３６は1998年９月15日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号２０３２２６が付与された。

図４（配列番号：７）に示した完全長配列のWU-BLAST-2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析により、ＰＲＯ１２６９アミノ酸配列とDayhoff配列番号P_W23722との間の有意な配列同一性が明らかになった。さらに、ＰＲＯ１２６９アミノ酸配列と以下に示すDayhoff配列との間に配列相同性が見いだされた：MMTAG7_1，MTV026_16，NAAA_BPT3，S75616_1，及びNCP_PIG。

【０１６０】

実施例５

ヒトＰＲＯ１４１０をコードするｃＤＮＡクローンの単離

ＤＮＡ６８８７４-１６２２は、上記実施例２に示されている独自のシグナル配列検索アルゴリズムを適用する事により同定された。上記シグナル配列アルゴリズムを利用することで、ＬＩＦＥＳＥＱデータベース（登録商標）からのＥＳＴクラスター、ＩｎｃｙｔｅＥＳＴクラスター番号98502で表されるものであるが、このクラスターの同定を可能ならしめた。その後、存在する相同性を同定するために、このＥＳＴクラスター配列を公的（例えば、GenBank）及び／又は私的（LIFESEQ(登録商標)，Incyte Pharmaceuticals，Inc.，Palo Alto，CA）データベースを含む様々な発現配列タグ（ＥＳＴ）データベースと比較した。ホモロジーサーチは、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2（Altschul等，Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて実施した。既知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア７０（９０の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green，University of Washington，Seattle，Washington）で集団化してコンセンサスＤＮＡ配列を構築した。そこから得られたコンセンサス配列を、ここでＤＮＡ５６４５１と命名する。

ＤＮＡ５６４５１配列とIncyteＥＳＴ番号1257046との間の配列相同性に鑑みて、IncyteＥＳＴ番号1257046を購入し、ｃＤＮＡ挿入物を得て配列決定した。このｃＤＮＡ挿入物の配列を図５（配列番号８）に示し、ここでＤＮＡ６８８７４-１６２２と命名する。

【０１６１】

クローンＤＮＡ６８８７４-１６２２は単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置１５２－１５４に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置８６６－８６８の停止コドンで終端する（図５）。予測されるポリペプチド前駆体は２３８アミノ酸長である（図６；配列番号：９）。図６に示す完全長ＰＲＯ１４１０タンパク質は、約２５，２６２の見積もり分子量及び約６．４４のｐＩを有する。図６（配列番号：９）に示した完全長ＰＲＯ１４１０配列の分析により、種々の重要なポリペプチドドメインの存在が明らかになり、それらの重要なポリペプチドドメインに与えられた位置は上記のようにおよそのものである。図６に示した完全長ＰＲＯ１４１０配列の分析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸２０のシグナルペプチド；約アミノ酸１９４～約アミノ酸２２０の膜貫通ドメイン；約アミノ酸１３２～約アミノ酸１３６のＮ-グリコシル化部位。クローンＤＮＡ６８８７４-１６２２は1998年９月２２日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号２０３２７７が付与された。

図６（配列番号：９）に示した完全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析により、ＰＲＯ１４１０アミノ酸配列と以下に示すDayhoff配列との間に配列相同性が見いだされた：I48652，P_R76466，HSMHC3W36A_2，EPB4_HUMAN，P_R14256，EPA8_MOUSE，P_R77285，P_W13569，AF0

00560_1,及びASF1_HELAN。

【０１６２】

実施例６

ヒトＰＲＯ１７５５をコードするｃＤＮＡクローンの単離

ＤＮＡ７６３９６-１６９８は、上記実施例２に示されている独自のシグナル配列検索アルゴリズムを適用する事により同定された。上記シグナル配列アルゴリズムを利用することで、ＬＩＦＥＳＥＱデータベース（登録商標）からのＥＳＴクラスター、ＩｎｃｙｔｅＥＳＴクラスター番号141872で表されるものであるが、このクラスターの同定を可能ならしめた。その後、存在する相同性を同定するために、このＥＳＴクラスター配列を公的（例えば、GenBank）及び／又は私的（LIFESEQ(登録商標), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA）データベースを含む様々な発現配列タグ（ＥＳＴ）データベースと比較した。ホモロジーサーチは、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2（Altschul等, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて実施した。既知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア７０（９０の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington）で集団化してコンセンサスＤＮＡ配列を構築した。そこから得られたコンセンサス配列を、ここでＤＮＡ５５７３１と命名する。

ＤＮＡ５５７３１配列とIncyteＥＳＴ番号257323との間の配列相同性に鑑みて、IncyteＥＳＴ番号257323を購入し、ｃＤＮＡ挿入物を得て配列決定した。IncyteＥＳＴ番号257323は、発生の初期段階において神経細胞前駆体様の性質を示す、ヒト奇形癌腫由来のhNT2細胞系（Stratagene library 番号STR9372310）から単離したＲＮＡを用いて構築したライブラリーに由来する。このｃＤＮＡ挿入物の配列を図７（配列番号１０）に示し、ここでＤＮＡ７６３９６-１６９８と命名する。あるいは、ＤＮＡ７６３９６の配列は、オリゴヌクレオチドプローブおよびプライマーを調製し、適切なライブラリー（例えば、STR9372310）から配列を単離することにより得ることができる。

【０１６３】

ＤＮＡ７６３９６-１６９８の全コード配列は図７（配列番号１０）に含まれている。クローンＤＮＡ７６３９６-１６９８は単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置５８－６０に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置８８６－８８８の停止コドンで終端する（図７）。予測されるポリペプチド前駆体は２７６アミノ酸長である（図８；配列番号：１１）。図８に示す完全長ＰＲＯ１７５５タンパク質は、約２９，４２６の見積もり分子量及び約９．４０のｐＩを有する。図８（配列番号：１１）に示した完全長ＰＲＯ１７５５配列の分析により、種々の重要なポリペプチドドメインの存在が明らかになり、それらの重要なポリペプチドドメインに与えられた位置は上記のようにおよそのものである。図８に示した完全長ＰＲＯ１７５５配列の分析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸３３のシグナルペプチド；約アミノ酸１７８～約アミノ酸１９８の膜貫通ドメイン；約アミノ酸２１０～約アミノ酸２１４のｃＡＭＰおよびｃＧＭＰ依存性プロテインキナーゼリン酸化サイト；約アミノ酸１１７～約アミノ酸１２３、約アミノ酸１５４～約アミノ酸１６０、約アミノ酸２１４～約アミノ酸２２０のN-ミリストリル化部位；約アミノ酸１４９～約アミノ酸１５２の細胞接着配列。クローンＤＮＡ７６３９６-１６９８は1998年１１月１７日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号２０３４７１が付与された。

図８（配列番号：１１）に示した完全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析により、ＰＲＯ１７５５アミノ酸配列と以下に示すDayhoff配列との間に配列相同性が見いだされた：APG-BRANA, P_R37743, NAU88587_1, YHL1_EBV, P_W31855, CET10B10_4, AF039404_1, PRP1_HUMAN, AF038575_1 及びAF053091_1。

【０１６４】

実施例７

ヒトＰＲＯ１７８０をコードするｃＤＮＡクローンの単離

上記実施例１において記述されているように、phrapを用いて他のＥＳＴ配列に関し、コンセンサスＤＮＡ配列を構築させた。ここでＤＮＡ６３８３７と命名された、LIFESEQ(登録商標)データーベースからのＩｎｃｙｔｅＥＳＴ番号3349314の配列は、既知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア７０又はそれ以上を持つ配列であった。ＤＮＡ６３８３７配列は、上記にて議論したＥＳＴ配列のソースを可能なかぎり利用するコンセンサス配列を拡張するために、ＢＬＡＳＴを繰り返し使用しおよびプログラム「phrap」を使用して、伸展したものである。このコンセンサス配列を、ここでＤＮＡ６３８３７と命名する。

ＤＮＡ６３８３７コンセンサス配列に基づいて、：１)所望の配列を含むcDNAライブラリーをPCRにより同定するために、および２）ＰＲＯ１７８０の完全長の配列のクローンを単離するためのプローブとして使用するためにオリゴヌクレオチドを合成した。

一組のPCR用プライマー（正方向および逆方向）が合成された：

正方向PCR用プライマー（63837.f1）：

5'-ＴＧＣＣＴＴＴＧＣＴＣＡＣＣＴＡＣＣＣＣＡＡＧＧ-3'(配列番号：１４)

逆方向PCR用プライマー（63837.r1）：

5'-ＴＣＡＧＧＣＴＧＧＴＣＴＣＣＡＡＡＧＡＧＡＧＧＧ-3'(配列番号：１５)

さらに、合成オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブは、以下のヌクレオチド配列を持つコンセンサスＤＮＡ６３８３７配列から構築された。

ハイブリダイゼーションプローブ（63837.pl）

5'-ＣＣＣＡＡＡＧＡＴＧＴＣＣＡＣＣＴＧＧＣＴＧＣＡＡＡＴＧＴＧＡＡＡＡＴＴＧＴＧＧＡＣＴＧＧ-3'(配列番号：１６)

【０１６５】

完全長クローンのソースとして幾つかのライブラリーをスクリーンするために、上記のごとく同定したＰＣＲプライマー組によりライブラリーから調製したＤＮＡをＰＣＲ増幅によりスクリーニングした。その後、ポジティブなライブラリーは、オリゴヌクレオチドプローブおよびＰＣＲプライマーの一つを用い、ＰＲＯ１７８０遺伝子をコードするクローンを単離するために用いた。ｃＤＮＡライブラリー構築のためのＲＮＡは、ヒト胎児腎臓組織から単離した。

上記のように単離された単離クローンのＤＮＡ配列は、ＤＮＡ７１１６９－１７０９（図９；配列番号：１２）に対する完全長のＤＮＡ配列を含んでおり；ＰＲＯ１７８０のタンパク質配列をコードするものであった。

ＤＮＡ７１１６９－１７０９の全コード化配列は、図９（配列番号：１２）に含まれている。ＤＮＡ７１１６９－１７０９のクローンは、一つのオープンリーディングフレーム含み、ヌクレオチド位置６８－７０に見かけの翻訳開始部位及びヌクレオチド位置１６３７－１６３９の停止シグナルを有していた。予測されるポリペプチド前駆体は５２３アミノ酸長である。図１０（配列番号：１３）に示した完全長ＰＲＯ１７８０の分析は、種々の重要なポリペプチドドメインの存在を明らかにし、ここで重要なポリペプチドドメインに与えた位置は上記のようにおよそのものである。図１０に示した完全長ＰＲＯ１７８０配列の分析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸１９のシグナルペプチド；約アミノ酸４８３～約アミノ酸５０４の膜貫通ドメイン；約アミノ酸５２～約アミノ酸５６の潜在的Ｎ－グリコシル化部位；約アミノ酸６８～約アミノ酸７５および約アミノ酸４２５～約アミノ酸４３４のチロシンキナーゼリン酸化部位；約アミノ酸１６～約アミノ酸２２、約アミノ酸３０１～約アミノ酸３０７、約アミノ酸３７０～約アミノ酸３７６および約アミノ酸４９４～約アミノ酸５００のＮ－ミリストイル化部位；約アミノ酸４９３～約アミノ酸５１５のロイシンジッパーパターン；約アミノ酸２４１～約アミノ酸２９４のＵＤＰ－グリコシル化部位。クローンＤＮＡ７１１６９－１７０９は1998年１１月１７日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号２０３４６７が付与されている。図１０に示されている完全長ＰＲＯ１７８０タンパク質は分子量約59,581ダルトンと推定され、ｐＩは約8.68である。

図１０（配列番号：１３）に示される完全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析

を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析により、ＰＲＯ１７８０アミノ酸配列と以下に示すDayhoff配列との間に配列相同性が見いだされた：UDA2_RABIT, CGT_HUMAN, UD11_HUMAN, P_R26153, UDB1_RAT, HSU59209_1, AB010872_1, UDB5_MOUSE, UDB8_HUMAN, およびUD14_HUMAN。

【０１６６】

実施例８

ヒトＰＲＯ１７８８をコードするｃＤＮＡクローンの単離

上記実施例１において記述されているように、phrapを用いて他のＥＳＴ配列に関し、コンセンサスＤＮＡ配列を構築させた。ＩｎｃｙｔｅＥＳＴ番号2968304の配列は、既知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア７０又はそれ以上を持つ配列として同定された。さらに、その配列は、上記にて議論したＥＳＴ配列のソースを可能なかぎり利用するコンセンサス配列を拡張するために、ＢＬＡＳＴを繰り返し使用しおよびプログラム「phrap」を使用して、伸展したものである。このコンセンサス配列を、ここでＤＮＡ４９６４８と命名する。ＤＮＡ４９６４８コンセンサス配列に基づいて、：１)所望の配列を含むcDNAライブラリーをPCRにより同定するために、および２）ＰＲＯ１７８８の完全長配列のクローンを単離するためのプローブとして使用するために、オリゴヌクレオチドを合成した。

一組のPCR用プライマー（正方向および逆方向）が合成された：

正方向PCR用プライマー（49648.f1）：

5'-ＣＣＣＴＧＣＣＡＧＣＣＧＡＧＡＧＣＴＴＣＡＣＣ-3'(配列番号：１９)

逆方向PCR用プライマー（49648.r1）：

5'-ＧＧＴＴＧＧＴＧＣＣＣＧＡＡＡＧＧＴＣＣＡＧＣ-3'(配列番号：２０)

さらに、合成オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブは、以下のヌクレオチド配列を持つコンセンサスＤＮＡ４９６４８配列から構築された。

ハイブリダイゼーションプローブ（49648.pl）

5'-ＣＡＡＣＣＣＣＡＡＧＣＴＴＡＡＣＴＧＧＧＣＡＧＧＡＧＣＴＧＡＧＧＴＧＴＴＴＴＣＡＧＧＣＣ-3'(配列番号：２１)

【０１６７】

完全長クローンのソースとして幾つかのライブラリーをスクリーンするために、上記のごとく同定したＰＣＲプライマー組によりライブラリーから調製したＤＮＡをＰＣＲ増幅によりスクリーニングした。その後、ポジティブなライブラリーは、オリゴヌクレオチドプローブおよびＰＣＲプライマーの一つを用い、ＰＲＯ１７８８遺伝子をコードするクローンを単離するために用いた。ｃＤＮＡライブラリー構築のためのＲＮＡは、ヒト胎児腎臓組織から単離した。

上記のように単離された単離クローンのＤＮＡ配列は、ＤＮＡ７７６５２－２５０５（図１１；配列番号：１７）の完全長ＤＮＡ配列を含んでおり；ＰＲＯ１７８８のタンパク質配列をコードするものであった。

ＤＮＡ７７６５２－２５０５の全コード化配列は、図１１（配列番号：１７）に含まれている。ＤＮＡ７７６５２－２５０５のクローンは、一つのオープンリーディングフレーム含み、ヌクレオチド位置６４－６６に見かけの翻訳開始部位及びヌクレオチド位置１１２３－１１２５の停止シグナルを有していた。予測されるポリペプチド前駆体は３５３アミノ酸長である。図１２（配列番号：１８）に示した完全長ＰＲＯ１７８８の解析は、種々の重要なポリペプチドドメインの存在を明らかにするが、ここで重要なポリペプチドドメインに与えた位置は上記のようにおよそのものである。図１２に示した完全長ＰＲＯ１７８８配列の分析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸１６のシグナルペプチド；約アミノ酸２１５～約アミノ酸２３２および約アミノ酸２８７～約アミノ酸３０４の膜貫通ドメイン；約アミノ酸７４～約アミノ酸７８および約アミノ酸１３７～約アミノ酸１４１の潜在的Ｎ－グリコシル化部位；約アミノ酸４５～約アミノ酸４９のグリコサミノグリカン接着部位；約アミノ酸３１８～約アミノ酸３２６のチロシンキナーゼリン酸化部位；約アミノ酸１３～約アミノ酸１９、約アミノ酸３２～約アミノ酸３

８、約アミノ酸８８～約アミノ酸９４、約アミノ酸２１４～約アミノ酸２２０および約アミノ酸２２３～約アミノ酸２２９のＮ－ミリストイル化部位；約アミノ酸２８４～約アミノ酸３０６のロイシンジッパーパターン。クローンＤＮＡ７７６５２－２５０５は1998年１１月１７日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号２０３４８０が付与されている。図１２に示されている完全長ＰＲＯ１７８８タンパク質は分子量約37,847ダルトンと推定され、ｐＩは約6.80である。

図１２（配列番号：１８）に示される完全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析により、ＰＲＯ１７８８アミノ酸配列と以下に示すDayhoff配列との間に配列相同性が見いだされた：AF030435_1; AF062006_1; DMTARTAN_1; GARP_HUMAN; S42799; P_R71294; HSU88879_1; DROWHEELER_1; A58532; およびAF068920_1。

【０１６８】

実施例９

ヒトＰＲＯ３４３４をコードするｃＤＮＡクローンの単離

ＤＮＡ７７６３１-２５３７は、上記実施例２に示されている独自のシグナル配列検索アルゴリズムを適用する事により同定された。上記シグナル配列アルゴリズムを利用することで、ＬＩＦＥＳＥＱデータベース（登録商標）からのＥＳＴクラスターの同定が可能である。続いて、存在する相同性を同定するために、このＥＳＴクラスター配列を公的（例えば、GenBank）及び／又は私的（LIFESEQ(登録商標), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA）データベースを含む様々な発現配列タグ（ＥＳＴ）データベースと比較した。ホモロジーサーチは、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2（Altschul等, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて実施した。既知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア７０（９０の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington）で集団化してコンセンサスＤＮＡ配列を構築した。そこから得られたコンセンサス配列を、ここでＤＮＡ５６０９９と命名する。

ＤＮＡ５６０９９配列とIncyteＥＳＴ番号3327089との間の配列相同性に鑑みて、IncyteＥＳＴ番号3327089を購入し、ｃＤＮＡ挿入物を得て配列決定した。このｃＤＮＡ挿入物の配列は、図１３（配列番号：２２）に示されたおり、ここではＤＮＡ７７６３１－２５３７と表わされる。

【０１６９】

クローンＤＮＡ７７６３１－２５３７は単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置４６－４８に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置３１３３－３１３５の停止コドンで終端する（図１３）。予測されるポリペプチド前駆体は１０２９アミノ酸長である（図１４；配列番号：２３）。図１４に示す完全長ＰＲＯ３４３４タンパク質は、約114,213の見積もり分子量及び約6.42のｐＩを有する。図１４（配列番号：２３）に示した完全長ＰＲＯ３４３４配列の分析により、種々の重要なポリペプチドドメインの存在が明らかになり、それらの重要なポリペプチドドメインに与えられた位置は上記のようにおよそのものである。図１４に示した完全長ＰＲＯ３４３４配列の分析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸１６のシグナルペプチド；約アミノ酸１５４～約アミノ酸１５８、約アミノ酸３３１～約アミノ酸３３５、約アミノ酸６１６～約アミノ酸６２０、約アミノ酸７８５～約アミノ酸７８９および約アミノ酸８９１～約アミノ酸８９５のｃＡＭＰおよびｃＧＭＰ依存性プロテインキナーゼリン酸化部位；約アミノ酸９１～約アミノ酸９７、約アミノ酸１３６～約アミノ酸１４２、約アミノ酸２２４～約アミノ酸２３０約アミノ酸４３５～約アミノ酸４４１、約アミノ酸４３９～約アミノ酸４４５、約アミノ酸４４３～約アミノ酸４４９、約アミノ酸６６５～約アミノ酸６７１および約アミノ酸６９８～約アミノ酸７０４の潜在的Ｎ-ミリストリル化部位；約アミノ酸３２９～約アミノ酸３３３、約アミノ酸６３４～約アミノ酸６３８のアミド化部位；および約アミノ酸９６～約アミノ酸１３５のオリゴアデニル酸合成酵素部位。クローンＤＮＡ７７６３１－２５３７は1999年２月９日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣ

Ｃ寄託番号２０３６５１が付与された。
図１４（配列番号：２３）に示した完全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析により、ＰＲＯ３４３４アミノ酸配列と以下に示すDayhoff配列との間に配列相同性が見いだされた：VATX_YEAST, P_R51171, POLS_IBDVP, IBDVORF_2, JC5043, IBDVPIV_1, VE7_HPV11, GEN14220, MUTS_THETH, およびCOAC_CHICK。

【０１７０】

実施例１０

ヒトＰＲＯ１９２７をコードするｃＤＮＡクローンの単離

ＤＮＡ８２３０７－２５３１は、上記実施例２に示されている独自のシグナル配列検索アルゴリズムを適用する事により同定された。上記シグナル配列アルゴリズムを利用することで、ＬＩＦＥＳＥＱデータベース（登録商標）からのＥＳＴクラスターの同定が可能であり、ＥＳＴクラスター配列番号1913で表される。続いて、存在する相同性を同定するために、このＥＳＴクラスター配列を公的（例えば、GenBank）、私的（LIFESEQ(登録商標), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA）ＥＳＴ　ＤＮＡデータベース及びさらなる私的（Genentech, Inc., South San Francisco, CA）ＥＳＴ　ＤＮＡデータベースを含む様々な発現配列タグ（ＥＳＴ）データベースと比較した。ホモロジーサーチは、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2（Altshul等, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて実施した。既知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア７０（９０の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington）で集団化してコンセンサスＤＮＡ配列を構築した。集団化された配列には、ここで「ＤＮＡ２０１６８」と命名するＧｅｎｅｎｔｅｃｈのデータベースからのＥＳＴが含まれる。そこから得られたコンセンサス配列を、ここでＤＮＡ７３８９６と命名する。

ＤＮＡ７３８９６配列とIncyteＥＳＴ番号3326981H1（大動脈組織から単離したＲＮＡから構築されたライブラリーから得た）との間の配列相同性に鑑みて、IncyteＥＳＴ番号3326981H1を購入し、ｃＤＮＡ挿入物を得て配列決定した。このｃＤＮＡ挿入物の配列は、図１５（配列番号：２４）に示されたおり、ここではＤＮＡ８２３０７－２５３１と表わされる。

【０１７１】

クローンＤＮＡ８２３０７－２５３１は単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置５１－５３に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置１６９５－１６９７の停止コドンで終端する（図１５）。予測されるポリペプチド前駆体は５４８アミノ酸長である（図１６；配列番号：２５）。図１６に示す完全長ＰＲＯ１９２７タンパク質は、約63,198ダルトンの見積もり分子量及び約8.10のｐＩを有する。図１６（配列番号：２５）に示した完全長ＰＲＯ１９２７配列の分析により、種々の重要なポリペプチドドメインの存在が明らかになり、それらの重要なポリペプチドドメインに与えられた位置は上記のようにおよそのものである。図１６に示した完全長ＰＲＯ１９２７配列の分析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸２３のシグナルペプチド；約アミノ酸５～約アミノ酸９、約アミノ酸８７～約アミノ酸９１、約アミノ酸１０３～約アミノ酸１０７および約アミノ酸４６５～約アミノ酸４６９の潜在的Ｎ－グリコシル化部位；及び約アミノ酸６～約アミノ酸１２、約アミノ酸１３６～約アミノ酸１４２、約アミノ酸３７０～約アミノ酸３７６および約アミノ酸５０９～約アミノ酸５１５の潜在的N-ミリストリル化部位。クローンＤＮＡ８２３０７－２５３１は1998年１１月１５日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号２０３５３７が付与された。

図１６（配列番号：２５）に示した完全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析により、ＰＲＯ１９２７アミノ酸配列とDayhoff配列AB000628_1との間に優位な配列相同性が明らかにされた。相同性はまたＰＲＯ１９２７アミノ酸配列と以下のさらなるDayhoffデータベースの間にもみられた：HGS_A251, HGS_A197, CELC50H11_2, CPXM_BACSU, VF03_VACCC, VF03_VA

CCV, DYHA_CHLRE, C69084,およびA64315。

【０１７２】

実施例１１

ヒトＰＲＯ３５６７をコードするｃＤＮＡクローンの単離

上記実施例１において記述されているように、phrapを用いて他のＥＳＴ配列に関し、コンセンサスＤＮＡ配列を構築させた。このコンセンサス配列は、ここではＤＮＡ５２７１１と表される。ＤＮＡ５２７１１コンセンサス配列およびメルクＥＳＴクローンAA082750に基づいて、メルクＥＳＴクローンAA082750を購入しその挿入ＤＮＡを入手し、配列決定をした。その全ヌクレオチド配列は、図１７（配列番号：２６）に示されており、ここではＤＮＡ５６０４９－２５４３と称する。

【０１７３】

クローンＤＮＡ５６０４９－２５４３は単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置９７－９９に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置６３７－６３９の停止コドンで終端する。予測されるポリペプチド前駆体は１８０アミノ酸長である。図１８（配列番号：２７）に示した完全長ＰＲＯ３５６７配列の解析により、種々の重要なポリペプチドドメインの存在が明らかになり、それらの重要なポリペプチドドメインに与えられた位置は上記のようにおよそのものである。図１８に示した完全長ＰＲＯ３５６７配列の解析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸２５のシグナルペプチド；約アミノ酸１４９～約アミノ酸１６４の膜貫通ドメイン；約アミノ酸１４１～約アミノ酸１４５の潜在的Ｎ－グリコシル化部位；約アミノ酸２５～約アミノ酸３１および約アミノ酸１３５～約アミノ酸１４１の潜在的N-ミリストリル化部位；約アミノ酸１６～約アミノ酸２７の原核細胞膜リポプロテイン脂質接着部位；約アミノ酸１１２～約アミノ酸１１５の細胞接着部位；約アミノ酸１～約アミノ酸２１のＴｏｎＢ依存性受容体タンパク質シグネチャー１。クローンＤＮＡ５６０４９－２５４３は、1999年２月９日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号２０３６６２が付与された。図１８（配列番号：２７）に示す完全長ＰＲＯ３５６７タンパク質は、約20,313ダルトンの見積もり分子量及び約8.91のｐＩを有する。

図１８（配列番号：２７）に示した完全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の解析により、ＰＲＯ３５６７アミノ酸配列と以下に示すDayhoff配列との間に配列相同性が見いだされた：SPC2_CANFA, SPC2_CHICK, SPC2_CAEEL, AF057144_1, YD2B_SCHPO, S61639, SPC3_YEAST, AMU21992_1, EPU22004_1, およびCMU20539_1。

【０１７４】

実施例１２

ヒトＰＲＯ１２９５をコードするｃＤＮＡクローンの単離

ＤＮＡ５９２１８－１５５９は、上記実施例２に示されている独自のシグナル配列検索アルゴリズムを適用する事により同定された。上記シグナル配列アルゴリズムを利用することで、ＬＩＦＥＳＥＱデータベース（登録商標）からのＥＳＴクラスターの同定が可能である。次いで、存在する相同性を同定するために、このＥＳＴクラスター配列を公的（例えば、GenBank）および私的（LIFESEQ(登録商標), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA）ＥＳＴ　ＤＮＡデータベースを含む様々な発現配列タグ（ＥＳＴ）データベースと比較した。一又はそれ以上のＥＳＴは胸腺組織ライブラリー由来であった。ホモロジーサーチは、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2（Altschul等, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて実施した。既知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア７０（９０の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington）で集団化してコンセンサスＤＮＡ配列を構築した。そこから得られたコンセンサス配列を、ここではＤＮＡ５６２６２と称する。

ＤＮＡ５６２６２配列とIncyteＥＳＴ番号3743334との間の配列相同性に鑑みて、このＥＳＴを含むクローンを購入し、ｃＤＮＡ挿入物を得て配列決定した。このｃＤＮＡ挿入物

の配列は、図１９（配列番号：２８）に示されたおり、ここではＤＮＡ５９２１８－１５５９と表わされる。

【０１７５】

クローンＤＮＡ５９２１８－１５５９は単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置２０７－２０９に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置１０４７－１０４９の停止コドンで終端する（図１９）。予測されるポリペプチド前駆体は２８０アミノ酸長である（図２０；配列番号：２９）。図２０に示す完全長ＰＲＯ１２９５タンパク質は、約30,163ダルトンの見積もり分子量及び約6.87のｐＩを有する。図２０（配列番号：２９）に示した完全長ＰＲＯ１２９５配列の分析により、種々の重要なポリペプチドドメインの存在が明らかになり、それらの重要なポリペプチドドメインに与えられた位置は上記のようにおよそのものである。図２０に示した完全長ＰＲＯ１２９５配列の解析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸１８のシグナルペプチド；約アミノ酸２４４～約アミノ酸２４８のＮ－グリコシル化部位；および約アミノ酸２７８～約アミノ酸２８２のミクロボディーＣ末端標的シグナル。クローンＤＮＡ５９２１８－１５５９は1998年９月２９日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号２０３２８７が付与された。

図２０（配列番号：２９）に示した完全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析により、ＰＲＯ１２９５アミノ酸配列と以下に示すDayhoff配列との間に配列相同性が見いだされた：AB011099_1, ILVE_MYCTU, ATTECR_2, AF010496_27, P_R15346, S37191, PER_DROMS, L2MU_ADECCおよびP_W34238。

【０１７６】

実施例１３

ヒトＰＲＯ１２９３をコードするｃＤＮＡクローンの単離

ＤＮＡ６０６１８－１５５７は、上記実施例２に示されている独自のシグナル配列検索アルゴリズムを適用する事により同定された。上記シグナル配列アルゴリズムを利用することで、ＬＩＦＥＳＥＱデータベース（登録商標）からのＥＳＴクラスター、ＩｎｃｙｔｅＥＳＴクラスター番号115204で表されるものであるが、このクラスターの同定を可能ならしめた。続いて、存在する相同性を同定するために、このＥＳＴクラスター配列を公的（例えば、GenBank）及び／又は私的（LIFESEQ(登録商標), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA）データベースを含む様々な発現配列タグ（ＥＳＴ）データベースと比較した。ホモロジーサーチは、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2（Altshul等, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて実施した。既知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア７０（９０の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington）で集団化してコンセンサスＤＮＡ配列を構築した。そこから得られたコンセンサス配列を、ここでＤＮＡ５６５２２と称する。

ＤＮＡ５６５２２配列とIncyteＥＳＴ2966119との間の配列相同性に鑑みて、IncyteＥＳＴ2966119を購入し、ｃＤＮＡ挿入物を得て配列決定した。このｃＤＮＡ挿入物の配列は、図２１（配列番号：３０）に示されたおり、ここではＤＮＡ６０６１８－１５５７と表わされる。

【０１７７】

クローンＤＮＡ６０６１８－１５５７は単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置３７－３９に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置１０６０－１０６２の停止コドンで終端する（図２１）。予測されるポリペプチド前駆体は３４１アミノ酸長である（図２２；配列番号：３１）。図２２に示す完全長ＰＲＯ１２９３タンパク質は、約38,070ダルトンの見積もり分子量及び約6.88のｐＩを有する。図２２（配列番号：３１）に示した完全長ＰＲＯ１２９３配列の分析により、種々の重要なポリペプチドドメインの存在が明らかになり、それらの重要なポリペプチドドメインに与えられた位置は上記のようにおよそのものである。図２０に示した完全長ＰＲＯ１２９３配列

の解析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸１９のシグナルペプチド；約アミノ酸２３７～約アミノ酸２６２の膜貫通ドメイン；約アミノ酸２０５～約アミノ酸２０９のＮ－グリコシル化部位；約アミノ酸１５１～約アミノ酸１５４の細胞接着配列；および約アミノ酸１１５～約アミノ酸１４１のコプロポルフィリノーゲンＩＩＩ酸化酵素と相同性を有するアミノ酸配列ブロック。クローンＤＮＡ６０６１８－１５５７は1998年９月２９日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号２０３２９２が付与された。

図２２（配列番号：３１）に示した完全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析により、ＰＲＯ１２９３アミノ酸配列と以下に示すDayhoff配列との間に配列相同性が見いだされた：HSVCD54_1, A33_HUMAN, AF009220_1, HSU82279_1, AF004230_1, P_R13272, AF004231_1, AF043644_1, S44125およびHSIGGHC85_1。

【０１７８】

実施例１４

ヒトＰＲＯ１３０３をコードするｃＤＮＡクローンの単離

上記実施例１において記述されているように、phrapを用いて他のＥＳＴ配列に関し、コンセンサスＤＮＡ配列を構築させた。このコンセンサス配列は、ここではＤＮＡ４７３４７と表される。ＤＮＡ４７３４７コンセンサス配列およびＤＮＡ４７３４７が由来する集合化の範囲内のIncyteＥＳＴとの相同性に基づいて、IncyteＥＳＴクローン1430305を購入しその挿入ＤＮＡを入手し、全配列決定をした。その全ヌクレオチド配列は、図２３（配列番号：３２）に示されており、ここではＤＮＡ６５４０９－１５６６と称する。

【０１７９】

クローンＤＮＡ６５４０９－１５６６は単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置１２１－１２３に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置８６５－８６７の停止コドンで終端する。予測されるポリペプチド前駆体は２４８アミノ酸長である。図２４（配列番号：３３）に示した完全長ＰＲＯ１３０３配列の解析により、種々の重要なポリペプチドドメインの存在が明らかになり、それらの重要なポリペプチドドメインに与えられた位置は上記のようにおよそのものである。図２４に示した完全長ＰＲＯ１３０３配列の解析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸１７のシグナルペプチド；約アミノ酸２４～約アミノ酸２８および約アミノ酸１６３～約アミノ酸１６７の潜在的Ｎ－グリコシル化部位；約アミノ酸５８～約アミノ酸６４のセリンプロテアーゼ、トリプシンファミリー、ヒスチジン活性部位；約アミノ酸４７～約アミノ酸６４、約アミノ酸１９６～約アミノ酸２０７、および約アミノ酸２１８～約アミノ酸２４２のセリンプロテアーゼ、トリプシンファミリー、ヒスチジンタンパク質ドメイン；約アミノ酸４７～約アミノ酸６５、および約アミノ酸１９４～約アミノ酸２０７のクリングルドメインタンパク質部位；および約アミノ酸２２０～約アミノ酸２４８のアップルドメイン部位。クローンＤＮＡ６５４０９－１５６６は、1998年９月１５日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号２０３２３２が付与された。図２４に示す完全長ＰＲＯ１３０３タンパク質は、約26,734ダルトンの見積もり分子量及び約7.90のｐＩを有する。

図２４（配列番号：３３）に示した完全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の解析により、ＰＲＯ１３０３アミノ酸配列と以下に示すDayhoff配列との間に配列相同性が見いだされた：AB009849_1, P_W08475, AF024605_1, A42048_1, TRY3_RAT, MMAE00066414, TRY1_RAT, MMAE000663_4, MMAE000665_2,およびMMAE00066412。

【０１８０】

実施例１５

ヒトＰＲＯ４３４４をコードするｃＤＮＡクローンの単離

上記実施例１において記述されているように、phrapを用いて他のＥＳＴ配列に関し、コンセンサスＤＮＡ配列を構築させた。このコンセンサス配列をここでは、ＤＮＡ８０２０３と称する。ＤＮＡ８０２０３コンセンサス配列に基づいて、：１)所望の配列を含むc

DNAライブラリーをPCRにより同定するために、および２）ＰＲＯ４３４４の完全長配列のクローンを単離するためのプローブとして使用するために、オリゴヌクレオチドを合成した。
一組のPCR用プライマー（正方向および逆方向）を合成した：
正方向PCR用プライマー：
5'-ＣＴＴＧＣＴＣＣＴＧＧＣＣＡＴＣＡＡＧＴＣＡＣ-3'(配列番号：３６)
逆方向PCR用プライマー：
5'-ＧＴＴＧＡＡＧＡＡＧＴＣＣＴＣＡＧＴＧＡＡＧＴＣＣＣＡＣ-3'(配列番号：３７)
さらに、合成オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブは、以下のヌクレオチド配列を持つコンセンサスＤＮＡ８０２０３配列から構築された。
ハイブリダイゼーションプローブ
5'-ＣＡＧＣＴＧＡＡＧＣＴＧＧＴＧＴＴＣＣＴＣＣＴＡＧＧＧＧＴＧＧＣＡＧＧＡＴＣＣＧ-3'(配列番号：３８)

【０１８１】

完全長クローンのソースとして幾つかのライブラリーをスクリーンするために、上記のごとく同定したＰＣＲプライマー組によりライブラリーから調製したＤＮＡをＰＣＲ増幅によりスクリーニングした。その後、ポジティブなライブラリーは、オリゴヌクレオチドプローブおよびＰＣＲプライマーの一つを用い、ＰＲＯ４３４４遺伝子をコードするクローンを単離するために用いた。ｃＤＮＡライブラリー構築のためのＲＮＡは、ヒト大動脈内皮細胞から単離した。

上記のように単離された単離クローンのＤＮＡ配列は、ＤＮＡ８４９２７－２５８５（図２５；配列番号：３４）の完全長ＤＮＡ配列を含んでおり；ＰＲＯ４３４４のタンパク質配列をコードするものであった。

ＤＮＡ８４９２７－２５８５の全コード化配列は、図２５（配列番号：３４）に含まれている。ＤＮＡ８４９２７－２５８５のクローンは、一つのオープンリーディングフレーム含み、ヌクレオチド位置３５７－３５９に見かけの翻訳開始部位及びヌクレオチド位置１４９１－１４９３の停止シグナルを有していた。予測されるポリペプチド前駆体は３７８アミノ酸長である。図２６（配列番号：３５）に示した完全長ＰＲＯ４３４４の解析は、種々の重要なポリペプチドドメインの存在を明らかにするが、ここで重要なポリペプチドドメインに与えた位置は上記のようにおよそのものである。図２６に示した完全長ＰＲＯ４３４４配列の分析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸３９のシグナルペプチド；約アミノ酸３０～約アミノ酸４９のタイプＩＩ型膜貫通ドメイン；約アミノ酸７９～約アミノ酸８３、約アミノ酸１０４～約アミノ酸１０８、および約アミノ酸１９２～約アミノ酸１９６のＮ－グリコシル化部位；約アミノ酸１９４～約アミノ酸１９８、および約アミノ酸３５２～約アミノ酸３５６のカゼインキナーゼＩＩリン酸化部位；約アミノ酸１４～約アミノ酸２０、約アミノ酸１６０～約アミノ酸１６６、および約アミノ酸３６７～約アミノ酸３７３のＮ－ミリストイル化部位；および約アミノ酸３５～約アミノ酸４６の原核細胞膜リポプロテイン脂質接着部位。クローンＤＮＡ８４９２７－２５８５は1999年３月２３日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号２０３８６５が付与されている。図２６に示されている完全長ＰＲＯ４３４４タンパク質は分子量約42,310ダルトンと推定され、ｐＩは約9.58である。

図２６（配列番号：３５）に示される完全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析により、ＰＲＯ４３４４アミノ酸配列と以下に示すDayhoff配列との間に配列相同性が見いだされた：P_W64558, P_W80212, AF029790_1, P_R57433, AB003748_1, MMHC42501814, DMU41449_1, DMSEG0007_10, DMC65G3_4, 及びFNG_DROME。

【０１８２】

実施例１６

ヒトＰＲＯ４３５４をコードするｃＤＮＡクローンの単離

ＤＮＡ９２２５６－２５９６は、上記実施例２に示されている独自のシグナル配列検索

アルゴリズムを適用する事により同定された。上記シグナル配列アルゴリズムを利用することで、ＬＩＦＥＳＥＱデータベース（登録商標）からのＥＳＴクラスター（92909）配列、またここでは「ＤＮＡ１０１９５」とも称する配列の同定を可能ならしめた。続いて、存在する相同性を同定するために、このＥＳＴクラスター配列を公的（例えば、GenBank）及び私的（LIFESEQ(登録商標), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA）データベースを含む様々な発現配列タグ（ＥＳＴ）データベースと比較した。ホモロジーサーチは、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2（Altshul等, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて実施した。既知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア７０（９０の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington）で集団化してコンセンサスＤＮＡ配列を構築した。そこから得られたコンセンサス配列を、ここでＤＮＡ５６０６３称する。

クラスター配列および配列比較に基づいて、ＤＮＡ９２２６４－２５９６が同定され全配列決定が行われた。全コード化配列は図２７（配列番号：３９）に含まれている。

【０１８３】

クローンＤＮＡ９２２５６－２５９６は単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置１０８－１１０に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置８５２－８５４の停止コドンで終端する（図２７）。予測されるポリペプチド前駆体は２４８アミノ酸長である（図２８；配列番号：４０）。図２８に示す完全長ＰＲＯ４３５４タンパク質は、約28,310ダルトンの見積もり分子量及び約4.63のｐＩを有する。図２８（配列番号：４０）に示した完全長ＰＲＯ４３５４配列の分析により、種々の重要なポリペプチドドメインの存在が明らかになり、それらの重要なポリペプチドドメインに与えられた位置は上記のようにおよそのものである。図２８に示した完全長ＰＲＯ４３５４配列の解析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸２１のシグナルペプチド；約アミノ酸１０６～約アミノ酸１１０のcAMP－およびcGMP－依存性プロテインキナーゼリン酸化部位；約アミノ酸３６～約アミノ酸４０、約アミノ酸８０～約アミノ酸８４、約アミノ酸８４～約アミノ酸８８、約アミノ酸１５８～約アミノ酸１６２、約アミノ酸２０２～約アミノ酸２０６、約アミノ酸２０７～約アミノ酸２１１、および約アミノ酸２１３～約アミノ酸２１７のカゼインキナーゼＩＩリン酸化部位；約アミノ酸１１５～約アミノ酸１２１のＮ－ミリストイル化部位；および約アミノ酸７０～約アミノ酸７４のアミド化部位。クローンＤＮＡ９２２５６－２５９６は1999年３月３０日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号２０３８９１が付与された。

図２８（配列番号：４０）に示した完全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の解析により、ＰＲＯ４３５４アミノ酸配列と以下に示すDayhoff配列との間に配列相同性が見いだされた：HGS_RF300, CEVK04G11_2, CEC11H1_7, HSU80744_1, CEF09E8_2, RNAJ2967_1, DDICOI_1, AB020648_1, P_W33887およびA64319。

【０１８４】

実施例１７

ヒトＰＲＯ４３９７をコードするｃＤＮＡクローンの単離

上記実施例１において記述されているように、phrapを用いて他のＥＳＴ配列に関し、コンセンサスＤＮＡ配列を構築させた。このコンセンサス配列をここでは、ＤＮＡ７９１９６と称する。ＤＮＡ７９１９６コンセンサス配列に基づいて、：１)所望の配列を含むcDNAライブラリーをPCRにより同定するために、および２）ＰＲＯ４３９７の完全長配列のクローンを単離するためのプローブとして使用するために、オリゴヌクレオチドを合成した。

一組のPCR用プライマー（正方向および逆方向）が合成された：

正方向PCR用プライマー：

5'-ＡＣＣＴＡＡＣＧＣＴＣＡＡＧＧＡＧＡＴＣＣＡＣＴＴＴＣ-3'(配列番号：４３)

逆方向PCR用プライマー：

5'-ＧＧＣＴＣＣＡＴＴＣＴＧＧＧＴＣＴＧＡＧＴＴＡＧＧ-3'(配列番号：４４)
さらに、合成オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブは、以下のヌクレオチド配列を持つコンセンサスＤＮＡ７９１９６配列から構築された。
ハイブリダイゼーションプローブ
5'-ＧＣＣＴＣＡＧＣＴＴＴＣＴＧＣＣＣＣＧＡＣＧＴＧＣＧＣＴＴＣＧＴＴＴＴＴＡＡＧＧ-3'(配列番号：４５)
【０１８５】
完全長クローンのソースとして幾つかのライブラリーをスクリーンするために、上記のごとく同定したＰＣＲプライマー組によりライブラリーから調製したＤＮＡをＰＣＲ増幅によりスクリーニングした。その後、ポジティブなライブラリーは、オリゴヌクレオチドプローブおよびＰＣＲプライマーの一つを用い、ＰＲＯ４３９７遺伝子をコードするクローンを単離するために用いた。ｃＤＮＡライブラリー構築のためのＲＮＡは、ヒト大動脈内皮細胞から単離した。
上記のように単離された単離クローンのＤＮＡ配列は、ＤＮＡ８３５０５－２６０６（図２９；配列番号：４１）に対する完全長のＤＮＡ配列を含んでおり；ＰＲＯ４３９７のタンパク質配列をコードするものであった。
ＤＮＡ８３５０５－２６０６の全コード化配列は、図２９（配列番号：４１）に含まれている。ＤＮＡ８３５０５－２６０６のクローンは、一つのオープンリーディングフレーム含み、ヌクレオチド位置２５４－２５６に見かけの翻訳開始部位及びヌクレオチド位置１４６０－１４６２の停止シグナルを有していた。予測されるポリペプチド前駆体は４０２アミノ酸長である。図３０（配列番号：４２）に示した完全長ＰＲＯ４３９７の解析は、種々の重要なポリペプチドドメインの存在を明らかにするが、ここで重要なポリペプチドドメインに与えた位置は上記のようにおよそのものである。図３０に示した完全長ＰＲＯ４３９７配列の分析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸２７のシグナルペプチド；約アミノ酸２０３～約アミノ酸２０７のＮ－グリコシル化部位；約アミノ酸１２４～約アミノ酸１２８、約アミノ酸２０５～約アミノ酸２０９、約アミノ酸３５１～約アミノ酸３５５、および約アミノ酸３６８～約アミノ酸３７２のカゼインキナーゼＩＩリン酸化部位；約アミノ酸１８～約アミノ酸２４、約アミノ酸３１～約アミノ酸３７、約アミノ酸１１０～約アミノ酸１１６、約アミノ酸１５７～約アミノ酸１６３、約アミノ酸１６１～約アミノ酸１６７、約アミノ酸１６３～約アミノ酸１６９、および約アミノ酸３６６～約アミノ酸３７２のＮ－ミリストイル化部位；および約アミノ酸１０７～約アミノ酸１１０の細胞接着部位。クローンＤＮＡ８３５０５－２６０６は1999年５月２５日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号１３２－ＰＴＡが付与されている。図３０に示されている完全長ＰＲＯ４３９７タンパク質は分子量約43,751ダルトンと推定され、ｐＩは約9.42である。
図３０（配列番号：４２）に示される完全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析により、ＰＲＯ４３９７アミノ酸配列と以下に示すDayhoff配列との間に配列相同性が見いだされた：P_W64558, P_W80212, HSGALT2_1, P_R57433, AF100956_7, HS1033B10_2, AF029792_1, DMU41449_1, DMSEG0007_10, 及びAF092051_1。
【０１８６】
実施例１８
ヒトＰＲＯ４４０７をコードするｃＤＮＡクローンの単離
ＤＮＡ９２２６４－２６１６は、上記実施例２に示されている独自のシグナル配列検索アルゴリズムを適用する事により同定された。上記シグナル配列アルゴリズムを利用することで、ＬＩＦＥＳＥＱデータベース（登録商標）からのＥＳＴクラスター配列の同定を可能ならしめた。続いて、存在する相同性を同定するために、このＥＳＴクラスター配列を公的（例えば、GenBank）及び私的（LIFESEQ(登録商標), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA）データベースを含む様々な発現配列タグ（ＥＳＴ）データベースと比較した。ホモロジーサーチは、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2（Altschul等,

Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて実施した。既知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア７０（９０の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington）で集団化してコンセンサスＤＮＡ配列を構築した。クラスター配列および配列比較に基づいて、ＤＮＡ９２２６４－２６１６が同定され全配列決定が行われた。

【０１８７】

ＤＮＡ９２２６４－２６１６の全コード配列は図３１（配列番号：４６）に含まれている。クローンＤＮＡ９２２６４－２６１６は単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置１０９－１１１に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置７５７－７５９の停止コドンで終端する（図３１）。予測されるポリペプチド前駆体は２１６アミノ酸長である（図３２；配列番号：４７）。図３２に示す完全長ＰＲＯ４４０７タンパク質は、約23,729ダルトンの見積もり分子量及び約4.73のｐＩを有する。図３２（配列番号：４７）に示した完全長ＰＲＯ４４０７配列の分析により、種々の重要なポリペプチドドメインの存在が明らかになり、それらの重要なポリペプチドドメインに与えられた位置は上記のようにおよそのものである。図３２に示した完全長ＰＲＯ４４０７配列の解析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸２５のシグナルペプチド；約アミノ酸４１～約アミノ酸５９の膜貫通ドメイン；約アミノ酸１２９～約アミノ酸１３３、および約アミノ酸１７３～約アミノ酸１７７のカゼインキナーゼＩＩリン酸化部位；約アミノ酸１３３～約アミノ酸１３９のＮ－ミリストイル化部位。クローンＤＮＡ９２２６４－２６１６は１９９９年４月２７日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号２０３９６９が付与された。

図３２（配列番号：３５）に示した完全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の解析により、ＰＲＯ４４０７アミノ酸配列と以下に示すDayhoff配列との間に配列相同性が見いだされた：SC1E6_12, D80003_1, HMGA_SOYBN, DROTRO12_1, HSU91934_1, GEN14338, AF051945_1, A45644, P_W60213及び P_W33807。

【０１８８】

実施例１９

ヒトＰＲＯ１５５５をコードするｃＤＮＡクローンの単離

ＤＮＡ７３７４４－１６６５は、上記実施例２に示されている独自のシグナル配列検索アルゴリズムを適用する事により同定された。上記シグナル配列アルゴリズムを利用することで、ＬＩＦＥＳＥＱデータベース（登録商標）からのＥＳＴクラスター配列、ＥＳＴクラスター521、またここでは「ＤＮＡ１０３１６」とも称する配列の同定を可能ならしめた。その後、存在するであろうホモロジーを同定するために、このＥＳＴクラスター配列を公的（例えば、GenBank）及び私的（LIFESEQ(登録商標), Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA）データベースを含む様々な発現配列タグ（ＥＳＴ）データベースと比較した。ホモロジーサーチは、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST2（Altshul等, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)）を用いて実施した。既知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア７０（９０の場合もある）又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」（Phil Green, University of Washington, Seattle, Washington）で集団化してコンセンサスＤＮＡ配列を構築した。そこから得られたコンセンサス配列を、ここでＤＮＡ５６３７４と称する。

ＤＮＡ５６３７４配列とIncyteＥＳＴ2855769との間の配列相同性に鑑みて、IncyteＥＳＴ2855769を購入し、ｃＤＮＡ挿入物を得て配列決定した。IncyteＥＳＴ2855769は、女性乳脂肪組織から構築したライブラリーに由来する。このｃＤＮＡ挿入物の配列は、ここではＤＮＡ７３７４４－１６６５と表わされる。

【０１８９】

全コード配列は図３３（配列番号：４８）に含まれている。クローンＤＮＡ７３７４４－１６６５は単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置９０－９２に見かけの翻訳開始部位を持ち、そしてヌクレオチド位置８２８－８３０の停止コドンで

終端する（図３３）。予測されるポリペプチド前駆体は２４６アミノ酸長である（図３４；配列番号：４９）。図３４に示す完全長ＰＲＯ１５５５タンパク質は、約26,261ダルトンの見積もり分子量及び約.5.65のｐＩを有する。図３４（配列番号：４９）に示した完全長ＰＲＯ１５５５配列の分析により、種々の重要なポリペプチドドメインの存在が明らかになり、それらの重要なポリペプチドドメインに与えられた位置は上記のようにおよそのものである。図３４に示した完全長ＰＲＯ１５５５配列の解析により、以下の存在が明らかになった：約アミノ酸１～約アミノ酸３１のシグナルペプチド；約アミノ酸１１～約アミノ酸３２、および約アミノ酸１９５～約アミノ酸２１７の膜貫通ドメイン；約アミノ酸１１１～約アミノ酸１１５のＮ－グリコシル化部位；約アミノ酸２～約アミノ酸６、約アミノ酸９８～約アミノ酸１０２および約アミノ酸１９１～約アミノ酸１９５のカゼインキナーゼＩＩリン酸化部位；および約アミノ酸１４６～約アミノ酸１５２、および約アミノ酸１９２～約アミノ酸１９８のＮ－ミリストイル化部位。クローンＤＮＡ７３７４４－１６６５は1998年１０月６日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣ寄託番号２０３３２２が付与された。

図３４（配列番号：４９）に示した完全長配列のWU-BLAST2配列アラインメント分析を用いたDayhoffデータベース（バージョン35.45 SwissProt 35）の分析により、ＰＲＯ１５５５アミノ酸配列と以下に示すDayhoff配列との間に配列相同性が見いだされた：YKA4_CAEEL, AB014541_1, HVSX99518_2, SSU63019_1, GEN14286, MMU68267_1, XP2_XENLA, ICP4_HSV11, P_W40200およびAE001360_1。

【０１９０】

実施例２０

遺伝子増幅

この実施例は、ＰＲＯ３８１-、ＰＲＯ１２６９-、ＰＲＯ１４１０-、ＰＲＯ１７５５-、ＰＲＯ１７８０-、ＰＲＯ１７８８-、ＰＲＯ３４３４-、ＰＲＯ１９２７-、ＰＲＯ３５６７-、ＰＲＯ１２９５-、ＰＲＯ１２９３-、ＰＲＯ１３０３-、ＰＲＯ４３４４-、ＰＲＯ４３５４-、ＰＲＯ４３９７-、ＰＲＯ４４０７-、ＰＲＯ１５５５-、ＰＲＯ１０９６-、ＰＲＯ２０３８-又はＰＲＯ２２６２-コード化遺伝子が或る種のヒト肺、大腸及び／又は乳癌及び／又は細胞系のゲノムで増幅されることを示す。増幅は遺伝子産物の過剰発現を伴い、大腸、肺、乳房及び他の癌といった或る種の癌において治療的処置の有用な標的であることを示している。治療薬は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに対するアンタゴニスト、例えばＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドに対するマウス-ヒトキメラ、ヒト化又はヒト抗体であってよい。

スクリーニングの出発物質は種々の癌から単離したゲノムＤＮＡである。ＤＮＡは、例えば蛍光光度法で正確に定量化される。ネガティブ対照として、１０の正常健常個体からＤＮＡを単離し、それをプールして健常個体における遺伝子コピーのアッセイ対照として使用した（ここには、示さず）。５'ヌクレアーゼアッセイ（例えばTaqMan（商品名））及び実時間定量的ＰＣＲ（例えば、ABI Prizm 7700 Sequence Detection System(商品名)(Perkin Elmer, Applied Biosystems Division, Foster City, CA)）を、或る種の癌で潜在的に増幅される遺伝子の発見に使用した。結果は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２をコードするＤＮＡが、スクリーニン

グに用いられた原発性肺又は結腸癌又は癌細胞系又は乳癌細胞系で過剰表現されるか否かを決定するのに用いた。原発性肺癌は、表４に示した型及び段階の腫瘍を持つ個体から得た。表４に列挙した原発性腫瘍及びこの実施例を通して参照される細胞系の表示に使用した略語の説明は上記に与えた。

【０１９１】

TaqMan(商品名)の結果はデルタ(Δ)Ｃｔ単位で報告した。１単位は１ＰＣＲサイクル又は正常に対して約２倍の増幅に相当し、２単位は４倍、３単位は８倍増幅等々に相当する。定量化はプライマー及びＰＲＯ３８１-、ＰＲＯ１２６９-、ＰＲＯ１４１０-、ＰＲＯ１７５５-、ＰＲＯ１７８０-、ＰＲＯ１７８８-、ＰＲＯ３４３４-、ＰＲＯ１９２７-、ＰＲＯ３５６７-、ＰＲＯ１２９５-、ＰＲＯ１２９３-、ＰＲＯ１３０３-、ＰＲＯ４３４４-、ＰＲＯ４３５４-、ＰＲＯ４３９７-、ＰＲＯ４４０７-、ＰＲＯ１５５５-、ＰＲＯ１０９６-、ＰＲＯ２０３８-又はＰＲＯ２２６２-コード化遺伝子から誘導したTaqMan(商品名)蛍光プローブを用いて得た。最も独特の核酸配列を含むと思われ、少なくともスプライシングされたイントロンを持たないと思われるＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の領域が、プライマー及びプローブ誘導、例えば3-非翻訳領域のために好ましい。ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２遺伝子増幅分析に使用されるプライマー及びプローブ（正、逆及びプローブ）の配列は次の通りである：

【０１９２】

ＰＲＯ３８１（ＤＮＡ４４１９４－１３１７）

４４１９４．ｔｍ．ｆ：

5'-ＣＴＴＴＧＡＡＴＡＧＡＡＧＡＣＴＴＣＴＧＧＡＣＡＡＴＴＴ-3'（配列番号：５６）

４４１９４．ｔｍ．ｐ：

5'-ＴＴＧＣＡＡＣＴＧＧＧＡＡＴＡＴＡＣＣＡＣＧＡＣＡＴＧＡＧＡ-3'（配列番号：５７）

４４１９４．ｔｍ．ｒ：

5'-ＴＡＧＧＧＴＧＣＴＡＡＴＴＴＧＴＧＣＴＡＴＡＡＣＣＴ-3'（配列番号：５８）

４４１９４．ｔｍ．ｆ２：

5'-ＧＧＣＴＣＴＧＡＧＴＣＴＣＴＧＣＴＴＧＡ-3'（配列番号：５９）

４４１９４．ｔｍ．ｐ２：

5'-ＴＣＣＡＡＣＡＡＣＣＡＴＴＴＴＣＣＴＣＴＧＧＴＣＣ-3'（配列番号：６０）

４４１９４．ｔｍ．ｒ２：

5'-ＡＡＧＣＡＧＴＡＧＣＣＡＴＴＡＡＣＡＡＧＴＣＡ-3'（配列番号：６１）

ＰＲＯ１２６９（ＤＮＡ６６５２０－１５３６）

６６５２０．ｔｍ．ｆ１：

5'-ＡＡＡＧＧＡＣＡＣＣＧＧＧＡＴＧＴＧ-3'（配列番号：６２）

６６５２０．ｔｍ．ｐ１：

5'-ＡＧＣＧＴＡＣＡＣＴＣＴＣＴＣＣＡＧＧＣＡＡＣＣＡＧ-3'（配列番号：６３）

６６５２０．ｔｍ．ｒ１：

5'-ＣＡＡＴＴＣＴＧＧＡＴＧＡＧＧＴＧＧＴＡＧＡ-3'（配列番号：６４）

ＰＲＯ１４１０（ＤＮＡ６８８７４－１６２２）

６８８７４．ｔｍ．ｆ１
5'-ＣＡＧＧＡＣＴＧＡＧＣＧＣＴＴＧＴＴＴＡ-3'（配列番号：６５）
６８８７４．ｔｍ．ｐ１
5'-ＣＡＡＡＧＣＧＣＣＡＡＧＴＡＣＣＧＧＡＣＣ-3'（配列番号：６６）
６８８７４．ｔｍ．ｒ１
5'-ＣＣＡＧＡＣＣＴＣＡＧＣＣＡＧＧＡＡ-3'（配列番号：６７）
【０１９３】
ＰＲＯ１７５５（ＤＮＡ７６３９６－１６９８）
７６３９６．ｔｍ．ｆ１
5'-ＴＣＡＴＧＧＴＣＴＣＧＴＣＣＣＡＴＴＣ-3'（配列番号：６８）
７６３９６．ｔｍ．ｐ１
5'-ＣＡＣＣＡＴＴＴＧＴＴＴＣＴＣＴＧＴＣＴＣＣＣＣＡＴＣ-3'（配列番号：６９）
７６３９６．ｔｍ．ｒ１
5'-ＣＣＧＧＣＡＴＣＣＴＴＧＧＡＧＴＡＧ-3'（配列番号：７０）

ＰＲＯ１７８０（ＤＮＡ７１１６９－１７０９）
７１１６９．ｔｍ．ｆ１
5'-ＣＴＣＴＧＧＴＧＣＣＣＡＣＡＧＴＧＡ-3'（配列番号：７１）
７１１６９．ｔｍ．ｐ１
5'-ＣＣＡＴＧＣＣＴＧＣＴＣＡＧＣＣＡＡＧＡＡ-3'（配列番号：７２）
７１１６９．ｔｍ．ｒ１
5'-ＣＡＧＧＡＡＡＴＣＴＧＧＡＡＡＣＣＴＡＣＡＧＴ-3'（配列番号：７３）

ＰＲＯ１７８８（ＤＮＡ７７６５２－２５０５）
７７６５２．ｔｍ．ｆ１
5'-ＴＣＣＣＣＡＴＴＡＧＣＡＣＡＧＧＡＧＴＡ-3'（配列番号：７４）
７７６５２．ｔｍ．ｐ１
5'-ＡＧＧＣＴＣＴＴＧＣＣＴＧＴＣＣＴＧＣＴＧＣＴ-3'（配列番号：７５）
７７６５２．ｔｍ．ｒ１
5'-ＧＣＣＣＡＧＡＧＴＣＣＣＡＣＴＴＧＴ-3'（配列番号：７６）
【０１９４】
ＰＲＯ３４３４（ＤＮＡ７７６３１－２５３７）
７７６３１．ｔｍ．ｆ１
5'-ＧＴＣＣＡＧＣＡＡＧＣＣＣＴＣＡＴＴ-3'（配列番号：７７）
７７６３１．ｔｍ．ｐ１
5'-ＣＴＴＣＴＧＧＧＣＣＡＣＡＧＣＣＣＴＧＣ-3'（配列番号：７８）
７７６３１．ｔｍ．ｒ１
5'-ＣＡＧＴＴＣＡＧＧＴＣＧＴＴＴＣＡＴＴＣＡ-3'（配列番号：７９）

ＰＲＯ１９２７（ＤＮＡ８２３０７－２５３１）
８２３０７．ｔｍ．ｆ１
5'-ＣＣＡＧＴＣＡＧＧＣＣＧＴＴＴＴＡＧＡ-3'（配列番号：８０）
８２３０７．ｔｍ．ｐ１
5'-ＣＧＧＧＣＧＣＣＣＡＡＧＴＡＡＡＡＧＣＴＣ-3'（配列番号：８１）
８２３０７．ｔｍ．ｒ１
5'-ＣＡＴＡＡＡＧＴＡＧＴＡＴＡＴＧＣＡＴＴＣＣＡＧＴＧＴＴ-3'（配列番号：８２）

ＰＲＯ３５６７（ＤＮＡ５６０４９－２５４３）
５６０４９．ｔｍ．ｆ１

5'-ＧＧＡＡＡＴＧＧＴＣＴＣＡＡＧＧＧＡＡＡ-3'（配列番号：８３）
５６０４９．ｔｍ．ｐ１
5'-ＴＣＡＣＴＴＴＧＡＣＣＣＴＧＴＣＴＴＧＧＡＡＣＧＴＣ-3'（配列番号：８４）
５６０４９．ｔｍ．ｒ１
5'-ＧＧＴＡＧＡＡＴＴＣＣＡＧＣＡＴＴＴＧＧＴＡ-3'（配列番号：８５）
【０１９５】
ＰＲＯ１２９５（ＤＮＡ５９２１８－１５５９）
５９２１８．ｔｍ．ｆ１
5'-ＡＧＧＡＣＴＴＧＣＣＣＴＣＡＧＧＡＡ-3'（配列番号：８６）
５９２１８．ｔｍ．ｒ１
5'-ＣＧＣＡＧＧＡＣＡＧＴＴＧＴＧＡＡＡＡＴＡ-3'（配列番号：８７）
５９２１８．ｔｍ．ｐ１
5'-ＡＴＧＡＣＧＣＴＣＧＴＣＣＡＡＧＧＣＣＡＣ-3'（配列番号：８８）

ＰＲＯ１２９３（ＤＮＡ６０６１８－１５５７）
６０６１８．ｔｍ．ｆ１
5'-ＣＣＣＡＣＣＴＧＴＡＣＣＡＣＣＡＴＧＴ-3'（配列番号：８９）
６０６１８．ｔｍ．ｐ１
5'-ＡＣＴＣＣＡＧＧＣＡＣＣＡＴＣＴＧＴＴＣＴＣＣＣ-3'（配列番号：９０）
６０６１８．ｔｍ．ｒ１
5'-ＡＡＧＧＧＣＴＧＧＣＡＴＴＣＡＡＧＴＵ-3'（配列番号：９１）

ＰＲＯ１３０３（ＤＮＡ６５４０９－１５６６）
６５４０９．ｔｍ．ｆ１
5'-ＣＴＧＧＣＣＣＴＣＡＧＡＧＣＡＣＣＡＡＴ-3'（配列番号：９２）
６５４０９．ｔｍ．ｐ１
5'-ＴＣＣＴＣＣＡＴＣＡＣＴＴＣＣＣＣＴＡＧＣＴＣＣＡ-3'（配列番号：９３）
６５４０９．ｔｍ．ｒ１
5'-ＣＴＧＧＣＡＧＧＡＧＴＴＡＡＡＧＴＴＣＣＡＡＧＡ-3'（配列番号：９４）
【０１９６】
ＰＲＯ４３４４（ＤＮＡ８４９２７－２５８５）
８４９２７．ｔｍ．ｆ１
5'-ＧＧＧＣＡＡＣＡＧＣＣＴＧＡＧＡＧＴ-3'（配列番号：９５）
８４９２７．ｔｍ．ｐ１
5'-ＡＣＴＣＡＧＴＧＴＴＧＡＴＴＣＴＣＴＡＴＣＧＴＧＡＴＧＣＧ-3'（配列番号：９６）
８４９２７．ｔｍ．ｒ１
5'-ＧＡＧＣＡＧＣＡＧＧＣＡＴＣＡＡＴＴＴ-3'（配列番号：９７）

ＰＲＯ４３５４（ＤＮＡ９２２５６－２５９６）
９２２５６．ｔｍ．ｆ１
5'-ＧＧＣＣＴＧＧＡＧＴＴＧＣＴＧＡＴＡＡ-3'（配列番号：９８）
９２２５６．ｔｍ．ｐ１
5'-ＴＴＧＡＧＣＴＴＡＡＧＴＡＧＡＣＣＡＡＧＴＡＴＣＴＡＴＣＣＣＡＣＣＴＡＡＡ-3'（配列番号：９９）
９２２５６．ｔｍ．ｒ１
5'-ＧＧＴＧＧＧＣＴＣＴＧＧＧＴＴＡＣＡ-3'（配列番号：１００）
【０１９７】
ＰＲＯ４３９７（ＤＮＡ８３５０５－２６０６）
８３５０５．ｔｍ．ｆ１

5'-ＡＧＣＣＧＧＴＴＣＣＣＡＧＡＴＴＡＴ-3'（配列番号：１０１）
８３５０５．ｔｍ．ｐ１
5'-ＴＧＣＣＧＴＧＴＡＴＧＴＧＧＴＴＣＴＴＣＣＣＴＧ-3'（配列番号：１０２）
８３５０５．ｔｍ．ｒ１
5'-ＧＡＧＡＣＡＧＧＣＡＣＣＴＧＧＴＧＡＴ-3'（配列番号：１０３）

ＰＲＯ４４０７（ＤＮＡ９２２６４－２６１６）
９２２６４．ｔｍ．ｆ１
5'-ＴＧＴＴＴＣＴＧＣＣＴＧＧＡＣＡＴＣＡ-3'（配列番号：１０４）
９２２６４．ｔｍ．ｒ１
5'-ＧＣＴＴＡＣＣＧＴＧＧＣＣＴＧＡＣＴ-3'（配列番号：１０５）
９２２６４．ｔｍ．ｐ１
5'-ＴＣＣＴＣＡＧＧＧＴＣＣＡＡＧＴＣＣＣＣＡＴ-3'（配列番号：１０６）
【０１９８】
ＰＲＯ１５５５（ＤＮＡ７３７４４－１６６５）
７３７４４．ｔｍ．ｆ１
5'-ＣＣＴＴＧＡＡＡＡＧＧＡＣＣＣＡＧＴＴＴ-3'（配列番号：１０７）
７３７４４．ｔｍ．ｐ１
5'-ＡＴＧＡＧＴＣＧＣＡＣＣＴＧＣＴＧＴＴＣＣＣ-3'（配列番号：１０８）
７３７４４．ｔｍ．ｒ１
5'-ＴＡＧＣＡＧＣＴＧＣＣＣＴＴＧＧＴＡ-3'（配列番号：１０９）
７３７４４．ｔｍ．ｆ２
5'-ＡＡＣＡＧＣＡＧＧＴＧＣＧＡＣＴＣＡＴＣＴＡ-3'（配列番号：１１０）
７３７４４．ｔｍ．ｐ２
5'-ＴＧＣＴＡＧＧＣＧＡＣＧＡＣＡＣＣＣＡＧＡＣＣ-3'（配列番号：１１１）
７３７４４．ｔｍ．ｒ２
5'-ＴＧＧＡＣＡＣＧＴＧＧＣＡＧＴＧＧＡ-3'（配列番号：１１２）

ＰＲＯ１０９６（ＤＮＡ６１８７０）
６１８７０．ｔｍ．ｆ１
5'-ＴＧＧＡＣＣＡＴＧＡＡＧＣＣＡＧＴＴＴ-3'（配列番号：１１３）
６１８７０．ｔｍ．ｐ１
5'-ＣＣＴＴＴＴＴＡＧＴＴＧＧＣＴＡＡＣＴＧＡＣＣＴＧＧＡＡＡＧＡＡ-3'（配列番号：１１４）
６１８７０．ｔｍ．ｒ１
5'-ＴＧＡＡＴＡＧＴＣＡＣＴＴＴＧＡＧＧＴＴＡＴＴＧＣ-3'（配列番号：１１５）
【０１９９】
ＰＲＯ２０３８（ＤＮＡ８３０１４）
８３０１４．ｔｍ．ｆ１
5'-ＣＣＴＧＧＣＴＣＣＡＣＣＴＧＴＧＡＴ-3'（配列番号：１１６）
８３０１４．ｔｍ．ｐ１
5'-ＡＣＣＴＣＣＣＣＣＴＧＣＴＴＣＣＴＧＣＴＧ-3'（配列番号：１１７）
８３０１４．ｔｍ．ｒ１
5'-ＣＣＴＣＡＧＡＣＣＣＣＡＴＧＡＧＴＧＡ-3'（配列番号：１１８）

ＰＲＯ２２６２（ＤＮＡ８８２７３）
８８２７３．ｔｍ．ｆ１
5'-ＧＡＧＧＡＡＴＧＧＣＣＣＡＡＣＡＧＴ-3'（配列番号：１１９）
８８２７３．ｔｍ．ｐ１
5'-ＴＧＧＣＡＧＣＣＡＣＣＣＴＴＣＡＧＴＧＡＧ-3'（配列番号：１２０）

８８２７３．ｔｍ．ｒ１
5'-ＣＡＧＣＡＣＡＴＣＡＣＧＴＧＴＣＣＡ-3'（配列番号：１２１）
８８２７３．ｔｍ．ｆ２
5'-ＧＡＧＧＡＡＴＧＧＣＣＣＡＡＣＡＧＴ-3'（配列番号：１２２）
８８２７３．ｔｍ．ｐ２
5'-ＴＧＴＣＣＡＴＧＣＣＣＣＴＧＧＴＣＣＡＣ-3'（配列番号：１２３）
８８２７３．ｔｍ．ｒ２
5'-ＧＡＧＧＴＡＣＡＧＡＧＣＡＧＣＡＣＡＴＣＡ-3'（配列番号：１２４）

【０２００】

５'ヌクレアーゼアッセイ反応は蛍光ＰＣＲベースの技術であり、実時間での増幅監視のためのＴａｑＤＮＡポリメラーゼ酵素の５’エキソヌクレアーゼ活性を使用する。ＰＣＲ反応に典型的な単位複製配列の生成に２つのオリゴヌクレオチドプライマーを使用した。第３のオリゴヌクレオチド、又はプローブは、２つのＰＣＲプライマーの間に位置するヌクレオチド配列を検出するために設計された。プローブはＴａｑＤＮＡポリメラーゼ酵素により非伸展性であり、レポーター蛍光色素及び消光剤蛍光色素で標識される。２つの色素がプローブ上に接近して位置する場合、レポーター色素からのレーザー誘導発光は消光色素によって消光される。増幅反応の間、プローブはＴａｑ ＤＮＡポリメラーゼ酵素によりテンプレート依存的方式で切断される。得られたプローブ断片は溶液中に解離し、放出されたレポーター色素からのシグナルは第２のフルオロホアからの消光効果を受けない。レポーター色素の一分子は、新たに合成された各分子について標識され、非消光レポーター色素の検出がデータの定量的解釈の基礎を提供する。

５'ヌクレアーゼ法は、ABI Prism 7700TM配列検出などのリアルタイム定量ＰＣＲ装置で実施される。系は温度サイクル装置、レーザー、電荷結合装置（ＣＣＤ）カメラ及びコンピュータからなる。系は温度サイクル装置上で９６-ウェルでの試料を増幅させる。増幅中に、レーザー誘導蛍光シグナルは光ファイバーケーブルで９６ウェルにリアルタイムで集められ、ＣＣＤで検出される。系は装置の実行及びデータの分析のためのソフトウェアを含む。

５'ヌクレアーゼアッセイデータは、最初はＣｔ又は境界サイクルで表現される。これは、レポーターシグナルが蛍光のバックグラウンドレベルを越えて蓄積されるサイクルとして定義される。ΔＣｔ値は、癌性DNA結果を正常ヒトDNA結果と比較した場合の、核酸試料における特定の標的配列の出発コピー相対数の定量的尺度として使用した。

表４は、本発明のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２化合物のスクリーニングに用いた種々の原発性腫瘍の段階(stage)、Ｔ段階及びＮ段階を記載する。

【０２０１】

表４
原発性肺及び大腸腫瘍の特徴

原発性腫瘍			段階	他の段階	デューク段階	T段階	N段階
ヒト	肺	腫瘍 AdenoCa (SRCC724) [LT1]	IIA			T1	N1
ヒト	肺	腫瘍 SqCCa (SRCC725) [LT1a]	IIB			T3	N0
ヒト	肺	腫瘍 AdenoCa (SRCC726) [LT2]	IB			T2	N0
ヒト	肺	腫瘍 AdenoCa (SRCC727) [LT3]	IIIA			T1	N2
ヒト	肺	腫瘍 AdenoCa (SRCC728) [LT4]	IB			T2	N0
ヒト	肺	腫瘍 SqCCa (SRCC729) [LT6]	IB			T2	N0
ヒト	肺	腫瘍 Aden/SqCCa (SRCC730) [LT7]	IA			T1	N0
ヒト	肺	腫瘍 AdenoCa (SRCC731) [LT9]	IB			T2	N0
ヒト	肺	腫瘍 SqCCa (SRCC732) [LT10]	IIB			T2	N1
ヒト	肺	腫瘍 SqCCa (SRCC733) [LT11]	IIA			T1	N1
ヒト	肺	腫瘍 AdenoCa (SRCC734) [LT12]	IV			T2	N0
ヒト	肺	腫瘍 AdenoSqCCa (SRCC735)[LT13]	IB			T2	N0
ヒト	肺	腫瘍 SqCCa (SRCC736) [LT15]	IB			T2	N0
ヒト	肺	腫瘍 SqCCa (SRCC737) [LT16]	IB			T2	N0
ヒト	肺	腫瘍 SqCCa (SRCC738) [LT17]	IIB			T2	N1
ヒト	肺	腫瘍 SqCCa (SRCC739) [LT18]	IB			T2	N0
ヒト	肺	腫瘍 SqCCa (SRCC740) [LT19]	IB			T2	N0
ヒト	肺	腫瘍 LCCa (SRCC741) [LT21]	IIB			T3	N1
ヒト	肺	AdenoCa (SRCC811) [LT22]	1A			T1	N0
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC742) [CT2]		M1	D	pT4	N0
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC743) [CT3]			B	pT3	N0
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC744) [CT8]			B	T3	N0
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC745) [CT10]			A	pT2	N0
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC746) [CT12]		MO, R1	B	T3	N0
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC747) [CT14]		pMO, RO	B	pT3	pN0
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC748) [CT15]		M1, R2	D	T4	N2
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC749) [CT16]		pMO	B	pT3	pN0
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC750) [CT17]			C1	pT3	pN1
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC751) [CT1]		MO, R1	B	pT3	N0
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC752) [CT4]			B	pT3	M0
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC753) [CT5]		G2	C1	pT3	pN0
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC754) [CT6]		pMO, RO	B	pT3	pN0
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC755) [CT7]		G1	A	pT2	pN0
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC756) [CT9]		G3	D	pT4	pN2
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC757) [CT11]			B	T3	N0
ヒト	大腸	AdenoCa (SRCC758) [CT18]		MO, RO	B	pT3	pN0

【０２０２】
ＤＮＡ調製：
ＤＮＡは培養した細胞系、原発性腫瘍、正常ヒト血液から調製した。単離は、全てQiagenからの、精製キット、バッファーセット及びプロテアーゼを用い、製造者の指示と下記に従って実施した。
細胞培養溶解：
細胞を洗浄し、チップ当たり$7.5x10^8$の濃度でトリプシン化し、４℃で５分間1000rpmで遠心分離してペレット化し、次いで1/2容量のＰＢＳで洗浄し、再遠心した。ペレットを３回洗浄し、懸濁細胞を回収してＰＢＳで２回洗浄した。次いで細胞を10mlのＰＢＳに懸濁させた。バッファーＣ１を４℃で平衡化させた。Quiagenプロテアーゼ#19155を6.25mlの冷ｄｄH_2Oで最終濃度20mg/mlまで希釈して４℃で平衡化させた。10mLのＧ２バッファーを、QuiagenＲＮＡｓｅＡストック（100mg/ml）を200μg/mlの最終濃度まで希釈して調製した。
バッファーＣ１（10ml、４℃）及びｄｄH_2O（40ml、４℃）を、次いで10mlの細胞懸濁物に添加し、反転させて混合し、氷上で１０分間インキュベートした。細胞核をBeckmanスイングバケットローターで４℃において2500rpmで１５分間遠心分離することによりペレット化した。上清を捨て、核をボルテックスしながら2mlのバッファーＣ１（４℃）及び6mlのｄｄH_2Oに懸濁し、１秒後に４℃において2500rpmで１５分間遠心分離した。次いで核を残りのバッファー中にチップ当たり200μlを用いて再懸濁した。Ｇ２バッファー

（10ml）を懸濁した核に添加しながら緩いボルテックスを適用した。バッファー添加が完了したら、強いボルテックスを３０秒間適用した。Quiagenプロテアーゼ（200μl、上記のように調製）を添加し、５０℃で６０分間インキュベートした。インキュベーション及び遠心分離を、溶解物が透明になるまで繰り返した（例えば、さらに30-60分間インキュベートし、４℃で１０分間3000xgでペレット化する）。

【０２０３】

固体ヒト腫瘍試料の調製及び溶解：

腫瘍試料を秤量し50mlのコニカル管に配して氷上に保持した。加工は調製当たり250mgの組織未満に制限した（１チップ／調製）。プロテアーゼ溶液を6.25mlの冷ｄｄＨ$_2$Ｏ中に最終濃度20mg/mlまで希釈することにより新たに調製して４℃で貯蔵した。ＤＮＡｓｅＡを最終濃度200mg/mlまで希釈することによりＧ２バッファー（20ml）を調製した（100mg/mlのストックから）。エアロゾルの吸入を避けるために層流ＴＣフード内でポリトロンの大きなチップを用いて、腫瘍組織を19mlのＧ２バッファー中で６０秒間均一化し、室温に保持した。試料間で、2LのｄｄＨ$_2$Ｏで、次いでＧ２バッファー（50ml）で各々２ｘ３０秒間スピンさせることによりポリトロンを透明化した。組織がジェネレータチップ上に存在する場合は、装置を分解して清浄化した。

Quiagenプロテアーゼ（上記の用に調製、1.0ml）を添加し、次いでボルテックスして５０℃で３時間インキュベートした。インキュベーション及び遠心分離を、溶解物が透明になるまで繰り返した（例えば、さらに30-60分間インキュベートし、４℃で１０分間3000xgでペレット化する）。

【０２０４】

ヒト血液調製及び溶解：

健常なボランティアから標準的な感染薬プロトコールを用いて血液を採りだし、チップ当たり10mlの試料にクエン酸化した。Quiagenプロテアーゼを6.25mlの冷ｄｄＨ$_2$Ｏ中に最終濃度20mg/mlまで希釈することにより新たに調製して４℃で貯蔵した。ＲＮＡｓｅＡを100mg/mlのストックから最終濃度200μg/mlまで希釈することによりＧ２バッファー（20ml）を調製した。血液（10ml）を50mlのコニカル管に配し、10mlのＣ１バッファー及び30mlのｄｄＨ$_2$Ｏ（ともに４℃で平衡化したもの）を添加し、反転させて混合して氷上に１０分間保持した。Beckmanスイングバケットローターで、４℃において2500rpmで１５分間核をペレット化し、上清を捨てた。ボルテックスしながら、核を2mlのＣ１バッファー（４℃）及び6mlのｄｄＨ$_2$Ｏ（４℃）中に懸濁させた。ボルテックスはペレットが白くなるまで繰り返した。次いで核を残りのバッファー中に200μlチップを用いて懸濁させた。Ｇ２バッファー（10ml）を懸濁核に添加しながら緩くボルテックスし、次いで３０秒間強くボルテックスした。Quiagenプロテアーゼを添加（200μl）し、５０℃で６０分間インキュベートした。インキュベーション及び遠心分離を、溶解物が透明になるまで繰り返した（例えば、さらに30-60分間インキュベートし、４℃で１０分間3000xgでペレット化する）。

【０２０５】

透明化溶解物の精製：

（１）ゲノムＤＮＡの単離：

ゲノムＤＮＡを10mlのＱＢＴバッファーで平衡化した（Ｍａｘｉチップ調製当たり１試料）。ＱＦ溶離バッファーを５０℃で平衡化した。試料を３０秒間ボルテックスし、次いで平衡化チップに負荷して重力により排液した。チップを2x15mlのＱＣバッファーで洗浄した。ＤＮＡを、30mlのシラン化したオートクレーブ30mlCorex管に15mlのＱＦバッファー（５０℃）で溶離した。イソプロパノール（10.5ml）を各試料に添加し、管をパラフィンで被覆し、ＤＮＡが沈殿するまで繰り返し反転させて混合した。試料を、SS-34ロータで４℃において15,000rpmで１０分間遠心分離してペレット化した。ペレット位置をマークして上清を捨て、10mlの70%エタノール（４℃）を添加した。試料を、SS-34ロータで４℃において10,000rpmで１０分間遠心分離して再度ペレット化した。ペレット位置をマークして上清を捨てた。次いで管を乾燥棚の各面に置き、３７℃で１０分間乾燥させたが、

試料の過剰乾燥には注意した。

乾燥後、ペレットを1.0mlのＴＥ（pH8.5）に溶解し、５０℃に１－２時間置いた。試料を４℃に終夜保持して溶解を続けた。次いでＤＮＡ溶液を、ツベルクリンシリンジ上に２６ゲージの針を具備する1.5ml管に移した。ＤＮＡを剪断するために移行を５ｘ繰り返した。次いで試料を５０℃に１－２時間置いた。

【０２０６】

（２）ゲノムＤＮＡの定量及び遺伝子増幅アッセイのための調製：

各管のＤＮＡレベルを1:20希釈（5μlＤＮＡ＋95μlｄｄH_2O）での標準的なA_{260}／A_{280}分光分析により、Beckman DU640分光光度計の0.1ml石英キュベットを用いて定量した。A_{260}／A_{280}比率は1.8-1.9の範囲であった。次いで各ＤＮＡ試料をＴＥ（pH8.5）中に約200ng/mlまで希釈した。最初の材料が高濃度（約700ng/μl）である場合、材料を５０℃に再懸濁するまで数時間置いた。

次いで、希釈した材料（20-600ng/ml）に対して、製造者の指示を以下のように改変して蛍光ＤＮＡ定量化を実施した。これは、Hoeffer DyNA Quant 200蛍光計を約１５分間暖めて実施した。Hoechst色素作業溶液（#H33258、10μl、使用の１２時間以内に調製）を100mlの1xＴＮＥバッファーに希釈した。2mlキュベットを蛍光計溶液で満たし、機械に配し、機械をゼロ調節した。ｐＧＥＭ３Ｚｆ(＋)（2μl、ロット#360851026）を2mlの蛍光計溶液に添加して200単位で校正した。次いで、さらに２μlのｐＧＥＭ３Ｚｆ(＋)ＤＮＡを試験し、400+/-10単位で読みを確認した。次いで各試料を少なくとも３回読んだ。３試料が互いに10%以内であることが見られたとき、それらの平均をとり、この値を定量化値として用いた。

次いで、蛍光測定で決定した濃度を、各試料をｄｄH_2O中に10ng/μlまで希釈するのに用いた。これは、１回のTaqManプレートアッセイについて全てのテンプレート試料について同時に行い、500-1000アッセイを実施するのに十分な材料で行った。試料は、Taqman(商品名)プライマー及びプローブで３回試験し、Ｂ-アクチン及びＧＡＰＤＨともに正常なヒトＤＮＡを持ちテンプレート対照を持たない単一のプレート上にある。希釈した試料を用いたが、試験ＤＮＡから減算した正常ヒトＤＮＡのＣＴ値は+/-１Ｃｔであった。希釈した、ロット定性化したゲノムＤＮＡを、1.0mlアリコートで－８０℃において保存した。続いて遺伝し増幅アッセイに使用するアリコートは、４℃で保存した。各1mlのアリコートは、8-9プレート又は64試験に十分である。

【０２０７】

遺伝子増幅アッセイ：

本発明のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２化合物を以下の原発腫瘍でスクリーニングし、得られたΔＣｔ値を表５Ａ－５Ｂに報告する。

【0208】

表5A

肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおける⊿Ct値

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
LT1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT1-a	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT4	---	---	---	---	1.16	---	---	---	---	---
LT6	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT7	---	---	---	---	1.02	---	---	---	---	---
LT9	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT10	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT11	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT12	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT13	---	---	1.12 1.42	---	---	---	5.24 4.47	4.38 4.80	---	---
LT15	---	1.22	2.10 1.82	---	---	---	1.24	---	---	---

表5A続き

肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおける⊿Ct値

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
LT16	---	1.14	1.44 1.45	1.36	---	---	3.65 3.19	2.73 2.74	---	---
LT17	---	1.26	---	---	---	---	---	---	---	---
LT18	---	---	---	1.18	---	---	---	---	---	---
LT19	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT21	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT2	---	---	2.36	2.35	---	---	---	---	---	---
CT3	---	---	1.09	---	---	1.35	---	---	---	---
CT8	---	---	---	1.64	---	1.26	---	---	---	---
CT10	---	---	1.41	2.05	---	1.37	---	---	---	---
CT12	---	---	---	1.15	---	1.24	---	---	---	---
CT14	---	---	1.46	1.40	---	2.58	---	---	---	---
CT15	---	---	---	---	---	---	1.19 1.40	1.10 1.30	---	---
CT16	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT17	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT1	---	---	---	---	---	1.09	---	---	---	---

【０２１０】

表5A続き

肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおける⊿Ct値

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
CT4	---	---	---	---	---	1.22	---	---	---	---
CT5	---	---	2.14	---	---	---	---	---	---	---
CT6	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT7	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT9	---	---	---	---	---	1.52	---	---	---	---
CT11	---	---	1.29	---	---	---	---	---	---	---
CT18	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HBL100	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
MB435s	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
T47D	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
MB468	---	---	---	---	---	--	---	---	---	---
MB175	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
MB361	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
BT20	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
MCF7	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SKBR3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

【0211】

表5A続き

肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおける⊿Ct値

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
A549	---	---	---	---	---	---	1.09 1.51	---	---	---
Calu-1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Calu-6	---	---	---	---	---	---	1.60 1.22	---	---	---
H157	---	---	---	---	---	---	1.61	---	---	---
H441	---	---	---	---	---	---	1.07 1.15	---	---	---
H460	---	---	---	---	---	---	1.01	---	---	---
SKMES1	---	---	---	---	---	---	1.02	---	---	---
SW900	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SW480	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SW620	---	---	---	---	---	---	1.30	---	---	---
Colo320	---	---	---	---	---	---	1.78 1.76 1.74	1.51	2.31	---
HT29	---	---	1.22	---	---	---	1.64	---	---	---
HM7	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
WiDr	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

10 20 30 40

表5A続き

肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおける⊿Ct値

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
HCT116	---	---	---	---	---	---	2.15 2.22	1.41 1.47	---	---
SKC01	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SW403	---	---	---	---	---	---	1.75	---	1.07	---
LS174T	---	---	---	---	---	---	1.42	---	1.17	---
LT22	---	---	---	1.26	1.07	---	---	---	---	---
LT8	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Colo205	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HCT15	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HCC2998	---	---	---	---	---	---	1.15	---	---	---
KM12	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
H522	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
H810	---	---	---	---	---	---	1.20 1.54	---	---	---
LT26	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT27	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT28	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

表5A続き

肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおける⊿Ct値

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
LT29	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT30	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT31	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT33	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT25	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT28	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT35	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000716	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000733	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000831	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000832	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000613	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000499	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000539	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1.49
HF-000575	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000698	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1.09

【0214】

表5A続き

肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおける⊿Ct値

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
HF-000545	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1.11
SRCC1094	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SRCC1095	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SRCC1096	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SRCC1097	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SRCC1098	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SRCC1099	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SRCC1100	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SRCC1101	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000631	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1.27
HF-000641	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000643	4.83	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000840	1.08	---	---	---	---	---	---	---	---	1.97
HF-000842	---	---	---	---	---	---	2.20	2.41	---	---
HF-000762	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000789	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

10 20 30 40

【0215】

表5A続き

肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおける⊿Ct値

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO381	PRO1269	PRO1410	PRO1755	PRO1780	PRO1788	PRO3434	PRO1927	PRO3567	PRO1295
HF-000795	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000811	2.09 3.15	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-001294	1.14 1.08	---	---	---	---	---	1.17	2.31	---	---
HF-001293	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-001300	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-001297	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-001295	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-001299	---	---	---	---	---	---	1.11	2.40	---	---
HF-001296	3.18 3.53	---	---	---	---	---	4.64	5.14	---	---
HF-001291	1.17	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000842	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

10 20 30 40

【0216】

表5B

肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおける⊿Ct値

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
LT1	—	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT1-a	---	---	---	---	---	---	---	---	1.25	---
LT2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT6	---	---	---	---	---	---	---	---	1.20	---
LT7	---	---	---	---	---	---	---	---	1.66	---
LT9	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT10	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT11	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT12	---	---	---	---	---	---	---	---	1.27	---
LT13	---	1.42	---	---	---	---	4.20 4.45	---	---	---
LT15	---	1.17	---	---	---	---	1.36 1.15	---	---	---
LT16	---	1.42	---	---	---	---	3.71 3.99	---	---	---
LT17	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

表５Ｂ

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
LT18	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT19	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT21	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT8	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT10	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT12	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT14	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT15	---	---	---	---	---	---	1.34 1.62	---	---	---
CT16	---	1.13	---	---	---	---	1.04 1.05	---	---	---
CT17	---	---	---	---	---	---	1.16	---	---	---
CT1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT6	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

【０２１７】

表5B続き
肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおける⊿Ct値

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
CT7	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT9	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT11	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT18	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HBL100	---	---	---	---	---	---	---	1.10	---	---
MB435s	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
T47D	---	---	---	---	---	---	---	1.37	---	---
MB468	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
MB175	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
MB361	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
BT20	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
MCF7	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SKBR3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
A549	---	1.20	---	---	---	---	2.17 2.11	---	---	---
Calu-1	---	---	---	---	---	---	1.39	---	---	---
Calu-6	---	---	---	---	---	---	1.12	---	---	---
H157	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

【０２１８】

表5B続き

肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおける⊿Ct値

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
H441	---	---	---	---	---	---	2.06	---	---	---
H460	---	---	---	---	---	---	1.88	---	---	---
SKMES1	---	---	---	---	---	---	1.90	---	---	---
SW900	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SW480	---	---	---	---	---	---	---	1.41	---	---
SW620	---	---	---	---	---	---	2.24	---	---	---
Colo320	---	---	---	---	---	---	2.21 2.24	1.72	---	---
HT29	---	---	---	---	---	---	---	1.32	---	---
HM7	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
WiDr	---	---	---	---	---	---	---	1.57	---	---
HCT116	---	---	---	---	---	---	2.46 2.66	1.06	---	---
SKC01	---	---	---	---	---	---	---	1.01	---	---
SW403	---	---	---	---	---	---	---	1.43	---	---
LS174T	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT22	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

表5B続き

肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおけるΔCt値

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
LT8	---	---	---	---	---	---	---	---	1.74	---
Colo205	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HCT15	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HCC2998	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
KM12	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
H522	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
H810	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT25	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT26	---	---	---	---	---	---	---	---	1.01	---
LT27	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT28	---	---	---	---	---	---	---	---	1.32	---
LT29	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT30	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT31	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT32	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
LT33	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT19	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

【０２２０】

表5B続き

肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおけるΔCt値

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
CT20	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT21	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT22	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT23	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT24	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT25	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT26	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT27	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT28	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT29	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT30	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT31	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT32	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT33	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT35	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT36	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000716	---	---	---	---	---	---	2.63 2.73	---	---	1.68

【０２２１】

【0222】

表5B続き

肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおける⊿Ct値

Primary Tumors or Cell Lines	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
HF-000733	---	---	---	---	---	---	2.58 2.71 1.39	---	---	2.04
HF-000831	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000832	---	---	---	1.10	---	1.31 1.18	---	---	---	1.13
HF-000611	---	---	---	---	---	---	4.99	---	---	---
HF-000613	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000499	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000539	2.33	---	1.32	1.39 1.09	---	1.79 1.61	3.13 2.55	---	---	2.03 1.86
HF-000575	---	---	1.21	1.14	---	1.48 1.25	1.32	---	---	1.16
HF-000698	---	---	---	1.14	---	1.14	---	---	---	1.40 1.22
HF-000545	---	---	1.62	2.12 1.72	---	1.52 1.63	1.59 1.68	---	---	1.17
SRCC1094	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SRCC1095	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SRCC1096	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SRCC1097	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

表5B続き

肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおける⊿Ct値

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
SRCC1098	---	---	---	---	---	---	---	---	1.24	---
SRCC1099	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SRCC1100	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SRCC1101	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000631	---	---	---	---	--	---	1.37	---	---	---
HF-000641	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000643	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000840	1.71	---	1.03	---	2.09	1.50 1.42	3.63	---	---	1.49 1.49
HF-000842	---	---	---	---	---	1.24	1.99	--	---	---
HF-000762	---	---	---	1.39 1.15	---	---	---	---	---	---
HF-000789	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-000795	1.13	---	1.12	---	---	1.02 1.04	---	---	---	---
HF-000811	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-001291	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-001293	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

表5B続き
肺及び結腸原発性腫瘍及び細胞系モデルにおけるΔCt値

原発性腫瘍又は細胞系列	PRO1293	PRO1303	PRO4344	PRO4354	PRO4397	PRO4407	PRO1555	PRO1096	PRO2038	PRO2262
HF-001294	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-001295	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-001296	---	---	---	2.11	---	2.21	---	---	---	2.18
HF-001297	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-001299	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
HF-001300	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

【０２２４】
ＰＲＯ３４３４
ＰＲＯ３４３４（ＤＮＡ７７６３１－２５３７）を、上記の最初のスクリーニングから選択した腫瘍についてエピセンターマッピングで再試験した。表６は、ＰＲＯ３４３４（ＤＮＡ７７６３１－２５３７）に関連して用いたエピセンターマーカーを示す。これらの

マーカーは、ＤＮＡ７７６３１に近接して所在しており、ＤＮＡ７７６３１が所在する染色体７番領域の増幅状況を評価するために用いられる。個々のマーカー間の距離はセンチレイ（ｃＲ）で測定し、これは放射線分解単位であり、２つのマーカー間の分解の１％の機会とほぼ等しい。１ｃＲは極めて粗くは２０キロベースと等しい。マーカーｓＷＳＳ９１８はＤＮＡ７７６３１－２５３７が近くにマッピングされる染色体７の位置の最も近くに見られるマーカーである。

表７は、ＤＮＡ７７６３１に関するエピセンターマッピングの結果に対するΔＣｔ値を示しており、染色体７に沿ったＤＮＡ７７６３１の実際の位置により近い領域での相対的増幅を示す。

【０２２５】

表6

DNA77631に対して用いられる染色体7番に沿ったエピセンターマーカー

染色体7番上のマッピングの位置	スタンフォードヒトゲノムセンターマーカー名	次のマーカーとの距離 (cR)
G1	SHGC-34913	17
G2	AFMa090xg1	25
G3	SHGC-10715	16
G4	SHGC-34866	5
G5	SHGC-32510	48
DNA 77631	-	-
G6	sWSS918	19
G7	AFMc027xb5	-

【０２２６】

表7

DNA7763112に関するエピセンターマーカーの増幅（⊿Ct）

腫瘍	G1	G2	G3	G4	G5	DNA 77631	G6	G7
HF-000613	1.31	0.12	0.61	0.46	0.38	-0.28	0.48	0.58
HF-000545	1.55	0.55	0.09	0.16	0.27	0.69	0.26	0.25
HF-000539	1.53	-1.68	0.88	0.76	0.79	2.75	0.98	0.96
HF-000575	1.47	1.02	0.02	-0.17	0.15	0.48	0.20	0.33
HF-000698	0.73	-0.31	-0.08	-0.27	-0.07	-0.26	-0.21	-0.10
HF-000499	0.67	-0.05	0.04	0.12	0.23	-0.30	-0.14	0.21
HF-000733	1.08	1.19	0.41	0.39	0.46	3.00	0.51	0.68
HF-000716	0.65	0.56	-0.41	-0.02	-0.13	2.59	-0.23	0.01

【０２２７】

議論と結論：

ＰＲＯ３８１（ＤＮＡ４４１９４－１３１７）：

種々の腫瘍におけるＤＮＡ４４１９４－１３１７についてのΔＣｔ値を表５Ａに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的に増幅評点化の閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ａは、（１）原発性肺腫瘍：ＨＦ-０００６４３，ＨＦ-０００８４０，ＨＦ-００１２９１，ＨＦ-００１２９４，及びＨＦ-００１２９６；及び（２）原発性結腸腫瘍：ＨＦ-０００８１１で生じたＰＲＯ３８１をコードする核酸ＤＮＡ４４１９４－１３１７の有意な増幅を示す。ＤＮＡ４４１９４－１３１７の増幅が種々の腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ４４１９４－１３１７にコードされるタンパク質（ＰＲＯ３８１）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。

【０２２８】

ＰＲＯ１２６９（ＤＮＡ６６５２０－１５３６）：

種々の腫瘍におけるＤＮＡ６６５２０－１５３６についてのΔＣｔ値を表５Ａに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的には増幅スコアの閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ａは、原発性肺腫瘍：ＬＴ１５、ＬＴ１６、及びＬＴ１７で生じたＰＲＯ１２６９をコードする核酸ＤＮＡ６６５２０－１５３６の有意な増幅を示す。ＤＮＡ６６５２０－１５３６の増幅が種々の肺腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ６６５２０－１５３６にコードされるタンパク質（ＰＲＯ１２６９）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。

【０２２９】

ＰＲＯ１４１０（ＤＮＡ６８８７４－１６２２）：

種々の腫瘍におけるＤＮＡ６８８７４－１６２２についてのΔＣｔ値を表５Ａに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的には増幅スコアの閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ａは、（１）原発性肺腫瘍：ＬＴ１３、ＬＴ１５、およびＬＴ１６；（２）原発性結腸腫瘍：ＣＴ２、ＣＴ３、ＣＴ５、ＣＴ１０、ＣＴ１１、及びＣＴ１４、及び；（３）結腸細胞系：ＨＴ２９で生じたＰＲＯ１４１０をコードする核酸ＤＮＡ６８８７４－１６２２の有意な増幅を示す。

ＤＮＡ６８８７４－１６２２の増幅が種々の肺及び結腸腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ６８８７４－１６２２にコードされるタンパク質（ＰＲＯ１４１０）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。

【０２３０】

ＰＲＯ１７５５（ＤＮＡ７６３９６－１６９８）：

種々の腫瘍におけるＤＮＡ７６３９６－１６９８についてのΔＣｔ値を表５Ａに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的には増幅スコアの閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ａは、（１）原発性肺腫瘍：ＬＴ１６、ＬＴ１８、およびＬＴ２２；及び（２）原発性結腸腫瘍：ＣＴ２、ＣＴ８、ＣＴ１０、ＣＴ１２、及びＣＴ１４で生じたＰＲＯ１７５５をコードする核酸ＤＮＡ７６３９６－１６９８の有意な増幅を示す。

ＤＮＡ７６３９６－１６９８の増幅が種々の肺及び結腸腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ７６３９６－１６９８にコードされるタンパク質（ＰＲＯ１７５５）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。

【０２３１】

ＰＲＯ１７８０（ＤＮＡ７１１６９－１７０９）：

種々の腫瘍におけるＤＮＡ７１１６９－１７０９についてのΔＣｔ値を表５Ａに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的には増幅スコアの閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ａは、原発性肺腫瘍：ＬＴ４、ＬＴ７、及びＬＴ２２で生じたＰＲＯ１７８０をコードする核酸ＤＮＡ７１１６９－１７０９の有意な増幅を示す。

ＤＮＡ７１１６９－１７０９の増幅が種々の肺腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ７１１６９－１７０

９にコードされるタンパク質（ＰＲＯ１７８０）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。

【０２３２】

ＰＲＯ１７８８（ＤＮＡ７７６５２－２５０５）：

種々の腫瘍におけるＤＮＡ７７６５２－２５０５についてのΔＣｔ値を表５Ａに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的には増幅スコアの閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ａは、原発性結腸腫瘍：ＣＴ１、ＣＴ３、ＣＴ４、ＣＴ８、ＣＴ９、ＣＴ１０、ＣＴ１２、及びＬＴ１４で生じたＰＲＯ１７８８をコードする核酸ＤＮＡ７７６５２－２５０５の有意な増幅を示す。

ＤＮＡ７７６５２－２５０５の増幅が種々の結腸腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ７７６５２－２５０５にコードされるタンパク質（ＰＲＯ１７８８）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。

【０２３３】

ＰＲＯ３４３４（ＤＮＡ７７６３１－２５３７）：

種々の腫瘍におけるＤＮＡ７７６３１－２５３７についてのΔＣｔ値を表５Ａに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的には増幅スコアの閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ａは、（１）原発性肺腫瘍：ＬＴ１３、ＬＴ１５、ＬＴ１６、ＨＦ-０００８４２、ＨＦ-００１２９４、ＨＦ-００１２９６、及びＨＦ-００１２９９；（２）肺初代培養細胞系：Ａ５４９、Ｃａｌｕ－６、Ｈ１５７、Ｈ４４１、Ｈ４６０、ＳＫＭＥＳ１、及びＨ８１０；（３）原発性結腸腫瘍：ＣＴ１５；及び（４）結腸細胞系：ＳＷ６２０、Ｃｏｌｏ３２０、ＨＴ２９、ＨＣＴ１１６、ＳＷ４０３、ＬＳ１７４Ｔ、及びＨＣＣ２９９８で生じたＰＲＯ３４３４をコードする核酸ＤＮＡ７７６３１－２５３７の有意な増幅を示す。

増幅は、ＤＮＡ７７６３１－２５３７のエピセンターマッピング（表７）により確認され、（１）原発結腸腫瘍：ＨＦ-０００５３９；及び（２）精巣腫瘍中心部：ＨＦ-０００７３３及び精巣腫瘍周辺部：ＨＦ-０００７１６において有意に増幅される結果となった。これに対して、最も近い公知エピセンターマーカーの増幅は、ＤＮＡ７７６３１より大きな程度で起こらなかった。このことは、ＤＮＡ７７６３１－２５３７が染色体７番上の特定領域の増幅の原因となる遺伝子であることを強く示唆している。

ＤＮＡ７７６３１の増幅が結腸及び精巣腫瘍を含む種々の腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ７７６３１－２５３７にコードされるタンパク質（ＰＲＯ３４３４）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。

【０２３４】

ＰＲＯ１９２７（ＤＮＡ８２３０７－２５３１）：

種々の腫瘍におけるＤＮＡ８２３０７－２５３１についてのΔＣｔ値を表５Ａに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的に増幅評点化の閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ａは、（１）原発性肺腫瘍：ＬＴ１３、ＬＴ１６、ＨＦ-０００８４２、ＨＦ-００１２９４、ＨＦ-００１２９６、及びＨＦ-００１２９９；及び（２）原発性結腸腫瘍：ＣＴ１５；及び（３）結腸細胞系：Ｃｏｌｏ３２０、及びＨＣＴ１１６で生じたＰＲＯ１９２７をコードする核酸ＤＮＡ８２３０７－２５３１の有意な増幅を示す。

ＤＮＡ８２３０７－２５３１の増幅が種々の肺及び結腸腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ８２３０７－２５３１にコードされるタンパク質（ＰＲＯ１９２７）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。

【０２３５】

ＰＲＯ３５６７（ＤＮＡ５６０４９－２５４３）：

種々の腫瘍におけるＤＮＡ５６０４９－２５４３についてのΔＣｔ値を表５Ａに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的には増幅スコアの閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを

表す。表５Ａは、結腸細胞系：Ｃｏｌｏ３２０、ＳＷ４０３、及びＬＳ１７４Ｔで生じたＰＲＯ３５６７をコードする核酸ＤＮＡ５６０４９－２５４３の有意な増幅を示す。

ＤＮＡ５６０４９－２５４３の増幅が種々の結腸腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ５６０４９－２５４３にコードされるタンパク質（ＰＲＯ３５６７）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。

【０２３６】

ＰＲＯ１２９５（ＤＮＡ５９２１８－１５５９）：

種々の腫瘍におけるＤＮＡ５９２１８－１５５９についてのΔＣｔ値を表５Ａに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的に増幅評点化の閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ａは、（１）原発性肺腫瘍：ＨＦ-０００６３１及びＨＦ-０００８４０；（２）結腸腫瘍中心部：ＨＦ-０００５３９及びＨＦ-０００６９８；及び（３）乳癌中心部：ＨＦ-０００５４５で生じたＰＲ１２９５をコードする核酸ＤＮＡ５９２１８－１５５９の有意な増幅を示す。

ＤＮＡ５９２１８－１５５９の増幅が種々の腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ５９２１８－１５５９にコードされるタンパク質（ＰＲＯ１２９５）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。

【０２３７】

ＰＲＯ１２９３（ＤＮＡ６０６１８－１５５７）：

種々の腫瘍におけるＤＮＡ６０６１８－１５５７についてのΔＣｔ値を表５Ｂに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的に増幅評点化の閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ｂは、（１）原発性肺腫瘍：ＨＦ-０００８４０；及び（２）結腸腫瘍中心部：ＨＦ-０００５３９及びＨＦ-０００７９５で生じたＰＲＯ１２９３をコードする核酸ＤＮＡ６０６１８－１５５７の有意な増幅を示す。

ＤＮＡ６０６１８－１５５７の増幅が種々の肺及び結腸腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ６０６１８－１５５７にコードされるタンパク質（ＰＲＯ１２９３）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。

【０２３８】

ＰＲＯ１３０３（ＤＮＡ６５４０９－１５６６）：

種々の腫瘍におけるＤＮＡ６５４０９－１５６６についてのΔＣｔ値を表５Ｂに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的に増幅評点化の閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ｂは、（１）原発性肺腫瘍：ＬＴ１３、ＬＴ１５、及びＬＴ１６；（２）肺細胞系：Ａ５４９；及び（３）結腸腫瘍ＣＴ１６で生じたＰＲＯ１３０３をコードする核酸ＤＮＡ６５４０９－１５６６の有意な増幅を示す。ＤＮＡ６５４０９－１５６６の増幅が種々の腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ６５４０９－１５６６にコードされるタンパク質（ＰＲＯ１３０３）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。

【０２３９】

ＰＲＯ４３４４（ＤＮＡ８４９２７－２５８５）：

種々の腫瘍におけるＤＮＡ８４９２７－２５８５についてのΔＣｔ値を表５Ｂに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的に増幅評点化の閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ｂは、（１）原発性肺腫瘍：ＨＦ-０００８４０；（２）結腸腫瘍中心部：ＨＦ-０００５３９、ＨＦ-０００５７５及びＨＦ-０００７９５；及び（３）乳腫瘍中心部ＨＦ-０００５４５で生じたＰＲＯ４３４４をコードする核酸ＤＮＡ８４９２７－２５８５の有意な増幅を示す。ＤＮＡ８４９２７－２５８５の増幅が種々の腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ８４９２７－２５８５にコードされるタンパク質（ＰＲＯ４３４４）に対するアンタゴニスト

（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。
【０２４０】
ＰＲＯ４３５４（ＤＮＡ９２２５６－２５９６）：
種々の腫瘍におけるＤＮＡ９２２５６－２５９６についてのΔＣｔ値を表５Ｂに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的に増幅評点化の閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ｂは、（１）原発性肺腫瘍：ＨＦ-０００１２９６；（２）結腸腫瘍中心部：ＨＦ-０００５３９、ＨＦ-０００５７５、ＨＦ-０００６９８及びＨＦ-０００７６２；及び（３）乳腫瘍中心部ＨＦ-０００５４５；及び（４）副甲状腺腫瘍ＨＦ-０００８３２で生じたＰＲＯ４３５４をコードする核酸ＤＮＡ９２２５６－２５９６の有意な増幅を示す。ＤＮＡ９２２５６－２５９６の増幅が種々の腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ９２２５６－２５９６にコードされるタンパク質（ＰＲＯ４３５４）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。
【０２４１】
ＰＲＯ４３９７（ＤＮＡ８３５０５－２６０６）：
種々の腫瘍におけるＤＮＡ８３５０５－２６０６についてのΔＣｔ値を表５Ｂに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的に増幅評点化の閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ｂは、原発性肺腫瘍ＨＦ-０００８４０で生じたＰＲＯ４３９７をコードする核酸ＤＮＡ８３５０５－２６０６の有意な増幅を示す。ＤＮＡ８３５０５－２６０６の増幅が肺腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ８３５０５－２６０６にコードされるタンパク質（ＰＲＯ４３９７）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。
【０２４２】
ＰＲＯ４４０７（ＤＮＡ９２２６４－２６１６）：
種々の腫瘍におけるＤＮＡ９２２６４－２６１６についてのΔＣｔ値を表５Ｂに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的に増幅評点化の閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ｂは、（１）原発性肺腫瘍：ＨＦ-０００８４０、ＨＦ-０００８４２及びＨＦ-００１２９６；（２）結腸腫瘍中心部：ＨＦ-０００５３９、ＨＦ-０００５７５、ＨＦ-０００６９８及びＨＦ-０００７９５；（３）乳腫瘍中心部ＨＦ－０００５４５；及び（４）副甲状腺腫瘍ＨＦ－０００８３２で生じたＰＲＯ４４０７をコードする核酸ＤＮＡ９２２６４－２６１６の有意な増幅を示す。ＤＮＡ９２２６４－２６１６の増幅が種々の腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ９２２６４－２６１６にコードされるタンパク質（ＰＲＯ４４０７）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。
【０２４３】
ＰＲＯ１５５５（ＤＮＡ７３７４４－１６６５）：
種々の腫瘍におけるＤＮＡ７３７４４－１６６５についてのΔＣｔ値を表５Ｂに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的には増幅スコアの閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ｂは、（１）原発性肺腫瘍：ＬＴ１３、ＬＴ１５、ＬＴ１６、ＨＦ-０００６３１、ＨＦ-０００８４０、及びＨＦ-０００８４２；（２）肺細胞系：Ａ５４９、Ｃａｌｕ-１、Ｃａｌｕ-６、Ｈ４４１、Ｈ４６０、及びＳＫＭＥＳ１；（３）原発性結腸腫瘍：ＣＴ１５、ＣＴ１６、ＣＴ１７、及び結腸腫瘍中心部ＨＦ－０００５３９及びＨＦ－０００５７５；（４）結腸細胞系：ＳＷ６２０、Ｃｏｌｏ３２０、ＨＣＴ１１６；（５）乳腫瘍中心部ＨＦ-０００５４５；（６）腎臓腫瘍中心部　ＨＦ-０００６１１；及び（７）精巣腫瘍周辺部　ＨＦ-０００７１６及び精巣腫瘍中心部ＨＦ-０００７３３で生じたＰＲＯ１５５５をコードする核酸ＤＮＡ７３７４４－１６６５の有意な増幅を示す。
ＤＮＡ７３７４４－１６６５の増幅が種々の腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ７３７４４－１６６５にコードされるタンパク質（ＰＲＯ１５５５）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は

、癌治療における有用性を持つと予測される。
【０２４４】
ＰＲＯ１０９６（ＤＮＡ６１８７０）：
種々の腫瘍におけるＤＮＡ６１８７０についてのΔＣｔ値を表５Ｂに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的に増幅評点化の閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ｂは、（１）結腸細胞系：ＳＷ４８０、Ｃｏｌｏ３２０、ＨＴ２９、ＷｉＤｒ、ＨＣＴ１１６、ＳＫＣＯ１、及びＳＷ４０３；及び（２）乳細胞系　ＨＢＬ１００　及びＴ４７Ｄで生じたＰＲＯ１０９６をコードする核酸ＤＮＡ６１８７０の有意な増幅を示す。ＤＮＡ６１８７０の増幅が種々の腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ６１８７０にコードされるタンパク質（ＰＲＯ１０９６）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。
【０２４５】
ＰＲＯ２０３８（ＤＮＡ８３０１４）：
種々の腫瘍におけるＤＮＡ８３０１４についてのΔＣｔ値を表５Ｂに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的には増幅スコアの閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ｂは、（１）原発性肺腫瘍：ＬＴ１ａ、ＬＴ６、ＬＴ７、ＬＴ８、ＬＴ１２、ＬＴ２６、及びＬＴ２８；（２）乳腫瘍　ＳＲＣＣ１０９８で生じたＰＲＯ２０３８をコードする核酸ＤＮＡ８３０１４の有意な増幅を示す。
ＤＮＡ８３０１４の増幅が種々の腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ８３０１４にコードされるタンパク質（ＰＲＯ２０３８）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。
【０２４６】
ＰＲＯ２２６２（ＤＮＡ８８２７３）：
種々の腫瘍におけるＤＮＡ８８２７３についてのΔＣｔ値を表５Ｂに報告する。ΔＣｔ＞１は典型的には増幅スコアの閾値として用い、これは２倍の遺伝子コピーを表す。表５Ｂは、（１）原発性肺腫瘍：ＨＦ-０００８４０、及びＨＦ-００１２９６；（２）原発性結腸腫瘍：ＨＦ-０００５３９、ＨＦ-０００５７５及びＨＦ-０００６９８；（３）乳腫瘍中心部ＨＦ-０００５４５；（４）精巣腫瘍周辺部　ＨＦ-０００７１６及び精巣腫瘍中心部ＨＦ-０００７３３；及び（５）副甲状腺腫瘍　ＨＦ-０００８３２で生じたＰＲＯ２２６２をコードする核酸ＤＮＡ８８２７３の有意な増幅を示す。
ＤＮＡ８８２７３の増幅が種々の腫瘍で生じたので、それは腫瘍形成又は成長において有意な役割を果たす可能性が高い。結果として、ＤＮＡ８８２７３にコードされるタンパク質（ＰＲＯ２２６２）に対するアンタゴニスト（例えば抗体）は、癌治療における有用性を持つと予測される。
【０２４７】
実施例２１
ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２のハイブリダイゼーションプローブとしての使用
以下の方法は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドをコードする核酸配列のハイブリッド形成プローブとしての使用を記述する。
ここに開示されるような完全長又は成熟「ＰＲＯ」ポリペプチド及び／又はその断片の

コード化配列を含むＤＮＡは、ヒト組織ｃＤＮＡライブラリ又はヒト組織ゲノムライブラリにおける相同なＤＮＡ（ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の天然発生変異体をコードするもの等）のスクリーニングのためのプローブとして用いられ得る。

ハイブリッド形成及びいずれかのライブラリを含むフィルターの洗浄は、以下の高緊縮性条件下で実施される。放射性標識ＰＲＯ３８１-、ＰＲＯ１２６９-、ＰＲＯ１４１０-、ＰＲＯ１７５５-、ＰＲＯ１７８０-、ＰＲＯ１７８８-、ＰＲＯ３４３４-、ＰＲＯ１９２７-、ＰＲＯ３５６７-、ＰＲＯ１２９５-、ＰＲＯ１２９３-、ＰＲＯ１３０３-、ＰＲＯ４３４４-、ＰＲＯ４３５４-、ＰＲＯ４３９７-、ＰＲＯ４４０７-、ＰＲＯ１５５５-、ＰＲＯ１０９６-、ＰＲＯ２０３８-又はＰＲＯ２２６２-誘導プローブのフィルターへのハイブリッド形成は、50%ホルムアミド、5xＳＳＣ、0.1%ＳＤＳ、0.1%ピロリン酸ナトリウム、50mMリン酸ナトリウム、pH6.8、2xデンハード液、及び10%デキストラン硫酸の溶液中で４２℃で２０時間実施した。フィルターの洗浄は、0.1xＳＳＣ及び0.1%ＳＤＳ水溶液中で、４２℃で実施した。

その後、完全長天然配列ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２をコードするＤＮＡと所望の配列同一性を持つＤＮＡは、この分野で知られた標準的技術を用いて同定できる。

【０２４８】

実施例２２

大腸菌におけるＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの発現

この実施例は、大腸菌での組換え発現による非グリコシル化形態のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の調製を例示する。

対象とするＰＲＯポリペプチドをコードするＤＮＡ配列を、選択したＰＣＲプライマーを用いて最初に増幅した。プライマーは、選択された発現ベクターの制限酵素部位に対応する制限酵素部位を持たなければならない。種々の発現ベクターが用いられる。好適なベクターの例は、ｐＢＲ３２２（大腸菌から誘導されたもの；Bolivar等, Gene, 2:95 (1977)参照）であり、アンピシリン及びテトラサイクリン耐性についての遺伝子を含む。ベクターは、制限酵素で消化され脱リン酸される。ＰＣＲ増幅した配列は、次いでベクターに結合させる。ベクターは、好ましくは抗生物質耐性遺伝子、ｔｒｐプロモーター、ポリｈｉｓリーダー（最初の６つのＳＴＩＩコドン、ポリｈｉｓ配列、及びエンテロキナーゼ切断部位を含む）、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２コード化領域、ラムダ転写ターミネーター、及びａｒｇＵ遺伝子を含む。

【０２４９】

ライゲーション混合物は、次いで、上掲のSambrook等に記載された方法を用いた選択し

た大腸菌の形質転換に使用される。形質転換体は、それらのＬＢプレートで成長する能力により同定され、次いで抗生物質耐性クローンが選択される。プラスミドＤＮＡが単離され、制限分析及びＤＮＡ配列決定で確認される。

選択されたクローンは、抗生物質を添加したＬＢブロスなどの液体培地で一晩増殖させることができる。一晩培養液は、続いて大規模培地への植菌に用いられる。次に細胞を最適密度で成長させ、その間に発現プロモーターが作動する。

更に数時間の培養の後、細胞を採集して遠心分離できる。遠心分離で得られた細胞ペレットは、この分野で知られた種々の試薬を用いて可溶化され、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２タンパク質を金属キレート化カラムを用いてタンパク質を強固に結合させる条件下で精製した。

【０２５０】

ＰＲＯ１７８８及びＰＲＯ１５５５は、以下の手法を用いて、大腸菌においてポリ-Ｈｉｓタグ形態で成功裏に発現された。ＰＲＯ１７８８又はＰＲＯ１５５５をコードするＤＮＡを選択したＰＣＲプライマーを用いて最初に増幅した。プライマーは、選択された発現ベクターの制限酵素部位に対応する制限酵素部位、及び効率的で信頼性のある翻訳開始、金属キレートカラムでの迅速な精製、及びエンテロキナーゼでのタンパク質分解的除去を与える他の有用な配列を含む。次いでＰＣＲ増幅された、ポリ-Ｈｉｓタグ配列を発現ベクターに結合させ、それを株５２（W3110 fuhA(tonA) lon galE rpoHts(htpRts) clpP(lacIq)）に由来する大腸菌宿主の形質転換に使用した。形質転換体は、最初に50mg/mlのカルベニシリンを含有するＬＢ中、３０℃で振盪しながら3-5のＯ.Ｄ.６００に達するまで成長させた。ついで培地をＣＲＡＰ培地（3.57gの（NH_4）$_2SO_4$、0.71gのクエン酸ナトリウム・2H_2O、1.07gのＫＣｌ、5.36gのDifco酵母抽出物、500mL水中の5.36gのSheffield hycase SF、並びに110mMのＭＰＯＳ、pH7.3、0.55%（w/v）のグルコース及び7mMのＭｇＳＯ４の混合で調製）中に50-100倍希釈し、３０℃で振盪させながら約20-30時間成長させた。試料を取り出してＳＤＳ-ＰＡＧＥにより発現を確認し、バルク培地を遠心分離して細胞のペレットとした。細胞ペレットは、精製及び再折りたたみまで凍結させた。

0.5から1Lの発酵（6-10gペレット）からの大腸菌ペーストを、7Mのグアニジン、20mMのトリス、pH8バッファー、10容量（w/v）に再懸濁させた。固体硫酸ナトリウム及びテトラチオン酸ナトリウムを添加して最終濃度を各々0.1M及び0.02Mとし、溶液を４℃で終夜撹拌した。この工程により、亜硫酸によりブロックされたシステイン残基を持つ変性タンパク質がもたらされた。溶液をBeckman Ultracentrifuge中で40,000rpmで３０分間濃縮した。上清を金属キレートカラムバッファー（6Mのグアニジン、20mMのトリス、pH7.4）の3-5容量で希釈し、0.22ミクロンフィルターを通して濾過して透明化した。透明化抽出物を、金属キレートカラムバッファーで平衡化させた5mlのQiagen Ni^{2+}-NTA金属キレートカラムに添加した。カラムを50mMのイミダゾール（Calbiochem, Utrol grade）を含む添加バッファー、pH7.4で洗浄した。タンパク質を250mMのイミダゾールを含有するバッファーで溶離した。所望のタンパク質を含有する画分をプールし、４℃で保存した。タンパク質濃度は、そのアミノ酸配列に基づいて計算した吸光係数を用いて280nmにおけるその吸収により見積もった。

【０２５１】

試料を、20mMのトリス、pH8.6、0.3MのＮａＣｌ、2.5Mの尿素、５ｍＭのシステイン、20mMのグリシン及び1mMのＥＤＴＡからなる新たに調製した再折りたたみバッファー中に徐々に希釈することによりタンパク質を再折りたたみさせた。リフォールディング容量は、最終的なタンパク質濃度が50～100マイクログラム/mlとなるように選択した。リフォールデイング溶液を４℃で12-36時間ゆっくり撹拌した。リフォールディング反応はＴＦＡを最終濃度0.4%（約３のｐＨ）で添加することにより停止させた。タンパク質をさらに精製する前に、溶液を0.22ミクロンフィルターを通して濾過し、アセトニトリルを最終濃度2-

10%で添加した。再折りたたみされたタンパク質を、Poros R1/H逆相カラムで、0.1%ＴＦＡの移動バッファーと10～80%のアセトニトリル勾配での溶出を用いてクロマトグラフにかけた。A_{280}吸収を持つ画分のアリコートをＳＤＳポリアクリルアミドゲルで分析し、均一な再折りたたみされたタンパク質を含有する画分をプールした。一般的に、多くのタンパク質において正しく再折りたたみされたものは、これらが最もコンパクトであり、その疎水性内面が逆相樹脂との相互作用から遮蔽されているので、アセトニトリルの最低濃度で溶離される。凝集した種は通常、より高いアセトニトリル濃度で溶離される。タンパク質の誤って折りたたまれた形態を所望の形態から除くのに加えて、逆相工程は試料からエンドトキシンも除去する。

所望の折りたたまれたＰＲＯ１７８８及びＰＲＯ１５５５タンパク質各々を含有する画分をプールし、溶液に向けた窒素の弱い気流を用いてアセトニトリルを除去した。タンパク質を、透析又は調製バッファーで平衡化したG25 Superfine（Pharmacia）樹脂でのゲル濾過及び滅菌濾過により、0.14Mの塩化ナトリウム及び4%のマンニトールを含む20mMのＨＥＰＥＳ、pH6.8に調製した。

【０２５２】

実施例２３

哺乳動物細胞におけるＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の発現

この実施例は、哺乳動物細胞での組換え発現によるグリコシル化形態のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の調製を例示する。

発現ベクターとしてベクターｐＲＫ５（1989年3月15日発行のEP 307,247参照）を用いた。場合によっては、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ＤＮＡを選択した制限酵素でｐＲＫ５に結合させ、上掲のSambrook等に記載されたような結合方法を用いてＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ＤＮＡの挿入を行う。得られたベクターは、ｐＲＫ５-ＰＲＯ３８１、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１２６９、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１４１０、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１７５５、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１７８０、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１７８８、ｐＲＫ５-ＰＲＯ３４３４、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１９２７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ３５６７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１２９５、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１２９３、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１３０３、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４３４４、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４３５４、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４３９７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４４０７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１５５５、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１０９６、ｐＲＫ５-ＰＲＯ２０３８又はｐＲＫ５-ＰＲＯ２２６２と呼ばれる。

【０２５３】

一実施態様では、選択された宿主細胞は２９３細胞とすることができる。ヒト２９３細胞（ATCC CCL 1573）は、ウシ胎児血清及び場合によっては滋養成分又は抗生物質を添加したＤＭＥＭなどの媒質中で組織培養プレートにおいて成長させて集密化した。約１０μｇのｐＲＫ５-ＰＲＯ３８１、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１２６９、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１４１０、ｐ

ＲＫ５-ＰＲＯ１７５５、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１７８０、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１７８８、ｐＲＫ５-ＰＲＯ３４３４、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１９２７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ３５６７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１２９５、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１２９３、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１３０３、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４３４４、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４３５４、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４３９７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４４０７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１５５５、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１０９６、ｐＲＫ５-ＰＲＯ２０３８又はｐＲＫ５-ＰＲＯ２２６２ＤＮＡを約1μgのＶＡ　ＲＮＡ遺伝子をコードするＤＮＡ［Thimmappaya等，Cell，31:543（1982）］］と混合し、５００μｌの1mMトリス-ＨＣｌ、0.1mMのＥＤＴＡ、0.227MのＣａＣｌ$_2$に溶解させた。この混合物に、滴状の、500μｌの50mMのＨＥＰＥＳ（pH7.35）、280mMのＮａＣｌ、1.5mMのＮａＰＯ$_4$を添加し、２５℃で10分間析出物を形成させた。析出物を懸濁し、２９３細胞に加えて３７℃で約4時間定着させた。培養培地を吸引し、2mlのＰＢＳ中20%グリセロールを３０秒間添加した。２９３細胞は、次いで無血清培地で洗浄し、新鮮な培地を添加し、細胞を約５日間インキュベートした。

形質移入の約２４時間後、培養液を除去し、培養液（のみ）又は200μCi/mlの^{35}Ｓ-システイン及び200μCi/mlの^{35}Ｓ-メチオニンを含む培養液で置換した。１２時間のインキュベーションの後、条件培地を回収し、スピンフィルターで濃縮し、15%ＳＤＳゲルに添加した。処理したゲルを乾燥させ、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの存在が明らかになる程度の選択された時間にわたってフィルムに感光させた。形質転換した細胞を含む培地は、更なるインキュベーションを施し（無血清培地で）、培地を選択されたバイオアッセイで試験した。

【０２５４】

これに換わる技術において、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ＤＮＡは、Somparyac等，Proc. Natl. Acad. Sci.，12:7575（1981）に記載されたデキストラン硫酸法を用いて２９３細胞に一過的に導入される。２９３細胞は、スピナーフラスコ内で最大密度まで成長させ、700μgのｐＲＫ５-ＰＲＯ３８１、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１２６９、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１４１０、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１７５５、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１７８０、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１７８８、ｐＲＫ５-ＰＲＯ３４３４、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１９２７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ３５６７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１２９５、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１２９３、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１３０３、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４３４４、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４３５４、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４３９７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４４０７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１５５５、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１０９６、ｐＲＫ５-ＰＲＯ２０３８又はｐＲＫ５-ＰＲＯ２２６２ＤＮＡを添加する。細胞は、まずスピナーフラスコから遠心分離によって濃縮し、ＰＢＳで洗浄した。ＤＮＡ－デキストラン沈殿物を細胞ペレット上で４時間インキュベートした。細胞を20%グリセロールで90秒間処理し、組織培養培地で洗浄し、組織培養培地、5μｇ/mlウシインシュリン及び0.1μg/mlウシトランスフェリンを含むスピナーフラスコに再度導入した。約４日後に、条件培地を遠心分離して濾過し、細胞及び細胞片を除去した。次いで発現されたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２を含む試料を濃縮し、透析又はカラムクロマトグラフィー等の選択した方法によって精製した。

他の実施態様では、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７

、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２をＣＨＯ細胞で発現させることができる。ｐＲＫ５-ＰＲＯ３８１、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１２６９、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１４１０、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１７５５、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１７８０、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１７８８、ｐＲＫ５-ＰＲＯ３４３４、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１９２７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ３５６７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１２９５、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１２９３、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１３０３、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４３４４、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４３５４、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４３９７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ４４０７、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１５５５、ｐＲＫ５-ＰＲＯ１０９６、ｐＲＫ５-ＰＲＯ２０３８又はｐＲＫ５-ＰＲＯ２２６２ベクターは、$CaPO_4$又はＤＥＡＥ-デキストランなどの公知の試薬を用いてＣＨＯ細胞に形質移入することができる。上記したように、細胞培地をインキュベートし、培地を培養培地（のみ）又は^{35}Ｓ-メチオニン等の放射性標識を含む培地に置換することができる。ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２ポリペプチドの存在を同定した後であれば、培養液を無血清培地に置換してもよい。好ましくは、培地を約６日間インキュベートし、次いで条件培地を収集する。次いで、発現されたＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２を含む培地を濃縮して、選択した方法にとって精製することができる。

【０２５５】

また、エピトープタグＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２は、宿主ＣＨＯ細胞において発現させてもよい。ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２はｐＲＫ５ベクターからサブクローニングした。サブクローン挿入物は、次いで、ＰＣＲを施してバキュロウイルス発現ベクター中のポリ-ｈｉｓタグ等の選択されたエピトープタグを持つ枠に融合できる。ポリ-ｈｉｓタグＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２挿入物は、次いで、安定なクローンの選択のためのＤＨＦＲ等の選択マーカーを含むＳＶ４０誘導ベクターにサブクローニングできる。最後に、ＣＨＯ細胞をＳＶ４０誘導ベクターで（上記のように）形質移入した。発現を確認するために、上記のように標識化を行ってもよい。発現されたポリ-ｈｉｓタグＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２を含む培養培地は、次いで濃縮し、Ni^{2+}-キレートアフィニティクロマトグラフィー等の選択された方法により精製できる。

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１４１０及びＰＲＯ１３０３は安定発現法でＣＨＯ細胞において

発現された。ＣＨＯ細胞における安定な発現は以下の方法を用いて実施された。タンパク質は、それに対応するタンパク質の可溶化形態及び／又はポリ-Ｈｉｓタグ形態のコード化配列（例えば、細胞外ドメイン）がＩｇＧ１のヒンジ、ＣＨ２及びＣＨ２ドメインを含む定常領域配列に融合したＩｇＧ作成物（イムノアドヘシン）として発現された。

【０２５６】

ＰＣＲ増幅に続いて、対応するＤＮＡを、Ausubel等, Current Protocols of Molecular Biology, Unit 3.16, John Wiley and Sons (1997)に記載されたような標準的技術を用いてＣＨＯ発現ベクターにサブクローニングした。ＣＨＯ発現ベクターは、対象とするＤＮＡの５’及び３’に適合する制限部位を有し、ｃＤＮＡの便利なシャトル化ができるように作成される。ベクターは、Lucas等, Nucl. Acids res. 24: 9, 1774-1779 (1996) に記載されたようにＣＨＯ細胞での発現を用い、対象とするｃＤＮＡ及びジヒドロフォレートレダクターゼ（ＤＨＦＲ）の発現の制御にＳＶ４０初期プロモーター／エンハンサーを用いる。ＤＨＦＲ発現は、形質移入に続くプラスミドの安定な維持のための選択を可能にする。

所望のプラスミドＤＮＡの12マイクログラムを、市販の形質移入試薬Superfect(登録商標)(Quiagen), Dosper(登録商標)及びFugene(登録商標)（Boehringer Mannheim）約一千万のＣＨＯ細胞に導入した。細胞は、上掲のLucas等に記載されているように成長させた。約３ｘ１０^{7}細胞を、下記のような更なる成長及び生産のためにアンプル中で凍結させた。

プラスミドＤＮＡを含むアンプルを水槽に配して解凍し、ボルテックスにより混合した。内容物を10mLの媒質を含む遠心管にピペットして、1000rpmで５分間遠心分離した。上清を吸引して細胞を10mLの選択培地（0.2μm濾過ＰＳ２０、5%の0.2μm透析濾過ウシ胎児血清を添加）中に懸濁させた。次いで細胞を90mLの選択培地を含む100mlスピナーに分けた。1-2日後、細胞を150mLの選択培地を満たした250mLスピナーに移し、３７℃でインキュベートした。さらに2-3日後、250mL、500mL及び2000mLのスピナーを3x10^{5}細胞/mLで播種した。細胞培地を遠心分離により新鮮培地に交換し、生産培地に再懸濁させた。任意の適切なＣＨＯ培地を用いてもよいが、実際には1992年6月16日に発行の米国特許第5,122,469号に記載された生産培地を使用した。3Lの生産スピナーを1.2x10^{6}細胞/mLで播種した。０日目に、細胞数とｐＨを測定した。１日目に、スピナーをサンプリングし、濾過空気での散布を実施した。２日目に、スピナーをサンプリングし、温度を３３℃に変え、500g/Lのグルコース及び0.6mLの10%消泡剤（例えば35%ポリジメチルシロキサンエマルション、Dow Corning 365 Medical Grade Emulsion）の30mLとした。生産を通して、ｐＨは7.2近傍に調節し維持した。１０日後、又は生存率が70%を下回るまで、細胞培地を遠心分離で回収して0.22μmフィルターを通して濾過した。濾過物は、４℃で貯蔵するか、即座に精製用カラムに添加した。

【０２５７】

ポリ-Ｈｉｓタグ作成物について、タンパク質はNi^{2+}-NTAカラム(Qiagen)を用いて精製した。精製の前に、イミダゾールを条件培地に５ｍＭの濃度まで添加した。条件培地を、0.3MのＮａＣｌ及び5mMイミダゾールを含む20mMのＨｅｐｅｓ, pH7.4バッファーで平衡化した6mlのNi^{2+}-NTAカラムに4-5ml/分の流速で４℃においてポンプ供給した。負荷後、カラムをさらに平衡バッファーで洗浄し、タンパク質を0.25Mイミダゾールを含む平衡バッファーで溶離した。高度に精製されたタンパク質は、続いて10mMのＨｅｐｅｓ、0.14MのＮａＣｌ及び4%のマンニトールを含む貯蔵バッファーpH6.8中で25mlのG25 Superfine（Pharmacia）を用いて脱塩し、－８０℃で貯蔵した。

イムノアドヘシン（Ｆｃ含有）作成物を以下のようにして条件培地から精製した。条件培地を、20mMのリン酸ナトリウムバッファー, pH6.8で平衡化した5mlのプロテインＡカラム（Pharmacia）に添加した。添加後、カラムを平衡バッファーで強く洗浄した後、100mMのクエン酸, pH3.5で溶離した。溶離したタンパク質は、1mlの画分を275μlの1Mトリスバッファー, pH9を含む管に回収することにより即座に中性化した。高度に精製されたタンパク質は、続いてポリ-Ｈｉｓタグタンパク質について上記した貯蔵バッファー中で脱塩

した。均一性はＳＤＳポリアクリルアミドゲルで試験し、エドマン(Edman)分解によりＮ-末端アミノ酸配列決定した。

【０２５８】

実施例２４

酵母菌でのＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の発現

以下の方法は、酵母菌中でのＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の組換え発現を記載する。

第１に、ＡＤＨ２／ＧＡＰＤＨプロモーターからのＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の細胞内生産又は分泌のための酵母菌発現ベクターを作成する。ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２をコードするＤＮＡ及びプロモーターを選択したプラスミドの適当な制限酵素部位に挿入してＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の細胞内発現を導く。分泌のために、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２をコードするＤＮＡを選択したプラスミドに、ＡＤＨ２／ＧＡＰＤＨプロモーター、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２シグナルポリペプチド又は他の哺乳類シグナルペプチドをコードするＤＮＡ、又は、例えば酵母菌アルファ因子分泌シグナル／リーダー配列、もしくはインベルターゼ分泌シグナル/リーダー配列、及び（必要ならば）ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の発現のためのリンカー配列とともにクローニングすることができる。

【０２５９】

酵母菌株ＡＢ１１０等の酵母菌は、次いで上記の発現プラスミドで形質転換し、選択された発酵培地中で培養できる。形質転換した酵母菌上清は、１０％トリクロロ酢酸での沈降及びＳＤＳ－ＰＡＧＥによる分離で分析し、次いでクマシーブルー染色でゲルの染色をすることができる。

続いて組換えＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２は、発酵培地から遠心分離により酵母菌細胞を除去し、次いで選択されたカートリッジフィルターを用いて培地を濃縮することによって単離及び精製できる。ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２を含む濃縮物は、選択されたカラムクロマトグラフィー樹脂を用いてさらに精製してもよい。

【０２６０】

実施例２５

バキュロウイルス感染昆虫細胞でのＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の発現

以下の方法は、バキュロウイルス感染昆虫細胞中における組換え発現を記載する。

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２をコードする配列は、バキュロウイルス発現ベクターに含まれるエピトープタグの上流に融合させた。このようなエピトープタグは、ポリ-Hisタグ及び免疫グロブリンタグ（ＩｇＧのＦｃ領域など）を含む。ｐＶＬ１３９３（Navogen）などの市販されているプラスミドから誘導されるプラスミドを含む種々のプラスミドを用いることができる。簡単には、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２又はＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の所定部分（膜貫通タンパク質の細胞外ドメインをコードする配列など）が、５’及び３’領域に相補的なプライマーでのＰＣＲにより増幅される。５’プライマーは、隣接する（選択された）制限酵素部位を包含していてもよい。生成物は、次いで、選択された制限酵素で消化され、発現ベクターにサブクローニングされる。

組換えバキュロウイルスは、上記のプラスミド及びBaculoGold(商品名)ウイルスＤＮＡ（Pharmingen）を、Spodoptera frugiperda（「Ｓｆ９」）細胞（ATCC CRL 1711）中にリポフェクチン（GIBCO-BRLから市販）を用いて同時形質移入することにより作成される。２８℃で４－５日インキュベートした後、放出されたウイルスを回収し、更なる増幅に用いた。ウイルス感染及びタンパク質発現は、O'Reilley等, Baculovirus expression vectors: A Laboratory Manual, Oxford: Oxford University Press (1994)に記載されているように実施した。

【０２６１】

次いで、発現されたポリ-HisタグＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、Ｐ

ＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２は、例えば、Ni^{2+}-キレートアフィニティクロマトグラフィーにより以下のように精製される。抽出物は、Rupert等, Nature, 362:175-179 (1993)に記載されているように、ウイルス感染した組み換えＳｆ９細胞から調製した。簡単には、Ｓｆ９細胞を洗浄し、超音波処理用バッファー（25mlのＨｅｐｅｓ、pH7.9；12.5mMの$MgCl_2$；0.1mMのＥＤＴＡ；10%のグリセロール；0.1%のＮＰ-４０；0.4MのＫＣｌ）中に再懸濁し、氷上で2回20秒間超音波処理した。超音波処理物を遠心分離で透明化し、上清をカラム添加用バッファー（50mMリン酸塩、300mMＮａＣｌ、10%のグリセロール、pH7.8）で50倍希釈し、0.45μｍフィルターで濾過した。Ni^{2+}-ＮＴＡアガロースカラム（Qiagenから市販）を5mlの総容積で調製し、25mlの水で洗浄し、25mlのカラム添加用バッファーで平衡させた。濾過した細胞抽出物は、毎分0.5mlでカラムに添加した。カラムを、フラクションコレクターが作動する点であるA_{280}のベースラインまで添加用バッファーで洗浄した。次に、カラムを、結合タンパク質を非特異的に溶離する二次洗浄バッファー（50mMのリン酸塩；300mMのＮａＣｌ、10%のグリセロール、pH6.0）で洗浄した。A_{280}のベースラインに再度到達した後、カラムを二次洗浄バッファー中で0から500mMのイミダゾール勾配で展開した。1mlの分画を回収し、ＳＤＳ-ＰＡＧＥ及び銀染色又はアルカリホスファターゼ（Qiagen）を結合させたNi^{2+}-ＮＴＡでのウェスタンブロットで分析した。溶離したHis_{10}－タグＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２を含む分画をプールし、カラム添加用バッファーに対し透析した。

【０２６２】

あるいは、ＩｇＧタグ（又はＦｃタグ）ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の精製は、例えば、プロテインＡ又はプロテインＧカラムクロマトグラフィーを含む公知のクロマトグラフィー技術を用いて実施できる。

発現は実際には0.5-2Lのスケールであったが、容易により大きな（例えば8L）調製にスケールアップできる。タンパク質はＩｇＧ作成物（イムノアドヘシン）として発現され、そこではタンパク質細胞外領域がヒンジ、ＣＨ２及びＣＨ３ドメイン及び／又はポリ-Ｈｉｓタグ結合体を含むＩｇＧ１定常領域配列に融合している。

ＰＣＲ増幅に続いて、対応するコード化配列をバキュロウイルス発現ベクター（ＩｇＧ融合物に対するpb.PH.IgG及びポリＨｉｓタグタンパク質に対するpb.PH.His.c）にサブクローニングし、そのベクター及びBaculogold(登録商標)バキュロウイルスＤＮＡ（Pharmingen）を１０５スポドプテラグルヒペルダ（Spodoptera frugiperda）（「Ｓｆ９」）細胞（ATCC CRL 1711）にリポフェクチン（Gibco BRL）を用いて同時形質移入した。pb.PH.IgG及びPH.His.cは、市販のバキュロウイルス発現ベクターｐＶＬ１３９３（Pharmingen）の修飾物であり、Ｈｉｓ又はＦｃタグ配列を含むように修飾されたポリリンカー領域を持つ。細胞を、10%のＦＢＳ（Hyclone）を添加したHinkのＴＮＭ-ＦＭ培地で成長させた。細胞は、２８℃で５日間インキュベートした。上清を回収し、続いて上清を10%ＦＢＳを添加したHinkのＴＮＭ-ＦＨ培地中、Ｓｆ９細胞に約10の感染効率（ＭＯＩ）で感染させることにより、最初のウイルス増幅に用いた。細胞を２８℃で３日間インキュベートした。上清を回収し、バキュロウイルス発現ベクターに対する構築物の発現を、1mlの上清を25mLのヒスチジンタグタンパク質用のNi^{2+}-ＮＴＡビーズ（QIAGEN）又はＩｇＧタグタンパク質用のプロテインＡセファロースCL-4Bビーズ（Pharmacia）へバッチ結合で結合させ、次いでクマシーブルー染色により周知の濃度のタンパク質標準と比較するＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析により測定した。

【０２６３】
第１の増幅ウイルス上清をＥＳＦ-９２１培地（Expression System LLC）中、成長させたスピナー（５００ｍｌ）により培養させたＳｆ９細胞に、約０．１のＭＯＩで感染させるのに使用した。細胞は２８℃で３日間インキュベートした。上清を回収して濾過した。バッチ結合及びＳＤＳ－ＰＡＧＥを、スピナー培地の発現が確認されるまで、必要に応じて繰り返した。
形質移入細胞からの条件培地（0.5～3L）を、遠心分離により細胞を除去し0.22ミクロンフィルターを通して濾過することにより回収した。ポリ-Ｈｉｓタグ構築物については、配列を含むタンパク質をNi^{2+}-ＮＴＡカラム（Qiagen）を用いて精製した。精製前に、イミダゾールを条件培地に5mMの濃度まで添加した。条件培地を、0.3MのＮａＣｌ及び5mMイミダゾールを含む20mMのＨｅｐｅｓ，pH7.4バッファーで平衡化した6mlのNi^{2+}-NTAカラムに4-5ml/分の流速で４℃においてポンプ供給した。添加後、カラムをさらに平衡バッファーで洗浄し、タンパク質を0.25Mイミダゾールを含む平衡バッファーで溶出した。高度に精製されたタンパク質は、続いて10mMのＨｅｐｅｓ、0.14MのＮａＣｌ及び4%のマンニトールを含む貯蔵バッファー，pH6.8中で25mlのG25 Superfine（Pharmacia）を用いて脱塩し、－８０℃で貯蔵した。
タンパク質のイムノアドヘシン（Ｆｃ含有）作成物を以下のようにして条件培地から精製した。条件培地を、20mMのリン酸ナトリウムバッファー，pH6.8で平衡化した5mlのプロテインＡカラム（Pharmacia）に添加した。添加後、カラムを平衡バッファーでよく洗浄した後、100mMのクエン酸，pH3.5で溶出した。溶出したタンパク質は、1mlの画分を275mLの1Mトリスバッファー，pH9を含む管に回収することにより即座に中和した。高度に精製されたタンパク質は、引き続きポリ-Ｈｉｓタグタンパク質について上記した貯蔵バッファー中で脱塩した。ＰＲＯポリペプチドの均一性はＳＤＳポリアクリルアミドゲル（ＰＥＧ）電気泳動及びエドマン(Edman)分解によるＮ-末端アミノ酸配列決定により評価できる。
【０２６４】
あるいは、修飾バキュロウイルス法をｈｉｇｈ５細胞取り込みに使用してもよい。この方法では、所望の配列をコードするＤＮＡは、Ｐｆｕ（Stratagene）等の適当な系で増幅されても、又はバキュロウイルス発現ベクターの含まれるエピトープタグの上流（5'-）に融合させてもよい。このようなエピトープタグは、ポリ-Ｈｉｓタグ及び免疫グロブリンタグ（ＩｇＧのＦｃ領域等）を含む。種々のプラスミドを用いることができ、ｐＩＥ１-１（Novagen）等の市販のプラスミドから誘導されたプラスミドを含む。ｐＩＥ１-１及びｐＩＥ１-２ベクターは、安定に形質転換された昆虫細胞におけるバキュロウイルスｉｅ１プロモーターからの組換えタンパク質の構成的発現のために設計される。このプラスミドはマルチプルクローニング部位の方向のみが異なっており、未感染昆虫細胞におけるｉｅ１媒介遺伝子発現に重要であることが知られている全てのプロモーター配列並びにｈｒ５エンハンサー成分を含む。ｐＩＥ-１及びｐＩＥ-２はｉｅ翻訳開始部位を含み、融合タンパク質の製造に使用できる。簡単には、所望の配列又は配列の所望の部分（膜貫通タンパク質の細胞外ドメインをコードする配列など）を、５'及び３'領域に相補的なプライマーでのＰＣＲにより増幅する。５'プライマーは隣接する（選択された）制限酵素部位を導入してもよい。生成物は、次いで、選択された制限酵素で消化して発現ベクターにサブクローニングされる。例えば、ｐＩＥｌ-１の誘導体はヒトＩｇＧ（pb.PH.IgG）のＦｃ領域又は８ヒスチジン（pb.PH.His）タグ下流（3'-）を含むことができる。好ましくは、ベクター作成物は確認のために配列決定される。
Ｈｉｇｈ５細胞は、２７℃、CO_2無し、pen/strep無しの条件下で50%の集密度まで成長させた。150mmプレート各々について、30μgのＰＲＯポリペプチドを含むｐＩＥベースベクターを1mlのＥｘ-細胞培地（媒質：Ex-細胞401＋1/100のL-Ｇｌｕ JRH Biosciences #14401-78P（注：この媒質は軽感受性））と混合し、別の管において、100μlのセルフェクチン（CellFECTIN(Gibco BRL #10362-010)(ボルテックスで混合)）を1mlのＥｘ-細胞培地と混合した。２つの溶液を混合し、室温で１５分間インキュベーションした。8mlのＥ

ｘ-細胞培地を2mlのＤＮＡ／セルフェクチン混合物に添加し、Ｅｘ-細胞培地で１回洗浄したＨｉ５細胞上に重層させた。次いでプレートを暗中室温でインキュベートした。次いでＤＮＡ／セルフェクチン混合物を吸引し、細胞をＥｘ-細胞で１回洗浄して過剰のセルフェクチンを除去した。30mlの新鮮なＥｘ-細胞培地を添加し、細胞を２８℃で３日間インキュベートした。上清を回収して、バキュロウイルス感染ベクターでのＰＲＯポリペプチドの発現を、1mlの上清の25mLのヒスチジンタグタンパク質用のＮｉ$^{2+}$-ＮＴＡビーズ（QIAGEN）又はＩｇＧタグタンパク質用のプロテインＡセファロースCL-4Bビーズ（Pharmacia）へのバッチ結合、次いでクマシーブルー染色により既知の濃度のタンパク質標準と比較するＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析により測定した。

【０２６５】

形質転換細胞からの条件培地（0.5～3L）を、遠心分離により細胞を除去し0.22ミクロンフィルターを通して濾過することにより回収した。ポリ-Ｈｉｓタグ構築物については、タンパク質作成物をＮｉ$^{2+}$-ＮＴＡカラム（Qiagen）を用いて精製した。精製前に、イミダゾールを条件培地に5mMの濃度まで添加した。条件培地を、0.3MのＮａＣｌ及び5mMイミダゾールを含む20mMのＨｅｐｅｓ，pH7.4バッファーで平衡化した6mlのNi^{2+}-NTAカラムに4-5ml/分の流速で４８℃においてポンプ供給した。サンプル添加後、カラムをさらに平衡バッファーで洗浄し、タンパク質を0.25Mイミダゾールを含む平衡バッファーで溶出した。高度に精製されたタンパク質は、続いて10mMのＨｅｐｅｓ、0.14MのＮａＣｌ及び4%のマンニトールを含む貯蔵バッファー，pH6.8中で25mlのG25 Superfine（Pharmacia）を用いて脱塩し、－８０℃で貯蔵した。

タンパク質のイムノアドヘシン（Ｆｃ含有）作成物を以下のようにして条件培地から精製した。条件培地を、20mMのリン酸ナトリウムバッファー，pH6.8で平衡化した5mlのプロテインＡカラム（Pharmacia）に添加した。添加後、カラムを平衡バッファーでよく洗浄した後、100mMのクエン酸，pH3.5で溶出した。溶出したタンパク質は、1mlの画分を275mLの1Mトリスバッファー，pH9を含む管に回収することにより即座に中和した。高度に精製されたタンパク質は、続いてポリ-Ｈｉｓタグタンパク質について上述した貯蔵バッファー中で脱塩した。ＰＲＯポリペプチドの均一性はＳＤＳポリアクリルアミドゲル及びエドマン(Edman)分解によるＮ-末端アミノ酸配列決定及び所望又は必要に応じて他の分析手法により評価できる。

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１４１０、及びＰＲＯ４３５４は、ｈｉｇｈ５細胞を導入する上記の改変バキュロウイルス法により成功裏に発現された。

【０２６６】

実施例２６

ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２に結合する抗体の調製

この実施例は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２に特異的に結合できるモノクローナル抗体の調製を例示する。

モノクローナル抗体の生産のための技術は、この分野で知られており、例えば、Goding,上掲に記載されている。用いられ得る抗原は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２を含む、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、

ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２の精製された融合タンパク質を含み、細胞表面に組換えＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２を発現する細胞を含む。抗原の選択は、当業者が過度の実験をすることなくなすことができる。

【０２６７】

Ｂａｌｂ／ｃ等のマウスを、完全フロイントアジュバントに乳化して皮下又は腹腔内に１－１００マイクログラムで注入したＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２抗原で免疫化する。あるいは、免疫原をＭＰＬ－ＴＤＭアジュバント（Ribi Immunochemical Researh, Hamilton, MT）に乳化し、動物の後足蹠に注入してもよい。免疫化したマウスは、次いで１０から１２日後に、選択したアジュバント中に乳化した付加的免疫源で追加免疫する。その後、数週間、マウスをさらなる免疫化注射で追加免疫する。抗-ＰＲＯ３８１、抗-ＰＲＯ１２６９、抗-ＰＲＯ１４１０、抗-ＰＲＯ１７５５、抗-ＰＲＯ１７８０、抗-ＰＲＯ１７８８、抗-ＰＲＯ３４３４、抗-ＰＲＯ１９２７、抗-ＰＲＯ３５６７、抗-ＰＲＯ１２９５、抗-ＰＲＯ１２９３、抗-ＰＲＯ１３０３、抗-ＰＲＯ４３４４、抗-ＰＲＯ４３５４、抗-ＰＲＯ４３９７、抗-ＰＲＯ４４０７、抗-ＰＲＯ１５５５、抗-ＰＲＯ１０９６、抗-ＰＲＯ２０３８又は抗-ＰＲＯ２２６２抗体の検出のためのＥＬＩＳＡアッセイで試験するために、レトロオービタル出血からの血清試料をマウスから周期的に採取してもよい。

適当な抗体力価が検出された後、抗体価「ポジティブ」な動物に、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２静脈内注射の最後の注入をすることができる。３から４日後、マウスを屠殺し、脾臓を取り出した。次いで脾臓細胞を、ＡＣＴＴから番号ＣＲＬ１５９７で入手可能なＰ３Ｘ６３ＡｇＵ．１等の選択されたマウス骨髄腫細胞系に融合させた（３５％ポリエチレングリコールを用いて）。融合によりハイブリドーマ細胞が生成され、次いで、ＨＡＴ（ヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジン）培地を含む９６ウェル組織培養プレートに蒔き、非融合細胞、骨髄腫ハイブリッド、及び脾臓細胞ハイブリッドの増殖を阻害した。

【０２６８】

ハイブリドーマ細胞は、ＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２に対する反応性についてのＥＬＩＳＡでスクリーニングされる。所望のＰＲＯ３８１、ＰＲＯ１２６９、ＰＲＯ１４１０、ＰＲＯ１７５５、ＰＲＯ１７８０、ＰＲＯ１７８８、ＰＲＯ３４３４、ＰＲＯ１９２７、ＰＲＯ３５６７、ＰＲＯ１２９５、ＰＲＯ１２９３、ＰＲＯ１３０３、ＰＲＯ４３４４、ＰＲＯ４３５４、ＰＲＯ４３９７、ＰＲＯ４４０７、ＰＲＯ１５５５、ＰＲＯ１０９６、ＰＲＯ２０３８又はＰＲＯ２２６２に対するモノクローナル抗体を分泌する「ポジティブ」ハイブリドーマ細胞の決定は、技術常識の範囲内である。

ポジティブハイブリドーマ細胞を同系のＢａｌｂ／ｃマウスに腹腔内注入し、抗-ＰＲ

Ｏ３８１、抗-ＰＲＯ１２６９、抗-ＰＲＯ１４１０、抗-ＰＲＯ１７５５、抗-ＰＲＯ１７８０、抗-ＰＲＯ１７８８、抗-ＰＲＯ３４３４、抗-ＰＲＯ１９２７、抗-ＰＲＯ３５６７、抗-ＰＲＯ１２９５、抗-ＰＲＯ１２９３、抗-ＰＲＯ１３０３、抗-ＰＲＯ４３４４、抗-ＰＲＯ４３５４、抗-ＰＲＯ４３９７、抗-ＰＲＯ４４０７、抗-ＰＲＯ１５５５、抗-ＰＲＯ１０９６、抗-ＰＲＯ２０３８又は抗-ＰＲＯ２２６２モノクローナル抗体を含む腹水を生成させる。あるいは、ハイブリドーマ細胞を、組織培養フラスコ又はローラーボトルで成長させることもできる。腹水中に生成されたモノクローナル抗体の精製は、硫酸アンモニウム沈降、それに続くゲル排除クロマトグラフィーを用いて行うことができる。あるいは、抗体のプロテインＡ又はプロテインＧへの親和性に基づくアフィニティクロマトグラフィーを用いることもできる。

【０２６９】

材料の寄託

次の細胞系をアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション，１０８０１　ユニバーシティ　ブルバード　マナッサス、バージニア、２０１１０－２２０９米国(ＡＴＣＣ)に寄託した：

材料	ATCC寄託番号	寄託日
DNA44194-1317	209808	4/28/98
DNA66520-1536	203226	9/15/98
DNA68874-1622	203277	9/22/98
DNA76396-1698	203471	11/17/98
DNA71169-1709	203467	11/17/98
DNA77652-2505	203480	11/17/98
DNA77631-2537	203651	2/9/99
DNA82307-2531	203537	12/15/98
DNA56049-2543	203662	2/ 9/99
DNA59218-1559	203287	9/29/98
DNA60618-1557	203292	9/29/98
DNA65409-1566	203232	9/15/98
DNA84927-2585	203865	3/23/99
DNA92256-2596	203891	3/ 30/99
DNA83505-2606	132-PTA	5/25/99
DNA92264-2616	203969	4/27/99
DNA73744-1665	203322	10/6/98

【０２７０】

これらの寄託は、特許手続き上の微生物の寄託の国際的承認に関するブダペスト条約及びその規則(ブダペスト条約)の規定に従って行われた。これは、寄託の日付から３０年間、寄託の生存可能な培養が維持されることを保証するものである。寄託物はブダペスト条約の条項に従い、またジェネンテク社とＡＴＣＣとの間の合意に従い、ＡＴＣＣから入手することができ、これは、どれが最初であろうとも、関連した米国特許の発行時又は任意の米国又は外国特許出願の公開時に、寄託培養物の後代を永久かつ非制限的に入手可能とすることを保証し、米国特許法第１２２条及びそれに従う特許庁長官規則(特に参照番号８８６ＯＧ６３８の３７ＣＦＲ第１．１４条を含む)に従って権利を有すると米国特許庁長官が決定した者に子孫を入手可能とすることを保証するものである。

【０２７１】

本出願の譲受人は、寄託した培養物が、適切な条件下で培養されていた場合に死亡もしくは損失又は破壊されたならば、材料は通知時に同一の他のものと即座に取り替えることに同意する。寄託物質の入手可能性は、特許法に従いあらゆる政府の権限下で認められた権利に違反して、本発明を実施するライセンスであるとみなされるものではない。

上記の文書による明細書は、当業者に本発明を実施できるようにするために十分である

と考えられる。寄託した態様は、本発明のある側面の一つの説明として意図されており、機能的に等価なあらゆる作成物がこの発明の範囲内にあるため、寄託された作成物により、本発明の範囲が限定されるものではない。ここでの物質の寄託は、ここに含まれる文書による説明が、そのベストモードを含む、本発明の任意の側面の実施を可能にするために不十分であることを認めるものではないし、それが表す特定の例証に対して請求の範囲を制限するものと解釈されるものでもない。実際、ここに示し記載したものに加えて、本発明を様々に改変することは、前記の記載から当業者にとっては明らかなものであり、添付の請求の範囲内に入るものである。

【図面の簡単な説明】

【０２７２】

【図１】天然配列ＰＲＯ３８１をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：１）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：１）はここでＤＮＡ４４１９４－１３１７と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。

【図２】図１に示す配列番号：１のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ３８１ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：２）を示す図である。

【図３】天然配列ＰＲＯ１２６９をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：６）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：６）はここでＤＮＡ６６５２０－１５３６と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。

【図４】図３に示す配列番号：６のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ１２６９ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：７）を示す図である。

【図５】天然配列ＰＲＯ１４１０をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：８）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：８）はここでＤＮＡ６８８７４－１６２２と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。

【図６】図５に示す配列番号：８のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ１４１０ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：９）を示す図である。

【図７】天然配列ＰＲＯ１７５５をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：１０）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：１０）はここでＤＮＡ７６３９６－１６９８と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。

【図８】図７に示す配列番号：１０のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ１７５５ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：１１）を示す図である。

【図９】天然配列ＰＲＯ１７８０をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：１２）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：１２）はここでＤＮＡ７１１６９－１７０９と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。

【図１０】図９に示す配列番号：１２のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ１７８０ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：１３）を示す図である。

【図１１】天然配列ＰＲＯ１７８８をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：１７）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：１７）はここでＤＮＡ７７６５２－２５０５と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。

【図１２】図１１に示す配列番号：１７のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ１７８８ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：１８）を示す図である。

【図１３】天然配列ＰＲＯ３４３４をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：２２）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：２２）はここでＤＮＡ７７６３１－２５３７と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。

【図１４】図１３に示す配列番号：２２のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ３４３４ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：２３）を示す図である。
【図１５】天然配列ＰＲＯ１９２７をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：２４）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：２４）はここでＤＮＡ８２３０７－２５３１と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。
【図１６】図１５に示す配列番号：２４のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ１９２７ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：２５）を示す図である。
【図１７】天然配列ＰＲＯ３５６７をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：２６）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：２６）はここでＤＮＡ５６０４９－２５４３と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。
【図１８】図１７に示す配列番号：２６のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ３５６７ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：２７）を示す図である。
【図１９】天然配列ＰＲＯ１２９５をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：２８）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：２８）はここでＤＮＡ５９２１８－１５５９と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。
【図２０】図１９に示す配列番号：２８のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ１２９５ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：２９）を示す図である。
【図２１】天然配列ＰＲＯ１２９３をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：３０）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：３０）はここでＤＮＡ６０６１８－１５５７と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。
【図２２】図２１に示す配列番号：３０のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ１２９３ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：３１）を示す図である。
【図２３】天然配列ＰＲＯ１３０３をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：３２）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：３２）はここでＤＮＡ６５４０９－１５６６と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。
【図２４】図２３に示す配列番号：３２のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ１３０３ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：３３）を示す図である。
【図２５】天然配列ＰＲＯ４３４４をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：３４）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：３４）はここでＤＮＡ８４９２７－２５８５と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。
【図２６】図２５に示す配列番号：３４のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ４３４４ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：３５）を示す図である。
【図２７】天然配列ＰＲＯ４３５４をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：３９）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：３９）はここでＤＮＡ９２２５６－２５９６と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。
【図２８】図２７に示す配列番号：３９のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ４３５４ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：４０）を示す図である。
【図２９】天然配列ＰＲＯ４３９７をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：４１）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：４１）はここでＤＮＡ８３５０５－２６０６と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。
【図３０】図２９に示す配列番号：４１のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ４３９７ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：４２）を示す図である。

【図３１】天然配列ＰＲＯ４４０７をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：４６）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：４６）はここでＤＮＡ９２２６４－２６１６と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。
【図３２】図３１に示す配列番号：４６のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ４４０７ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：４７）を示す図である。
【図３３】天然配列ＰＲＯ１５５５をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：４８）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：４８）はここでＤＮＡ７３７４４－１６６５と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。
【図３４】図３３に示す配列番号：４８のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ１５５５ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：４９）を示す図である。
【図３５】天然配列ＰＲＯ１０９６をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：５０）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：５０）はここでＤＮＡ６１８７０と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。
【図３６】図３５に示す配列番号：５０のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ１０９６ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：５１）を示す図である。
【図３７】天然配列ＰＲＯ２０３８をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：５２）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：５２）はここでＤＮＡ８３０１４と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。
【図３８】図３７に示す配列番号：５２のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ２０３８ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：５３）を示す図である。
【図３９】天然配列ＰＲＯ２２６２をコードするヌクレオチド配列を含むｃＤＮＡのヌクレオチド配列（配列番号：５４）を示す図であり、当該ヌクレオチド配列（配列番号：５４）はここでＤＮＡ８８２７３と命名されるクローンである。また、太字及び下線フォントで示したのは、各々開始及び停止コドンである。
【図４０】図３９に示す配列番号：５４のコード化配列から誘導された天然配列ＰＲＯ２２６２ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号：５５）を示す図である。

【図１】

TTCGTGACCCTTGAGAAAAGAGTTGGTGGTAAATGTGCCACGTCTTCTAAGAAGGGGGAGTCCTGAACTTGTCTG
AAGCCCTTGTCCGTAAGCCTTGAACTACGTTCTTAAATCTATGAAGTCGAGGGACCTTTCGCTGCTTTTGTAGGG
ACTTCTTTCCTTGCTTCAGCAACATGAGGCTTTTCTTGTGGAACGCGGTCTTGACTCTGTTCGTCACTTCTTTGA
TTGGGGCTTTGATCCCTGAACCAGAAGTGAAAATTGAAGTTCTCCAGAAGCCATTCATCTGCCATCGCAAGACCA
AAGGAGGGGATTTGATGTTGGTCCACTATGAAGGCTACTTAGAAAAGGACGGCTCCTTATTTCACTCCACTCACA
AACATAACAATGGTCAGCCCATTTGGTTTACCCTGGGCATCCTGGAGGCTCTCAAAGGTTGGGACCAGGGCTTGA
AAGGAATGTGTGTAGGAGAGAAGAGAAAGCTCATCATTCCTCCTGCTCTGGGCTATGGAAAAGAAGGAAAAGGTA
AAATTCCCCCAGAAAGTACACTGATATTTAATATTGATCTCCTGGAGATTCCAAATGGACCAAGATCCCATGAAT
CATTCCAAGAAATGGATCTTAATGATGACTGGAAACTCTCTAAAGATGAGGTTAAAGCATATTTAAAGAAGGAGT
TTGAAAAACATGGTGCGGTGGTGAATGAAAGTCATCATGATGCTTTGGTGGAGGATATTTTTGATAAAGAAGATG
AAGACAAAGATGGGTTTATATCTGCCAGAGAATTTACATATAAACACGATGAGTTATAGATACATCTACCCTT
TTAATATAGCACTCATCTTTCAAGAGAGGGCAGTCATCTTTAAAGAACATTTATTTTATACAATGTTCTTTCT
TGCTTTGTTTTTTATTTTATATATTTTTTCTGACTCCTATTTAAAGAACCCCTTAGGTTTCTAAGTACCCATTT
CTTTCTGATAAGTTATTGGGAAGAAAAAGCTAATTGGTCTTTGAATAGAAGACTTCTGGACAATTTTTCACTTTC
ACAGATATGAAGCTTTGTTTTACTTTCTCACTTATAAATTTAAAATGTTGCAACTGGGAATATACACGACGATGA
GACCAGGTTATAGCACAAATTAGCACCCTATATTTCTCGCTTCCCTCTATTTTCTCCAAGTTAGAGGTCAACATTT
GAAAAGCCTTTTGCAATAGCCCAAGGCTTGCTATTTTCATGTTATAATGAAATAGTTTATGTGTAACTGGCTCTG
AGTCTCTGCTTGAGGACCAGAGGAAAATGGTTGTTGGACCTGACTTGTTAATGGCTACTGCTTTACTAAGGAGAT
GTGCAATGCTGAAGTTAGAAACAAGGTTAATAGCCAGGCATGGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGA
GGCTGAGGCGGGCGGATCACCTGAGGTTGGGAGTTCGAGACCAGCCTGACCAACAGGAGAAACCCTATCTCTAC
TAAAAATACAAAGTAGCCCGGCGTGGTGATGCGTGCCTGTAATCCCAGCTACCGAGGAGGCTGAGGCGGCAGAATC
ACTTGAACCCGAGGCCGAGGTTGCGGTAAGCCGAGATCACCTNCAGCCTGGACACTCTGTCTCGAAAAAAGAAAA
GAACACGGTTAATACCATATNAATATGTATGCATTGAGACATGCTACCTAGGACTTAAGCTGATGAAGCTTGGCT
CCTAGTGATTGGTGGCCTATTATGATAAATAGGACAAATCATTTATGTTGAGTTTCTTTGTAATAAAATGTATC
AATATGTTATAGATGAGGTAGAAAGTTATATTTATATTCAATATTCACTTCTTAAGGCTAGCGGAATATCCTTCC
TGGTTCTTTAATGGGTAGTCTATAGTATATTATACTACAATAACATTGTATCATAAGATAAAGTAGTAAACCAGT
CTACATTTTCCCATTTCTGTCTCATCAAAAACTGAAGTTAGCTGGGTGTGGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCA
CTTTGGGGGCCAAGGAGGGTGGATCACTTGAGATCAGGAGTTCAAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCTTG
TCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCCAGGCGTGGTGGTGCACACCTGTAGTCCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGA
CAGGAGATTTGCTTGAACCCGGGAGGCGGAGGTTGCAGTGAGCCAAGATTGTGCCACTGCACTCCAGCCTGGGTG
ACAGAGCAAGACTCCATCTCAAAAAAAAAAAAAAGAAGCAGACCTACAGCAGCTACTATTGAATAAATACCTATC
CTGGATTTT

【図２】

シグナル配列	アミノ酸	1-20
Ｎ－グリコシル化部位	アミノ酸	176-180
小脳体槽的配列	アミノ酸	208-212
FKBP型ペプチジル－プロリルシス－トランスイソメラーゼ部位	アミノ酸	78-115; 118-132
EFハンドカルシウム結合ドメイン	140-160	191-204; 184-204;
S-100/GCa型カルシウム結合ドメイン	アミノ酸	183-204

MRLFLWNAVLTLFVTSLIGALIPEPEVKIEVLQKPFICHRKTKGGDLMLVHYEGYLEKDGSLFHSTHKHNNGQPI
WFTLGILEALKGWDQGLKGMCVGEKRKLIIPPALGYGKEGKGKIPPESTLIFNIDLLEIRNGPRSHESFQEMDLN
DDWKLSKDEVKAYLKKEFEKHGAVVNESHHDALVEDIFDKEDEDKDGFISAREFTYKHDEL

【図３】

TCCCGGACCCTGCCGCCCTGCCACTATGCCCGCCGCTCTATGCTGCTTGCCTGGGCTCTCCCCAGCCTCCTTCG
ACTCGGAGCGGCTCAGGAGACAGAAGACCCGGCCTGCTGCAGCCCCATAGTGCCCCGGAACGAGTGGAAGGCCCT
GGCATCAGAGTGCGCCCAGCACCTGAGCCTGCCCTTACGCTATGTGGTGGTATCGCACACGGCGGGCAGCAGCTG
CAACACCCCCGCCTCGTGCGCAGCAGCAGGCCCGGAATGTGCAGCACTACCACATGAAGACACTGGGCTGGTGCGA
CGTGGGCTACAACTTCCTGATTGGAGAAGACGGGCTCGTATACGAGGGCCGTGGCTGGAACTTCACGGGTGCCCA
CTCAGGTCACTTATGGAACCCCATGTCCATTGGCATCAGCTTCATGGGCAACTACATGGATCGGGTGCCCCACACC
CCAGGCCATCCGGGGCAGCCCAGGGTCTACTGGCCTGCGGTGTGGCTCAGGGAGCCCTGAGGTCCAACTATGTGCT
CAAAGGACACCGGGATGTGCAGCGTACACTCTCTCCAGGCAACCAGCTCTACCACCTCATCCAGAATTGGCCACA
CTACCGCTCCCCCTGAGGCCCTGCTGATCCGCACCCCATTCCTCCCCTCCCATGGCCAAAAACCCCACTGTCTCC
TTCTCCAATAAAGATGTAGCTC

【図４】

シグナルペプチド	アミノ酸	1-20
Ｎ－グリコシル化部位	アミノ酸	112-116

MSRRSMLLAWALPSLLRLGAAQETEDPACCSPIVPRNEWKALASECAQHLSLPLRYVVVSHTAGSSCNTPASCQQ
QARNVQHYHMKTLGWCDVGYNFLIGEDGLVYEGRGWNFTGAHSGHLWNPMSIGISFMGNYMDRVPTPQAIRAAQG
LLACGVAQGALRSNYVLKGHRDVQRTLSPGNQLYHLIQNWPHYRSP

【図５】

GTCGAAGGTTATAAAAGCTTCCAGCCAAACGGCATTGAAGTTGAAGATACAACCTGACAGCACAGCCTGAGATCT
TGGGGATCCCTCAGCCTAACACCCACAGACGTCAGCTGGTGGATTCCCGCTGCATCAAGGCCTACCCACTGTCTCC
ATGCTGGGCTCTCCCTGCCTTCTGTGGCTCCTGGCCGTGACCTTCTTGGTTCCCAGAGCTCAGCCCTTGGCCCCT
CAAGACTTTGAAGAAGAGGAGGCAGATGAGACTGAGACGGCGTGGCCGCCTTTGCCGGCTGTCCCCTGCGACTAC
GACCACTGCCGACACCTGCAGGTGCCCTGCAAGGAGCTACAGAGGGTCGGGCCGGCGGCCTGCCTGTCCCCAGGA
CTCTCCAGCCCCGCCCAGCCGCCCGACCCGCCGCGCGGCATGGGAGAAGTGCGCATTGCGGCCGAAGAGGGCCGCGCA
GTGGTCCACTGGTGTGCCCCCTTCTCCCCGGTCCCTCCACTACTGGCTGCTGCTTTGGGACGGCAGCGAGGCTGCG
CAGAAGGGGCCCCCGCTGAACGCTACGGTCCGCAGAGCCGAACTGAAGGGGCTGAAGCCAGGGGGCATTTATGTC
GTTTGCGTAGTGGCCGCTAACGAGGCCGGGGCAAGCCGCGTGCCCCAGGCTGGAGGAGAAGGCCTCGAGGGGGCC
GACATCCCTGCCTTCGGGCCTTGCAGCCGCCTTGCCGGTGCCCCCAACCCCCGCACTCTGGTCCACGCGGCCGTC
GGGGTGGGCACGGCCCTGGCCCTGCTAAGCTGTGCCGCCCTGGTGTGGCACTTCTGCCTGCGCGATCGCTGGGGC
TGCCCGCGCCGAGCCGCCGCCCGAGCCGCAGGGGCGCTCTGAAAGGGGCCTGGGGGCATCTCGGGCACAGACAGC
CCCACCTGGGGCGCTCAGCCTGGCCCCCGGGAAAGAGGAAAACCCGCTGCCTCCAGGGAGGGCTGGACGGCGAGC
TGGGAGCCAGCCCCAGGCTCCAGGGCCACGGCGGAGTCATGGTTTCTCAGGACTGAGCGCTTGTTTAGGTCCGGTA
CTTGGCGCTTTGTTTCCTGGCTGAGGTCTGGGAAGGAATAGAAAGGGGCCCCCAATTTTTTTTTAAGCGGCCAGA
TAATAAATAATGTAACCTTTGCGGTTAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【図６】

シグナルペプチド	アミノ酸	1-20
膜貫通ドメイン	アミノ酸	194-220
Ｎ－グリコシル化部位	アミノ酸	132-136

MLGSPCLLWLLAVTFLVPRAQPLAPQDFEEEEADETSTAWPPLPAVPCDYDHCRHLQVPCKELQRVGPAACLCPG
LSSPAQPPDPPRMGEVRIAAEEGRAVVHWCAPFSPVLHYWLLLWDGSEAAQKGPPLNATVRRAELKGLKPGGIYV
VCVVAANEAGASRVPQAGGRGLEGADIPAFGPCSRLAVPPNPRTLVHAAVGVGTALALLSCAALVWHFCLRDRWG
CPRRAAARAAGAL

【図７】

CGCCAAGCATGCAGTAAAGGCTGAAAATCTGGGTCACAGCTGAGGAAGACCTCAGACATGGAGTCCAGGATGTGG
CCTGCGCTGCTGCTGTCCCACCTCCTCCCTCTCTGGCCACTGCTGTTGCTGCCCCTCCCACCGCCTGCTCAGGGC
TCTTCATCCTCCCCCTCGAACCCCACCAGCCCCAGCCCGCCCCCGTGTGCCAGGGGAGGCCCCTCGGCCCCACGT
CATGTGTGCGTGTGGGAGCGAGCACCTCCACCAAGCCGATCTCCTCGGGTCCCAAGATACGTCGGCAAGTCCTG
CCTGGCACTGCACCCCGCAGCCACCCCATCAGGCTTTGAGGAGGGGCCGCCCTCATCCCAATACCCCTGGGCTATC
GTGTGGGGTCCCACCGTGTCTCGAGAGGATGAGGGGACCCCAACTCTGCCAATCCGGATTTCTGGACTATGGT
TTTGCAGCCCCTCATGGGCTCGCAACCCCACACCCCAACTCAGACTCCATGCGAGGTGATGGAGATGGGCTTATC
CTTGGAGAGGCACCTGCCACCCTGCGGCCATTCCTGTTCGGGGGCCGTGGGGAAGGTGTGGACCCCCAGCTCTAT
GTCACAATTACCATCTCCATCATCATTGTTCTCGTGGCCACTGGCATCATCTTCAAGTTCTGCTGGGACCGCAGC
CAGAAGCGACGCAGACCCTCAGGGCAGCAAGGTGCCCTGAGCAGGAGGAGACCAGCAGCCACTGACAGACCTG
TCCCCGGCTGGAGTCACTGTGCTGGGGGCCTTCGGGGACTCACCTACCCCCACCCCTGACCATGAGGAGCCCCGA
GGGGGACCCCGGCCTGGGATGCCCCACCCCAAGGGGGCTCCAGCCTTCCAGTTGAACCGGTGAGGGCAGGGGCAA
TGGGATGGGAGGGCAAAGAGGGAAGGCAACTTAGGTCTTCAGAGCTGGGGTGGGGGTGCCCTCTGGATGGGTAGT
GAGGAGGCAGGCGTGGCCTCCCACAGCCCCTGGCCCTCCCAAGGGGGCTGGACCAGCTCCTCTCTGGGAGGCACC
CTTCCTCTCCCAGTCTCTCAGGATCTGTGTCCTATTCTCTGCTGCCCATAACTCCAACTCTGCCCTCTTTGGTT
TTTTCTCATGCCACCTTGTCTAAGACAACTCTGCCCTCTTAACCTTGATTCCCCTCTTTGTCTTGAACTTCCCC
TTCTATTCTGGCCTACCCCCTGGTTCCTGACTGTGCCCTTTCCCTCTTCCTCTCAGGATTCCCCTGGTGAATCTG
TGATGCCCCCAATGTTGGGGTGCAGCCAAGCAGGAGGCCAAGGGAGCCGGCACAGCCCCCATCCCACTGAGGGTGG
GGCAGCTGTGGGGAGCTGGGGCCACAGGGGCTCCTGGCTCCTGCCCCTTGCACACCACCCGGAACACTCCCCAGC
CCCACGGGCAATCCTATCTGCTCGCCCTCCTGCAGGTGGGGCCTCACATATCTGTGACTTCGGGTCCCTGTCCC
CACCCTTGTGCACTCACATGAAAGCCTTGCACACTCACCTCCACCTTCACAGGCCATTTGCACACGCTCCTGCAC
CCTCTCCCGTCATACCGCTCCGCTCAGCTGACTCTCATGTTCTCTCGTCTCACATTTGCACTCTCTCCTTCCC
ACATTCTGTGCTCAGCTCACTCAGTGGTCAGCGTTTCCTGCACACTTTACCTCTCATGTGCGTTTCCCGGCCTGA
TGTTGTGGTGGTGTGCGGCGTGCTCACTCTCTCCCTCATGAACACCCACCCACCTCGTTTCCGCAGCCCCTGCGT
GCTGCTCCAGAGGTGGGTGGGAGGTGAGCTGGGGGCTCCTTGGGCCCTCATCGGTCATGGTCTCGTCCCATTCCA
CACCATTTGTTTCTCTGTCTCCCCATCCTACTCCAAGGATGCCGGCATCACCCTGAGGGCTCCCCCTGGGAATG
GGGTAGTGAGGCCCCAGACTTCACCCCCAGCCCACTGCTAAAATCTGTTTTCTGACAGATGGGTTTTGGGGAGTC
GCCTGCTGCACTACATGAGAAAGGGACTCCCATTTGCCCTTCCCTTTCTCCTACAGTCCCTTTTGTCTGTCTGT
CCTGGCTGTCTGTGTGTGTGCCATTCTCTGGACTTCAGAGCCCCCTGAGCCAGTCCTCCCTTCCCAGCCTCCCTT
TGGGCCTCCCTAACTCCACCTAGGCTGCCAGGGACCGGAGTCAGCTGGTTCAAGGCCATCGGGAGCTCTGCCTCC
AAGTCTACCCTTCCCTTCCCCGGACTCCCTCCTGTCCCCTCCTTTCCTCCCTCCTTCCTTCCACTCTCCTTCCTTT
TGCTTCCCTGCCCTTTCCCCCTCCTCAGGTTCTTCCCTCCTTCTCACTGGTTTTTCCACCTTCCTCCTTCCCTTCC
TTCCCTGGCTCCTAGGCTGTGATATATATTTTTGTATTATCTCTTTCTTCTTCTTGTGGTGATCATCTTGAATTA
CTGTGGGATGTAAGTTTCAAAATTTTCAAATAAAGCCTTTGCAAGATAA

【図８】

シグナルペプチド	アミノ酸	1-33
膜貫通ドメイン	アミノ酸	178-198
cAMP及びcGMP依存性プロテインキナーゼリン酸化部位	アミノ酸	210-214
Ｎ－ミリストイル化部位	アミノ酸	117-123; 154-160; 214-220
細胞接着配列	アミノ酸	149-152

MESRMWPALLLSHLLPLWPLLLLPLPPPAQGSSSSPRTPPAPARPPCARGGPSAPRHVCVWERAPPPSRSPRVPR
SRRQVLPGTAPPATPSGFEEGPPSSQYPWAIVWGPTVSRERDGGDPNSANPGFLDYGFAAPHGLATPHPNSDSMRG
DGDGLILGEAPATLRPFLFGGRGEGVDPQLYVTITISIIIVLVATGIIFKFCWDRSQKRRRPSGQQGALRQEESQ
QPLTDLSPAGVTVLGAFGDSPTPTPDHEEPRGGPRPGMPHPXGAPAFQLNR

【図９】

AGGGTCCCTTAGCCGGGCGCAGGGCGCGCAGCCCAGGCTGAGATCCGCGGCTTCCGTAGAAGTGAGCATGGCTGG
GCAGCGAGTGCTTCTTCTAGTGGGCTTCCTTCTCCCTGGGGTCCTGCTCTCAGAGGCTGCCAAAATCCTGACAAT
ATCTACAGTAGGTGGAAGCCATTATCTACTGATGGACCGGGTTTCTCAGATTCTTCAAGATCACGGTCATAATGT
CACCATGCTTAACCACAAAAGAGGTCCTTTTATGCCAGATTTTAAAAAGGAAGAAAAATCATATCAAGTTATCAG
TTGGCTTGCACCTGAAGATCATCAAAGAGAATTTAAAAAGAGTTTTGATTTCTTTCTGGAAGAAACTTTAGGTGG
CAGAGGAAAATTTGAAAACTTATTAAATGTTCTAGAATACTTGGCGTTGCAGTGCAGTCATTTTTTAAATAGAAA
GGATATCATGGATTCCTTAAAGAATGAGAACTTCGACATGGTGATAGTTGAAACTTTTGACTACTGTCCTTTCCT
GATTGCTGAGAAGCTTGGGAAGCCATTTGTGGCCATTCTTTCCACTTCATTCGGCTCTTTGGAATTTGGCTACC
AATCCCCTTGTCTTATGTTCCAGTATTCCGTTCCTTGCTGACTGATCACATGGACTTCTGGGGCCGAGTGAAGAA
TTTTCTGATGTTCTTTAGTTTCTGCAGGAGGCAACAGCACATGCAGTCTACATTTGACAACACCATCAAGGAACA
TTTCACAGAAGGCTCTAGGCCAGTTTTGTCTCATCTTTCTACTGAAAGCAGAGTTGTGGTTCATTAACTCTGACTT
TGCCTTTGATTTTGCTCGACCTCTGCTTCCCAACACTGTTTATGTTGGAGGCTTGATGGAAAAACCTATTAAACC
AGTACCACAAGACTTGGAGAACTTCATTGCCAAGTTTGGGGACTCTGGTTTTGTCCTTGTGACCTTGGGCTCCAT
GGTGAACACCTGTCAGAATCCGGAAATCTTCAAGGAGATGAACAATGCCTTTGCTCACCTACCCCAAGGGGTGAT
ATGGAAGTGTCAGTGTTCTCATTGGCCCAAAGATGTCCACCTGGCTGCAAATGTGAAAATTGTGGACTGGCTTCC
TCAGAGTGACCTCCTGGCTCACCCAAGCATCCGTCTGTTTGTCACCCACGGCGGGCAGAATAGCATAATGGAGGC
CATCCAGCATGGTGTGCCCATGGTGGGGATCCCCTCTCTTTGGAGACCAGCCTGAAAACATGGTCCGAGTAGAGC
CAAAAAGTTTGGTGTTTCTATTCAGTTAAAGAAGCTCAAGGCAGAGACATGGCTCTTAAGATGAAACAAATCAT
GGAAGACAAGAGATACAAGTCCGCGGCAGTGGCTGCCAGTGTCATCCTGCGCTCCCACCCGCTCAGCCCCACACA
GCGGCTGGTGGGCTGGATTGACCACGTCCTCCAGACAGGGGGCGCGACGCACCTCAAGCCCTATGTCTTTCAGCA
GCCCTGGCATGAGCAGTACCTGTTCGACGTTTTTGTGTTTCTGCTGGGGCTCACTCTGGGGACTCTATGGCTTTG
TGGGAAGCTGCTGGGCATGGCTGTCTGGTGGCTGCGTGGGCCAGAAAGGTGAAGGAGACATAAGGCCAGGTGCA
GCCTTGGCGGGGTCTGTTTGGTGGGCGATGTCACCATTTCTAGGGAGCTTCCCACTAGTTCTGGCAGCCCCATTC
TCTAGTCCTTCCTAGTTATCTCCTGTTTTCTTGAAGAACAGGAAAAATGGCCAAAAATCATCCTTTCCACTTGCTA
ATTTTGCTACAAATTCATCCTTACTAGCTCCTGCCTGCTAGCAGAAATCTTTCCAGTCCTCTTGTCCTCCTTTGT
TTGCCATCAGCAAGGGCTATGCTGTGATTCTGTCTCTGAGTGACTTGGACCACTGACCCTCAGATTTCCAGCCTT
AAAATCCACCTTCCTTCTCATGCGCCTCTCCGAATCACACCCTGACTCTTCCAGCCTCCATGTCCAGACCTAGTC
AGCCTCTCTCACTCCTGCCCCTACTATCTATCATGGAATAACATCCAAGAAAGCACCTTGCATATTCTTTCAGT
TTCTGTTTTGTTCTCCCACATATTCTCTTCAATGCTCAGGAAGCCTGCCCTGTGCTTGAGAGTTCAGGCCCGGAC
ACAGGCTCACAGGTCTCCACATTGGGTCCCTGTCTCTGGTGCCCAGAGTGAGCTCCTTCTTGGCTGAGCAGGCAT
GGAGACTGTAGGTTTCCAGATTTCCTGAAAAATAAAAGTTTACAGCGTTATCTCTCCCCAACCTCACTAA

【図１０】

シグナルペプチド	アミノ酸	1-19
膜貫通ドメイン	アミノ酸	483-504
N-グリコシル化部位	アミノ酸	52-56
チロシンキナーゼリン酸化部位	アミノ酸	68-75; 425-434
N-ミリストイル化部位	アミノ酸	16-22; 301-307; 370-376; 494-500
ロイシンジッパーパターン	アミノ酸	493-515
cAMP-グリコシル化部位	アミノ酸	241-294

MAGQRVLLLVGFLLPGVLLSEAAKILTISTVGGSHYLLMDRVSQILQDHGHNVTMLNHKRGPPMDDFKKEEKSYQ
VISWLAPEDHQREFKKSFDFFLEETLGGRGKFENLLNVLRYLALQCSHFLNRKDIMDSLKNENFDMVIVETFDYC
PFLIAEKLGKPFVAILSTSFGSLEFGLPIPLSYVPVFRSLLTDHMDFWGRVKNFLMFFSFCRRQQHMQSTFDNTI
KEHFTEGSRPVLSHLLLKAELWFINSDFAFDFARPLLPNTVYVGGLMEKPIKPVPQDLENFIAKFGDSGFVLVTL
GSMVNTCQNPEIFKEMMNAFAHLPQGVIWKCQCSHWPKDVHLAANVKIVDWLPQSDLLAHPSIRLFVTHGGQNSI
MEAIQHGVPMVGIPLFGDQPENMVRVEAKKPGVSIQLKKLKAETLALKMKQIMEDKRYKSAAVAASVILRSHPLS
PTQRLVGWIDHVLQTGGATHLKPYVFQQPWHEQYLFDVFVFLLGLTLGTLWLCGKLLGMAVWWLRGARKVKET

【図１１】

CGCGGCCGGGCCGCCGGGGTGAGCGTGCCGAGGCGGCTGTGGCGCAGGCTTCCAGCCCCCACCATGCCGTGGCCC
CTGCTGCTGCTGCTGGCCGTGAGTGGGGCCCAGACAACCCGGCCATGCTTCCCCGGGTGCCAATGCGAGGTGGAG
ACCTTCGGCCTTTTCGACAGCTTCAGCCTGACTCGGGTGGATTGTAGCGGCCTGGGCCCCCACATCATGCCGGTG
CCCATCCCTCTGGACACAGCCCACTTGGACCTGTCCTCCAACCGGCTGGAGATGGTGAATGAGTCGGTGTTGGCGGG
CCGGGCTACACGACGTTGGCTGGCCTGGATCTCAGCCACAACCTGCTCACCAGCATCTCACCCACTGCCTTCTCC
CGCCTTCGCTACCTGGAGTCGCTTGACCTCAGCCACAATGGCCTGACAGCCCTGCCAGCCGAGAGCTTCACCAGC
TCACCCCTGAGCGACGTGAACCTTAGCCACAACCAGCTCCGGGAGGTCTCAGTGTCTGCCTTCACGACGCACAGT
CAGGGCCGGGCACTACACGTGGACCTCTCCCACAACCTCATTCACCGCCTCGTGCCCCACCCCACGAGGCCCGCC
CTGCCTGCGCCCACCATTCAGAGCCTGAACCTGGCCTGGAACCGGCTCCATGCCGTGCCCAACCTCCGAGACTTG
CCCCTGCGCTACCTGAGCCTGGATGGGAACCCCTCTAGCTGTCATTGGTCCGGGTGCCTTCGCGGGGCTGGGAGGC
CTTACACACCTGTCTCTGGCCAGCCTGCAGAGGCTCCCTGAGCTGGCGCCCAGTGGCTTCCGTGAGCTACCGGGC
CTGCAGGTCCTGGACCTGTCGGGCAACCCCAAGCTTAACTGGGCAGGAGCTGAGGTGTTTTCAGGCCTGAGCTCC
CTGCAGGAGCTGGACCTTTCGGGCACCAACCTGGTGCCCCTGCCTGAGGCGCTGCTCCTCCACCTCCCGGCACTG
CAGAGCGTCAGCGTGGGCCAGGATGTGCGGTGCCGGCGCCTGGTGCGGGAGGGCACCTACCCCCGGAGGCCTGGC
TCCAGCCCCAAGGTGCCCCTGCACTGCGTAGACACCCGGGAATCTGCTGCCAGGGGCCCCACCATCTTGTGACAA
ATGGTGTGGCCCAGGGCCACATAACAGACTGCTGTCCTGGGCTGCCCAGGTCCCGAGTAACTTATGTTCAATGT
GCCAACACCAGTGGGGAGCCCGCAGGCCTATGTGGCAGCGTCACCACAGGAGTTGTGGGCCTAGGAGAGGCTTTG
GACCTGGGAGCCACACCTAGGAGCAAAGTCTCACCCCTTTGTCTACGTTGCTTCCCCAAACCATGAGCAGAGGGA
CTTCGATGCCAAACCAGACTCGGGTCCCCTCCTGCTTCCCTTCCCCACTTATCCCCCAAGTGCCTTCCCTCATGC
CTGGGCCGGCCTGACCCGCAATGGGCAGAGGGTGGGTGGGACCCCCTGCTGCAGGGCAGAGTTCAGGTCCACTGG
GCTGAGTGTCCCCTTGGGCCCATGGCCCAGTCACTCAGGGGCGAGTTTCTTTTCTAACATAGCCCTTTCTTTGCC
ATGAGGCCATGAGGCCCGCTTCATCCTTTTCTATTTCCCTAGAACCTTAATGGTAGAAGGAATTGCAAAGAATCA
AGTCCACCCTTCTCATGTGACAGATGGGGAAACTGAGGCCTTGAGAAGGAAAAAGGCTAATCTAAGTTCCTGCGG
GCAGTGGCATGACTGGAGCACAGCCTCCTGCCTCCCAGCCCGGACCCAATGCACTTTCTTGTCTCCTCTAATAAG
CCCCACCCTCCCCGCCTGGGCTCCCCTTGCTGCCCTTGCCTGTTCCCCATTAGCACAGGAGTAGCAGCAGCAGGA
CAGGCAAGAGCCTCACAAGTGGGACTCTGGGCCTCTGACCAGCTGTGCGGCATGGGCTAAGTCACTCTGCCCTTC
GGAGCCTCTGGAAGCTTAGGGCACATTGGTTCCAGCCTAGCCAGTTTCTCACCCTGGGTTGGGGTCCCCCAGCAT
CCAGACTGAAAACCTACCCATTTTCCCCTGAGCATCCTCTAGATGCTGCCCCAAGGAGTTGCTGCAGTTCTGGAG
CCTCATCTGGCTGGGATCTCCAAGGGGCCTCCTGGATTCAGTCCCCACTGGCCCTGAGCACGACAGCCCTTCTTA
CCCTCCCAGGAATGCCGTGAAAGGAGACAAGGTCTGCCCGACCCATGTCTATGCTCTACCCCCAGGGCAGCATCT
CAGCTTCCGAACCCTGGGCTGTTTCCTTAGTCTTCATTTTATAAAAGTTGTTGCCTTTTTAACGGAGTGTCACTT
TCAACCGGCCTCCCCTACCCCTGCTGGCCGGGGATGGAGACATGTCATTTGTAAAAGCAGAAAAAGGTTGCATTT
GTTCACTTTTGTAATATTGTCCTGGGCCTGTGTTGGGGTGTTGGGGGAAGCTGGGCATCAGTGGCCACATGGGCA
TCAGGGGCTGGCCCCACAGAGACCCCACAGGGCAGTGAGCTCTGTCTTCCCCCACCTGCCTAGCCCATCATCTAT
CTAACGGTCCTTGATTTAATAAACACTATAAAAGGTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAA

【図１２】

シグナルペプチド	アミノ酸	1-16
膜貫通ドメイン	アミノ酸	215-232; 287-304
N-グリコシル化部位	アミノ酸	74-78; 137-141
グリコサミノグルカン検着部位	アミノ酸	45-49
チロシンキナーゼリン酸化部位	アミノ酸	318-326
N-ミリストイル化部位	アミノ酸	13-19; 32-38; 88-94; 214-220; 223-229
ロイシンジッパーパターン	アミノ酸	284-306

MPWPLLLLLAVSGAQTTRPCPPGCQCEVETPGLFDSFSLTRVDCSGLGPHIMPVPIPLDTAHLDLSSNRLEMVNE
SVLAGPGYTTLAGLDLSHNLLTSISPTAPSRLRVLESLDLSHNGLTALPAESPTSSPLSDVNLSHNQLREVSVSA
FTTHSQCRALHVDLSHNLIHRLVDPHPTRAGLPAPTIQSLNLAWNRLHAVPNLRDLPLRYLSLDGNPLAVIGPGAF
AGLGGLTHLSLASLQRLPELAPSGPRRLPGLQVLDLSGNPKLNWAGAEVFSGLSSISQELDLSGTNLVPLPEALLL
HLPALQSVSVGQDVRCRRLVREGTYPRRPGSSPKVPLHCVDTRESAARGPTIL

【図１３】

CAGGACCAGGTCTTCCTACGCTGGAGCAGCGGGGAGACAGCCACCATGCACATCCTCGTGGTCCATGCCATGGTG
ATCCTGCTGACGCTGGGCCCGCCTCGAGCCGACGACAGCGAGTTCCAGGCGCTGCTGGACATCTGGTTTCCGGAG
GAGAAGCCACTGCCCCACCGCCTTCCTGGTGGACACATCGGAGGAGGCGCTGCTGCTTCCTGACTGGCTGAAGCTG
CGCATGATCCGTTCTGAGGTGCTCCGCCTGGTGGACGCCGCCCTGCAGGACCTGGAGCCGCAGCAGCTGCTGCTG
TTCGTGCAGTCGTTTGGCATCCCCGTGTCCAGCATGAGCAAACTCCTCCAGTTCCTGGACCAGGCAGTGGCCCAC
GACCCCCAGACTCTGGAGCAGAACATCATGGACAAGAATTACATGGCCCACCTGGTGGAGGTCCAGCATGAGCGC
GGCGCCTCCGGAGGCCAGACTTTCCACTCCTTGCTCACAGCCTCCCTGCCGCCCCCGCCGAGACAGCACAGAGGCA
CCCAAACCAAAGAGACAGCCCAGAGCAGCCCATAGGCCAGGGCCGGATTCGGGTGGGGACCCAGCTCCGGGTGCTG
GGCCCTGAGGACGACCTGGCTGGCATGTTCCTCCAGATTTCCCGCTCAGCCCGGACCCTCGGTGGCAGAGCTCC
AGTCCCCGCCCCGTGGCCCTCGCCCTGCAGCAGGCCCTGGGCCAGGAGCTGCCCGCGTCGTCCAGGGCAGCCCC
GAGGTGCCGGGCATCACGGTGCGTGTCCTGCAGGCCCTCGCCACCCTGCTCAGCTCCCCACACGGCGGTGCCCTG
GTGATGTCCATGCACCGTAGCCACTTCCTGGCCTGCCCGCTGCTGCGCCAGCTCTGCCAGTACCAGCGCTGTGTG
CCACAGGACACCGGCTTCTCCTCGCTCTTCCTGAAGGTGCTCCTGCAGATGCTGCAGTGGCTGGACAGCCCTGGC
GTGGAGGGCGGGCCCCTGCGGGCACAGCTCAGGATGCTTGCCAGCCAGGCCTCAGCCGGGCGCAGGCTCAGTGAT
GTGCGAGGGGGGCTCCTGCGCCTGGCCGAGGCCCTGGCCTTCCGTCAGGACCTGGAGGTGGTCAGCTCCACCGTC
CGTGCCGTCATCGCCACCCTGAAGGTCTGGGGAGCAGTGCAGCGTGGAGCCGGACCTGATCAGCAAAGTCCTCCAG
GGGCTGATCGAGGTGAGGTCCCCCCACCTGGAGGAGCTGCTGACTGCATTCTTCTCTGCCACTGCGGATGCTGCC
TCCCCGTTTCCAGCCTGTAAGCCCGTTGTGGTGGTGAGCTCCCTGCTGCTGCAGGAGGAGGAGCCCCTGGCTGGG
GGGAAGCCGGGTGCGGACGGTGGCAGCCTGGAGGCCGTGCGGCTGGGGCCCTCGTCAGGCCTCCTAGTGGACTGG
CTGGAAATGCTGGACCCCGAGGTGGTCAGCAGCTGCCCCGACCTGCAGCTCAGGCTGCTCTTCTCCCGGAGGAAG
GGCAAAGGTCAGGCCCAGGTGCCCTCGTTCCGTCCCTACCTCCTGACCCTCTTCACGCATCAGTCCAGCTGGCCC
ACACTGCACCAGTGCATCCGAGTCCTGCTGGGCAAGAGCCGGGAACAGAGGTTCGACCCCTCTGCCTCTCTGGAC
TTCCTCTGGGCCTGCATCCATGTTCCTCGCATCTGGCAGGGGCGGACCAGCGCACCCCGCAGAAGCGGCGGGAG
GAGCTGGTGCTGCGGGTCCAGGGCCCGGAGCTCATCAGCCTGGTGGAGCTGATCCTGGCCGAGGCGGAGACGCGG
AGCCAGGACGGGGACACAGCCGCCTGCAGCCTCATCCAGGCCCGGCTGCCCCTGCTGCTCAGCTGCTGCTGTGGG
GACGATGAGAGTGTCAGGAAGGTGACGGAGCACCTGTCAGGCTGCATCCAGCAGTGGGGAGACAGCGTGCTGGGA
AGGCGCTGCCGAGACCTTCTCCTGCAGCTCTACCTACAGCGGCCGGAGCTGCGGGTGCCCGTGCCTGAGGTCCTA
CTGCACAGCGAAGGGGCTGCCAGCAGCAGCGTCTGCAAGCTGGACGGACTCATCCACCGCTTCATCACGCTCCTT
GCGGACACCAGCGACTCCCGGGCGTTGGAGAACCGAGGGGCGGATGCCAGCATGGCCTGCCGGAAGCTGGCGGTG
GCGCACCCGCTGCTGCTGCTCAGGCACCTGCCCATGATCGCGGCGCTCCTGCACGGCCGCACCCACCTCAACTTC
CAGGAGTTCCGGCAGCAGAACCACCTGAGCTGCTTCCTGCACGTGCTGGGCCTGCTGGAGCTGCTGCAGCCGCAC
GTGTTCCGCAGCGAGCACCAGGGGGCGCTGTGGGACTGCCTTCTGTCCTTCATCCGCCTGCTGCTGAATTACAGG
AAGTCCTCCCGCCATCTGGCTGCCTTCATCAACAAGTTTGTGCAGTTCATCCATAAGTACATTACCTACAATGCC
CCAGCAGCCATCTCCTTCCTGCAGAAGCACGCCGACCCGCTCCACGACCTGTCCTTCGACAACAGTGACCTGGTG
ATGCTGAAATCCCTCCTTGCAGGGCTCAGCCTGCCCAGCAGGGACGACAGGACCGACCGAGGCCTGGACGAAGAG
GGCGAGGAGGAGAGCTCAGCCGGCTCCTTGCCCCTGGTCAGCGTCTCCCTGTTCACCCCTCTGACCGCGGCCGAG
ATGGCCCCCTACATGAAACGGCTTTCCCGGGGCCAAACGGTGGAGGATCTGCTGGAGGTTCTGAGTGACATAGAC
GAGATGTCCCGGCGGAGACCCGAGATCCTGAGCTTCTTCTCGACCAACCTGCAGCGGCTGATGAGCTCGGCCGAG
GAGTGTTGCCGCAACCTCGCCTTCAGCCTGGCCCTGCGCTCCATGCAGAACAGCCCCAGCATTGCAGCCGCTTTC
CTGCCCACGTTCATGTACTGCCTGGGCAGCCAGGACTTTGAGGTGGTGCAGACGGCCCTCCGGAACCTGCCTGAG
TACGCTCTCCTGTGCCAAGAGCACGCGGCTGTGCTGCTCCACCGGGCCTTCCTGGTGGGCATGTACGGCCAGATG
GACCCCAGCGCGCAGATCTCCGAGGCCCTGAGGATCCTGCATATGGAGGCCGTGATGTGAGCCTGTGGCAGCCGA
CCCCCCTCCAAGCCCGGCCCGTCCCGTCCCCGGGGATCCTCGAGGCAAAGCCCAGGAAGCGTGGGCGTTGCTGG
TCTGTCCGAGGAGGTGAGGGCGCCGAGCCCTGAGGCCAGGCAGGCCCAGGAGCAATACTCCGAGCCCTGGGGTGG
CTCCGGGCCGGCCGCTGGCATCAGGGGCCGTCCAGCAAGCCCTCATTCACCTTCTGGGCCACAGCCCTGCCGCGG
AGCGGCGGATCCCCCCGGGCATGGCCTGGGCTGGTTTTGAATGAAACGACCTGAACTGTCAA

【図１５】

CCGGGCCATGCAGCCTCGGCCCCGCGGGCGCCCGCCGCCGCACCCGAGGAG**ATG**AGGCTCCGCAATGGCACCTTCC
TGACGCTGCTGCTCTTCTGCCTGTGCGCCTTCCTCTCGCTGTCCTGGTACGCGGCACTCAGCGCCCAGAAAGGCG
ACGTTGTGGACGTTTACCAGCGGGAGTTCCTGGCGCTGCGCGATCGGTTGCACGCAGCTGAGCAGGAGAGCCTCA
AGCGCTCCAAGGAGCTCAACCTGGTGCTGGACGAGATCAAGAGGGCCGTGTCAGAAAGGCAGGCGCTGCGAGACG
GAGACGGCAATCGCACCTGGGGCCGCCTAACAGAGGACCCCCGATTGAAGCCGTGGAACGGCTCACACCGGCACG
TGCTGCACCTGCCCCACCGTCTTCCATCACCTGCCACAGCCTGCTGGCCAAGGAGAGCAGTCTGCAGCCCGCGGTGC
GCGTGGGCCAGGGCCGCACCGGAGTGTCGGTGGTGATGGGCATCCCGAGCGTGCGGCGCGAGGTGCACTCGTACC
TGACTGACACTCTGCACTCGCTCATCTCCGAGCTGAGCCCGCAGGAGAAGGAGGACTCGGTCATCGTGGTGCTGA
TCGCCGAGACTGACTCACAGTACACTTCGGCAGTGACAGAGAACATCAAGGCCTTGTTCCCCACGGAGATCCATT
CTGGGCTCCTGGAGGTCATCTCACCCTCCCCCCACTTCTACCCTGACTTCTCCGCCTCCGAGAGTCCTTTGGGG
ACCCCAAGGAGAGAGTCAGGTGGAGGACCAAACAGAACCTCGATTACTGCTTCCTCATGATGTACGCGCAGTCCA
AAGGCATCTACTACGTGCAGCTGGAGGATGACATCGTGGCCAAGCCCAACTACCTGAGCACCATGAAGAACTTTG
CACTGCAGCAGCCTTCAGAGGACTGGATGATCCTGGAGTTCTCCCAGCTGGGCTTCATTGGTAAGATGTTCAAGT
CGCTGGACCTGAGCCTGATTGTAGAGTTCATTCTCATGTTCTACCGGGACAAGCCCATCGACTGGCTCCTGGACC
ATATTCTGTGGGTGAAAGTCTGCAACCCCGAGAAGGATGCGAAGCACTGTGACGGCAGAAAGCCAACCTGCGGA
TCCGCTTCAAACCGTCCCTCTTCCAGCACGTGGGCACTCACTCCTCGCTGGCTGGCAAGATCCAGAAACTGAAGG
ACAAAGACTTTGGAAAGCAGGCGCTGCGGAAGGAGCATGTGAACCCGCCAGCAGAGGTGAGCACGAGCCTGAAGA
CATACCAGCACTTCACCCTGGAGAAAGCCTACCTGCGCGAGGACTTCTTCTGGGCCTTCACCCCTGCCGCGGGGG
ACTTCATCCGCTTCCGCTTCTTCCAACCTCTAAGACTGGAGCGGTTCTTCTTCCGCAGTGGGAACATCGAGCACC
CGGAGGACAAGCTCTTCAACACGTCTGTGGAGGTGCTGCCCTTCGACAACCCTCAGTCAGACAAGGAGGCCCTGC
AGGAGGCCGCACCGCCACCCTCCGGTACCCTCGGAGCCCCGACGGCTACCTCCAGATCGGCTCCTTCTACAAGG
GAGTGGCAGAGGGAGAGGTGGACCCAGCCTTCGGCCCTCTGGAAGCACTGCGCCTCTCGATCCAGACGGACTCCC
CTGTGTGGGTGATTCTGAGCGAGATCTTCCTGAAAAAGGCCGACT**AA**GCTGCGGGCTTCTGAGGGTACCCTGTGG
CCAGCCCTGAAGCCCACATTTCTGGGGGTGTCGTCACTGCCGTCCCCGGAGGGCCAGATACGGCCCCGCCCAAAG
GGTTCTGCCTGGCGTCGGGCTTGGGCCGGCCTGGGGTCCGCCGCTGGCCCGGAGGCCCAGGCCTTCCCAGACCA
CCCGCCCGCCGGGCCGCGGAGGAGGCAGGCGGCCCCCACACTGTGCCTGAGGCCCGGAACCGTTCGCACCCGGCC
TGCCCCAGTCAGGCCGTTTTAGAAGAGCTTTTACTTGGGCGCCCGCCGTCTCTGCGCGAACACTGAAATGCATA
TACTACTTTATGTGCTGTGTTTTTTATTCTTGCATACATTTGATTTTTTCACGTAAGTCCACATATACTTCTATA
AGAGCGTGACTTGTAATAAAGGGTTAATGAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAA

【図１６】

シグナルペプチド	アミノ酸	1-23
N-グリコシル化部位	アミノ酸	5-9; 87-91; 103-107; 465-469
N-ミリストイル化部位	アミノ酸	6-12; 136-142; 370-376; 509-515

MRLRNGTFLTLLLFCLCAPLSLGWYAALSGQKGDVVDVVQREPLALRDRLHAAEQESLKRSKRLNLVLDEIKRAV
SERQALRDGDGNRTWGRLTEDPRLKPWNGSHRHVLHLPTVFFHLPHLLAKESSLQPAVRVQQGRTGVSVVMGIPS
VRREVHSYLTDTLHSLISELSPQEKEDSVIVVLIAETDSQYTSAVTENIKALFPTEIHSGLLEVISPSPHFVPDF
SRLRESFGDPKERVRWRTKQNLDYCFLMMYAQSKGIYYVQLEDDIVAKFNYLSTMKNFALQQPSEDWMILEFSQL
GFIGKMFKSLDLSLIVEFILMFYRDKPIDWLLDHILWVKVCNPEKDAKHCDRQKANLRIRFKPSLPQHVGTHSSL
AGKIQKLKDKDFGKQALRKEHVNPPAEVSTSLKTYQHFTLEKAYLREDFFWAFTPAAGDPIRFFRFQPLRLERFF
FRSGNIEHPEDKLFNTSVEVLPFDNPQSDKEALQEGRTATLRYFRSPDGYLQIGSFYKGVAEGEVDPAFGPLEAL
RLSIQTDSPVWVILSEIFLKKAD

【図１７】

GCACCGCAGACGGCGCGGATCGCAGGGAGCCGGTCCGCCGCCGGAACGGGAGCCTGGGTGTGCGTGTGGAGTCCG
GACTCGTGGGAGACGATCGCG**ATG**AACACGGTGCTGTCGCGGGCGAACTCACTGTTCGCCTTCTCGCTGAGCGTG
ATGGCGGCGCTCACCTTCGGCTGCTTCATCACCACCGCCTTCAAAGACAGGAGCGTCCCGGTGCGGCTGCACGTC
TCGCGGATCATGCTAAAAAATGTAGAAAGATTTCACTGGACCTAGAGAAAGAAGTGATCTGGGATTTATCACATTT
GATATAACTGCTGATCTAGAGAATATATTTGATTGGAATGTTAAGCAGTTGTTTCTTTATTTATCAGCAGAATAT
TCAACAAAAAATAATGCTCTGAACCAAGTTGTCCTATGGGACAAGATTGTTTTGAGAGGTGATAATCCGAAGCTG
CTGCTGAAAGATATGAAAACAAAATATTTTTTCTTTGACGATGGAAATGGTCTCAAGGGAAACAGGAATGTCACT
TTGACCCTGTCTTGGAACGTCGTACCAAATGCTGGAATTCTACCTCTTGTGACAGGATCAGGACACGTATCTGTC
CCATTTCCAGATACATATGAAATAACGAAGAGTTAT**TAA**ATTATTCTGAATTTGAAACAAAAA

【図１８】

シグナルペプチド	アミノ酸	1-25
膜貫通ドメイン	アミノ酸	149-164
N-グリコシル化部位	アミノ酸	141-145
N-ミリストイル化部位	アミノ酸	25-31; 135-141
原核生物膜リポタンパク質結合部位	アミノ酸	16-27
細胞接着配列	アミノ酸	112-115
TonB依存性受容体タンパク質シグネチャー1	アミノ酸	1-21

MNTVLSRANSLFAFSLSVMAALTFGCFITTAFKDRSVPVRLHVSRIMLKNVEDFTGPRERSDLGFITFDITADLE
NIFDWNVKQLFLYLSAEYSTKNNALNQVVLWDKIVLRGDNPKLLLKDMKTKYFFFDDGNGLKGNRNVTLTLSWNV
VPNAGILPLVTGSGHVSVPFPDTYEITKSY

【図１９】

GACCGGTCCCTCCGGTCCTGGATGTGCGGACTCTGCTGCAGCGAGGGCTGCAGGCCCGCCGGGCGGTGCTCACCG
TGCCCTGGCTGGTGGAGTTTCTCTCCTTTGCTGACCATGTTGTTCCCTTGCTGGAATATTACCGGGACATCTTCA
CTCTCCTGCTGCGCCTGCACCGGAGCTTGGTGTTGTCGCAGGAGAGTGAGGGGAAG**ATG**TGTTTCCTGAACAAGC
TGCTGCTACTTGCTGTCCTGGGCTGGCTTTTCCAGATTCCCACAGTCCCTGAGGACTTGTTCTTTCTGGAAGAGG
GTCCCTCATATGCCTTTGAGGTGGACACAGTAGCCCCAGAGCATGGCTTGGACAATGCGCCTGTGGTGGACCAGC
AGCTGCTCTACACCTGCTGCCCCTACATCGGAGAGCTCCGGAAACTGCTCGCTTCGTGGGTGTCAGGCAGTAGTG
GACGGAGTGGGGGCTTCATGAGGAAAATCACCCCCACCACTACCACGCCTGGGAGCCCAGCCTTCCCAGACCA
GCCAGGGGCTGCAGGCACAGCTCGCCCAGGCCTTTTTCCACAACCAGCCGCCCTCCTTGCGCCGGACCGTAGAGT
TCGTGGCAGAAAGAATTGGATCAAACTGTGTCAAACATATCAAGGCTACACTGGTGGCAGATCTGGTGCGCCAGG
CAGAGTCACTTCTCCAAGAGCAGCTGGTGACACAGGGAGAGGAAGGGGGAGACCCAGCCCAGCTGTTGGAGATCT
TGTGTTCCCAGCTGTGCCCTCACGGGGCCCAGGCATTGGCCCTGGGGCGGGAGTTCTGTCAAAGGAAGAGCCCTG
GGGCTGTGCGGCGCTGCTTCCAGAGGAGACCCCGGCAGCCGTTCTGAGCAGTGCAGAGAACATTGCTGTGGGGC
TTGCAACAGAGAAAGCCTGTGCTTGGCTGTCAGCCAACATCACAGCACTGATCAGGAGGGAGGTGAAAGCAGCAG
TGAGTCGCACACTTCGAGCCCAGGGTCCTGAACCTGCTGCCCGGGGGGAGCGGAGGGGCTGCTCCCGCGCC**TGA**C
GTGCTCTCCTTGGCCGTGGGGCCACGGGACCCTGACGAGGGAGTCTCCCCAGAGCATCTGGAACAGCTCCTAGGC
CAGCTGGGCCAGACGCTGCGGTGCCGCCAGTTCCTGTGCCCACCTGCTGAGCAGCATCTGGCAAAGTGCTCTGTG
GAGTTAGCTTCCCTCCTCGTTGCAGATCAAATTCCTATCCTAGGGCCCCCGCCACAGTACAGGCTGGAGAGAGGG
CAGGCTCGAAGGCTTCTGCACATGCTGCTTTCCTTGTGGAAGGAAGACTTTCAGGGGCCGGTTCCGCTGCAGCTG
CTGCTGAGCCCAAGAAATGTGGGGCTTCTGGCAGACACAAGGCCAAGGGAGTGGGACTTGCTGCTATTCTTGCTA
CGGGAGCTGGTGGAGAAGGGTCTGATGGGACGGATGGAGATAGAGGCCTGCCTGGGCAGCCTCCACCAGGCCCAG
TGGCCAGGGGACTTTGCTGAAGAATTAGCAACACTGTCTAATCTGTTTCTAGCCGAGCCCCACCTGCCAGAACCC
CAGCTAAGAGCCTGTGAGTTGGTGCAGCCAAACCGGGGCACTGTGCTGGCCCAGAGCTAGGGCTGAGAAGTGGCC
CTGCCTTGGGCATTGCACCAGAACCCTGGACCCCCGCCTCACGAGGAGGCCCAAGTGCCCAATGCAGACCCTCAC
TGGTTGGGGTGTAGCTGGGTCTACAGTCAGACTTCCTGCTCTAAGGGTGTCACTGCCTGGCATCCCACCACGCGA
ATCCTAGAGGAAGGAGAGTTGGCCTGATTTGGGATTATGGCAGAAAAGTCCAGAGATGCCAGTCCTGGAGTAGAA
GAGGTGGTGTTTGTTTATCTCTTGGATACTAAATGAAATGAGGTGTGTGGGCTTGTCAACACAGAATTCAAGCCT
CATTTGCTATCCCAGCATCTCTTAAAACTTTGTAGTCTTGGAATTCATGACAGAGGCAAATGACTCCTGCTTAAC
TTATGAAGAAAGTTAAAACATGAATCTTGGGAGTCTACATTTTCTTATCACCAGGAGCTGGACTGCCATCTCCTT
ATAAATGCCTAACACAGGCCGGGTCTGGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCACTTTGAGAGGCCTGAGGTCGGCGG
ACTGCCTGAGGTCAGGAATTCAAGACCAGCCTGGCCAACATGGCAAAACCCCATCTCTACTAAAAATAAAAAAAT
TATTAGCTGGGCATGGTGGTGTGTGCCTGTAATCCCAGCTACTCAGGAGGATGAGGCAGGAGACCTGCTTGAACC
TGGAGGTGGAGGTTGCAGTGAGCCGAGGTCGCACCACTGCACTCCAGTCTGGGTAACAGAGCGAGACTTTCTAGA
AAAAGCCTAACAAACAGATAAGGTAGGACTCAACCAACTGAAACCTGACTTTCCCCCTGTACCTTCAGCCCCCTGT
GCAGGTAGTAACCTCTTGAGACCTCTCCCTGACCAGGGACCAAGCACAGGGCATTTAGAGCTTTTAGAATAAAC
TGGTTTTCTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGGCGGCCGCCCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
TTTTTTTTTTTTTTTAAAAAGGGCTTTTATTAAAATTCTCCCCACACGATGGCTCCTGCAATCTGCCACAGCTCT
GGGGCGTGTCCTGTAGGGAAAGGCCCTGTTTTCCCTGAGGCGGGGCTGGGCTTGTCCATGGGTCCGCGGAGCTGG
CCGTGCTTGGCGCCCTGGCGTGTGTCTAGCTGCTTCTTGCCGGGCACAGAGCTGCGGGGTCTGGGGGCACCGGGA
GCTAAGAGCAGGCTCTGGTGCAGGGGTGAGGCCTGTCTCTTAACCGACACCCTGAGGTGCTCCTGAGATGCTGG
GTCCACCCTGAGTGGCACGGGGAGCAGCTGTGGCCGGTGCTCCTTCYTAGGCCAGTCCTGGGGAAACTAAGCTCG
GGCCCTTCTTTGCAAAGACCGAGGATGGGGTGGGTGTGGGGACTCATGGGGAATGGCCTGAAGAGCTACGTGTG
AAGAGGGCGCCGGTTTGTTGGCTGCAGCGGCCTGGAGCGCCTCTCTCCTGAGCCTCAGTTTCCCTTTCCGTCTAA
TGAAGAACATGCCGTCTCGGTGTCTCAGGGCTATTAGGACTTGCCCTCAGGAAGTGGCCTTGGACGAGCGTCATG
TTATTTTCACAACTGTCCTGCGACGTTGGCCTGGGCACGTCATGGAATGGCCCATGTCCCTCTGCTGCGTGGACG
TCGCGGTCGGGAGTGCGCAGCCAGAGGCGGGGCCAGACGTGCGCCTGGGGGTGAGGGAGGCGCCCCGGGAGGGC
CTCACAGGAAGTTGGGCTCCCGCACCACCAGGCAGGGCGGGCTCCGCCGCCGCCGCCACCACCGTCCAGGG
GCCGGTAGACAAAGTGGAAGTCGCGCTTGGGCTCGCTGCGCAGCAGGTAGCCCTTGATGCAGTGCGGCAGCGCGT
CGTCCGCCAGCTGGAAGCAGCGCCCGTCCACCAGCACGAACAGCCGGTGCGCCT

【図２０】

シグナルペプチド	アミノ酸	1-18
N グリコシル化部位	アミノ酸	244-248
ミクロボディC端末標的シグナル	アミノ酸	278-282

MCFLNKLLLLAVLGWLFQIPTVPEDLFFLEEGPSYAFEVDTVAPEHGLDNAPVVDQQLLYTCCPYIGELRKLLAS
WVSGSSGRSGGFMRKITPTTTSLGAQPSQTSQGLQAQLAQAFFHNQPPSLRRTVEFVAERIGSNCVKHIKATLV
ADLVRQAESLLQEQLVTQGEEGGDPAQLLEILCSQLCPHGAQALALGREFCQRKSPGAVRALLPEETPAAVLSSA
ENIAVGLATEKACAWLSANITALIRREVKAAVSRTLRAQGPEPAARGERRGCSRA

【図２１】

GCCGAGTGGGACAAAGCCTGGGGCTGGGCGGGGGCC**ATG**GCGCTGCCATCCCGAATCCTGCTTTGGAAACTTGTG
CTTCTGCAGAGCTCTGCTGTTCTCCTGCACTCAGCGGTGGAGGAGACGCACGCGGGGCTGTACACCTGCAACCTGCAC
CATCACTACTGCCACCCTCTACGAGAGCCTGGCCGTCCGCCTGGAGGTCACCGACGGCCCCCCGGCCACCCCCGCC
TACTGGGACGGCGAGAAGGAGGTGCTGGCGGTGGCGCGGGCGCACCCGCGCTTCTGACCTGCGTGAACCGCGGG
CACGTGTGGACCGACCGGCACGTGGAGGAGGCTCAACAGGTGGTGCACTGGGACCGGCAGCCGCCCGGGTCCCG
CACGACCGCGCGGACCGCCTGCTGACCTCTACGGTTCGGGCGAGCGCCGCCGCCTACGGGCCCCCTTTTCTGCGC
GACCGCGTGGCTGTGGGCGCGGATGCCTTTGAGGCGGTGACTTCTCACTGCGTATCGAGCCGCTGGAGGTCGCC
GACGAGGGCACCTACTCCTGCCACCTGCACCACCATTACTGTGGCCTGCACGAACGCCCCGTCTTCCACCTGACG
GTCGCCGAACCCCACGCGGAGCCGCCCCCCCCGGGGCTCTCCGGGCAACGGCTCCAGCCACAGCGGCGCCCAGGC
CCAGACCCACACTGGCGCTGCGGCCACAACGTCATCAATGTCATCGTCCCCGAGAGCCGAGCCCACCTGCTTAACC
CAGCTACGGCTGCGCTGCCTGCCCCCGCCTCACTGCCCCCGCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
ACTGGCTACGTCCTGGCCACGGTGCTGCTCTTCATCCTGCTACTGGTCACTGTCCTCCTGGCGCCCGCAGGCGC
CGGCGAGGCTACGAATACTCGGACCAGAAGTCGGGAAAGTGAGGCAGGAGACCTGCTTGAACCAGGAGGCAGCA
GTGGCTGCAGGGGACCAGATGCTTTACAGGAGTGAGGACATCCAGCTAGATTACAAAAACAACATCCTGAAGGAG
AGGGCGGAGCTGGCCCACAGCCCCCTGCCTGCCAAGTACATCGACCTAGACAAAGGGTTCCGGAAGGAGAACTGC
AAATAGGGAGGCCCTGGGCTCCTGGCTGGGCCAGCAGCTGCACCTCCTCGTCTGTGCTCCTCGGGCATCTCCT
GATGCTCCGGGGCTCACCCCCCTTCCAGCGGCTGGTCCCGCTTTCCTGGAATTTGGCCTGGGCGTATGCAGAGGC
CGCCTCCACACCCCTCCCCCAGGGGCTTGGTGGCAGCATAGCCCCCACCCCTGCGGCCTTTGCTCACGGGTGCC
CTGCCCACCCCTGGCACAACCAAAATCCCACTGATGCCCATCATGCCCTCAGACCCTTCTGGGCTCTGCCCGCTG
GGGGCCTGAAGACATTCCTGGAGGACACTCCATCAGAACCTGGCAGCCCCAAAACTGGGGTCAGCCTCAAGGCA
GGAGTCCCACTCCTCCAGGGCTCTGCTCGTCCGGGGCTGGAGATGTTCCTGGAGGAGGACACTCCCATCAGAAC
TTGGCAGCCTTGAAGTTGGGGTCAGCCTCGGCAGGAGTCCCACTCCTCCTGGGGTGCTGCCTGCCACCAAGAGCT
CCCCCACCTGTACCACCATGTGGGACTCCAGGCACCATCTGTTCTCCCCAGGGACCTGCTGACTTGAATTGCCAGC
CCTTGCTCCTCTGTTGTTGCTTTGGGCCACCTGGGGCTGCACCCCCTGCCTTTCTCTGCCCCATCCCTACCCTAG
CCTTGCTCTCAGCCACGTTGATAGTCACTGGGCTCCCTGTGACTTCTGACCCTGACACCCCTCCCTTGGACTCTG
CCTGGGCTGGAGTCTAGGGCTGGGGCTACATTTGGCTTCTGTACTGGCTGAGGACAGGGGAGGGAGTGAAGTTGG
TTTGGGGTGGCCTGTGTTGCCACTCTCAGCACCCCACATTTGCATCTGCTGGTGGACCTGCCACCATCACAATAA
AGTCCCCATCTGATTTTTAAAAAAAAAAAAAAAA

【図２２】

シグナルペプチド	アミノ酸	1-19
膜貫通ドメイン	アミノ酸	237-262
N-グリコシル化部位	アミノ酸	205-209
細胞接着配列	アミノ酸	151-154
コンドロイチン硫酸化酵素タンパク質	アミノ酸	115-141

MALPSRILLWKLVLLQSSAVLLHSAVEETDAGLYTCNLHHHYCHLYESLAVRLEVTDGPPATPAYWDGEKEVLAV
ARGAPALLTCVNRGHVWTDRHVEEAQQVVHWDRQPPGVPHDRADRLLDLYASGERRAYGPLFLRDRVAVGADAFE
RGDFSLRIEPLEVADEGTYSCHLHHHYCGLHERRVPHLTVAEPHAEPPPRGSPGNGSSHSGAPGPDPTLARGHNV
INVIVPESRAHFPQQLGYVLATLLLFILLLVTVLLAARRRRGGYEYSDQKSGKSKGKDVNLAEFAVAAGDQMLYR
SEDIQLDYKNNILKERAELAHSPLPAKYIDLDKGPRKENCK

【図２３】

CAAGCAGGTCATCCCCTTGGTGACCTTCAAAGAGAAGCAGAGAGGGCAGAGGTGGGGGGCACAGGGAAAGGGTGA
CCTCTGAGATTCCCCTTTTCCCCCAGACTTTGGAAGTGACCCACCATGGGGCTCAGCATCTTTTTGCTCCTGTGT
GTTCTTGGGCTCAGCCAGGCAGCCACACCGAAGATTTTCAATGGCACTGAGTGTGGGCGTAACTCACAGCCGTGG
CAGGTGGGGCTGTTTGAGGGCACCAGCCTGCGCTGCGGGGGTGTCCTTATTGACCACAGGTGGGTCCTCACAGCG
GCTCACTGCAGCGGCAGCAGGTACTGGGTGCGCCTGGGGGAACACAGCCTCAGCCAGCTCGACTGGACCGAGCAG
ATCCGGCACAGCGGCTTCTCTGTGACCCATCCCGGCTACCTGGGAGCCTCGACGAGCCACGAGCACGACCTCCGG
CTGCTGCGGCTGGCGCCTGCCCGTCCGCGTAACCAGCAGCTGTTCAACCCCTGCCCCTGCCCAATGACTGTGCAACC
GCTGGCACCGAGTGCCACGTCTCAGGCTGGGGCATCACCAACCACCCACGGAACCCATTCCCGGATCTGCTCCAG
TGCCTCAACCTCTCCATCGTCTCCCATGCCACCTGCCATGGTGTGTATCCCGGGAGAATCACGAGCAACATGGTG
TGTGCAGGCGGCGTCCCGGGGCAGGATGCCTGCCAGGGTGATTCTGGGGGCCCCCTGGTGTGTGGGGGAGTCCTT
CAAGGTCTGGTGTCCTGGGGGTCTGTGGGGCCCCTGTGGACAAGATGGCATCCCTGGAGTCTACACCTATATTTGC
AAGTATGTGGACTGGATCCGGATGATCATGAGGAACAACTGAACCTGTTTCCTCCACCTCCACCCCCACCCCTTAA
CTTGGGTACCCCTCTGGCCCTCAGAGCACCAATATCTCCTCCATCACTTCCCCTAGCTCCACTCTTGTTGGCCTG
GGAACTTCTTGGAACTTTAACTCCTGCCAGCCCTTCTAAGACCCACGAGCGGGGTGAGAGAAGTGTGCAATAGTC
TGGAATAAATATAAATGAAGGAGGGGCAAAAAAAAAAAAAA

【図２４】

シグナルペプチド	アミノ酸	1-17
N-グリコシル化部位	アミノ酸	24-28; 163-167
セリンプロテアーゼ、トリプシンファミリー、ヒスチジン活性化部位	アミノ酸	58-64
セリンプロテアーゼ、トリプシンファミリー、ヒスチジンタンパク質ドメイン	アミノ酸	47-64; 196-207; 218-242
クリングルドメインタンパク質部位	アミノ酸	47-65; 194-207
アップルドメインタンパク質部位	アミノ酸	220-248

MGLSIFLLLCVLGLSQAATPKIFNGTECGRNSQPWQVGLFEGTSLRCGGVLIDHRWVLTAAHCSGSRYWVRLGEH
SLSQLDWTEQIRHSGFSVTHPGYLGASTSHEHDLRLLRLRLPVRVTSSVQPLPLPNDCATAGTECHVSGWGITNH
PRNPFPDLLQCLNLSIVSHATCHGVYPGRITSNMVCAGGVPGQDACQGDSGGPLVCGGVLQGLVSWGSVGPCGQD
GIPGVYTYICKYVDWIRMIMRNN

【図２５】

AGCAGCCTCTGCCCGACCCGGCTCGTGCGGACCCCAGGACCGGGCGCGGGACGCGTGCGTCCAGCCTCCGGCGCT
GCGGAGACCCGCGGCTGGGTCCGGGGAGGCCCCAAACCCGCCCCCCGCCAGAACCCCGCCCCAAATTCCCACCTCC
TCCAGAAGCCCCGCCCACTCCCGAGCCCCGAGAGCTCCGCGCACCTGGGCGCCATCCGCCCTGGCTCCGCTGCAC
GAGCTCCACGCCCGTACCCCGGCGTCACGCTCAGCCCGCCGTGCTCGCACACCTGAGACTCATCTCGCTTCGACC
CCGCCGCCGCCGCCGCCCGGCATCCTGAGCACGGAGACAGTCTCCAGCTGCCGTTCATGCTTCCTCCCAGCCTT
CCGCAGCCCACCAGGGAAGGGCGGTAGGAGTGGCCTTTACCAAAGGGACCGGCGATGCTCTGCAGGCTGTGCT
GGCTGGTCTCGTACAGCTTGGCTGTGCTGTTGCTCGGCTGCCTGCTCTTCCTGAGGAAGGCGGCCAAGCCCGCAG
GAGACCCCACGGCCCACCAGCCTTTCTGGGCTCCCCCAACACCCCGTCACAGCCGGTGTCCACCCAACCACACAG
TGTCTAGCGCCTCTCTGTCCCTGCCTAGCCGTCACCGTCTCTTCTTGACCTATCGTCACTGCCGAAATTTCTCTA
TCTTGCTGGAGCCTTCAGGCTGTTCCAAGGATACCTTCTTGCTCCTGGCCATCAAGTCACAGCCTGGTCACGTGG
AGCGACGTGCGGCTATCCGCAGCACGTGGGGCAGGGTGGGGGGATGGGCTAGGGGCCGGCAGCTGAAGCTGGTGT
TCCTCCTAGGGGTGGCAGGATCCGCTCCCCCAGCCCAGCTGCTGGCCTATGAGAGTAGGGAGTTTGATGACATCC
TCCAGTGGGACTTCACTGAGGACTTCTTCAACCTGACGCTCAAGGAGCTGCACCTGCAGCGCTGGGTGGTGGCTG
CCTGCCCCCAGGCCCATTTCATGCTAAAGGGAGATGACGATGTCTTTGTCCACGTCCCCAACGTGTTAGAGTTCC
TGGATGGCTGGGACCCAGCCCAGGACCTCCTGGTGGGAGATGTCATCCGCCAAGCCCTGCCCAACAGGAACACTA
AGGTCAAATACTTCATCCCACCCTCAATGTACAGGGCCACCCACTACCCACCCTATGCTGGTGGGGGAGGATATG
TCATGTCCAGAGCCACAGTGCGGCGCCTCCAGGCTATCATGGAAGATGCTGAACTCTTCCCCATTGATGATGTCT
TTGTGGGTATGTGCCTGAGGAGGCTGGGGCTGAGCCCTATGCACCATGCTGGCTTCAAGACATTTGGAATCCGGC
GGCCCCTGGACCCCTTAGACCCCTGCCTGTATAGGGGGCTCCTGCTGGTTCACCGCCTCAGCCCCCTCGGAGATGT
GGACCATGTGGGCACTGGTGACAGATGAGGGGCTCAAGTGTGCAGCCGGCCCCATACCCCAGCGCTGAAGGGTGG
GTTGGGCAACAGCCTGAGAGTGGACTCAGTGTTGATTCTCTATCGTGATGCGAAATTGATGCCTGCTGCTCTACA
GAAAATGCCAACTTGGTTTTTTAACTCCTCTCACCCTGTTAGCTCTGATTAAAAACACTGCAACCCAA

【図２６】

シグナルペプチド	アミノ酸	1-39
タイプII型膜貫通ドメイン	アミノ酸	30-49
N-グリコシル化部位	アミノ酸	79-83; 104-108; 192-196
カゼインキナーゼII型リン酸化部位	アミノ酸	194-198; 352-356
N-ミリストイル化部位	アミノ酸	14-20; 160-166; 367-373
原核生物膜リポタンパク質結合部位	アミノ酸	35-46

MLPPQPSAAHQGRGGRSGLLPKGPAMLCRLCWLVSYSLAVLLLGCLLFLRKAAKPAGDPTAHQPFWAPPTPRHSR
CPPNHTVSSASLSLPSRHRLFLTYRHCRNFSILLEPSGCSKDTFLLLAIKSQPGHVERRAAIRSTWGRVGGWARG
RQLKLVFLLGVAGSAPPAQLLAYESREFDDILQWDFTEDFPNLTLKELHLQRWVVAACPQAHFMLKGDDDVFVHV
PNVLEFLDGWDPAQDLLVGDVIRQALPNRNTKVKYFIPPSMYRATHYPPYAGGGGYVMSRATVRRLQAIMEDAEL
FPIDDVFVGMCLRRLGLSPMHHAGFKTPGIRRPLDPLDPCLYRGLLLVHRLSPLEMWIMWALVTDEGLKCAAGPIPQR

【図２７】

CTCGGCTGGATTTAAGGTTGCCGCTAGCCGCCTGGGAATTTAAGGGACCCACACTACCTTCCCGAAGTTGAAGGC
AAGCGGTGATTGTTTGTAGACGGCGCTTTGTCATGCGGACCTGTGCGGTTGGGAATATTGCTTTTCCTTTTTTTGG
CCGTGCACGAGGCTTGGGCTGGGATGTTGAAGGAGGAGGACGATGACACAGAACGCTTGCCCAGCAAATGCGAAG
TGTGTAAGCTGCTGAGCACAGAGCTACAGGCGGAACTGAGTCGCACCGGTCGATCTCGAGAGGTGCTGGAGCTGG
GGCAGGTGCTGGATACAGGCAAGAGGAAGAGACACGTGCCTTACAGCGTTTCAGAGACAAGCTGGAAGAGGCCT
TAGAGAATTTATGTGAGCGGATCCTGGACTATAGTGTTCACGCTGAGCGCAAGGGCTCACTGAGATATGCCAAGG
GTCAGAGTCAGACCATGGCAACACTGAAAGGCCTAGTGCAGAAGGGGGTGAAGGTGGATCTGGGGATCCCTCTGG
AGCTTTGGGATGAGCCCAGCGTGGAGGTCACATACCTCAAGAAGCAGTGTGAGACCATGTTGGAGGAGTTTGAAG
ACATTGTGGGAGACTGGTACTTCCACCATCAGGAGCAGCCCCTACAAAATTTTCTCTGTGAAGGTCATGTGCTCC
CAGCTGCTGAAACTGCATGTCTACAGGAAACTTGGACTGGAAAAGGAGATCACAGATGGGGAAGAGAAAACAGAAG
GGGAGGAAGAGCAGGAGGAGGAGGAGGAAGAGGAAGAGGAAGAGGAAGGGGGGAGACAAGATGACCAAGACAGGAAGCC
ACCCCAAACTTGACCGAGAAGATCTTTGACCCTTGCCTTTGAGCCCCCAGGAGGGGAAGGGATCATGGAGAGCCC
TCTAAAGCCTGCACTCTCCCTGCTCCACAGCTTTCAGGGTGTGTTTATGAGTGACTCCACCCAAGCTTGTAGCTG
TTCTCTCCCATCTAACCTCAGGCAAGATCCTGGTGAAACAGCATGACATGGCTTCTGGGGTGGAGGGTGGGGGTG
GAGGTCCTGCTCCTAGAGATGAACTCTATCCAGCCCCTTAATTGGCAGGTGTATGTGCTGACAGTACTGAAAGCT
TTCCTCTTTAACTGATCCCACCCCCACCCAAAAGTCAGCAGTGGCACTGGAGCTGTGGCTTTGGGGAAGTCACT
TAGCTCCTTAAGGTCTGTTTTTAGACCCTTCCAAGGAAGAGGCCAGAACGGACATTCTCTGCGATCTATATACAT
TGCCTGTATCCAGGAGGCTACACACCAGCAAACCGTGAAGGAGAATGGGACACTGGGTCATGGCCTGGAGTTGCT
GATAATTTAGGTGGGATAGATACTTGGTCTACTTAAGCTCAATGTAACCCAGAGCCCACCATATAGTTTTATAGG
TGCTCAACTTTCTATATCGCTATTAAACTTTTTTCTTTTTTTCTA

【図２８】

シグナルペプチド	アミノ酸	1-21
cAMP及びcGMP依存性プロテインキナーゼリン酸化部位	アミノ酸	106-110
カゼインキナーゼIIリン酸化部位	アミノ酸	36-40; 80-84; 84-88; 158-162; 202-206; 207-211; 213-217
N-ミリストイル化部位	アミノ酸	115-121
アミド化部位	アミノ酸	70-74

MGPVRLGILLFLPLAVHEAWAGMLKEEDDDTERLPSKCEVCKLLSTELQAELSRTGRSREVLELGQVLDTGKRKR
HVPYSVSETRLEEALENLCERILDYSVHAERKGSLRYAKGQSQTMATLKGLVQKGVKVDLGIPLELWDEPSVEVT
YLKKQCETMLEEFEDIVGDWYFHHQEQPLQNFLCEGHVLPAAETACLQETWTGKEITDGEEKTEGKEEEQEEEEEE
EEEEGGDKMTKTGSHPKLDREDL

【図２９】

CGGACGCGTGGGCGCTGAGCCCCGGAGGCCAGGGCGTCCGGGGCTGCGCCACTTCCGAGGGCCGAGCGCTGCCGG
TCCCGGCGTGCGACACGGCCGGGAGGAGGAGAACCAACGCAAGGGGCTCAACCGTCGGTCGCTGGAGCCCCCCCC
GGGGCGTGGCCTCCCGCCCCCTCAGCTGGGGAGGGCGGGGCTCGCTGCCCCCTGCTGCCGACTGCGACCCTTACA
GGGGAGGGAGGGCGCAGGCCGCGCGCGGAGATGAGGAGGAGGCTGCGCCTACGCAGGGACGCATTGCTCACGCTGCT
CCTTGGCGCCTCCCTGGGCCTCTTACTCTATGCGCAGCGCGACGGCGCGGCCCCGACGGCGAGCGCGCCGCGAGG
GCGAGGGAGGGCGGCACCGAGGCCCACCCCCGGACCCCGCGCGTTCCAGTTACCCGACGCGGGTGCAGCCCCGCC
GGCCTACGAAGGGGACACACCGGCGCCGCCCACGCCTACGGGACCCTTTGACTTCGCCCGCTATTTGCGCGCCAA
GGACCAGCGGCGGTTTCCACTGCTCATTAACCAGCCGGCACAAGTGCCGCGGCGACGGCGCACCCGGTGGCCGCCC
GGACCTGCTTATTGCTGTCAAGTCGGTGGCAGAGGACTTCGAGCGGCGCCAAGCCGTGCGCCAGACGTGGGGCGC
GGAGGGTCGCGTGCAGGGGGCGCTGGTGCGCCGCGTGTTCTTGCTGGGCGTGCCCAGGGGCGCAGGCTCGGGCGG
GGCCGACGAAGTTGGGGAGGGCGCGCGAACCCACTGGCGCGCCCTGCTGCGGGCCGAGAGCCTTGCGTATGCGGA
CATCCTGCTCTGGGCCTTCGACGACACCTTTTTTAACCTAACGCTCAAGGAGATCCACTTTCTAGCCTGGGCCTC
AGCTTTCTGCCCCGACGTGCGCTTCGTTTTTAAGGGCGACGCAGATGTGTTCGTGAACGTGGGAAATCTCCTGGA
GTTCCTGGCGCGCGGGACCCGGCGCAAGACCTGCTTGCTGGTGACGTAATTGTGCATGCGCGGCCCATCCGCAC
GCGGGCTAGCAAGTACTACATCCCCGAGGCCGTGTACGGCCTGCCCGCCTATCCGGCCTACGCGGGCGGCGGTGG
CTTTGTGCTTTCCGGGGCACCGCTGCACCGGCTGGCTGAGCGCCTGTGCGCAGGTCGAGCTCGTTTCCCATCGACGA
CGTCTTTCTGGGCATGTGTCTGCAGCGCCTGCGGCTCACGCCCGAGCCTCACCCTGCCTTCCGCACCTTTGGCAT
CCCCCAGCCTTCAGCCGCGCCGCATTTGAGCACCTTCGACCCCTGCTTTACCGTGAGCTGGTTGTAGTGCACGG
GCTCTCGGCCGCTGACATCTGGCTTATGTGGCGCCTGCTGCACGGGCCGCATGGGCCAGCCTGTGCGCATCCACA
GCCTGTCGCTGCAGGCCCCTTCCAATGGGACTCCTAGCTCCCCACTACAGCCCCAAGCTCCTAACTCAGACCCAG
AATGGAGCCGGTTTCCCAGATTATTGCCGTGTATGTGGTTCTTCCCTGATCACCAGGTGCCTGTCTCCACAGGATCCC
AGGGGATGGGGGTTAAGCTTGGCTCCTGGCGGTCCACCCTGCTGGAACCAGTTGAAACCCGTGTAATGGTGACCC
TTTGAGCGAGCCAAGGCTGGGTGGTAGATGACCATCTCTTGTCCAACAGGTCCCAGAGCAGTGGATATGTCTGGT
CCTCCTAGTAGCACAGAGGTGTTCTGGTGTGGTGGCAGGGACTTAGGGAATCCTACCACTCTGCTGGATTTGG
AACCCCCTAGGCTGACGCGGACGTATGCAGAGGCTCTCAAGGCCAGGCCCCACAGGGAGGTGGAGGGGCTCCGGC
CGCCACAGCCTGAATTCATGAACCTGGCAGGCACTTTGCCATAGCTCATCTGAAAACAGATATTATGCTTCCCAC
AACCTCTCCTGGGCCCAGGTGTGGCTGAGCACCAGGGATGGAGCCACACATAAGGGACAAATGAGTGCACGGTCC
TACCTAGTCTTTCCTCACCTCCTGAACTCACACAACAATGCCAGTCTCCCACTGGAGGCTGTATCCCCTCAGAGG
AGCCAAGGAATGTCTTCCCCTGAGATGCCACCACTATTAATTTCCCCATATGCTTCAACCACCCCCTTGCTCAAA
AAACCAATACCCACACTTACCTTAATACAAACATCCCAGCAACAGCACATGGCAGGCCATTGCTGAGGGCACAGG
TGCTTTATTGGAGAGGGGATGTGGGCAGGGGATAAGGAAGGTTCCCCCATTCCAGGAGGATGGGAACAGTCCTGG
CTGCCCCTGACAGTGGGGATATGCAAGGGGCTCTGGCCAGGCCACAGTCCAAATGGGAAGACACCAGTCAGTCAC
AAAAGTCGGGAGCGCCACACAAACCTGGCTATAAGGCCCAGGAACCATATAGGAGCCTGAGACAGGTCCCCTGCA
CATTCATCATTAAACTATACAGGATGAGGCTGTACATGAGTTAATTACAAAAGAGTCATATTTACAAAAATCTGT
ACACACATTTGAAAAACTCACAAAATTGTCATCTATGTATCACAAGTTGCTAGACCCAAAATATTAAAAATGGGA
TAAAATTNNTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【図３０】

シグナルペプチド	アミノ酸	1-27
N-グリコシル化部位	アミノ酸	203-207
カゼインキナーゼII型リン酸化部位	アミノ酸	124-128; 205-209; 351-355; 368-372
N-ミリストイル化部位	アミノ酸	18-24; 31-37; 110-116; 157-163; 161-167; 163-169; 366-372
細胞接着配列	アミノ酸	107-110

MRRRLRLRRDALLTLLLGASLGLLLYAQRDGAAPTASAPRGRGRAAPRPTPGPRAFQLPDAGAAPPAYEGDTPAP
PTPTGPFDFARYLRAKDQRRFPLLINQPHKCRGDGAPGGRPDLLIAVKSVAEDPERRQAVRQTWGAEGRVQGALV
RRVFLLGVPRGAGSGGADEVGEGARTHWRALLRAESLAYADILLWAFDDTFFNLTLKEIHFLAWASAPCPDVRFV
FKGDADVFVNVGNLLEFLAPRDPAQDLLAGDVIVHARPIRTRASKYYIPRAVYGLPAYPAYAGGGGFVLSGATLH
RLAGACAQVELFPIDDVFLGMCLQRLRLTPEPHPAFRTFGIPQPSAAPHLSTFDPCFYRELVVVHGLSAADIWLM
WRLLHGPHGPACAHPQPVAAGPFQWDS

【図３１】

ATGAAAGTGATAATCAGGCAGCCCAAATGATTGTTAATAAGGATCAAATGAGATCGTGTATGTGGGTCCAATCAA
TTGATTCTACACAAAGGAGCCTGGGGAGGGGCCATGGTGCCAATGCACTTACTGGGGAGACTGGAGAAGCCGCTT
CTCCTCCTGTGCTGCGCCTCCTTCCTACTGGGGCTGGCTTTGCTGGGCATAAAGACGGACATCACCCCCGTTGCT
TATTTCTTTCTCACATTGGGTGGCTTCTTCTTGTTTGCTTATCTCCTGGTCCGGTTTCTGGAATGGGGGCTTCGGTCC
CAGCTCCAATCAATGCAGACTGAGAGCCCAGGGCCCTCAGGCAATGCACGGGACAATGAAGCCTTTGAAGTGCCA
GTCTATGAAGAGGCCGTGGTGGGACTAGAATCCCAGTGCCGCCCCCAAGAGTTGGACCAACCACCCCCCTACAGC
ACTGTTGTGATACCCCCAGCACCTGAGGAGGAACAACCTAGCCATCCAGAGGGGTCCAGGAGAGCCAAACTGGAA
CAGAGGCGAATGGCCTCAGAGGGGTCCATGGCCCAGGAAGGAAGCCCTGGAAGAGCTCCAATCAACCTTCGGCTT
CGGGGACCACGGGCTGTGTCCACTGCTCCTGATCTGCAGAGCTTGGCGGCAGTCCCCACATTAGAGCCTCTGACT
CCACCCCCTGCCTATGATGTCTGCTTGGTCACCCTGATGATGATAGTGTTTTTATGAGGACAACTGGGCACCCCC
TTAAATGACTCTCCCAAGATTTCTCTTCTCTCCACACCAGACCTCGTTCATTTGACTAACATTTCCAGCGCCTA
CTATGTGTCAGAAACAAGTGTTTCTGCCTGGACATCATAAATGGGGACTTGGACCCTGAGGAGAGTCAGGCCACG
GTAAGCCCTTCCCAGCTGAGATATGGGTGGCATAATTTGAGTCTTCTGGCAACATTTGGTGACCTACCCCATATC
CAATATTTCCAGCGTTAGATTGAGGATGAGGTAGGGAGGTGATCCAGAGAAGGCGGAGAAGGAAGAAGTAACCTCTGA
GTGGCGGCTATTGCTTCTGTTCCAGGTGCTGTTCGAGCTGTTAGAACCCTTAGGCTTGACAGCTTTGTGAGTTAT
TATTGAAAAATGAGGATTCCAAGAGTCAGAGGAGTTTGATAATGTGCACGAGGGCACACTGCTAGTAAATAACAT
TAAAATAACTGGAATGAA

【図３２】

シグナルペプチド	アミノ酸	1-25
膜貫通ドメイン	アミノ酸	41-59
カゼインキナーゼII型リン酸化部位	アミノ酸	129-133; 173-177
N-ミリストイル化部位	アミノ酸	133-139

MVPMHLLIGRLEKPLLLLCCASFLLGLALLGIKTDITPVAYFFLTLGGFFLFAYLLVRFLEWGLRSQLQSMQTESP
GPSGNARDNEAFEVPVYEEAVVGLESQCRPQELDQPPPYSTVVIPPAPEEEQPSHPEGSRRAKLEQRRMASEGSM
AQEGSPGRAPINLRLRGPRAVSTAPDLQSLAAVPTLEPLTPPPAYDVCPGWPDDDSVFYEDNWAPP

【図３３】

CGGCTCGAGCCCGCCCGGAAGTGCCCGAGGGGCCGCGATGGAGCTGGGGGAGCCGGGCGCTCGGTAGCGCGGCGG
GCAAGGCAGGCGCCATGACCCTGATTGAAGGGGTGGGTGATGAGGTGACCGTCCTTTTCTCGGTGCTTGCCTGCC
TTCTGGTGCTGGCCCTTGCCTGGGTCTCAACGCACACCGCTGAGGGCGGGGACCCACTGCCCCAGCCGTCAGGGA
CCCCAACGCCATCCCAGCCCAGCGCAGCCATGGCAGCTACCGACAGCATGAGAGGGGAGGCCCCAGGGGCAGAGACC
CCCAGCCTGAGACACAGAGGTCAAGCTGCACAGCCAGAGCCCAGCACGGGGTTCACAGCAACACCGCCAGCCCCG
GACTCCCCGCAGGAGCCCCTCGTGCTACGGCTGAAATTCCTCAATGATTCAGAGCAGGTGGCCAGGGCCTGGCCC
CACGACACCATTGGCTCCTTGAAAAGGACCCAGTTTCCCGGCCGGGAACAGCAGGTGCGACTCATCTACCAAGGG
CAGCTGCTAGGCGACGACACCCAGACCCTGGGCAGCCTTCACCTCCCTCCCAACTGCGTTCTCCACTGCCACGTG
TCCACGAGAGTCGGTCCCCCAAATCCCCCCTGCCCGCCGGGGTCCGAGCCCGGCCCCTCCGGGCTGGAAATCGGCAG
CCTGCTGCTGCCCCTGCTGCTCCTGCTGTTGCTGCTGCTCTGGTACTGCCAGATCCAGTACCGGCCCTTCTTTCC
CCTGACCGCCACTCTGGGCCTGGCCGGCTTCACCCTGCTCCTCAGTCTCCTGGCCTTTGCCATGTACCGCCCGTA
GTGCCTCCGCGGGCGCTTGGCAGCGTCGCCGGCCCCTCCGGACCTTGCTCCCCGCGCCGCGGCGGGAGCTGCTGC
CTGCCCAGGCCCGCCTCTCCGGCTTGCCTCTTCCCGCTGCCCTGGAGCCCAGCCCTGCGCCGCAGAGGACTCCCG
GGACTGGCGGAGGCCCCGCCCTGCGACCGCCGGGGCTCGGGGCCACCTCCCGGGGCTGCTGAACCTCAGCCCGCA
CTGGGAGTGGGCTCCTCGGGGTCGGGCATCTGCTGTCGCTGCCTCGGCCCCGGGCAGAGCCGGGCCGCCCCGGGG
GCCCGTCTTAGTGTTCTGCCGGAGGACCCAGCCGCCTCCAATCCCTGACAGCTCCTTGGGCTGAGTTGGGGACGC
CAGGTCGGTGGGAGGCTGGTGAAGGGGAGCGGGGAGGGCAGAGGAGTTCCCCGGAACCCGTGCAGATTAAAGTA
ACTGTGAAGTTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【図３４】

シグナルペプチド	アミノ酸	1-31
膜貫通ドメイン	アミノ酸	11-32; 195-217
N-グリコシル化部位	アミノ酸	111-115
カゼインキナーゼII型リン酸化部位	アミノ酸	2-6; 98-102; 191-195
N-ミリストイル化部位	アミノ酸	146-152; 192-198

MTLIEGVGDEVTVLFSVLACLLVLALAWVSTHTAEGGDPLPQPSGTPTPSQPSAAMAATDSMRGEAPGAETPSLR
HRGQAAQPEPSTGFTATPPAPDSPQEPLVLRLKFLNDSEQVARAWPHDTIGSLKRTQPFPGREQQVRLIYQGQLLG
DDTQTLGSLHLPPNCVLHCHVSTRVGPPNPPCPPGSEPGPSGLEIGSLLLPLLLLLLLLWYCQIQYRPFFPLTA
TLGLAGPTLLLSLLAFAMYRP

【図３５】

TTTCCTCACTGACTATAAAAGAATAGAGAAGGAAGGGCTTCAGTGACCGGCTGCCTGGCTGACTTACAGCAGTCA
GACTCTGACAGGATCATGGCTATGATGGAGGTCCAGGGGGGACCCAGCCTGGGACAGACCTGCGTGCTGATCGTG
ATCTTCACAGTGCTCCTGCAGTCTCTCTGTGTGGCTGTAACTTACGTGTACTTTACCAACGAGCTGAAGCAGATG
CAGGACAAGTACTCCAAAAGTGGCATTGCTTGTTTCTTAAAAGAAGATGACAGTTATTGGGACCCCAATGACGAA
GAGAGTATGAACAGCCCCTGCTGGCAAGTCAAGTGGCAACTCCGTCAGCTCGTTAGAAAGATGATTTTGAGAACC
TCTGAGGAAACCATTTCTACAGTTCAAGAAAAGCAACAAAATATTTCTCCCCTAGTGAGAGAAAGAGGTCCTCAG
AGAGTAGCAGCTCACATAACTGGGACCAGAGGAAGAGCACACACATTCTCTTCTCCAAACTCCAAGAATGAAAAG
GCTCTGGGCCGCAAAATAAACTCCTGGGAATCATCAAGGAGTGGGCATTCATTCCTGAGCAACTTGCACTTGAGG
AATGGTGAACTGGTCATCCATGAAAAAGGGTTTTACTACATCTATTCCCAAACATACTTTCGATTTCAGGAGGAA
ATAAAAGAAAACACAAAGAACGACAAACAAATGGTCCAATATATTTACAAATACACAAGTTATCCTGACCCTATA
TTGTTGATGAAAAGTGCTAGAAATAGTTGTTGGTCTAAAGATGCAGAATATGGACTCTATTCCATCTATCAAGGG
GGAATATTGAGCTTAAGGAAAATGACAGAATTTTTGTTCTGTAACAAATGAGCACTTGATAGACATGGACCAT
GAAGCCAGTTTTTTCGGGGCCTTTTAGTTGGCTAACTGACCTGGAAAGAAAAGCAATAACCTCAAAGTGACTATTC
AGTTTTCAGGATGATACACTATGAAGATGTTTCAAAAAATCTGACCAAAACAAACAAACAGAAA

【図３６】

シグナル配列	アミノ酸	1-32
チロシンキナーゼリン酸化部位	アミノ酸	233-241
アミド化部位	アミノ酸	147-151

MAMMEVQGGPSLGQTCVLIVIPTVLLQSLCVAVTYVYFTNELKQMQDKYSKSGIACFLKEDDSYWDPNDEESMNS
PCWQVKWQLRQLVRKMILRTSEETISTVQEKQQNISPLVRERGPQRVAAHITGTRGRSNTLSSPNSKNEKALGRK
INSWESSRSGHSFLSNLHLRNGELVIHEKGFYYIYSQTYFRFQEEIKENTKNDKQMVQYIYKYTSYPDPILLMKS
ARNSCWSKDAEYGLYSIYQGGIFELKENDRIFVSVTNEHLIDMDHEASFFGAFLVG

【図３７】

ATCACTTCTGAGCACGGAGCAATGGCCTCTCGCTGGGCTGTGCAGCTGCTGCTCGTGGCAGCCTGGAGCATGGGC
TGTGGTGAGGCCCTCAAGTGCTACACCTGCAAGGAGCCCATGACCAGTGCTTCCTGCAGGACCATTACCCGCTGC
AAGCCAGAGGACACAGCCTGCATGACCACGCTGGTGACGGTGGAGGCAGAGTACCCCTTCAACCAGAGCCCCGTG
GTGACCCGCTCCTGCTCCAGCTCCTGTGTGGCCACCGACCCCGACAGCATCGGGGCCGCCCACCTGATCTTCTGC
TGCTTCCGAGACCTCTGCAACTCGGAACTCTGAACCCAGGGCGGCAGGGCGGAAGGTGCTCCTCAGGCACCTCCT
CTCTGACGGGGCCTGGCTCCACCTGTGATCACCTCCCCCTGCTTCCTGCTGCTGTGGCACAGCTCACTCATGGGG
TCTGAGGGGAGAGAAGCACACCAGGGGCGCCCTCTGCCTTCCATACCCCACGCTTATAAAACATAACTAAGCCAA
AAAAAAAAAAAAAAA

【図３８】

MASRWAVQLLLVAAWSMGCGEALKCYTCKEPMTSASCRTITRCKPEDTACMTTLVTVEAEYPFNQSPVVTRSCSS
SCVATDPDSIGAAHLIFCCFRDLCNSEL

【図３９】

GCGGCCGCGGAGGGAAGGGGTGGGTCGGTGGGTCTGACAGCGGGTCTGCGTAGGCGGCAGCGTCTGTCCCTCCCA
GCCTCTCGCTCCGCGCCATGGCGGGCCCCGGGCTCTGCTGGCCGCACTCTGGGCGCTGGAAGCCGCCGGGACCGCC
GCGCTTCGCATCGGAGCCTTCAACATTCAGAGCTTCGGTGACAGCAAAGTGTCGGACCCCGCTTGCGGCAGCATC
ATCGCGAAGATCCTGGCTGGCTATGACCTCGCGCTGGTGCAGGAGGTGCGAGACCCAGACCTCAGCGCCGTGTCC
GCGCTCATGGAGCAGATCAACAGCGTGTCCGAGCACGAGTACAGCTTTGTGAGCAGCCAGCCCCTGGGCCGGGAC
CAGTACAAGGAGATGTACCTGTTCGTGTACAGGAAAGACGCGGTGTCGGTCGTGGACACCTACCTGTACCCAGAC
CCCGAGGAGCTCTTCAGCCGCGAGCCCTTCGTGGTCAAGTTCTCGGCCCCGGCACCGGTGAGCGGGCCCCGCCC
CTCCCCTCCCGCCGAGCTCTGACGCCCCCACCCCTTCCCGCAGCAGCACAGAACCTGGTGCTGATCCCGCTGCAC
GCGGCGCCGCATCAAGCCGTGGCGGAGATCGACGCGCTCTACAGACGTGTACCTGGACGTGATCGACAAGTGGGGC
ACCGACGACATGCTGTTCCTGGGCGACTTCAACGCCGACTGCAGCTATGTGCGGGCGCAGGACTGGCCGCCATC
CGTCTGAGGAGCAGTGAGGTCTTCAAGTGGCTCATCCCTGACAGCGCCGACACCACGGTGGGCAACTCAGACTGC
GCCTACGACCGCATTGTGGCCTGTGGCGCCCGCCTGCGCCGGAGCCTGAAGCCCAGTCGGCCACCGTGCACGAC
TTCCAGGAGGAATTCGGCCTGGACCAGACTCAGGCTCTTGCCATCAGCGACCACTTTCCAGTGGAGGTGACCCTC
AAGTTCCACCGATGACTCGAGGCCTGACTGGGGCATGCCACCTGCAGACCCTGGCTCTGAGGAATGGCCCAACAG
TGGCCCCTTCAGGGTGGCAGCCACCCTTCAGTGAGGCCCCAAGGCAGAGTCGGCTGGGCGTGGACCAGGGGCATGGAC
ACGTGATGTGCTGCTCTGTACCTCCGTTCCCCATCTGTGGGACGGGCTGGATC

【図４０】

MGGPRALLAALWALEAAGTAALRIGAFNIQSFGDSKVSDPACGSIIAKILAGYDLALVQEVRDPDLSAVSALMEQ
INSVSEHEYSFVSSQPLGRDQYKEMYLFVYRKDAVSVVDTYLYPDPEDVFSREPFVVKFSAPGTGERAPPLPSRR
ALTPPPLPAAAQNLVLIPLHAAPHQAVAEIDALYDVYLDVIDKWGTDDMLFLGDFNADCSYVRAQDWAAIRLRSS
EVFKWLIPDSADTTVGNSDCAYDRIVACGARLRRSLKPQSATVHDFQEEFGLDQTQALAISDHFPVEVTLKFHR

【配列表】
2009000114000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成20年7月22日(2008.7.22)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
配列番号：２９に示すアミノ酸をコードするヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸。
【請求項２】
配列番号：２９に示すアミノ酸をコードするヌクレオチド配列と少なくとも８０％の核酸配列同一性を有するヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸。
【請求項３】
配列番号：２８に示すヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸。
【請求項４】
配列番号：２８に示すヌクレオチド配列と少なくとも８０％の核酸配列同一性を有するヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸。
【請求項５】
配列番号：２８に示すヌクレオチド配列の全長コード配列を含んでなる単離された核酸。
【請求項６】
配列番号：２８に示すヌクレオチド配列の全長コード配列と少なくとも８０％の核酸配列同一性を有するヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸。
【請求項７】
ＡＴＣＣ受託番号：２０３２８７のもとに寄託されたＤＮＡの全長コード配列を含んでなる単離された核酸。
【請求項８】
ＡＴＣＣ寄託番号：２０３２８７のもとに寄託されたＤＮＡの全長コード配列と少なくとも８０％の核酸配列同一性を有するヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸。
【請求項９】
緊縮性条件下で、以下の（ａ）又は（ｂ）に特異的にハイブリダイズする、配列番号：２８の核酸配列又はその相補配列の少なくとも３０のヌクレオチド断片からなる単離された核酸分子：
（ａ）配列番号：２８に示す核酸配列又はその相補配列；
（ｂ）ＡＴＣＣ寄託番号：２０３２８７のもとに寄託されたｃＤＮＡの全長コード配列又はその相補配列。
【請求項１０】
以下の（ａ）、（ｂ）又は（ｃ）を含んでなる単離された核酸：
（ａ）シグナルペプチドを欠く、配列番号：２９に示すポリペプチドをコードする核酸配列；
（ｂ）シグナルペプチドを有する、配列番号：２９に示すポリペプチドの細胞外ドメインをコードする核酸配列；
（ｃ）シグナルペプチドを欠く、配列番号：２９に示すポリペプチドの細胞外ドメインをコードする核酸配列。
【請求項１１】
以下の（ａ）、（ｂ）又は（ｃ）と少なくとも８０％の核酸配列同一性を有する核酸を

含んでなる単離された核酸：
（ａ）シグナルペプチドを欠く、配列番号：２９に示すポリペプチドをコードする核酸配列；
（ｂ）シグナルペプチドを有する、配列番号：２９に示すポリペプチドの細胞外ドメインをコードする核酸配列；
（ｃ）シグナルペプチドを欠く、配列番号：２９に示すポリペプチドの細胞外ドメインをコードする核酸配列。
【請求項１２】
請求項１ないし１１の何れか一項に記載の核酸に対し相補的なヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸。
【請求項１３】
請求項１ないし１２の何れか一項に記載の核酸を含んでなるベクター。
【請求項１４】
ベクターで形質転換された宿主細胞によって認識されるコントロール配列と作用可能に結合した請求項１３に記載のベクター。
【請求項１５】
請求項１３又は１４に記載のベクターを含んでなる宿主細胞。
【請求項１６】
請求項１５に記載の宿主細胞を、ポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、細胞培養物から前記ポリペプチドを回収することを含む、前記ポリペプチドの製造方法。
【請求項１７】
配列番号：２９に示すアミノ酸を含んでなる単離されたポリペプチド。
【請求項１８】
配列番号：２９に示すアミノ酸と少なくとも８０％のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたポリペプチド。
【請求項１９】
以下の（ａ）、（ｂ）又は（ｃ）を含んでなる単離されたポリペプチド：
（ａ）シグナルペプチドを欠く、配列番号：２９に示すポリペプチドのアミノ酸配列；
（ｂ）シグナルペプチドを有する、配列番号：２９に示すポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列；
（ｃ）シグナルペプチドを欠く、配列番号：２９に示すポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列。
【請求項２０】
以下の（ａ）、（ｂ）又は（ｃ）と少なくとも８０％のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離されたポリペプチド：
（ａ）シグナルペプチドを欠く、配列番号：２９に示すポリペプチドのアミノ酸配列；
（ｂ）シグナルペプチドを有する、配列番号：２９に示すポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列；
（ｃ）シグナルペプチドを欠く、配列番号：２９に示すポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列。
【請求項２１】
異種アミノ酸配列に融合した、請求項１７ないし２０の何れか一項に記載のポリペプチドを含んでなるキメラ分子。
【請求項２２】
請求項１７ないし２１の何れか一項に記載のポリペプチドに特異的に結合する抗体。
【請求項２３】
哺乳動物対象から得られた試験生物試料中において、配列番号：２９のポリペプチドをコードする核酸のレベルを、対応する正常生物試料中の前記核酸のレベルと比較して決定する手段を含んでなり、試験生物試料中における前記核酸のレベルの増加により、試験生物試料が癌細胞を含むことが示される、癌の診断キット。

【請求項２４】
試験生物試料中の配列番号：２９のポリペプチドの発現レベルを、正常生物試料と比較して決定する手段を含んでなり、試験生物試料中における前記ポリペプチドの過剰発現により試験生物試料が癌細胞を含むことが示される、癌の診断キット。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI		テーマコード（参考）
C12P 21/02	*(2006.01)*	C12P 21/02	C	
C07K 14/47	*(2006.01)*	C07K 14/47		
C07K 16/18	*(2006.01)*	C07K 16/18		
C12Q 1/04	*(2006.01)*	C12Q 1/04		
C12Q 1/68	*(2006.01)*	C12Q 1/68	A	

(31)優先権主張番号 PCT/US99/28313
(32)優先日 平成11年11月30日(1999.11.30)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 PCT/US99/28634
(32)優先日 平成11年12月1日(1999.12.1)
(33)優先権主張国 米国(US)

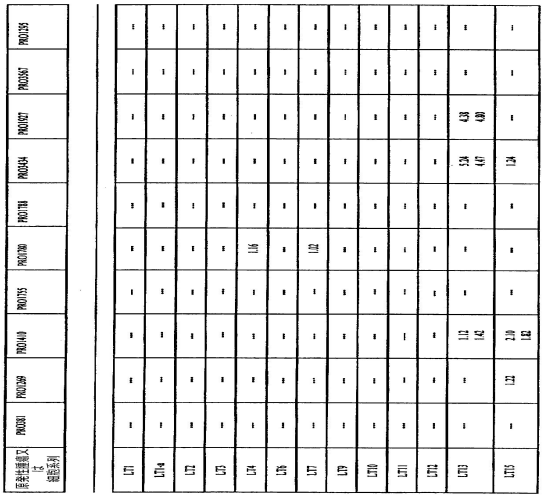
(72)発明者 ゴッダード，オードリー
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４１３１，サン フランシスコ，コンゴ ストリート １１０
(72)発明者 ガーニー，オースティン，エル.
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４００２，ベルモント，デビー レーン １
(72)発明者 ロイ，マーガレット，アン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４１２３，サン フランシスコ，ウェブスター ストリート ２９６０ ４号室
(72)発明者 ワタナベ，コリン，ケー.
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４５５６，モラガ，コーリス ドライブ １２８
(72)発明者 ウッド，ウィリアム，アイ.
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０１０，ヒルズバラ，サウスダウン コート ３５

Fターム(参考) 4B024 AA12 CA04 CA09 CA20 DA02 DA06 DA12 EA02 EA04 GA11 HA14
4B063 QA01 QA19 QQ08 QQ42 QR08 QR55 QR62 QS25 QS34
4B064 AG01 CA02 CA06 CA10 CA19 CC24 CE12 DA14
4B065 AA26X AA72X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA02 CA24 CA46
4H045 AA11 BA10 DA76 EA51 FA74 GA26

【外国語明細書】
2009000114000001.pdf
2009000114000002.pdf
2009000114000003.pdf
2009000114000004.pdf

专利名称(译)	用于肿瘤治疗的组合物和方法		
公开(公告)号	JP2009000114A	公开(公告)日	2009-01-08
申请号	JP2008166460	申请日	2008-06-25
[标]申请(专利权)人(译)	健泰科生物技术公司		
申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
[标]发明人	ボッツタインデーヴィッド ゴッダードオードリー ガーニーオースティンエル ロイマーガレットアン ワタナベコリンケー ウッドウィリアムアイ		
发明人	ボッツタイン,デーヴィッド ゴッダード,オードリー ガーニー,オースティン,エル. ロイ,マーガレット,アン ワタナベ,コリン,ケー. ウッド,ウィリアム,アイ.		
IPC分类号	C12N15/09 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/02 C07K14/47 C07K16/18 C12Q1/04 C12Q1/68 G01N33/50 A61K31/7088 A61K31/711 A61K38/00 A61K39/00 A61K39/395 A61K45/00 A61K45/06 A61K48/00 A61K51/00 A61P35/00 C07K14/82 C07K16/30 C07K16/32 C07K19/00 C12M1/24 C12N9/10 C12N15/11 C12N15/12 C12N15/13 C12N15/62 C12P21/08 C12Q1/02 G01N33/15 G01N33/48 G01N33/53 G01N33/574		
CPC分类号	C07K14/4701 C07K14/4703 C07K16/30 C12N9/1051 C12Q1/6886 C12Q2600/136 C12Y204/01133 G01N33/574 G01N33/57415 G01N33/57419 G01N33/57423 A61K38/17 C07K16/18 C12N15/09 C12N15/11 C12Q1/6883 G01N33/53 G01N33/6893		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.A C12P21/02.C C07K14/47 C07K16/18 C12Q1/04 C12Q1/68.A C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N5/00.101 C12N5/10 C12Q1/6886.C C12Q1/6886.Z		
F-TERM分类号	4B024/AA12 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA20 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/DA12 4B024/EA02 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA14 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QR08 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS34 4B064/AG01 4B064/CA02 4B064/CA06 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/CE12 4B064/DA14 4B065/AA26X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA46 4H045/AA11 4H045/BA10 4H045/DA76 4H045/EA51 4H045/FA74 4H045/GA26		
优先权	PCT/US1999/005028 1999-03-08 WO PCT/US1999/020111 1999-09-01 WO 60/162506 1999-10-29 US PCT/US1999/028313 1999-11-30 WO PCT/US1999/028634 1999-12-01 WO		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

A1用于诊断和治疗包括人类在内的哺乳动物中肿瘤细胞生长和增殖的组合物和方法。 一种鉴定在肿瘤细胞基因组中扩增的基因的方法。 与相同组织类型的正常细胞相比，这种基因扩增与基因产物的过表达有关，并有望促进肿瘤发生。 因此，由扩增基因编码的蛋白质被认为对某些癌症的诊断和/或治疗（包括预防）有用，并起到预测肿瘤治疗的预后的作用。 新的多肽和编码该多肽的核

酸分子。 同样，包含核酸序列的载体和宿主细胞，包含与异源多肽序列融合的本发明多肽的嵌合多肽分子，与本发明多肽结合的抗体以及产生该多肽的方法。 [选择图]无