

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A) (11)特許出願公表番号

特表2003 - 533188

(P2003 - 533188A)

(43)公表日 平成15年11月11日(2003.11.11)

(51) Int. Cl ⁷	識別記号	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 39/395	D 2 G 0 4 5
A 6 1 K 38/00			N 4 B 0 2 4
39/395		45/00	4 B 0 6 3
45/00		A 6 1 P 25/02 101	4 B 0 6 4
		25/04	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全247数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 580979(P2001 - 580979)

- (86) (22)出願日 平成13年5月4日(2001.5.4)
- (85) 翻訳文提出日 平成14年11月5日(2002.11.5)
- (86) 国際出願番号 PCT/US01/14519
- (87) 国際公開番号 W001/083555
- (87) 国際公開日 平成13年11月8日(2001.11.8)
- (31) 優先権主張番号 60/202,027
- (32) 優先日 平成12年5月4日(2000.5.4)
- (33) 優先権主張国 米国(US)
- (31) 優先権主張番号 60/222,344
- (32) 優先日 平成12年8月1日(2000.8.1)
- (33) 優先権主張国 米国(US)

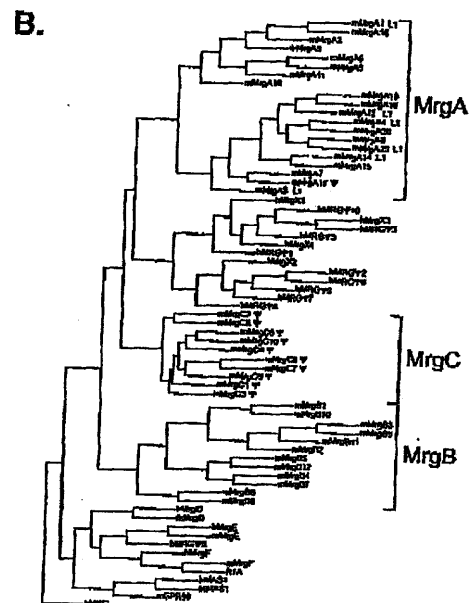
- (71)出願人 カリフォルニア インスティテュート オブ テクノロジー
CALIFORNIA INSTITUTE OF TECHNOLOGY
アメリカ合衆国 91125 カリフォルニア州
パサデナ イースト カリフォルニア
ブルバード 1200
- (72)発明者 アンダーソン, デイビッド ジェイ.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 91001
アルタデナ グレンビュー テラス 210
8
- (74)代理人 弁理士 遠山 勉 (外 3 名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 疼痛シグナル伝達分子

(57) 【要約】

本発明は一般に、正常の動物にて発現されるが、ニューロゲン - 1 を欠損した動物にて発現されない新規遺伝子に関する。本発明は特に、後根神経節にて発現される、Gタンパク質共役受容体の新規ファミリーおよび2つの膜貫通セグメントタンパク質の新規ファミリーに関し、ならびに侵害受容感覚ニューロンにおいて特異的に発現される遺伝子に関してスクリーニングする方法に関する。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 (a) 配列番号2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25、27、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107または109のアミノ酸配列を含むM r gポリペプチドをコードする核酸分子に対して少なくとも80%の配列同一性を有する単離核酸分子、あるいは(b) (a)の該核酸分子の相補体に対して少なくとも80%の配列同一性を有する単離核酸分子。

【請求項2】 (a) 配列番号14、19または29のアミノ酸配列を含むd r g - 12ポリペプチドをコードする核酸分子に対して少なくとも80%の配列同一性を有する単離核酸分子、あるいは(b) (a)の該核酸分子の相補体に対して少なくとも80%の配列同一性を有する単離核酸分子。

【請求項3】 (a) 配列番号2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25、27、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107または109のアミノ酸配列を含むM r gポリペプチドをコードする核酸分子に、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする単離核酸分子、あるいは(b) (a)の該核酸分子の相補体に、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする単離核酸分子。

【請求項4】 (a) 配列番号14、19または29のアミノ酸配列を含むd r g - 12ポリペプチドをコードする核酸分子に、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする単離核酸分子、あるいは(b) (a)の該核酸分子の相補体に、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする単離核酸分子。

【請求項5】 発現制御エレメントによって発現が調整されるように、発現制御エレメントに連結される、請求項1～4のいずれか一項に記載の単離核酸分子。

【請求項6】 プロモーターエレメントによって発現が調整されるように、

プロモーターエレメントに連結される、請求項5に記載の単離核酸分子。

【請求項7】 請求項1または2のいずれか一項に記載の単離核酸分子を含むベクター。

【請求項8】 請求項7に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項9】 前記細胞は、原核細胞である、請求項8に記載の宿主細胞。

【請求項10】 前記細胞は、真核細胞である、請求項8に記載の宿主細胞

。

【請求項11】 前記細胞は、エシェリヒア・コリである、請求項9に記載の宿主細胞。

【請求項12】 前記細胞は、ハムスター胚腎（HEK）細胞である、請求項10に記載の宿主細胞。

【請求項13】 前記細胞は、酵母細胞である、請求項10に記載の宿主細胞。

【請求項14】 ポリペプチドを生産する方法であって、前記核酸によりコードされるタンパク質が発現される条件下で、請求項8に記載の宿主細胞を培養することを含む方法。

【請求項15】 請求項14に記載の方法により生産される単離ポリペプチド。

【請求項16】 配列番号2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25、27、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107または109のアミノ酸配列に対して少なくとも約80%の配列同一性を含むアミノ酸配列を含む単離Mr gポリペプチド。

【請求項17】 配列番号14、19または29のアミノ酸配列に対して少なくとも約80%の配列同一性を含むアミノ酸配列を含む単離d r g - 12ポリペプチド。

【請求項18】 異種アミノ酸配列に融合されたMr gポリペプチドを含む

キメラ分子。

【請求項19】 前記異種アミノ酸配列は、エピトープタグ配列である、請求項18に記載のキメラ分子。

【請求項20】 前記異種アミノ酸配列は、免疫グロブリン定常ドメイン配列である、請求項18に記載のキメラ分子。

【請求項21】 異種アミノ酸配列に融合されたd r g - 12ポリペプチドを含むキメラ分子。

【請求項22】 前記異種アミノ酸配列は、エピトープタグ配列である、請求項21に記載のキメラ分子。

【請求項23】 前記異種アミノ酸配列は、免疫グロブリン定常ドメイン配列である、請求項21に記載のキメラ分子。

【請求項24】 配列番号2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25、27、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107または109のアミノ酸配列を含むポリペプチドからなる群から選択される少なくとも1つのM r gポリペプチドと少なくとも約40%の配列同一性を示す単離ポリペプチドであって、かつ定量可能な生物活性を示す単離ポリペプチド。

【請求項25】 配列番号14、19および29のアミノ酸配列を含むポリペプチドからなる群から選択される少なくとも1つのd r g - 12ポリペプチドと少なくとも約35%のアミノ酸配列同一性を示す単離ポリペプチドであって、かつ定量可能な生物活性を示す単離ポリペプチド。

【請求項26】 請求項16に記載の単離M r gポリペプチドに特異的に結合する単離抗体。

【請求項27】 前記抗体は、モノクローナル抗体である、請求項26に記載の単離抗体。

【請求項28】 前記抗体は、抗体断片である、請求項26に記載の単離抗体。

【請求項29】 前記抗体は、ヒト化抗体である、請求項26に記載の単離抗体。

【請求項30】 前記抗体は、アゴニスト抗体である、請求項26に記載の単離抗体。

【請求項31】 前記抗体は、中和抗体である、請求項26に記載の単離抗体。

【請求項32】 請求項17に記載の単離d r g - 12ポリペプチドに特異的に結合する単離抗体。

【請求項33】 前記抗体は、モノクローナル抗体である、請求項32に記載の単離抗体。

【請求項34】 前記抗体は、抗体断片である、請求項32に記載の単離抗体。

【請求項35】 前記抗体は、ヒト化抗体である、請求項32に記載の単離抗体。

【請求項36】 前記抗体は、アゴニスト抗体である、請求項32に記載の単離抗体。

【請求項37】 前記抗体は、中和抗体である、請求項32に記載の単離抗体。

【請求項38】 (a) M r g ポリペプチド、(b) d r g - 12 ポリペプチド、(c) 抗M r g 抗体、または(d) 抗d r g - 12 抗体を含む物質の組成物であって、薬学的に許容可能なキャリアと混合した組成物。

【請求項39】 以下の：

容器、

請求項38に記載の組成物、および

知覚障害を治療するために該組成物を使用するための使用説明書を含む製造品。

【請求項40】 試料中のM r g 発現を同定する方法であって、該試料を抗M r g 抗体と接触させること、および該試料への該抗体の結合を確定することを含む方法。

【請求項41】 前記試料は、知覚障害患者から得られる、請求項40に記載の方法。

【請求項42】 前記患者は、疼痛を感じている、請求項41に記載の方法。

【請求項43】 Mrgポリペプチドに結合する化合物を同定する方法であって、以下の：

1) 試験化合物をMrgポリペプチドの少なくとも一部と接触させるステップ、および

3) Mrg / 試験化合物複合体を検出するステップを含む方法。

【請求項44】 前記試験化合物または前記Mrgポリペプチドの少なくともどちらか1つは、固体支持体に結合される、請求項43に記載の方法。

【請求項45】 前記固体支持体は、マイクロタイタープレートである、請求項44に記載の方法。

【請求項46】 前記Mrgポリペプチドは、細胞膜に存在する、請求項43に記載の方法。

【請求項47】 前記Mrgポリペプチドは、Mrgポリペプチドを発現する細胞から調製される細胞膜の分画に存在する、請求項46に記載の方法。

【請求項48】 前記Mrgポリペプチドは、イムノアドヘンシに存在する、請求項43に記載の方法。

【請求項49】 前記試験化合物は、ペプチド、ペプチド擬似体、抗体、小有機分子および小無機分子からなる群から選択される、請求項43に記載の方法。

【請求項50】 前記試験化合物は、ペプチドである、請求項49に記載の方法。

【請求項51】 前記ペプチドは、固定化抗体を特異的に結合することにより固体支持体に固着される、請求項50に記載の方法。

【請求項52】 前記Mrgポリペプチドは、標識される、請求項43に記載の方法。

【請求項53】 前記試験化合物は、標識される、請求項43に記載の方法。

【請求項54】 前記試験化合物は、細胞抽出物に含有される、請求項43に記載の方法。

【請求項55】 前記細胞抽出物は、Mr gポリペプチドを発現することが知られている細胞から調製される、請求項54に記載の方法。

【請求項56】 前記細胞抽出物は、後根神経節細胞から調製される、請求項55に記載の方法。

【請求項57】 Mr gポリペプチドに結合する分子を同定する方法であって、以下の：

1) Mr gポリペプチドを発現する宿主細胞を試験化合物と接触させるステップ、および

3) 該宿主細胞への該試験化合物の結合を確定するステップを含む方法。

【請求項58】 前記試験化合物は、標識される、請求項57に記載の方法。

【請求項59】 前記試験化合物は、放射性標識される、請求項58に記載の方法。

【請求項60】 前記宿主細胞は、真核細胞である、請求項57に記載の方法。

【請求項61】 前記宿主細胞は、COS細胞である、請求項60に記載の方法。

【請求項62】 Mr gポリペプチドを結合する化合物を同定する方法であって、以下の：

1) 結合が起き得る条件下で、Mr gポリペプチドまたはその断片を、試験化合物および既知のリガンドと接触させるステップ、および

2) 該既知のリガンドの結合を妨害する該試験化合物の能力を確定するステップを含む方法。

【請求項63】 前記Mr gポリペプチドは、前記試験化合物と接触させる前に、前記既知のリガンドと接触させる、請求項62に記載の方法。

【請求項64】 前記既知のリガンドは、RFアミドペプチドである、請求項62に記載の方法。

【請求項65】 Mr g受容体をコードする核酸の発現を調節する化合物を同定する方法であって、以下の：

1) Mr gポリペプチドおよびレポータータンパク質を含むキメラポリペプチドをコードする核酸で形質転換した宿主細胞を、試験化合物に曝露するステップ、および

3) 該試験化合物に曝露しなかった対照細胞中のレポーター遺伝子の発現と比較して、該試験化合物に曝露した細胞中のレポーター遺伝子の発現に差異が存在するかどうかを確定するステップを含む方法。

【請求項66】 Mr gポリペプチドアゴニストを同定する方法であって、以下の：

1) 第二メッセンジャー応答を生じることが可能であり、かつMr gポリペプチドを発現することが可能であることが知られている宿主細胞を、潜在的アゴニストと接触させるステップ、および

3) 第二メッセンジャー応答を測定するステップを含む方法。

【請求項67】 前記宿主細胞は、真核細胞である、請求項66に記載の方法。

【請求項68】 前記宿主細胞は、ハムスター胚腎(HEK)細胞である、請求項67に記載の方法。

【請求項69】 前記HEK細胞は、G15を発現する、請求項68に記載の方法。

【請求項70】 第二メッセンジャー応答の測定は、細胞内カルシウム濃度の変化を測定することを含む、請求項66に記載の方法。

【請求項71】 前記細胞内カルシウム濃度の変化は、FURA-2カルシ

ウム指示色素により測定される、請求項70に記載の方法。

【請求項72】 第二メッセンジャー応答の測定は、前記細胞の膜を通過する電流を測定することを含む、請求項66に記載の方法。

【請求項73】 前記同定されるアゴニストは、哺乳動物において知覚障害を治療する際に有用である、請求項66に記載の方法。

【請求項74】 前記知覚障害は、疼痛である、請求項73に記載の方法。

【請求項75】 Mrgポリペプチドアゴニストを同定する方法であって、以下の：

1) 第二メッセンジャー応答を生じることが可能であり、かつMrgポリペプチドを発現することが可能であることが知られている宿主細胞を、既知のMrgポリペプチドアゴニストおよび候補アンタゴニストと接触させるステップ、

2) 第二メッセンジャー応答を測定するステップを含む方法。

【請求項76】 前記宿主細胞は、真核細胞である、請求項75に記載の方法。

【請求項77】 前記宿主細胞は、ハムスター胚腎(HEK)細胞である、請求項76に記載の方法。

【請求項78】 前記既知のMrgポリペプチドアゴニストは、RFアミドペプチドである、請求項75に記載の方法。

【請求項79】 前記第二メッセンジャー応答は、細胞内カルシウム濃度の変化である、請求項75に記載の方法。

【請求項80】 前記第二メッセンジャー応答は、前記細胞の膜を通過する電流の変化である、請求項75に記載の方法。

【請求項81】 前記同定されるアンタゴニストは、哺乳動物において知覚障害を治療する際に有用である、請求項75に記載の方法。

【請求項82】 Mrgポリペプチドアゴニスト抗体を同定する方法であって、以下の：

1) Mrgポリペプチドに特異的に結合する候補アゴニスト抗体を用意するステップと、

2) 第二メッセンジャー応答を生じることが可能であり、かつMr gポリペプチドを発現することが可能であることが知られている宿主細胞を、該候補アゴニスト抗体と接触させるステップ、および

4) 第二メッセンジャー応答を測定するステップを含む方法。

【請求項83】 Mr gポリペプチド中和抗体を同定する方法であって、以下の：

1) Mr gポリペプチドを特異的に結合する候補中和抗体を用意するステップと、

2) 第二メッセンジャー応答を生じることが可能であり、かつMr gポリペプチドを発現することが可能であることが知られている宿主細胞を、該候補中和抗体と接触させるステップ、および

4) 第二メッセンジャー応答を測定するステップを含む方法。

【請求項84】 Mr gポリペプチドの発現レベルが増加または減少したトランスジェニック非ヒト哺乳動物であって、請求項16に記載のMr gポリペプチドをコードする核酸分子を、そのゲノムに安定に組み込んでいるトランスジェニック非ヒト哺乳動物。

【請求項85】 哺乳動物における知覚障害を治療する方法であって、該哺乳動物において請求項16に記載のポリペプチドの発現を増加させる作用物質を、該哺乳動物に投与することを含む方法。

【請求項86】 前記知覚障害は、疼痛である、請求項85に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

[技術分野]

本発明は包括的には、正常な動物では発現されるが、ニューロゲニン-1欠損動物では発現されない新規の遺伝子に関する。本発明は特に、後根神経節中で発現される、Gタンパク質共役受容体の新規のファミリーおよび2つの膜貫通セグメントタンパク質の新規のファミリー、ならびに侵害受容感覚ニューロン中で特異的に発現される遺伝子に関するスクリーニング方法に関する。

【0002】

[関連技術の説明]

急性および慢性の難治性疼痛の治療は、製薬産業における薬剤開発の主要な目的である。疼痛感覚は、末梢的には皮膚に、かつ中枢的には脊髄に向けて突出する後根神経節(DRG)中の一次感覚ニューロンにより媒介される。これらのニューロンは、疼痛感覚に関与するシグナル伝達分子、例えば受容体、イオンチャネルおよび神経ペプチドを発現する。一例はいわゆるバニロイド受容体(Vanilloid Receptor)-1(VR-1)であり、これはカプサイシン(チリペッパー)により、ならびに熱および酸により活性化される。このような疼痛シグナル伝達分子は、感覚経路の陽性または陰性モジュレーターとして作用することにより、間接的に疼痛感覚に影響を及ぼし得る。このようなシグナル伝達分子と相互作用する薬剤、例えば受容体アゴニストまたはアンタゴニストに関する探索は、疼痛の治療のための新規の療法の発見への重要なアプローチである。したがって疼痛知覚性(「侵害受容」)感覚ニューロンにより発現される新規の候補シグナル伝達分子は、新規の薬剤スクリーニングおよび薬剤発見の試みのための非常に望ましい標的である。本発明者等は、ニューロゲニン(Ngn)と呼ばれる塩基性螺旋-ループ-螺旋(bHLH)転写因子の新規のファミリーを以前同定したが、これはDRGにおける感覚ニューロンの発達に不可欠である。種々のNgnは、感覚ニューロンの種々のサブセットの発達に必要とされる。特にNgn1は、すべてでないとしてもほとんどの侵害受容感覚ニューロンの発達に必要である。Ngn1*突然変異マウスでは、DRGは存在し続けるものの、サイズが縮小され、

侵害受容ニューロンの大多数は欠けていることが、*trkA*および*VR-1*のようなマーカーの発現により同定される (Ma et al. Genes & Develop, 13:1717-1728(1999))。これらの結果は、野生型(正常)のDRG中で発現されるが、*Ngn1*⁺DRG中では発現されない遺伝子を単離することができれば、分化中のまたは成熟侵害受容感覚ニューロン中で発現される、新規の薬剤標的分子の同定につながり得ることを示唆する。

【0003】

疼痛は、通常は組織損傷の自然の影響であるが、治癒過程が開始すると、損傷に関連した疼痛および圧痛が消散する。しかしながら、明白な損傷を伴わずに疼痛を体感するか、または初期傷害後に遅延疼痛を蒙る個体もいる。さらに慢性または難治性疼痛は、ある種の疾病、例えば骨変性疾患、末期癌、AIDSおよび反射性交感神経性ジストロフィー(RSD)などに関連して起こり得る。このような患者は、依存性および耐容性のような問題のために、現在利用可能な疼痛軽減(抗侵害受容)薬、例えばオピオイド化合物、例えばモルヒネによる疼痛軽減処置を受けることができない可能性がある。したがって、疼痛、特に慢性疼痛のための新規治療薬の需要が高くなっている。

【0004】

[発明の概要]

本発明者は、ポジティブ選択ベースの差示的ハイブリダイゼーションを用いて、野生型DRGで発現されるが、*Ngn1*⁺DRGでは発現されない遺伝子に関するスクリーニングを実行した。このスクリーニングによって、侵害受容ニューロンの機能に關与する既知のシグナル伝達分子、例えば*VR-1*、ならびに侵害受容感覚ニューロン中で高特異的に発現される新規のシグナル伝達分子の両方を同定した。したがって本発明は、正常マウス中で発現されるが、*Ngn1*ヌル突然変異マウスにおいては発現されない新規の遺伝子の発見を含む。スクリーニングから単離された新規の遺伝子のファミリーは、Gタンパク質共役受容体の特徴である7つの膜貫通セグメントを有する受容体タンパク質*mrg*をコードしている。その後の染色実験(図2、2A~D参照)によって、*mrg*遺伝子がDRG中の侵害受容ニューロンのサブセット中で特異的に発現することを確認した。

このスクリーニングで単離される別の新規の遺伝子ファミリー *dr g - 12* は、2つの膜貫通セグメントを有するタンパク質をコードする。

【0005】

特に本発明は、配列番号2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25、27のアミノ酸配列をコードする単離核酸分子、配列番号2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25、27の少なくとも6つのアミノ酸の断片をコードする単離核酸分子、配列番号1、3、5、7、9、11、15、17、20、22、24または26を含む核酸分子の相補体とハイブリダイズする単離核酸分子、および配列番号2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25または27のアミノ酸配列をコードする核酸分子の相補体とハイブリダイズする単離核酸分子からなる群から選択される *m r g* タンパク質をコードする単離核酸分子を含む。本発明の核酸分子は、後根神経節中で発現され、かつ配列番号1、3、5、7、9、11、15、17、20、22、24または26のコード配列全体を通して少なくとも約60%のヌクレオチド配列同一性、好ましくは少なくとも約70~75%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約80~85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性を有するタンパク質をコードするものも含む。あるいは本発明の核酸分子は、配列番号2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25または27と少なくとも約38%のアミノ酸配列同一性を示す *m r g* タンパク質をコードし得る。

【0006】

本発明は、配列番号14、19または29のアミノ酸配列をコードする単離核酸分子、配列番号14、19または29の少なくとも6つのアミノ酸の断片をコードする単離核酸分子、配列番号13または28を含む核酸分子の相補体とハイブリダイズする単離核酸分子、および配列番号14、19または29のアミノ酸配列をコードする核酸分子の相補体とハイブリダイズする単離核酸分子からなる群から選択される *dr g - 12* タンパク質をコードする単離核酸分子も含む。本発明の核酸分子は、後根神経節中で発現され、かつ配列番号13または28のコード配列全体を通して少なくとも約60%のヌクレオチド配列同一性、好ましく

は少なくとも約70～75%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約80～85%の配列同一性、さらに好ましくは少なくとも約90%の配列同一性を有するd r g - 12タンパク質をコードするものも含む。あるいは本発明の核酸分子は、配列番号14、19または29と少なくとも約33%のアミノ酸配列同一性を示すd r g - 12タンパク質をコードし得る。

【0007】

本発明は、1つまたはそれ以上の発現制御エレメントによって発現が制御可能なように連結された上記の核酸分子、例えば単離核酸分子を含むベクターも含む。本発明はさらに、本発明の核酸分子を含むように形質転換された宿主細胞、およびタンパク質が発現される条件下でのタンパク質の製造方法であって、本発明の核酸分子を用いて形質転換された宿主細胞を培養するステップを含む方法を含む。

【0008】

本発明はさらに、配列番号2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25または27のアミノ酸配列を含む単離ポリペプチド、配列番号2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25または27の少なくとも10のアミノ酸の機能性断片を含む単離ポリペプチド、および配列番号2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25または27の保存的アミノ酸置換および、配列番号2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25または27の天然アミノ酸配列変異体を含む単離ポリペプチドからなる群から選択される単離M r g ポリペプチドを提供する。本発明のポリペプチドは、配列番号2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25または27で記述される配列と少なくとも約38%、40%、50%、60%、70%または75%のアミノ酸配列同一性を、さらに好ましくはこれらの配列と少なくとも約80%、さらに好ましくは少なくとも約90%、最も好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドも含む。

【0009】

本発明はさらに、配列番号14、19または29のアミノ酸配列を含む単離ポリペプチド、配列番号14、19または29の少なくとも10のアミノ酸の機能

的断片を含む単離ポリペプチド、配列番号14、19または29の保存的アミノ酸置換体、および配列番号14、19または29の天然アミノ酸配列変異体を含む単離ポリペプチドからなる群から選択される単離Dr g - 12ポリペプチドを提供する。本発明のポリペプチドは、配列番号14、19または29で記載される配列と少なくとも約33%、35%、40%、50%、60%、70%または75%のアミノ酸配列同一性を、さらに好ましくはこれらの配列と少なくとも約80%、さらに好ましくは少なくとも約90%、もっとも好ましくは少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドも含む。

【0010】

本発明はさらに、本発明のポリペプチドと特異的に結合する単離抗体、例えばモノクローナルおよびポリクローナル抗体を提供する。

【0011】

本発明はさらに、本発明のタンパク質をコードする核酸の発現を調節する作用物質の同定方法であって、核酸を発現する細胞を作用物質に曝露するステップ、および作用物質がかかる核酸の発現を調節するかどうかを確定し、それによりタンパク質をコードする核酸の発現を調節する作用物質を同定するステップを含む方法を提供する。

【0012】

本発明はさらに、本発明のタンパク質の少なくとも1つの活性を調節する作用物質の同定方法であって、タンパク質を発現する細胞を作用物質に曝露するステップ、および作用物質がタンパク質の少なくとも1つの活性を調節するかどうかを確定して、それによりタンパク質の少なくとも1つの活性を調節する作用物質を同定するステップを含む方法を提供する。

【0013】

本発明はさらに、本発明のタンパク質に対する結合パートナーの同定方法であって、潜在的結合パートナーに上記のタンパク質を曝露するステップ、および潜在的結合パートナーがタンパク質と結合するかどうかを確定し、それによりタンパク質の結合パートナーを同定するステップを含む方法を提供する。

【0014】

本発明はさらに、本発明のタンパク質をコードする核酸の発現の調節方法であって、タンパク質をコードする核酸の発現を調節し得る有効量の作用物質を投与するステップを含む方法を提供する。本発明は、本発明のタンパク質の少なくとも1つの活性の調節方法であって、タンパク質の少なくとも1つの活性を調節し得る有効量の作用物質を投与するステップを含む方法も提供する。

【0015】

本発明はさらに、本発明のポリペプチドの発現が妨げられるよう、本発明の核酸分子または突然変異核酸分子を含むように改変した非ヒトトランスジェニック動物を含む。

【0016】

本発明はさらに、疼痛の治療方法であって、本発明のポリペプチドまたは核酸の生産またはその少なくとも1つの活性を調節する、治療上有効量の作用物質を、それを必要とする患者に投与するステップを含む方法を提供する。

【0017】

別の態様では、本発明は、侵害受容に關与する候補遺伝子の同定方法であって、 $Ng n 1^+$ である第一組の非ヒト動物、および $Ng n 1$ 遺伝子に関して野生型である第二組の非ヒト動物を用意するステップ、第1組および第2組の動物の後根神経節からRNAを単離するステップ、DRG野生型動物中で発現されるが、 $Ng n 1$ 突然変異動物中では発現されない遺伝子を濃縮するステップ、および、さらにシーケンシング、変性RT-PCRおよび*in situ*ハイブリダイゼーションのような方法を用いて候補遺伝子を特徴付け、および選択するステップを含む方法を提供する。

【0018】

[好ましい実施形態の詳細な説明]

I. 概要

上記のように、本発明は、正常マウスのDRG中で発現されるが、 $Ng n 1$ 突然変異マウスにおいては発現されない新規の遺伝子の発見に基づいている。スクリーニングから単離される新規の遺伝子ファミリーの1つは、Gタンパク質共役受容体の特徴である7つの膜貫通セグメントを有する受容体タンパク質をコ

ードする。この新規の7つの膜貫通受容体は癌遺伝子masに最も密接に関連しており、したがって暫定的にmas関連遺伝子-3(mrg3)と呼ばれた。mrg3は、現在はMr g A 1として既知であり、この用語は本明細書中では互換的に用いられる。Mas関連遺伝子(Mrg)ファミリーのほぼ50の成員が同定されており、その多くは非ペプチド作動性侵害受容器中で特異的に発現する。Gタンパク質共役受容体の大ファミリーは、他の種類の感覚ニューロン、例えば嗅覚および味覚ニューロン中でも発現される。

【0019】

GPCRのマウスMrgファミリーは、3つの主要サブファミリー(Mrg A、BおよびC)を含有し、その各々が10より多い高重複遺伝子、ならびにいくつかの単一コピー遺伝子、例えばMas1、Rta、Mrg DおよびMrg Eを含有する(図6B)。Mrg Aサブファミリーは、マウスにおいては少なくとも20の成員:Mrg A 1(配列番号2);Mrg A 2(配列番号4);Mrg A 3(配列番号6);Mrg A 4(配列番号11);Mrg A 5(配列番号21);Mrg A 6(配列番号23);Mrg A 7(配列番号25);Mrg A 8(配列番号27);Mrg A 9(配列番号53);Mrg A 10(配列番号55);Mrg A 11(配列番号57);Mrg A 12(配列番号59);Mrg A 13(配列番号61);Mrg A 14(配列番号63);Mrg A 15(配列番号65);Mrg A 16(配列番号67);Mrg A 17(配列番号69);Mrg A 18(配列番号71);Mrg A 19(配列番号73);Mrg A 20(配列番号75)から成る。Mrg Aサブファミリーにもっとも密接に関連する4つのヒト配列:Mrg X 1(配列番号16);Mrg X 2(配列番号18);Mrg X 3(配列番号31);およびMrg X 4(配列番号33)も同定されている。

【0020】

Mrg Bサブファミリーは、マウスにおいては少なくとも12の成員:Mrg B 1(配列番号39);Mrg B 2(配列番号41);Mrg B 3(配列番号43);Mrg B 4(配列番号45);Mrg B 5(配列番号47);Mrg B 6(配列番号77);Mrg B 7(配列番号79);Mrg B 8(配列番号81);Mrg B 9(配列番号83);Mrg B 10(配列番号85);Mrg B 11

(配列番号87) ; Mr g B 1 2 (配列番号89) から成る。

【0021】

Mr g Cサブファミリーの10の成員 : Mr g C 1 (配列番号91) ; Mr g C 2 (配列番号93) ; Mr g C 3 (配列番号95) ; Mr g C 4 (配列番号97) ; Mr g C 5 (配列番号99) ; Mr g C 6 (配列番号101) ; Mr g C 7 (配列番号103) ; Mr g C 8 (配列番号105) ; Mr g C 9 (配列番号107) ; Mr g C 10 (配列番号109) がマウスにおいて同定されている。

【0022】

Mr g Dサブファミリーの単一成員がマウスにおいて同定されており (mMr g D (配列番号49))、そしてそのオルソログがヒトにおいて同定されている (hMr g D (配列番号35))。同様に、Mr g Eサブファミリーの単一成員がマウスにおいて (mMr g E (配列番号51))、ならびにヒトにおいて (hMr g E (配列番号37)) 同定されている。

【0023】

他のGPCRサブファミリーの場合と同様に、Mr g Cサブファミリーのすべての成員を含めて多数のMr gが偽遺伝子であると思われる。いくつかのMr g遺伝子近くのL1レトロトランスポゾンエレメントの存在は、偽遺伝子拡張がL1媒介性形質導入により駆動され得た可能性を高める (Goodier et al. Hum Mol Genet 9:653-7(2000))。

【0024】

ほぼ40の無傷コード配列を一緒に含むマウスMr g AおよびBサブファミリーに対比して、4つのみの無傷ヒトMr g X配列が同定された。残りの10のヒトMr g配列は、偽遺伝子であると思われる。他の関連受容体、例えばhMr g DおよびhMas 1の含入は、このファミリーにおける無傷ヒトコード配列の総数を9にする (図6B)。

【0025】

本発明がされる前までは、第一侵害受容感覚ニューロンは異なる化学的刺激を特異的に区別せず、むしろVR1のような広範に調整された受容体によって種々の有害な刺激を検出すると考えられた (Tominaga et al. Neuron 21:531-43(199

8))。Mr gの発現は、侵害受容感覚ニューロン間の分子多様化が予期せぬ程度に起こることを明示する。感覚ニューロンの約13~14%がMr g A1を発現し、一方17~18%がMr g Dを発現し、そしてこれら2つの集団間の重複は15%だけである。Mr g A1⁺集団は、Mr g A2~8を発現するニューロンのほとんどまたはすべてを含入すると思われる。しかしながら、これらの後者のMr g A遺伝子は、同一ニューロン中ですべて発現されるというわけではない。したがって、8つのMr g A遺伝子およびMr g Dは、少なくとも6つの異なるニューロンサブ集団を規定し、残りの16 Mr g A遺伝子はさらに多くの多様性を付加する。

【0026】

Mr g AおよびDがともにIB4⁺、VR1 感覚ニューロン中で発現されるということは顕著である。IB4⁺ニューロンは、神経損傷を伴うような慢性疼痛に関連付けられた(Malmberg et al. Science 278:279-83(1997)) lamina IIIに向けて突出する(Snider and McMahon Neuron 20:629-32(1998))ことが既知である。VR1は、熱刺激、およびカプサイシンのような化学的刺激の両方により活性化される(Caterina et al. Nature 389:816-824(1997); Tominaga et al. Neuron 21:531-43(1998))が、VR1⁺ニューロンは有害機械的刺激の検出には必要でない(Caterina et al. Science 288:306-13(2000))。これは、Mr g A⁺ニューロンの機能のうちの1つによって、神経障害性または炎症性疼痛を伴う有害な機械的刺激が検出されていることを示す。

【0027】

侵害受容感覚ニューロン中で特異的に発現される推定Gタンパク質共役受容体のファミリーの存在は、これらの分子が疼痛知覚の主要媒介物質またはモジュレーターであることを示唆する。したがって、慢性難治性疼痛の管理のために、これらの受容体の活性を調節する内因性および合成の両方のリガンドを同定することは非常に興味深い。実際、異種細胞発現系におけるリガンドスクリーニングは、これらの受容体が、その原型成員が軟体動物心臓興奮性ペプチドFMRF-アミドであるRF-アミド神経ペプチドと相互作用し得ることを示す(Price and Greenberg Science 197:670-671(1977))。哺乳動物RF-アミドペプチドとし

ては、N P F FおよびN P A Fが挙げられるが、これらは、後根神経節のIおよびII層のニューロン中で発現される共通のプロペプチド前駆物質に由来する (Vilim et al. Mol Pharmacol 55:804-11(1999))。Mr g発現感覚ニューロンのシナプス末端部におけるこの神経ペプチドF F前駆物質の発現、機能性アッセイにおいてこれらの受容体を活性化しうるN P A FおよびN P F Fの能力、ならびに背側角における第一感覚求心性神経上にこのようなペプチドのための結合部位が存在すること (Gouarderes et al. Synapse 35:45-52(2000)) は、これらの点を考慮すると、これらの神経ペプチドがインビボでのMr g受容体に関するリガンドであることを示す。N P F F / N P A Fペプチドの鞘内注射は、例えば神経障害性疼痛 (Xu et al. Peptides 20:1071-7(1999)を含めたいくつかの慢性疼痛モデルにおいて長期残存性抗侵害受容作用を生じる (Panula et al Brain Res. 848:191-6(1999)) で論評されている) ので、これらのデータはさらに、Mr gが疼痛の調節に直接関与することを示す。

【0028】

マウス侵害受容器により発現されるMr g間の多様性の程度に関する1つの可能性は、異なる末梢標的、例えば腸、皮膚、毛包、血管、骨および筋肉を刺激する感覚ニューロンにより、異なるMr gが発現されることである。これらの標的は、異なるMr gごとに異なるリガンドを分泌し得る。別の可能性は、異なるMr gを発現するニューロンは末梢侵害受容器感受性の共通のモジュレーターにตอบสนองするが異なる親和性を有することである。このようなメカニズムにより、例えば、このようなモジュレーターの濃度は徐々にベースラインに戻るため、創傷治療中の侵害受容器の集団間の正常感受性は徐々に回復する。このような段階的応答は、異なるサブセットの侵害受容器の活性化閾値と結びつけられ得るか、あるいは活性化閾値を確定さえし得る。このスクリーニングで単離される別の新規の遺伝子ファミリーd r g - 1 2は、2つの推定膜貫通セグメントを有するタンパク質をコードする。d r g - 1 2は、マウス(配列番号14)からおよびヒト(配列番号29)において同定された。インサイチュハイブリダイゼーションは、m r g遺伝子と同様に、この遺伝子がD R G感覚ニューロンのサブセット中でも特異的に発現されることを示す。それは膜タンパク質であるため、これらの二

ニューロンによるシグナル伝達にも関与し得る。このタンパク質と他の既知のタンパク質との間に明白な相同性は認められないが、侵害受容感覚ニューロン中で特異的に発現される2つのプリン受容体 (P_2X_2 および P_2X_3) は同様の二連膜貫通トポロジーを有するということが注目される。したがって、ファミリー *dr g - 12* は侵害受容感覚形質導入またはその調節に関与する受容体またはイオンチャンネルもコードする可能性がある。

【0029】

本発明のタンパク質は、例えば慢性難治性疼痛および神経障害性疼痛の治療において、それらの発現または活性を調整する作用物質としての治療薬として、およびその標的として役立つ。例えば、疼痛シグナルの受容、伝達および伝送のような侵害受容性に関連した生物学的プロセスを調節する作用物質が同定される。

【0030】

II. 特定の実施形態

A. 定義

別記しない限り、本明細書中で用いられる技術的および科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者に一般に理解されるのと同じの意味を有する。例えば、Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd ed., J. Wiley & Sons (New York, NY 1994); Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Springs Harbor Press (Cold Springs Harbor NY 1989) を参照されたい。本発明の目的のために、以下の用語は下記のように定義される。

【0031】

本明細書中で用いる場合、「タンパク質」または「ポリペプチド」とは、一部は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107および109で示されるアミノ

ノ酸配列を有するタンパク質を指す。本用語は、天然対立遺伝子変異体、ならびに上記で特定の引用したものとわずかに異なるアミノ酸配列を有するタンパク質も指す。対立遺伝子変異体は、上記で引用したものとわずかに異なるアミノ酸配列を保有するが、依然としてそのタンパク質に関連した同一または類似の生物学的機能を有する。

【0032】

アミノ酸配列に関する同一性または相同性は、最大パーセントの相同性を達成するために、必要な場合は配列をアライン(alignment)し、ギャップを導入した後に、配列同一性の一部としていかなる保存的置換も考慮せずに、既知のペプチドと同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセンテージとして本明細書中で定義される(関連パラメーターに関してはセクションBを参照)。融合タンパク質、あるいはペプチド配列へのN末端、C末端または内部伸長、欠失または挿入は、相同性に影響を及ぼさないと解釈するものとする。

【0033】

タンパク質は、CLUSTALW(Thompson et al. Nucleic Acids Res 22:4673-80(1994))を用いてアラインすることができ、ヌクレオチドまたはアミノ酸配列レベルでの相同性または同一性は、配列類似性検索用に作成されたプログラムblastp、blastn、blastx、tblastnおよびtblastx(Karlin, et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268(1990)およびAltschul, S.F. J. Mol. Evol. 36:290-300(1993)、これらの記載内容は、参照により本明細書中に含まれる)により用いられるアルゴリズムを用いてBLAST(基本局所アラインメント検索ツール; Basic Local Alignment Search Tool)分析することにより確定され得る。BLASTプログラムにより用いられるアプローチは、まずクエリー配列およびデータベース配列間の類似セグメントを考察し、次に同定されたすべての対の統計学的有意性を評価し、最後に有意の予め選択した閾値を満たす対のみを要約することである。配列データベースの類似性検索における基本的問題を考察するためには、Altschul et al.(Nature Genetics 6:119-129(1994))(この記載内容は、参照により本明細書中に含まれる)を参照されたい。ヒストグラム、説明、アラインメント、予測(すなわち、データ

ベース配列に対する対となる塩基を報告するための統計学的有意閾値)、カットオフ、マトリックスおよびフィルターは、デフォルト設定である。blastp、blastx、tblastnおよびtblastxにより用いられるデフォルト評価マトリックスは、BLOSUM62マトリックスである(Henikoff, et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915-10919(1992)、この記載内容は、参照により本明細書中に含まれる)。blastnに関しては、評価マトリックスは、M(すなわちマッチング残基対に関する報酬スコア)対N(すなわちミスマッチング残基に関するペナルティスコア)の比率により設定され、この場合、MおよびNに関するデフォルト値はそれぞれ5および-4である。4つのblastnは以下のように調整された: Q = 10(ギャップ生成ペナルティ); R = 10(ギャップ伸長ペナルティ); wink = 1(クエリーに沿ったすべてのwink番目の位置でワードヒットを生成する); および gapw = 16(ギャップ化アラインメントが生成される幅内でウィンドウ幅を設定)。等価Blastpパラメーター環境は、Q = 9; R = 2; wink = 1; および gapw = 32であった。GCGパッケージバージョン10.0で利用可能な配列間の最適適合比較は、DNAパラメーターGAP = 50(ギャップ生成ペナルティ)およびLEN = 3(ギャップ延長ペナルティ)を使用し、タンパク質比較における等価設定はGAP = 8およびLEN = 2である。

【0034】

「変異体」は、自然配列内の1つまたはそれ以上のアミノ酸残基の挿入、欠失、修飾および/または置換によって、例えばmrg3(配列番号2)に関して図1に示したような、本発明の自然配列ポリペプチドの配列とは異なるアミノ酸配列を有しつつも、生物学的に活性なポリペプチドである。変異体としては、対応する自然配列ポリペプチドの生物学的活性を保有する少なくとも5個のアミノ酸の、好ましくは少なくとも10個のアミノ酸の、さらに好ましくは少なくとも15個のアミノ酸の、さらに好ましくは少なくとも20個のアミノ酸のペプチド断片が挙げられる。変異体は、1つまたはそれ以上のアミノ酸残基が自然配列のNまたはC末端、または配列内に付加されたポリペプチドも含む。さらに変異体としては、多数のアミノ酸残基が欠失し、1つまたはそれ以上の異なるアミノ酸残

基により任意に置換されたポリペプチドも含む。

【0035】

本明細書中で用いる場合、「保存的変異体」とは、タンパク質の生物学的機能に悪影響を及ぼさないアミノ酸配列の変異体を指す。置換、挿入または欠失は、変更した配列がタンパク質に関連した生物学的機能を妨げるかまたは崩壊させる場合、タンパク質に悪影響を及ぼすとみなす。例えばタンパク質の全体的電荷、構造または疎水性/親水性特性は、生物学的活性に悪影響を及ぼさずに変更され得る。したがって、アミノ酸配列は、タンパク質の生物学的活性に悪影響を及ぼすことなく、例えばペプチドをより疎水性または親水性にさせるように変更される。

【0036】

本明細書中で用いる場合、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107および109のアミノ酸配列に関連した「タンパク質ファミリー」としては、マウスおよびヒトのほかの生物体の後根神経節から単離されたタンパク質が挙げられる。開示されたマウスおよびヒトタンパク質のようなこれらのタンパク質に関連したタンパク質のファミリーの他の成員を同定および単離するために用いられる方法は以下で説明される。

【0037】

別記しない限り、「Mr g」という用語は、本明細書中で用いる場合、任意の1つまたはそれ以上の哺乳動物mas関連遺伝子(Mr g)受容体(すなわち、Mr g A1~8、Mr g B、Mr g C、Mr g D、Mr g E、Mr g X1~4、およびすでに既知であるか、または将来同定されるmas関連遺伝子(Mr g)ファミリーの任意のその他の成員)、例えば自然配列哺乳動物、例えばマウスまたはヒトMr g受容体、Mr g受容体変異体; Mr g受容体細胞ドメイン;ならびにキメラMr g受容体(これらの各々は本明細書中で定義されている)を指す

。本用語は特に、Mr g Aファミリーの自然配列マウスMr g受容体、例えば配列番号2、4、6、12、21、23、25、27、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73および75；Mr g Bファミリーの自然配列マウスMr g受容体、例えば配列番号39、41、43、45、47、77、79、81、83、85、87および89；Mr g Cファミリーの自然配列マウスMr g受容体、例えば配列番号91、93、95、97、99、101、103、105、107および109；Mr g Dファミリーの自然配列マウスMr g受容体、例えば配列番号49；Mr g Eファミリーの自然配列マウスMr g受容体、例えば配列番号51；それらのヒト相同体、並びに配列番号16、18、31および33の「Mr g X」と呼ばれる自然配列ヒトMr g受容体を含む。

【0038】

「mas関連遺伝子」、「mr g」および「Mr g」という用語は、本明細書中では互換的に用いられる。さらにmr g 3、Mr g A 1およびmMr g A 1という用語は、用語mr g 4、Mr g A 2およびmMr g A 2、用語mr g 5、Mr g A 3およびmMr g A 3、用語mr g 8、Mr g A 4およびmMr g A 4、用語mr g 9、Mr g A 5およびmMr g A 5、用語mr g 10、Mr g A 6およびmMr g A 6、用語mr g 11、Mr g A 7およびmMr g A 7、用語mr g 12、Mr g A 8およびmMr g A 8、用語ヒト1、Mr g X 1およびhMr g X 1、用語ヒト2、Mr g X 2およびhMr g X 2、用語ヒト4、Mr g X 3およびhMr g X 3ならびに用語ヒト5、Mr g X 4およびhMr g X 4の場合と同様に、互換的に用いられる。これらの用語はすべて、本明細書中に記載された自然配列Mr gタンパク質、ならびに機能的誘導体、例えばそのアミノ酸配列変異体を指す。

【0039】

「自然」または「自然配列」のMr g受容体またはdr g - 12受容体は、その調製方式に関係なく、任意の哺乳動物種（例えばヒト）における天然Mr g受容体または天然dr g - 12受容体のアミノ酸配列を有する。したがって、自然または自然配列Mr g受容体またはdr g - 12受容体は、天然から単離される

か、組換えDNA技術により生成されるか、化学的に合成されるか、またはこれらのまたは同様の方法の任意の組合せにより生成され得る。自然Mr gおよびdr g - 12受容体には、特に、天然対立遺伝子変異体のアミノ酸配列、当該技術分野で既知の、または以下に発見されたこれらの受容体のアイソフォームまたはスプライシングされた変異体のアミノ酸配列を有するポリペプチドが含まれる。

【0040】

「細胞外ドメイン」(ECD)は、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを本質的に含有しない、すなわちそれらのドメインが1%未満、好ましくはそれらのドメインが0.5~0%、さらに好ましくはそれらのドメインが0.1~0%であるMr g受容体またはdr g - 12受容体の形態をいう。通常は、ECDは、例えばmr g 3に関して図1Aに示されているような(E1、E2等)、自然Mr gタンパク質またはdr g - 12タンパク質の1つまたはそれ以上のECDのアミノ酸配列と少なくとも約60%、好ましくは少なくとも約65%、さらに好ましくは少なくとも約75%、さらに好ましくは少なくとも約80%、さらに好ましくは少なくとも約90%、よりいっそう好ましくは95%から少なくとも99%までのアミノ酸配列同一性を、そして最終的には100%の同一性を有するアミノ酸配列を有し、したがって下記のようなポリペプチド変異体を含む。

【0041】

第一予測細胞外ドメイン(ECD1)は、Mr g A1に関してはアミノ酸1~21、Mr g A2に関しては1~21、Mr g A3に関しては1~21、Mr g A4に関しては1~21、Mr g A5に関しては1~3、Mr g A6に関しては1~17、Mr g A7に関しては1~21、およびMr g A8に関しては1~21を、概して含む。第二予測細胞外ドメイン(ECD2)は、Mr g A1に関してはおよそアミノ酸70~87、Mr g A2に関しては70~88、Mr g A3に関しては70~88、Mr g A4に関しては70~88、Mr g A5に関しては52~70、Mr g A6に関しては66~84、Mr g A7に関しては70~88、Mr g A8に関しては70~88を、概して含む。第三予測細胞外ドメイン(ECD3)は、Mr g A1に関してはアミノ酸149~160、Mr g A2に関しては150~161、Mr g A3に関しては150~161、Mr g A4

に関しては150～161、Mr g A 5に関しては132～144、Mr g A 6に関しては146～157、Mr g A 7に関しては150～161、およびMr g A 8に関しては150～161を、概して含む。第四予測細胞外ドメイン（E C D 4）は、Mr g A 1に関してはアミノ酸222～2244、Mr g A 2に関しては223～245、Mr g A 3に関しては223～242、Mr g A 4に関しては223～245、Mr g A 5に関しては205～225、Mr g A 6に関しては219～241、Mr g A 7に関しては223～245、およびMr g A 8に関しては223～245を、概して含む。

【0042】

「d r g - 1 2」という用語は、本明細書中で用いる場合、目下既知のまたは将来同定される任意の1つまたはそれ以上の哺乳動物（マウスやヒト等の自然配列哺乳動物を含む）のd r g - 1 2受容体、d r g - 1 2受容体変異体；d r g - 1 2受容体細胞外ドメイン；ならびにキメラd r g - 1 2受容体を指す（これらは各々、本明細書中で定義されている）。本用語は特に、自然配列マウスd r g - 1 2受容体、例えば配列番号14、ならびに任意のヒト相同体、例えばヒトd r g - 1 2受容体（配列番号29）を含む。

【0043】

本明細書中で用いる場合、「核酸」は、上記のようなタンパク質またはペプチドをコードするか、このようなペプチドをコードする核酸配列と相補的であるか、このような核酸とハイブリダイズし、かつ適切なストリンジェント条件下でそれと安定的に結合したままであるか、オープンリーディングフレーム全体で少なくとも約50%、60%、70%、75%、85%、90%または95%のヌクレオチド配列同一性を示すか、あるいはペプチド配列との少なくとも約50%、60%、70%、または75%、好ましくは少なくとも約80%、さらに好ましくは少なくとも約85%、さらに好ましくは少なくとも約90%または95%またはそれより高い同一性を有するポリペプチドをコードするRNAまたはDNAとして定義される。特に意図されるのは、ゲノムDNA、cDNA、mRNAおよびアンチセンス分子、ならびに代替的主鎖を基礎とする核酸であり、天然供給源に由来するかまたは合成されるかにかかわらず、代替的塩基を含む。しかしな

がら、このようなハイブリダイズ用または相補的核酸は、従来技術の核酸より、例えばコードするか、適切なストリンジェント条件下でハイブリダイズするか、または本発明のタンパク質をコードする核酸と相補的であるという点で、新規であり、かつ非自明性であるとして定義される。

【0044】

本明細書中で用いる場合、核酸、ポリヌクレオチドおよびヌクレオチドという用語は互換可能であり、ホスホジエステル結合で構成されようと、または修飾結合、例えばホスホトリエステル、ホスホロアミデート、シロキサン、カルボネート、カルボキシメチルエステル、アセトアミデート、カルバメート、チオエーテル、架橋ホスホロアミデート、架橋メチレンホスホネート、架橋ホスホロアミデート、架橋ホスホロアミデート、架橋メチレンホスホネート、ホスホロチオエーテル、メチルホスホネート、ホスホロジチオエーテル、架橋ホスホロチオエーテルまたはスルトン結合で構成されようと、およびこのような結合の組合せで構成されるのに関わらず、任意の核酸を指す。

【0045】

核酸、ポリヌクレオチドおよびヌクレオチドという用語は特に、5つの生物学的生成塩基（アデニン、グアニン、チミン、シトシンおよびウラシル）以外の塩基を含む核酸も含む。例えば本発明のポリヌクレオチドは、5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、5-クロロウラシル、5-ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4-アセチルシトシン、5-(カルボキシヒドロキシメチル)ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチル-ウラシル、ジヒドロウラシル、-D-ガラクトシルクエオシン、イノシン、N6-イソペンテニルアデニン、1-メチルグアニン、1-メチルイノシン、2,2-ジメチルグアニン、2-メチルアデニン、2-メチルグアニン、3-メチルシトシン、5-メチルシトシン、N6-アデニン、7-メチルグアニン、5-メチルアミノメチルウラシル、5-メトキシアミノメチル-2-チオウラシル、-D-マンノシルクエオシン、5-メトキシカルボキシメチルウラシル、5-メトキシウラシル、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸(v)、ワイプトキソシン、シュ

ードウラシル、クエオシン、2 - チオシトシン、5 - メチル - 2 - チオウラシル、2 - チオウラシル、4 - チオウラシル、5 - メチルウラシル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸 (v)、5 - メチル - 2 - チオウラシル、3 - (3 - アミノ - 3 - N - 2 - カルボキシプロピル)ウラシル、(acp3)w、および2,6 - ジアミノプリンを含むがこれらに限定されない群から選択される少なくとも1つの修飾塩基部分を含み得る。

【0046】

さらに本発明に用いられるポリヌクレオチドは、アラビノース、2 - フルオロアラビノース、キシロースおよびヘキトースを含むがこれらに限定されない群から選択される少なくとも1つの修飾糖部分を含み得る。

【0047】

「ストリンジент条件」とは、(1)洗浄のために低イオン強度および高温の条件、例えば0.015MのNaCl/0.0015Mのクエン酸ナトリウム/0.1%SDS、50℃を用いるか、あるいは(2)ハイブリダイゼーション中に変性剤、例えばホルムアミドを、例えば50%(vol/vol)ホルムアミド(0.1%ウシ血清アルブミン/0.1%フィコール/0.1%ポリビニルピロリドン/pH6.5の50mMのリン酸ナトリウム緩衝液を含む)を、(750mMのNaCl、75mMのクエン酸ナトリウムと共に42℃で用いる条件である。別の例は、50%ホルムアミド、5×SSC(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%ピロリン酸ナトリウム、5×デンハルト溶液、超音波処理サケ精子DNA(50μg/ml)、0.1%SDSおよび10%硫酸デキストランの42℃での使用、さらに0.2%×SSCおよび0.1%SDS中で42℃での洗浄という条件である。明白かつ検出可能なハイブリダイゼーションシグナルを適切に得るために、当業者はストリンジент条件を容易に確定し、かつ変更し得る。

【0048】

本明細書中で用いる場合、核酸分子は、他のポリペプチドをコードする夾雑核酸分子から当該核酸分子が実質的に分離される場合に、「単離される」といわれ

る。

【0049】

本明細書中で用いる場合、コード核酸分子の断片とは、全タンパク質をコードする配列の一部を指す。断片のサイズは、意図された用途により確定される。例えば断片がタンパク質の活性部分をコードするために選択される場合、断片はタンパク質の機能性領域（単数または複数）をコードするのに十分な大きさである必要がある。例えば、予測抗原領域に対応するペプチドをコードする断片が調製され得る（図3および4参照）。断片が核酸プローブまたはPCRプライマーとして用いられる場合には、断片長は、プロービング/プライミング中に相対的に少数の擬陽性を得るように選択される（セクションHの考察参照）。

【0050】

高度関連遺伝子相同体とは、Mr g A 1（配列番号2）のような本発明の天然自然配列ポリヌクレオチドのアミノ酸配列と少なくとも約60%、好ましくは少なくとも約65%、70%、75%、80%、よりいっそう好ましくは、1%の増分で少なくとも約85%から少なくとも約99%までのアミノ酸配列同一性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチドである。

【0051】

「哺乳動物」という用語は、哺乳動物種に属する個体として定義され、その例としては、ヒト、家畜および農場動物、ならびに動物園、スポーツまたはペット用の動物、例えばヒツジ、イヌ、ウマ、ネコまたはウシが挙げられるが、これらに限定されない。好ましくは本明細書中の哺乳動物はヒトである。

【0052】

「機能的誘導体」としては、アミノ酸配列変異体、ならびに対応する自然ポリペプチドの定性的生物学的活性を保有する、自然ポリペプチドの共有結合誘導体を含む。

【0053】

「Mr g リガンド」とは、Mr g 受容体と特異的に結合し、好ましくはMr g 受容体を活性化する分子を意味する。Mr g リガンドの例としては、Mr g A 受容体、例えばMr g A 1に対するRF - アミド神経ペプチド、例えばFMRF、

FLRF、NPAF、NFFFおよびRF RP - 1が挙げられるが、これらに限定されない。Mr gと結合する分子の能力は、例えばMr gを発現する細胞から調製される膜分画と結合する推定リガンドの能力により確定され得る。

【0054】

同様に、drg - 12リガンドは、drg - 12受容体と特異的に結合し、好ましくはdrg - 12受容体を活性化する分子である。

【0055】

「キメラ」分子は、異種ポリペプチドに融合または結合された本発明の完全長ポリペプチド、変異体、あるいは本発明のポリペプチドの1つまたはそれ以上のドメインを含むポリペプチドである。キメラ分子は一般に、天然自然配列ポリペプチドと共通の少なくとも1つの生物学的特性を有する。キメラ分子の例は、精製目的のためにエピトープタグ付けされた分子である。別のキメラ分子は、イムノアドヘシンである。

【0056】

「エピトープタグ付け」という用語は、本明細書中で用いる場合、「タグポリペプチド」に融合されたMr gまたはdrg - 12を含むキメラポリペプチドを指す。タグポリペプチドは、抗体が作られ得るエピトープを提供するのに十分な残基を有するが、それはMr gまたはdrg - 12の生物学的活性と相互作用しないよう十分に短い。タグポリペプチドは、好ましくは、それに対する抗体が実質的に他のエピトープと交差反応しないよう、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つのアミノ酸残基を、通常は約8 ~ 50アミノ酸残基（好ましくは約9 ~ 30残基）を有する。好ましいのはポリヒスチジン配列であり、これはニッケルを結合して、記載されたようなNi - NTAクロマトグラフィーによるタグ付けタンパク質の単離を可能にする（例えばLindsay et al. Neuron 17:571-574(1996)参照）。

【0057】

「アゴニスト」は、本発明のポリペプチドの1つまたはそれ以上の生物学的特性を刺激する分子または化合物である。これらの例としては、小有機分子および小無機分子、ペプチド、ペプチド擬似体およびアゴニスト抗体が挙げられるが、

これらに限定されない。

【0058】

「アンタゴニスト」という用語はもっとも広範な意味で用いられ、そしてアゴニストの結合を阻止することにより本発明の受容体により媒介される生物学的活性を、部分的にまたは全体的に、遮断、抑制または中和する任意の分子または化合物を指す。アンタゴニストとしては、小有機分子および小無機分子、ペプチド、ペプチド擬似体および中和抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0059】

本発明のタンパク質は、好ましくは単離形態である。本明細書中で用いる場合、タンパク質は、物理的、機械的または化学的方法により、普通はタンパク質と会合している細胞構成成分を当該タンパク質から除去した場合に、単離されたと言われる。単離タンパク質を調製するための標準精製方法を、当業者は容易に用い得る。いくつかの場合、本発明の単離タンパク質は多数の細胞構成成分から単離または精製されているが、依然として細胞膜断片または膜構成成分と会合している。

【0060】

したがって「単離Mr g」および「単離dr g - 12」は、それぞれ、タンパク質供給源から精製されるか、または組換え方法または合成方法により調製され、精製されたMr gまたはdr g - 12ポリペプチドを意味する。精製Mr gまたはdr g - 12は、他のポリペプチドまたはペプチドを実質的に含まない。「実質的に含まない」とは、ここでは、約5%未満、好ましくは約2%未満、さらに好ましくは約1%未満、さらに好ましくは約0.5%未満、もっとも好ましくは約0.1%未満の他の供給源タンパク質による汚染(contamination)を意味する。

【0061】

「本質的に純粋な」タンパク質とは、組成物の総重量を基礎にして少なくとも約90重量%のタンパク質を、好ましくは少なくとも約95重量%、さらに好ましくは少なくとも約90重量%、さらに好ましくは少なくとも約95重量%のタンパク質を含む組成物を意味する。「本質的に均質な」タンパク質とは、組成物

の総重量を基礎にして少なくとも約99重量%のタンパク質を含む組成物を意味する。

【0062】

「生物学的特性」とは、生物学的活性または免疫学的活性であって、この場合、生物学的活性は、ポリペプチド内のエピトープに対する抗体の産生を誘導する機能以外の、配列または本明細書中の変異体ポリペプチド分子により引き起こされる生物学的機能（抑制性または刺激性）を指すが、抗体の産生を誘導する機能の特性は免疫学的活性と呼ばれる。生物学的特性としては特に、本明細書中の受容体分子の天然リガンドを結合する能力、好ましくは特異的結合、さらに好ましくは高親和性を伴う特異的結合をする機能が挙げられる。

【0063】

「抗体」(Ab)および「免疫グロブリン」(Ig)は、同一の構造的特徴を有する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、一方、免疫グロブリンは抗体、および抗原特異性を欠くその他の抗体様分子の両方を含む。抗原特異性を欠くその他の抗体様分子のポリペプチドは、例えばリンパ系により低レベルで産生され、そして骨髄腫により増大レベルで産生される。

【0064】

「自然抗体」および「自然免疫グロブリン」は、通常は、2つの同一の軽(L)鎖および2つの同一の重(H)鎖から成るヘテロ四量体糖タンパク質である。各軽鎖は、1つの共有ジスルフィド結合により重鎖に連結される。ジスルフィド結合の連結の数は異なる免疫グロブリンアイソタイプの重鎖間で変わる。各重鎖および軽鎖は、規則正しい間隔の鎖内ジスルフィド架橋も有する。各重鎖は、一端に可変部(V_H)を、それに続いて多数の定常ドメインを有する。各軽鎖は、一端に可変ドメイン(V_L)を、その他方の端に定常ドメインを有する。軽鎖の定常ドメインは重鎖の第一定常ドメインと一列に並べられ、軽鎖可変ドメインは重鎖の可変ドメインと一列に並べられる。特定のアミノ酸残基は、軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメイン間に界面を形成すると考えられる。

【0065】

「抗体」という用語は、本明細書中では最も広範な意味で用いられ、そして特

にヒト、非ヒト（例えばマウス）およびヒト化モノクローナル抗体（完全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば二特異性抗体）およびそれらが所望の生物学的活性を示す限り抗体断片を含む。

【0066】

「抗体断片」は、完全長抗体の一部分、一般的には抗原結合性ドメインまたは可変性ドメインを含む。抗体断片の例としては、Fab、Fab'、F(ab')₂およびFv断片、最小组み換え二重特異性抗体(diabodies)、線状抗体、一本鎖抗体分子、および抗体断片から生成される多特異的抗体が挙げられる。

【0067】

「モノクローナル抗体」という用語は、本明細書中で用いる場合、一集団を構成する個々の抗体が、少量で存在し得ると考え得る天然突然変異体をのぞいて同一である抗体の集団から得られる抗体を指す。モノクローナル抗体は、高特異的であり、単一の抗原部位に特異的である。さらにモノクローナル抗体は、当該技術分野で既知の任意の方法により調製され得る。例えば本発明に用いられるモノクローナル抗体は、Kohler et al., Nature 256:495(1975)により最初に記載されたハイブリドーマ法により調製され得るか、あるいは組換えDNA法により調製され得る（例えば米国特許第4,816,567号参照）。「モノクローナル抗体」は、例えばClackson et al., Nature 352:624-628(1991)およびMarks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597(1991)に記載された技法を用いて、ファージ抗体ライブラリーからも単離され得る。

【0068】

モノクローナル抗体は、本明細書中では特に、重鎖および/または軽鎖の一部が特定の種に由来する抗体中の、または特定の抗体クラスまたはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一であるかまたは相同である「キメラ」抗体（免疫グロブリン）を含むが、一方、鎖（単数または複数）の残り部分は、別の種に由来する抗体中の、または別の抗体クラスまたはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一であるかまたは相同である。キメラ抗体の断片も含まれるが、但しそれらは所望の生物学的活性を示す（米国特許第4,816,567号およびMorrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855(1984)）。

【0069】

「ヒト化」形態の非ヒト（例えばマウス）抗体は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含む抗体である。ヒト化抗体とは一般に、ヒト免疫グロブリンであって、その超可変領域残基が、所望の特異性、親和性および容量を有する非ヒト種からの、例えばマウス、ラット、ウサギまたは非ヒト霊長類からの超可変領域残基により置き換えられたヒト免疫グロブリンである。ヒト免疫グロブリンの枠組み領域（FR）残基は、対応する非ヒト残基により置き換えられ得る。さらにヒト化抗体は、レシピエント抗体中にまたはドナー抗体中に見出されない残基を含み得る。概して、ヒト化抗体は、少なくとも1つの、典型的には2つの可変ドメインを実質的にすべて含むが、この場合、すべてのまたは実質的にすべての超可変領域が非ヒト免疫グロブリンのものに対応するか、あるいはすべてのまたは実質的にすべてのFRはヒト免疫グロブリン配列を有するものである。ヒト化抗体は、典型的にはヒト免疫グロブリンのものである免疫グロブリン定常領域（Fc）の少なくとも一部も任意に含む。さらなる詳細に関しては、Jones et al., Nature 321:522-525(1986) ; Reichmann et al., Nature 332:323-329(1988) およびPresta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596(1992)を参照されたい。

【0070】

「エピトープ」という用語は、タンパク質抗原上にあり、（モノクローナルまたはポリクローナル）抗体のための結合部位を指す。

【0071】

「アゴニスト抗体」とは、本発明の受容体のためのリガンドであり、したがって自然Mr gまたはd r g - 1 2の1つまたはそれ以上のエフェクター機能を活性化かつ/または刺激し得る抗体を意味する。

【0072】

「中和抗体」とは、本発明のポリペプチドのエフェクター機能を遮断するかまたは有意に低減し得る、本明細書中で定義されるような抗体分子を意味する。例えば中和抗体は、既知のリガンドによりMr gまたはd r g - 1 2活性化を抑制または低減し得る。

【0073】

「Mr g イムノアドヘシン」という用語は、Mr g または dr g - 12 分子（自然または変異体）および免疫グロブリン配列の少なくとも一部分を含むキメラ分子を指す。免疫グロブリン配列は、好ましくは免疫グロブリン定常ドメインであるが、必ずしもそうである必要はない。イムノアドヘシンは、ヒト抗体の特性の多くを保有し得る。イムノアドヘシンは、適切なヒト免疫グロブリンヒンジおよび定常ドメイン（Fc）配列に連結された所望の特異性を有するヒトタンパク質配列から構築され得るため、当該結合特異性は、全ヒト構成成分を用いて達成され得る。このようなイムノアドヘシンは患者に対する免疫原性が最小限であり、長期または反復使用に対しても安全である。イムノアドヘシン構造の2つの機能部位が異なる特異性を有する場合、イムノアドヘシンは、二重特異性抗体との類似性により、「二特異的イムノアドヘシン」と呼ばれる。

【0074】

本明細書中で用いる場合、「治療」とは、患者により表徴される疾患、障害または生理学的状態に応答してなされる臨床的介入である。治療の目的としては、症状の軽減または予防、疾患、障害または状態の進行または悪化の遅延または停止、ならびに疾患、障害または状態の寛解が挙げられる。「治療」とは、治療上の処置および予防的または防止的手段の両方を指す。治療を必要とするものとしては、疾患または障害または望ましくない生理学的状態にすでに罹患されたもの、ならびに疾患または障害または望ましくない生理学的状態が防止されるべきであるものが含まれる。特に治療には、既存の状態または障害に起因する疼痛を含めた疼痛の軽減、あるいは疼痛が発生するであろうと考えられる状況において疼痛の防止を含みうる。

【0075】

本発明の方法において、「制御」という用語およびその文法的に変形した用語は、望ましくない事象、例えば疼痛の存在または開始の防止、部分的または完全抑制、低減、遅延または減速を指すために用いられる。

【0076】

「有効量」という用語は、有益なまたは望ましい臨床結果をもたらすのに十分な量を指す。アゴニストまたはアンタゴニストの有効量は、疾患、障害または望

ましくない生理学的状態を治療するのに有効である量である。

【0077】

「疼痛」とは、接触、圧力、熱および寒冷の感覚とは別個に、神経組織により知覚される感覚経験である。疼痛感覚の範囲、ならびに個体による疼痛の知覚は変動するため、疼痛の精確な定義はほぼ不可能である。本発明の状況では、「疼痛」は、考え得る最も広範な意味で用いられ、その例としては侵害受容疼痛、例えば組織損傷および組織炎症に関連した疼痛、有害刺激に関連した疼痛、急性疼痛、慢性疼痛および神経障害性疼痛が含まれる。

【0078】

「急性疼痛」はしばしば、特定の原因および目的に伴って一時的であり、一般に持続性生理学的反応を生じない。急性疼痛は、柔組織損傷中に、感染および炎症を伴って起こり得る。それは、その原因を処置することにより、かつ疼痛を治療するための鎮痛薬および感染を治療するための抗生物質を用いた併用戦略により、調節および除去され得る。

【0079】

「慢性疼痛」とは、急性疼痛とは明瞭に異なり、それより複雑である。慢性疼痛は時間制限を有さず、しばしば明らかな原因を有さず、そして明白な生物学的効果を示さない。慢性疼痛は、患者およびヘルスケアプロバイダーの両者を困惑させる多数の心理学的問題を誘発して、無力感、絶望感といった感情をもたらし得る。慢性疼痛の最も一般的な原因としては、下背部痛、頭痛、再発性顔面痛、癌に関連した疼痛および関節炎痛が挙げられる。

【0080】

疼痛は、それが神経学的機能不全を伴う場合、「神経障害性」と呼ばれる。「神経障害性疼痛」は、複雑な病因および変動性の病因を有する。それは典型的には、痛覚過敏（疼痛閾値低下および疼痛知覚強化）により、ならびに異痛（無害な機械的または熱刺激からの疼痛）により特徴付けられる。神経障害性疼痛は、通常は慢性疼痛であり、「正常疼痛」（障害受容性疼痛）のための同一の治療薬剤には応答しない傾向があり、したがって治療は非常に困難である。神経障害性疼痛は、外傷により、疾患により、例えば糖尿病、帯状ヘルペスまたは後期癌に

より、あるいは化学的損傷（例えば擬似ヌクレオチド抗HIV薬を含めた作用物質の副作用のような）により神経が損害を受けるときはいつでも、発症し得る。それは、切断術（例えば乳房切除）後にも発症し得る。神経障害性疼痛の例としては、単一神経根障害、三叉神経痛、ヘルペス後神経痛、複合局所性疼痛症候群および種々の末梢神経障害が挙げられる。これは、正常術後痛、外傷関連疼痛および関節炎の慢性疼痛を含む「正常疼痛」または「侵害受容疼痛」と対照を成す。

【0081】

「末梢神経障害」は、末梢神経に影響を及ぼす神経変性障害であって、しばしば運動機能障害、感覚機能障害、感覚運動機能障害または自律神経性機能不全のうちの1つまたはそれらの組合せとして表徴される。末梢神経障害は、例えば糖尿病（糖尿病性神経障害）、アルコール症および後天性免疫不全症候群（AIDS）のような疾患または障害に起因しうる、癌における細胞増殖抑制薬療法のよう療法に起因しうる、あるいは遺伝的疾患素質に起因し得る末梢感覚ニューロンの変性により特徴付けられる。遺伝的後天性末梢神経障害としては、例えばクラベ病、異染性白質ジストロフィーおよびシャルコー-マリー-ツース（CMT）病が挙げられる。末梢神経障害はしばしば痛みを伴う。

【0082】

「薬学的に許容可能な」キャリア、例えば賦形剤または安定剤は、用いられる投与量および用いられる濃度でそれに曝露される細胞または哺乳動物に対して非毒性である。しばしば生理学的に許容可能なキャリアは、水性pH緩衝溶液、例えばリン酸緩衝液またはクエン酸緩衝液である。生理学的に許容可能なキャリアは、1つまたはそれ以上の以下の物質を含み得る：酸化防止剤（例えばアスコルビン酸）、低分子量（約10残基未満）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、免疫グロブリン）、親水性ポリマー（例えばポリビニルピロリドン）、アミノ酸、炭水化物（例えばグルコース、マンノースまたはデキストリン）、キレート化剤（例えばEDTA）、糖アルコール（例えばマンニトールまたはソルビトール）、塩生成対イオン（例えばナトリウム）、ならびに非イオン性界面活性剤（例えばTween、ポリエチレングリコール（PEG）お

よびブルロニック)。

【0083】

「ペプチド擬似体」は、本発明の受容体との相互作用に際して、ペプチドのための代わりとして作用する分子である (Morgan et al., Ann. Reports Med. Chem. 24:243-252(1989))。ペプチド擬似体は本明細書中で用いる場合、ペプチドの構造的および機能的特徴を有する合成体を含む。ペプチド擬似体は、アミノ酸および/またはペプチド結合を含むことも含まないこともある。「ペプチド擬似体」という用語は、ペプチドおよびオリゴペプチドも含み得るが、これらは、N置換アミノ酸のペプチドまたはオリゴマーである (Simon et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:9367-9371(1972))。さらにペプチド擬似体として含まれるのはペプチドライブラリーであり、これは規定アミノ酸長を有するよう設計されたペプチドの集合であり、それに対応するアミノ酸のすべての考え得る配列を表す。

【0084】

A. 後根神経節の一次感覚ニューロン中で発現されるタンパク質

本発明は、単離Mr gタンパク質および単離dr g - 12タンパク質、それらのタンパク質の対立遺伝子変異体およびそれらのタンパク質の保存的アミノ酸置換体を提供する。本発明のいくつかのMr gタンパク質のポリペプチド配列は、配列番号2、4、6、8、10、12、16、18、21、23、25、27、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107および109で提供される。本発明のいくつかのdr g - 12タンパク質のポリペプチド配列は、配列番号14、19および29で提供される。

【0085】

本発明のタンパク質はさらに、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、

63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107および109で記述される配列の挿入変異体、欠失変異体または保存的アミノ酸置換変異体を含む。

【0086】

普通は、他の種における対応する相同体を含めたタンパク質ファミリーの変異体、対立遺伝子変異体、保存的置換変異体および成員は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107および109で記述される配列と少なくとも約50%または約60~75%のアミノ酸配列同一性を、さらに好ましくは少なくとも約80%、さらにより好ましくは少なくとも約90%、最も好ましくは少なくとも約95%の上記の配列との配列同一性を有するアミノ酸配列を有する。

【0087】

本発明のタンパク質としては、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107および109で開示されたアミノ酸配列を有する分子、タンパク質の少なくとも約3、4、5、6、10、15、20、25、30、35またはそれ以上のアミノ酸残基の連続配列を有するそれらの断片、1つまたはそれ以上のアミノ酸残基が開示されたコード配列のNまたはC末端またはその内部に挿入されているアミノ酸配列変異体、別の残基により置換されている開示された配列のアミノ酸配列変異体、あるいは上記のようなそれらの断片が挙げられる。このような断片は、ペプチドまたはポリペプチドとも呼ばれ、抗原領域を、既知のタンパク質ドメインに対応するアミノ酸配列の領域として同定されたタンパク質の機能性領域を、

ならびに顕著な親水性の領域を含み得る。それらの領域は、市販のタンパク質配列分析ソフトウェア、例えばMACVECTOR（商標）（Oxford Molecular）を用いることにより、すべて容易に同定可能である。

【0088】

意図される変異体としてはさらに、例えば相同組換え、部位特異的またはPCR突然変異誘発による予定していた突然変異をした変異体、他の動物種、例えばウサギ、ラット、ブタ、ウシ、ヒツジ、ウマ、ヒトおよび非ヒト霊長類種（これらに限定されない）の対応するタンパク質、タンパク質ファミリーの対立遺伝子またはその他の天然変異体、ならびに天然アミノ酸以外の部分（例えば酵素または放射性同位元素のような検出可能部分）においてタンパク質が置換、化学的、酵素的またはその他の適切な手段により共有的に修飾された誘導体が挙げられる。

【0089】

タンパク質ドメイン（例えばリガンド結合ドメイン、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン（例えば7つの膜貫通セグメントおよびサイトゾルループ、または2つの膜貫通ドメインおよびサイトゾルループを含む）、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメイン）、ならびに活性部位はすべて、本発明のタンパク質またはポリペプチド中に見出され得る。このようなドメインは、キメラタンパク質作製のために、および本発明のインビボアッセイのために有用である。

【0090】

本発明の自然配列タンパク質の、あるいは本発明で同定された種々のドメインの変更は、例えば当該技術分野で既知の任意の技法を用いてなされ得る。変更は、例えばタンパク質の1つまたはそれ以上のドメイン中において、任意のその他のアミノ酸により少なくとも1つのアミノ酸を置換することにより達成され得る。自然配列タンパク質と比較した場合の本発明のタンパク質のアミノ酸配列の変化は、タンパク質をコードする1つまたはそれ以上のコドンの置換、欠失または挿入により産生され得る。相同の既知のタンパク質分子の配列と、変化させられたMr gまたはd r g - 1 2ポリペプチドの配列との比較により、アミノ酸残基が所望の生物学的活性に影響を及ぼすことなく、挿入、置換または欠失され得る。

ことに関する指針を提供し得る。特に、高相同性の領域でなされるアミノ酸配列変化の数を最小限に抑えることは、有益であり得る。アミノ酸置換は、あるアミノ酸を、同様の構造的特性および/または化学的特性を有する別のアミノ酸で置き換えること、例えばセリンによるロイシンの置換、すなわち保存的アミノ酸置換の結果であり得る。挿入または欠失は、任意に約1~5アミノ酸の範囲であり得る。許容可能な変更は、配列中にアミノ酸の挿入、欠失または置換を系統的に起こし、その結果生じた変異体を、完全長配列または成熟自然配列により示される活性に関して試験することにより確定され得る。

【0091】

ポリペプチド断片は、本発明の方法においても有用である。このような断片は、N末端またはC末端で切断され得るか、あるいは例えば完全長自然タンパク質と比較した場合に、内部残基を欠くこともある。ある種の断片は、Mr gまたはd r g - 1 2 ポリペプチドの所望の生物学的活性に不可欠でないアミノ酸残基を欠く。

【0092】

Mr g断片またはd r g - 1 2断片は、多数の慣用的技法のいずれかにより調製され得る。所望のペプチド断片は、化学的に合成されるか、または酵素消化により生成されうる(例えば特定のアミノ酸残基により規定される部位でタンパク質を切断することが既知の酵素を用いてタンパク質を処理することにより生成され得る)。あるいは、タンパク質をコードするDNAは、適切な制限酵素を用いて消化され、所望の断片が単離され得る。さらに別の適切な技法は、ポリメラーゼ連鎖反応(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規定するオリゴヌクレオチドは、PCRにおいて5'および3'プライマーで用いられる。好ましくはMr gまたはd r g - 1 2 ポリペプチド断片は、自然Mr gまたはd r g - 1 2とそれぞれ少なくとも1つの生物学的活性および/または免疫学的活性を共有する。

【0093】

対応する自然配列の必要な生物学的特性を有するアミノ酸配列変異体を作製す

る場合、アミノ酸の疎水親水指数が検討され得る。例えば、ある種のアミノ酸は、生物学的活性が有意に変化することなく、同様の疎水親水指数またはスコアを有する他のアミノ酸に置換し得ることが既知である。したがって、+4.5の疎水親水指数を有するイソロイシンは一般に、バリン(+4.2)またはロイシン(+3.8)に置換することができ、置換がなされるポリペプチドの生物学的活性に有意の影響を及ぼさない。同様に、通常はリシン(-3.9)はアルギニン(-4.5)に置換することができ、基礎的なポリペプチドの生物学的特性における任意の有意の変化はないと予測される。アミノ酸置換の選択に関するその他の考察としては、側鎖置換基の類似性、例えば種々のアミノ酸のサイズ、求電子性、電荷が挙げられる。概して、アラニン、グリシンおよびセリン；アルギニンおよびリシン；グルタメートおよびアスパルテート；セリンおよびトレオニン；ならびにバリン、ロイシンおよびイソロイシンは互換可能性であり、生物学的特性における任意の有意の変化はないと予測される。このような置換は、一般に保存的アミノ酸置換と呼ばれ、本発明のポリペプチド内での好ましい種類の置換である。

【0094】

非保存的置換は、アミノ酸のークラスの成員が、別のークラスの成員によって必然的に交換される。このような置換残基は、保存的置換部位にも、さらに好ましくは残りの(非保存)部位にも導入され得る。

【0095】

変更は、当該技術分野で既知の方法、例えば部位特異的突然変異誘発、アラニン走査突然変異誘発およびPCR突然変異誘発を用いて実行され得る。部位特異的突然変異誘発(Carter et al., Nucl. Acids Res., 13:4331(1986); Zoller et al., Nucl. Acids Res., 10:6487(1987))、カセット突然変異誘発(Wells et al., Gene, 34:315(1985))、制限選択突然変異誘発(Wells et al., Philos. Trans. R. Soc. London SerA, 317:415(1986))またはその他の既知の技法がクローン化DNAに関して実施されて、Mr gまたはd r g - 1 2 変異体DNAを産生し得る。

【0096】

走査アミノ酸分析は、生物学的活性に有意の影響を及ぼすことなく置き換えられる1つまたはそれ以上のアミノ酸を同定するために用いられ得る。好ましい走査アミノ酸のうちの一つは、比較的小さい中性アミノ酸である。このようなアミノ酸としては、アラニン、グリシン、セリンおよびシステインが挙げられる。アラニンは、最も一般的なアミノ酸であることのほかに、それが炭素の向こうに側鎖を排除し、変異体の主鎖立体配座を変更することはないと考えられるため好ましい(Cunningham and Wells, Science, 244:1081-1085(1989))。さらにアラニンはしばしば、内側または外側の位置の両方に見出される(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変異を生じない場合、等比体積アミノ酸が用いられ得る。

【0097】

下記のように、タンパク質のファミリーの成員が：1) タンパク質の少なくとも一つの活性を調節する作用物質を同定するために、2) タンパク質に関する結合パートナーを同定するために、3) ポリクローナルまたはモノクローナル抗体を生成するための抗原として、4) 治療上の標的として、5) 疼痛知覚ニューロンの特定集団に対する診断マーカーとして、ならびに6) 構造に基づくリガンド同定のための標的として用いられ得る。

【0098】

B. 核酸分子

本発明はさらに、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107または109を有するm r gまたはd r g - 12タンパク質および本明細書中に記載された関連ポリペプチドをコードする核酸分子を、好ましくは単離形態で提供する。M r g受容体の8つの完全長変異体(m M r g A 1 ~ 8)をコードするc D N Aは、図6 A(配列番号1、3、5、11、20、22、24、26)に提示される。

【0099】

好ましい分子は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、20、22、24、26または28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106または108の相補体と上記で定義したストリンジェント条件下でハイブリダイズし、そして機能的ペプチドをコードするものである。好ましいハイブリダイズ分子は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106または108のオープンリーディングフレームまたはコード配列の相補鎖と上記の条件下でハイブリダイズするものである。

【0100】

本発明の方法は、ポリヌクレオチドの供給源により限定されることは意図されない。ポリヌクレオチドは、ヒトまたは非ヒト哺乳動物からであり、任意の組換え供給源から誘導されており、インビトロでまたは化学合成により合成され得る。ヌクレオチドはDNAまたはRNAであり得るし、そして二本鎖、一本鎖または部分的二本鎖形態で存在し得る。

【0101】

本発明で有用な核酸としては、例えばオリゴヌクレオチド（例えばアンチセンスDNAおよび/またはRNA）、リボザイム、遺伝子療法のためのDNA、DNAおよび/またはRNAキメラ、種々の構造的形態のDNA（例えば一本鎖DNA、二本鎖DNA、超らせんDNAおよび/または三重らせんDNA）、Z-DNA等が挙げられるが、これらに限定されない。核酸は、大量に核酸を調製するために典型的に用いられる任意の慣用的手段により、調製され得る。例えばDNAおよびRNAは、当該技術分野で既知の方法により、市販の試薬および合成機を用いて化学的に合成され得る（例えばGait, 1985, Oligonucleotide Synthe

sis: A Practical Approach, IRL Press, Oxford, England参照)。

【0102】

Mr g 核酸配列または dr g - 1 2 核酸配列によりコードされる任意の m R N A 転写体、例えば特に m R N A 前駆物質の代替的スプライシングまたはプロセッシングに起因する m R N A 転写体が、本発明の方法に用いられ得る。

【0103】

修飾ヌクレオシド結合を有する核酸も、本発明の方法に用いられ得る。核酸を修飾することにより、例えば分解に対してより強い耐性を有し得る。このような核酸は、当該技術分野で既知の試薬および方法を用いて合成され得る。例えばホスホネート、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホルアミデート、メトキシエチルホスホルアミデート、ホルムアセタール、チオホルムアセタール、ジイソプロピルシリル、アセトアミデート、カルバメート、ジメチレンスルフィド (- C H ₂ - S - C H ₂)、ジメチレン - スルホキシド (- C H ₂ - S O - C H ₂)、ジメチレン - スルホン (- C H ₂ - S O ₂ - C H ₂)、2' - O - アルキルおよび 2' - デオキシ - 2' - フルオロホスホロチオエートヌクレオシド内結合を含む核酸の合成方法が、当該技術分野で既知である。

【0104】

本発明のいくつかの実施形態では、用いられるヌクレオチドはアノマーヌクレオチドである。アノマーヌクレオチドは、相補的 R N A と特異的二重鎖ハイブリッドを形成するが、この場合、通常の単位とは逆に、その鎖は互いに同方向に結合する (Gautier et al., 1987, Nucl. Acids Res. 15:6625-6641)。ヌクレオチドは、2' - O - メチルリボヌクレオチド (Inoue et al., 1987, Nucl. Acid s Res. 15:6131-6148) またはキメラ R N A - D N A 類縁体 (Inoue et al., 1987, FEBS Lett. 215:327-330) であり得る。

【0105】

本発明の核酸を精製するための手段は当該技術分野で既知であり、特定の環境のための最適な精製方法を当業者は選択することができる。このような選択は、一部は、D N A のサイズ、精製される量および所望の純度に基づいて成され得る。例えば核酸は、逆相 H P L C またはイオン交換 H P L C、サイズ除外クロマト

グラフィーまたはゲル電気泳動により精製され得る。

【0106】

Mr gまたはd r g - 1 2コード配列の少なくとも10ヌクレオチド(すなわちハイブリダイズ可能部分)を有する単離ポリヌクレオチドまたは精製ポリヌクレオチド、またはその相補体も、本発明の方法に用いられ得る。他の実施形態では、ポリヌクレオチドはMr gコード配列のうちの、少なくとも25個の(連続)ヌクレオチド、50個のヌクレオチド、100個のヌクレオチド、150個のヌクレオチドまたは200個のヌクレオチド、または完全長Mr gコード配列を含む。核酸は、一本鎖または二本鎖であり得る。さらに本発明は、上記のコード配列の相補体と選択的にハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。好ましい実施形態では、ポリヌクレオチドは、Mr gコード配列の少なくとも10、25、50、100、150または200個のヌクレオチド、あるいはMr gコード配列の完全長を含む。

【0107】

Mr gタンパク質の突然変異体、Mr gのペプチド断片、Mr gの切断形態およびMr g融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列も、本発明の方法に有用であり得る。融合タンパク質をコードするヌクレオチドとしては、完全長Mr g配列、切断形態のMr g、または非関連タンパク質またはペプチドに融合されたMr gのペプチド断片をコードするヌクレオチド(例えばI g F cドメインに融合されたまたは酵素に融合されたドメイン、(例えばマーカーとして用いられ得る蛍光タンパク質または発光タンパク質))が挙げられるが、これらに限定されない。

【0108】

さらに、何らかの形態の指向性のある展開、例えば遺伝子シャッフリングまたは回帰的配列組合せにより、少なくとも一部が生成されたポリヌクレオチド変異体は、本発明の方法に用いられ得る。例えばこのような技法を用いて、Mr gまたはd r g - 1 2と同様のタンパク質をコードするが、機能的または構造的特徴が変更されている新規の配列が生成され得る。

【0109】

上記のポリヌクレオチド配列をコードするMr gの高度関連遺伝子相同体も、本発明に有用であり得る。高度関連相同体は、Mr gタンパク質と機能的活性を共有するタンパク質をコードし得る。

【0110】

本発明はさらに、コード核酸分子の断片を提供する。ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)のためのプローブまたは特異的プライマーとして、あるいは本発明のタンパク質をコードする遺伝子配列を合成するために用いられる本発明のコード核酸分子の断片(すなわち合成オリゴヌクレオチド)は、化学的技法により、例えばMatteucci等(J. Am. Chem. Soc. 103:3185-3191, 1981)のホスホトリエステル法により、または自動合成法を用いて容易に合成され得る。さらに、既知の方法により、例えば遺伝子の種々の調節セグメントを規定する一群のオリゴヌクレオチドの合成と、その後のオリゴヌクレオチドの連結反応とにより、完全修飾遺伝子を構築し、より大きいDNAセグメントを容易に調製し得る。

【0111】

本発明のコード核酸分子はさらに、診断目的およびプローブ目的のための検出可能標識を含むように修飾され得る。種々のこのような標識は当該技術分野で既知であり、本明細書中に記載されたコード分子とともに容易に用いられ得る。適切な標識としては、ビオチン、放射能標識ヌクレオチド等が挙げられるが、これらに限定されない。本発明の核酸分子の標識変異体を生成するために、当業者は任意のこのような標識を容易に用い得る。

【0112】

本発明のタンパク質のアミノ酸配列をコードする任意のヌクレオチド配列を用いて、以下でさらに詳細に説明するように、タンパク質の発現を企図する組換え分子を生成し得る。さらに本発明の方法は、Mr gまたはdrg-12コード配列および異種タンパク質に関する第二コード配列を含む融合ポリヌクレオチドも利用し得る。

【0113】

C. その他の関連核酸分子の単離

上記のように、mrgまたはdrg-12タンパク質をコードする核酸分子の

同定および特徴付けをすることにより、本明細書中に記載された配列のほかに、同一タンパク質ファミリーのその他の成員をコードする核酸分子を、当業者は単離することができる。

【0114】

本質的に、適切な細胞から調製された発現ライブラリーをスクリーニングするための抗体プローブを生成するために、当業者は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107あるいは109のアミノ酸配列を容易に用い得る。典型的には、精製タンパク質（下記のような）で免疫化したウサギのような哺乳動物からのポリクローナル抗血清、あるいはモノクローナル抗体を用いて、哺乳動物cDNAまたはゲノム発現ライブラリー（例えばラムダgt11ライブラリー）をプローブして、タンパク質ファミリーの他の成員に関する適切なコード配列を提供し得る。クローンcDNA配列は、融合タンパク質として発現され、それ自体の制御配列を用いて直接発現され、あるいはタンパク質の発現に用いられる特定の宿主に適した制御配列を用いて構築することにより発現され得る。

【0115】

あるいは、本明細書中に記載されたコード配列の一部は、合成され、任意の哺乳動物生物体由来の細胞からの、特にMr gタンパク質を発現すると考えられる細胞からのMr gタンパク質ファミリーの一成員をコードするDNAを検索するためのプローブとして用いられ得る。（約6～7アミノ酸長をコードする）約18～20ヌクレオチドを含有するオリゴマーが調製され、ゲノムDNAまたはcDNAライブラリーをスクリーニングするために用いられ、ストリンジェント条件下で、または過度のレベルの擬陽性を排除するのに十分なストリンジェント性の条件下でハイブリダイズさせる。コード配列の5'または3'末端に対応するオリゴヌクレオチドを用いて、より長いヌクレオチド配列を生成し得る。

【0116】

完全長 cDNA を生成するためには、複数 cDNA ライブラリーをスクリーニングすることが必要とされ得る。さらに、完全 5' 末端コード領域を生成するために RACE (cDNA 末端の迅速増幅) 技法のような技法を用いることが必要であり得る。RACE は、不完全 cDNA の 5' 末端を増幅するための PCR ベース戦略の一つである。cDNA の 5' 末端を生成するために、アンカープライマーおよび 3' プライマーを用いて 5' - RACE - Ready cDNA 上で PCR は実行される。次に、固定プライマーおよびネステッド 3' プライマーを用いて、二次 PCR が実施される。いったん完全長 cDNA 配列が生成されれば、それはアミノ酸配列に翻訳されて、同定可能領域、例えば翻訳開始および終結部位が側面に位置する連続オープンリーディングフレーム、潜在的シグナル配列、そして最後は本明細書中に開示されたタンパク質配列との全体的構造的類似性に関して検査され得る。

【0117】

関連核酸分子は、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) におけるオリゴヌクレオチドプライマーの対を用いることにより検索されて、コード核酸分子を選択的にクローニングし得る。オリゴヌクレオチドプライマーは、本明細書中に開示されたタンパク質コード配列を基礎にして設計された変性オリゴヌクレオチドプライマープールであり得る。反応のための鋳型は cDNA でもよく、該 cDNA は、例えば Mr g または dr g - 12 遺伝子対立遺伝子を発現することが既知であるかまたは考えられる、ヒトまたは非ヒト細胞株または組織、例えば DRG 組織から調製された mRNA の逆転写 (RT) により得られる。このような PCR プライマーを用いるための PCR 変性 / アニーリング / 伸長サイクルは当該技術分野に既知であり、他のコード核酸分子を単離する際に用いるために容易に適応され得る。

【0118】

増幅配列が Mr g または dr g - 12 コード配列の配列を表していることを確認するために、PCR 産物はサブクローニングされ、シーケンシングされ得る。次に PCR 断片は、種々の方法により完全長 cDNA クローンを単離するために用いられ得る。例えば増幅断片は標識され、cDNA ライブラリーをスクリーニ

ングするために用いられ得る。あるいは標識断片を用いて、ゲノムライブラリーのスクリーニングによりゲノムクローンを単離し得る。

【0119】

PCR技法は、完全長cDNA配列を単離するために利用され得る。RNAは、適切な細胞または組織供給源、例えば後根神経節(DRG)から単離され、RT反応は、一次鎖合成をプライムするために増幅断片のほとんどの5'末端に特異的なオリゴヌクレオチドプライマーを用いて実行され得る。その結果生じるRNA/DNAハイブリッドは次に、末端トランスフェラーゼ反応によってグアニンを用いて「尾化」され、ハイブリッドはRNAアーゼHで消化され、次に二次鎖合成がポリCプライマーを用いてプライムされ得る。これにより、増幅断片の上流のcDNA配列の単離が可能になる。

【0120】

mr gおよびdr g - 12ファミリーの他の成員をコードする核酸分子は、任意の利用可能なコンピュータ法、例えばPSI-BLAST (Altschul, et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402)、PHI-BLAST (Zhang, et al. (1998), Nucleic Acids Res. 26:3986-3990)、3D-PSM (Kelly et al. J. Mol. Biol. 299(2):499-520(2000))、ならびにその他のコンピュータ分析法 (Shi et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 262(1): 132-8(1999)およびMatsunami et al. Nature 404 (6778):601-4(2000)) (これらに限定されない)を用いて、既存のゲノム情報またはその他の配列情報で同定され得る。

【0121】

Mr gまたはdr g - 12遺伝子の突然変異体または対立遺伝子変異体のcDNAクローンも単離され得る。突然変異体または変異体タンパク質の考え得る供給源は、Mr gまたはdr g - 12を発現することが既知の組織であって、例えばMr gまたはdr g - 12の突然変異体または変異体の形態を保有すると推定される個体から得られるDRG組織である。このような個体は、例えば疼痛性刺激に対する応答性の増大または低減を実証することにより同定され得る。一実施形態では、突然変異体あるいは変異Mr gまたはdr g - 12遺伝子はPCRによって同定され得る。第一cDNA鎖は、変異体を保有すると推定される組織か

ら単離されたmRNAとオリゴ-dTオリゴヌクレオチドをハイブリダイズし、逆転写酵素により新規の鎖を伸長することにより、合成され得る。次にcDNAの第二鎖は、正常遺伝子の5'末端と特異的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを用いて合成される。次に、これら2つのプライマーを用いて、生成物はPCRにより増幅され、適切なベクター中でクローニングされ、当業者に既知の方法によりDNA配列分析を施される。突然変異Mr g対立遺伝子のDNA配列を、正常Mr g対立遺伝子のDNA配列と比較することにより、突然変異Mr g遺伝子産物の機能のあらゆる損失または変更の原因となる突然変異(単数または複数)が確認され得る。

【0122】

あるいはゲノムライブラリーが、突然変異Mr g対立遺伝子を保有すると考えられるかまたはそれが既知である個体から得られるDNAを用いて構築されるか、あるいはcDNAライブラリーが、突然変異Mr g対立遺伝子を発現することが既知のまたはそれが考えられる組織からのRNAを用いて構築され得る。次に、非損傷Mr g遺伝子またはその任意の適切な断片は標識され、このようなライブラリー中の対応する突然変異Mr g対立遺伝子を同定するためのプローブとして用いられ得る。次に、突然変異Mr g遺伝子配列を含有するクローンは精製され、当業者に既知の方法にしたがって配列分析を施される。

【0123】

さらに、例えばこのような突然変異Mr g対立遺伝子を保有すると考えられる個体中で突然変異Mr g対立遺伝子を発現することが既知の組織、またはそれが考えられる組織から単離されたRNAから合成されるcDNAを利用して、発現ライブラリーが構築され得る。このようにして、推定突然変異組織により作製される遺伝子産物は、以下に記載されるように、正常Mr g遺伝子産物に対して産生される抗体とともに標準抗体スクリーニング技法を用いて、発現され、スクリーニングされ得る。

【0124】

核酸分子を含む組換えDNA分子

本発明はさらに、コード配列を含有する組換えDNA分子(rDNA)を提供

する。本明細書で使用する場合、rDNA分子は、インサイチュにて分子操作を施したDNA分子である。rDNA分子を生成する方法は、当該技術分野で既知であり、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd edition, 1989; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NYを参照されたい。好ましいrDNA分子において、コードDNA配列を、発現制御配列および/またはベクター配列によって操作されるように連結することができる。

【0125】

したがって、本発明はまた、コード配列の発現を誘導する調節エレメントと任意に関連した、Mr_gまたはdr_g-12コード配列および/またはそれらの相補体のいずれかを含むDNAベクターを企図する。本発明のタンパク質ファミリーコード配列の1つを発現が調節されるように連結するベクターおよび/または発現制御配列の選択は、当該技術分野で既知のように、所望の機能特性（例えば、タンパク質発現）、および形質転換されるべき宿主細胞に直接的に依存して選択される。本発明により意図されるベクターは、rDNA分子に含まれる構造遺伝子の複製、または該遺伝子の宿主染色体への挿入、好ましくは該遺伝子の発現をも誘導することが少なくとも可能である。

【0126】

クローニングベクターおよび発現ベクターの両方は、ベクターが1つまたはそれ以上の選択宿主細胞において複製することを可能にする核酸配列を含む。クローニングベクターにおいて、この配列は、ベクターが宿主染色体DNAとは独立して複製することを可能にして、かつ複製起点または自己複製配列を含むものである。かかる配列は、様々な細菌、酵母およびウイルスに関して既知である。プラスミドpBR322由来の複製起点は、ほとんどのグラム陰性菌に適切であり、2プラスミド起点は、酵母に適切であり、様々なウイルス起点（SV40、ポリオーマ、アデノウイルス、VSVまたは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。

【0127】

生物体の少なくとも1つの種類にて複製可能であることに加えて、ほとんどの

発現ベクターは、発現用の別の生物体にトランスフェクトすることができる。例えば、ベクターは、大腸菌にて複製された後、同一ベクターが発現用の酵母または哺乳動物細胞にトランスフェクトされる。

【0128】

DNAはまた、宿主ゲノムへの挿入により増幅され得る。例えば、バシラス属ゲノム配列に相補的なDNA配列を含むベクターを用いたバシラス属のトランスフェクションは、ゲノムによる相同組換えおよびベクター由来のDNAの挿入をもたらす。このタイプの系の1つの欠点は、DNAを切除するのに制限酵素消化が必要であるため、所定のタンパク質をコードするゲノムDNAの回収が、外因的に複製されたベクターの回収よりも複雑であることである。

【0129】

発現を調節することができるように連結される、タンパク質コード配列の発現を調節するのに使用される発現制御エレメントは、当該技術分野で既知であり、誘導性プロモーター、構成的プロモーター、分泌シグナル、および他の調節エレメントが挙げられるが、これらに限定されない。好ましくは、誘導性プロモーターは、宿主細胞培地における栄養分に対する応答のように容易に制御される。

【0130】

一実施形態では、コード核酸分子を含有するベクターは、原核生物レプリコン、すなわち、組換えDNA分子でトランスフェクトした原核宿主細胞（例えば細菌宿主細胞）の内部であって染色体の外部にて、組換えDNA分子の自己複製および維持を誘導する能力を有するDNA配列を含むであろう。かかるレプリコンは、当該技術分野で既知である。さらに、原核生物レプリコンを含むベクターはまた、その発現が薬剤耐性のような検出可能なマーカーを付与する遺伝子を含んでもよい。典型的な細菌薬剤耐性遺伝子は、アンピシリンまたはテトラサイクリンに対する耐性を付与するものである。

【0131】

原核生物レプリコンを含むベクターは、大腸菌のような細菌宿主細胞においてコード遺伝子配列の発現（転写および翻訳）を誘導することが可能な原核生物またはバクテリオファージプロモーターをさらに含むうる。プロモーターは、RN

Aポリメラーゼの結合および転写が起こるのを可能にするDNA配列により形成される発現制御エレメントである。細菌宿主に適合するプロモーター配列は、典型的に、本発明のDNAセグメントを挿入するために便利な制限部位を含むプラスミドベクターにて提供される。典型的なかかるベクタープラスミドは、BioRad Laboratories (Richmond, CA)から入手可能なpUC8、pUC9、pBR322およびpBR329、ならびにPharmacia (Piscataway, NJ)から入手可能なpPLおよびpKK223である。

【0132】

真核細胞と適合する発現ベクター、好ましくは脊椎動物細胞と適合する発現ベクターもまた、コード配列を含むrDNA分子を形成するのに使用することができる。真核細胞発現ベクターは、当該技術分野で既知であり、幾つかの市販源から入手可能である。典型的に、所望のDNAセグメントを挿入するために便利な制限部位を含むかかかるベクターが提供される。典型的なかかるベクターは、pSVLおよびpKSV-10 (Pharmacia)、pBPV-1 / pML2d (International Biotechnologies, Inc.)、pTDT1 (ATCC, #31255)、アデノウイルスベクターまたはレトロウイルスベクターのような真核生物ウイルスベクター、および同様の真核発現ベクターである。

【0133】

本発明のrDNA分子を構築するのに使用される真核細胞発現ベクターは、真核細胞にて有効な選択を可能にするマーカー、好ましくは薬剤耐性選択マーカーをさらに含んでもよい。この遺伝子は、選択培地にて成長する形質転換宿主細胞の生存または成長に必要な要素をコードする。選択遺伝子を含むベクターで形質転換されていない宿主細胞は、培地で生存しないであろう。典型的な選択遺伝子は、抗生物質または他の毒素（例えばアンピシリン、ネオマイシン、メトトレキサートまたはテトラサイクリン）に対する耐性を付与するか、栄養要求欠損を補完するか、あるいは培地から与えられていない決定的栄養分を供給するタンパク質をコードする。好ましい薬剤耐性マーカーは、その発現がネオマイシン耐性、すなわちネオマイシンホスホトランスフェラーゼ (neo) 遺伝子をもたらす遺伝子である (Southern et al., J. Mol. Anal. Genet. 1:327-341, 1982)。選択

可能なマーカーは任意に、個々のプラスミド上に存在することができ、また同時トランスフェクションにより導入することができる。

【0134】

選択系の一例にて、哺乳動物細胞形質転換体は、ベクター（複数可）を取り込んだおかげで、形質転換体のみが生存することが可能であるような選択強制条件下に置かれる。選択強制条件は、培地における選択作用物質の濃度を徐々に増加することにより強くされ、それにより選択遺伝子および所望のタンパク質をコードするDNAの両方の増幅を刺激する。増幅は、成長に不可欠なタンパク質の産生のために要求される遺伝子が、組換え細胞の続く世代の染色体内でタンデムに反復されるプロセスである。Mr gのような所望のタンパク質の増加分は、増幅DNAから合成される。増幅可能な遺伝子の例としては、DHFR、チミジン、キナーゼ、メタロチオネイン - I および II、アデノシンデアミナーゼ、およびオルニチンデカルボキシラーゼが挙げられる。

【0135】

したがって、一実施形態では、Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216(1980)に記載されるように、DHFR活性を欠損したチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞を調製および増殖する。次に、CHO細胞をDHFR選択遺伝子で形質転換し、DHFRの競合アンタゴニストであるメトトレキセート(Mtx)を含有する培地にて培養することにより、形質転換体を同定する。次に、形質転換細胞を、増大したレベルのメトトレキセートに曝露する。これにより、DHFR遺伝子の多重コピーの合成、同時に所定のタンパク質をコードするDNA（例えば、Mr gをコードするDNA）のような、発現ベクターを含む他のDNAの多重コピーの合成が引き起こされる。

【0136】

あるいは、宿主細胞は、Mr gのような所定のタンパク質、野生型DHFRタンパク質、およびアミノグリコシド3'-ホスホトランスフェラーゼ(APH)のような他の選択可能なマーカーをコードするDNA配列で形質転換または同時形質転換され得る。次に、形質転換体は、アミノグリコシド系抗生物質（例えばカナマイシン、ネオマイシンまたはG418）のような、選択を可能にするマー

カーとしての選択作用物質を含む培地での成長により選択され得る。

【0137】

上述のように、発現ベクターおよびクローニングベクターは通常、宿主生物体により認識され、かつ所定のタンパク質をコードする核酸の発現を調節することができるように連結するプロモーターを含む。プロモーターは、構造遺伝子の開始コドンの上流（5'）に位置する非翻訳配列（一般に約100～1000bp内）であり、そのプロモーターが連結している、Mr g核酸配列のような特定の核酸配列の転写および翻訳を制御する。そのプロモーターは、誘導性であっても、あるいは構成的であってもよい。誘導性プロモーターは、温度変化のような、培養条件の一定の変化に应答して、それらの制御下にてDNAから増大したレベルの転写を開始する。所定のタンパク質をコードするDNAの発現を調節することができるようにプロモーターを連結する方法が、多くの異なるプロモーターについて当該技術分野で既知である。自然Mr gプロモーター配列またはdr g - 1 2プロモーター配列、および多くの異種プロモーターの両方が、Mr g DNAまたはdr g - 1 2 DNAの増幅および/または発現を誘導するのに使用され得る。しかしながら、異種プロモーターは、自然プロモーターと比較して、一般に所望のタンパク質のより高い転写および高収率を達成するため好ましい。

【0138】

原核生物宿主について使用するのに適したプロモーターとしては、例えば、ラクタマーゼプロモーター系およびラクトースプロモーター系が挙げられる(Chang et al., Nature, 275:615 (1978); Goeddel et al., Nature, 281:544 (1979))。しかしながら、他の細菌プロモーターが当該技術分野で既知であり、適切である。細菌系で使用するためのプロモーターはまた、所定のタンパク質をコードするDNAの発現を調節することができるように連結され得るシャイン・ダルガーノ(S . D .)配列を含むであろう。

【0139】

真核細胞において使用することが可能なプロモーター配列もまた既知である。実質的にすべての真核生物遺伝子が、転写開始部位の約25～30塩基上流に位置するATリッチ領域を有する。多くの遺伝子の転写開始部位の70～80塩基

の上流に見出される別の配列は、C X C A A T領域(ここで、Xは任意のヌクレオチドであり得る)である。たいていの真核生物遺伝子の3'末端に、コード配列の3'末端へのポリA尾(tail)の付加のためのシグナルであり得るA A T A A A配列が存在する。これらの配列すべてが、真核生物発現ベクターに挿入され得る。

【0140】

酵母宿主について使用するのに適切な促進配列の例としては、3-ホスホグリセレートキナーゼ用のプロモーター(Hitzeman et al., J. Biol. Chem., 255:2073 (1980))、または他の解糖作用酵素(Hess et al., J. Adv. Enzyme Reg., 7:149 (1968); Holland, Biochemistry, 17:4900 (1978))が含まれる。

【0141】

酵母について使用するための誘導性プロモーターもまた既知であり、アルコールデヒドロゲナーゼ2、イソシトクロムC、酸ホスファターゼ、窒素代謝に関連した分解酵素、メタロチオネイン、グリセルアルデヒド-3-ホスフェートデヒドロゲナーゼ、ならびにマルトースおよびガラクトース利用を担う酵素のためのプロモーター領域が含まれる。酵母発現に使用するための適切なベクターおよびプロモーターは、欧州特許第73,657号にさらに記載されている。酵母エンハンサーも、酵母プロモーターとともに使用するのも好ましい。

【0142】

哺乳動物宿主細胞のベクターからのMr gまたはd r g - 12転写はまた、異種哺乳動物プロモーター(例えば、アクチンプロモーターまたは免疫グロブリンプロモーター)から得られる、熱ショックプロモーターから得られる、自然配列に一般に関連したプロモーターから得られる、およびウイルス(ポリオーマウイルス、鶏痘ウイルス、アデノウイルス、ウシパピローマウイルス、トリ肉腫ウイルス、サイトメガロウイルス、レトロウイルス、B型肝炎ウイルス、最も好ましくはサルウイルス40(SV40)など)のゲノムから得られるプロモーターにより制御され得る。但し、かかるプロモーターは宿主細胞系に適合性である。

【0143】

転写は、ベクターにエンハンサー配列を挿入することにより活性化され得る。

エンハンサーは、その転写を増加するようにプロモーターに作用する、通常約100～300bp長のDNAのシス作用性エレメントである。哺乳動物遺伝子由来の多くのエンハンサー配列（グロビン、エラストラーゼ、アルブミン、フェトプロテイン、およびインスリン）が現在既知である。好ましくは、真核細胞ウイルス由来のエンハンサーが使用されるであろう。例としては、複製起点の後期側面におけるSV40エンハンサー（bp100～270）、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の後期側面におけるポリオーマエンハンサー、およびアデノウイルスエンハンサーが挙げられる。エンハンサーは、タンパク質コード配列に対して位置5'または3'にあるベクターにスプライシングされ得るが、プロモーターからの部位5'に位置されることが好ましい。

【0144】

真核宿主細胞（酵母、真菌、昆虫、植物、動物、ヒト、または他の多細胞生物体由来の有核細胞）にて使用される発現ベクターはまた、転写の終結およびmRNAの安定化に必要な配列を含むであろう。これらの配列は多くの場合、真核生物のDNAまたはcDNA、もしくはウイルスのDNAまたはcDNAの5'、および時折3'非翻訳領域に見出され、当該技術分野で既知である。

【0145】

上述の成分の1つまたはそれ以上を含むプラスミドベクターは、当該技術分野で既知の標準的技法を用いて容易に構築される。

【0146】

構築したプラスミドにおいて正確な配列を確認するための分析に関して、プラスミドを、大腸菌にて複製し、精製して、制限エンドヌクレアーゼ消化により分析して、および/または従来法により配列決定する。

【0147】

本発明のタンパク質の調製にて特に有用なのは、Mr_gまたはdr_g-12をコードするDNAの哺乳動物細胞での一過性の発現を提供する発現ベクターである。一過性発現は、宿主細胞が発現ベクターの多くのコピーを蓄積し、次に発現ベクターによりコードされる高レベルのポリペプチドを合成するように、宿主細胞にて効率的に複製することが可能な発現ベクターの使用を含む（上述のSambro

ok et al., pp. 16.17-16.22)。一過性の発現系は、クローニングされたDNAによりコードされるポリペプチドの利便性のよいポジティブ識別、ならびに所望の生物学的または生理学的特性に関するかかるポリペプチドのスクリーニングを可能にする。したがって、一過性の発現系は、本発明のポリペプチドの生物学的に活性な類縁体および変異体の同定のために、ならびにそれらのアゴニストおよびアンタゴニストの同定のために、本発明にて特に有用である。

【0148】

組換え脊椎動物細胞培養におけるMr gまたはdr g - 12の合成への応用に適切な他の方法、ベクターおよび宿主細胞は、当該技術分野で既知であり、特定の状況に容易に応用される。

【0149】

E. 外因的に供給されるコード核酸分子を含む宿主細胞

本発明は、本発明のタンパク質をコードする核酸分子で形質転換した宿主細胞をさらに提供する。宿主細胞は、原核生物性または真核生物性であり得るが、好ましくは真核生物性である。

【0150】

本発明のタンパク質の発現に有用な真核細胞は、細胞系が細胞培養法に適合性であり、発現ベクターの増殖および遺伝子産物の発現と適合性である限りは限定されない。かかる宿主細胞は、複合体プロセッシングおよびグルコシル化活性が可能である。原則として、脊椎動物培養由来であろうと無脊椎動物培養由来であろうと、任意のより高度な真核細胞培養が実行可能である。好ましい真核生物宿主細胞としては、酵母細胞、昆虫細胞、および哺乳動物細胞、好ましくはマウス、ラット、サルまたはヒト細胞系に由来するもののような脊椎動物細胞が挙げられるが、これらに限定されない。好ましい真核生物宿主細胞としては、CCL661としてATCCから入手可能なチャニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、CRL 1658としてATCCから入手可能なNIHスイスマウス胚細胞(NIH/3T3)、幼獣ハムスター腎細胞(BHK)、HEK293細胞、および同様の真核組織培養細胞系が挙げられる。

【0151】

培養における脊椎動物細胞の増殖は、日常的な手法である。例えば、Tissue culture, Academic Press, Kruse and Patterson, editors (1973)を参照されたい。容易に培養され得る有用な哺乳動物宿主細胞系のさらなる例は、SV40で形質転換したサル腎臓CV1系(COS-7、ATCC CRL 1651)、マウスセルトリ細胞(TM4、Mather, Biol. Reprod., 23:243-251 (1980))、サル腎細胞(CV1 ATCC CCL 70)、アフリカグリーンモンキー腎細胞(VERO-76、ATCC CRL-1587)、ヒト子宮頸癌腫細胞(HELA、ATCC CCL2)、イヌ腎細胞(MDCK、ATCC CCL 34)、バッファローラット肝臓細胞(BRL 3A ATCC CRL 1442)、ヒト肺細胞(W138 ATCC CCL 75)、ヒト肝臓細胞(Hep G2 HB 8065)、およびマウス乳腺腫瘍(MMT 060562、ATCC CCL51)である。

【0152】

アフリカツメガエル卵母細胞はまた、標準的手法によりMr gタンパク質またはdr g-12タンパク質のいずれかを発現することが可能なRNAを直接注入してもよい(Tominaga et al. Jpn J. Pharmacol. 83(1):20-4 (2000); Tominaga et al. Neuron 21(3):531-43 (1998)、およびBisogno et al. Biochem, Biophys. Res. Commun. 262(1)275-84 (1999)を参照)。

【0153】

宿主細胞として使用することができる無脊椎細胞の例としては、植物細胞および昆虫細胞が挙げられる。数多くのバキュロウイルス株および変異体、ならびに相当する許容昆虫宿主細胞が当該技術分野で既知であり、本発明の方法にて使用され得る。さらに、植物細胞培養物が既知であり、例えばMr gまたはdr g-12コードDNAを含むように操作されたアグロバクテリウム・チュメファシエンスとのインキュベーションによりトランスフェクトされてもよい。

【0154】

任意の原核生物宿主が、本発明のタンパク質またはタンパク質断片をコードするrDNA分子を発現するのに使用され得る。適切な真核生物としては、グラム陰性またはグラム陽性生物のような真正細菌、例えば腸内細菌科(Enterobacter

iaceae) (例えば、エシェリキア属(例えば、大腸菌)、エンテロバクター属、エルウィニア属、クレブシエラ属、プロテウス属、サルモネラ属(例えば、ネズミチフス菌)、セラチア属(例えば、霊菌)、および赤痢菌属)、ならびに桿菌属(Bacilli)(例えばB. サブチリス(subtilis)およびB. リチェニフォルミス(licheniformis)(例えば、1989年4月12日に公開されたDD第266, 710号に開示されるBリチェニホルミス41Pのような桿菌))、緑膿菌のようなシュードモナス属、およびストレプトマイセス属が挙げられる。好ましい原核細胞宿主は、大腸菌である。さらに、宿主細胞は、最小量のタンパク質分解性酵素を分泌することが好ましい。

【0155】

原核生物のほかに、糸状菌または酵母のような真核微生物は、Mr gまたはd r g - 12コードベクター用の適切なクローニング宿主または発現宿主である。例えば、サッカロミセス・セレビスエ(Saccharomyces cerevisiae)を使用してもよい。さらに、分裂酵母属Schizosaccharomyces pombe(Beach et al. Nature, 290:140 (1981)、欧州特許第139, 383号)、クルイベロマイセス属(Kluyveromyces)宿主(米国特許第4, 943, 529号、上述のFleer et al.)(例えばK. ラクティス(lactis)(MW98-8C、CBS683、CBS4574、Lourencourt et al., J. Bacteriol., 737 (1983))、K. フラギリス(fragilis)(ATCC 12, 424)、K. ブルガリクス(bulgaricus)(ATCC 16, 045)、K. ウィッケラミイ(wickeramii)(ATCC 24, 178)、K. ワルチイ(waltii)(ATCC 56, 500)、K. ドロソフィラルム(drosophilum)(ATCC 36, 906、上述のVan den Berg et al.))、K. サーモトレランス(thermotolerans)、およびK. マルキシアヌス(marxianus))、ヤロウシア(yarrowia)(欧州特許第402, 226号)、ピチア・パストリス(Pichia pastoris)(欧州特許第183, 070号、Sreekrishna et al. J. Basic Microbiol., 28:265-278 (1988))、カンジダ属、トリコデルマ・レエシア(Trichoderma reesia)(欧州特許第244, 234号)、アカパンカビ属Neurospora crassa(Case et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76:5259-5263 (1979))、シュワンニオマイセス・オクシデンタリス(Schwanniomyces occidentalis)(欧州特許第394, 5

38号)のようなシュワンニオマイセス属、ならびに糸状菌(例えばアカパンカビ属、ペニシリン属、トリポクラジウム属(*Tolyposcladium*)(国際公開第91/00357号)、およびA. ニドゥランス(*nidulans*)(Ballance et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 112:284-289 (1983); Tilburn et al., *Gene*, 26:205-221 (1983); Yelton et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 1470-1474 (1989))およびA. ニガー(*niger*)(Kelly et al. *EMBO J.*, 4:475-479 (1985))のようなアスペルギルス宿主)のような多数の他の属、種および株が一般に利用可能であり、本発明にて有用である。

【0156】

本発明のrDNA分子による適切な細胞宿主の形質転換は、使用するベクター型および用いる宿主系に典型的に依存する既知の方法により達成される。原核宿主細胞の形質転換に関して、エレクトロポレーションおよび塩処理法が典型的に使用され、例えばCohen et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69:2110, (1972)、およびManiatis et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1982)を参照されたい。rDNAを含有するベクターでの脊椎動物細胞の形質転換に関して、エレクトロポレーション、陽イオン性脂質または塩処理法が典型的に用いられ、例えば、Graham et al. *Virology* 52:456, (1973)、Wigler et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 1373-76, (1979)を参照されたい。リン酸カルシウム沈殿法が好ましい。しかしながら、核マイクロインジェクションおよび細菌プロトプラスト融合を含む細胞にDNAを導入する他の方法もまた使用され得る。

【0157】

組換えチャネルの一過性の発現に関して、Na⁺電流または細胞内Na⁺レベルの測定用の形質転換宿主細胞は典型的に、リン酸カルシウム沈殿技法(Ukomadu et al. *Neuron* 8, 663-676 (1992))を用いて、蛍光レポータープラスミド(例えばpGreen Lantern-1、Life Technologies)とともにHEK293細胞のような細胞に構築物を同時トランスフェクトすることにより調製される。48時間後、緑色の蛍光を伴う細胞が、記録用に選択される(Dib-Hajj et al. *FEBS Lett.* 416, 11-14 (1997))。同様に、実施例4に記載するように

、Mr g受容体の一過性発現の測定および受容体活性化に応答した細胞内Ca²⁺の変化の測定に関して、HEK細胞は、Mr g発現構築物および蛍光レポータープラスミドで同時トランスフェクトされ得る。HEK293細胞は典型的に、10%ウシ胎児血清(Life Technologies)を補充した高グルコースDMEM培地(Life Technologies)にて成長される。

【0158】

本発明のポリペプチドを生産するのに使用される原核細胞は、上述のSambrook等に一般に記載されるように、適切な培地にて培養される。

【0159】

本発明のポリペプチドを生産するのに使用される哺乳動物宿主細胞は、Ham's F10 (Sigma)、最小必須培地 (MEM)、Sigma)、RPMI - 1640 (Sigma)、およびダルベッコ変法イーグル培地 (DMEM)、Sigma) のような市販の培地を含むが、これらに限定されない様々な培地にて培養され得る。さらに、Ham et al. Meth. Enz., 58:44 (1979)、Barnes et al. Anal. Biochem. 102:255 (1980)、米国特許第4,767,704号、米国特許第4,657,866号、米国特許第4,927,762号、米国特許第4,560,655号、または米国特許第5,122,469号、国際公開第90/03430号、国際公開第87/00195号、または米国特許再審査第30,985号に記載される培地のいずれを、宿主細胞用培地として使用してもよい。これらの培地のいずれも、必要な場合にホルモンおよび/または他の成長因子 (例えば、インシュリン、トランスフェリン、または上皮成長因子)、塩 (例えば、塩化ナトリウム、カルシウム、マグネシウム、およびリン酸塩)、緩衝液 (例えば、ヘペス)、ヌクレオシド (例えば、アデノシンおよびチミジン)、抗生物質、トレースエレメント、およびグルコースまたは等価エネルギー源を補充してもよい。任意の他の必要なサプリメントはまた、当業者により決定されるように、適切な濃度で含入され得る。培養条件は、発現に関して選択した宿主細胞ですでに使用したものであり、当業者には明らかであろう。

【0160】

本開示にて言及される宿主細胞は、培養における細胞、ならびに宿主動物内に

ある細胞を含む。

【0161】

首尾よく形質転換した細胞、すなわち、本発明の rDNA 分子を含む細胞は、選択マーカーに関する選択を含む既知の技法により同定され得る。例えば、本発明の rDNA の導入により生じる細胞をクローニングして、単一コロニーを生産することができる。これらのコロニーからの細胞を収集し、溶解して、Southern, J. Mol. Biol. 98:503, (1975) または Berent et al., Biotech. 3:208, (1985) により記載されるような方法を用いて、rDNA の存在に関してそれらの DNA 内容物を検査するか、または以下に記載のような免疫学的方法により細胞から生産されるタンパク質をアッセイすることができる。

【0162】

遺伝子増幅および/または遺伝子発現は、本明細書中に提供する配列に基づいて、適切な標識プローブを用いた、サザンブロットイング、mRNA の転写を定量化するためのノーザンブロットイング(Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:5201-5205 (1980))、ドットブロットイング(DNA 分析)、またはインサイチュウハイブリダイゼーションを含む当該技術分野で既知の任意の技法により測定され得る。様々な標識、最も一般的には放射性同位体、特に³²P が用いられ得る。

【0163】

遺伝子発現を測定する免疫学的方法としては、組織切片または培養液中の細胞の免疫組織化学的染色、ならびに培地または体液におけるタンパク質レベルをアッセイすることが挙げられる。免疫組織化学的染色技法を用いる場合、脱水および固定化により細胞試料を調製した後、遺伝子産物に特異的な標識抗体と反応させ、そこで酵素標識、蛍光標識、発光標識等の標識は通常、視覚的に検出可能である。

【0164】

試料液の免疫組織化学的染色および/またはアッセイに有用な抗体は、モノクローナルまたはポリクローナルのいずれかであり、本明細書中に記載するように調製され得る。

【0165】

F . r DNA分子を用いた組換えタンパク質の生産

本発明はさらに、本明細書中に記載の核酸分子を用いて本発明のタンパク質を生産する方法を提供する。包括的に、組換え型のタンパク質の生産は典型的に、以下のステップを含む。

【0166】

第一に、本発明のm r gタンパク質またはd r g - 1 2タンパク質をコードする核酸分子（例えば、配列番号1のヌクレオチド115～1026、配列番号1のヌクレオチド115～1029、配列番号3のヌクレオチド137～1051、配列番号3のヌクレオチド137～1054、配列番号5のヌクレオチド165～1070、配列番号5のヌクレオチド165～1073、配列番号7のヌクレオチド1～450、配列番号9のヌクレオチド1～459、配列番号11のヌクレオチド1820～2734、配列番号13のヌクレオチド170～574、配列番号13のヌクレオチド170～577、配列番号15のヌクレオチド328～1293、配列番号15のヌクレオチド328～1296、配列番号17のヌクレオチド171～1160、配列番号17のヌクレオチド171～1163、配列番号20のヌクレオチド83～943、配列番号20のヌクレオチド83～946、配列番号22のヌクレオチド16～918、配列番号22のヌクレオチド16～921、配列番号24のヌクレオチド106～1020、配列番号24のヌクレオチド106～1023、配列番号26のヌクレオチド45～959、配列番号26のヌクレオチド45～962、配列番号28のヌクレオチド1～405、および配列番号28のヌクレオチド1～408）をまず得る。これらの配列のように、コード配列がイントロンにより中断されない場合、それは任意の宿主における発現にまさに適している。

【0167】

次に、核酸分子を、好ましくは上述のように適切な制御配列によって発現が調節できるように連結して、タンパク質オープンリーディングフレームを含む発現ユニットを形成する。発現ユニットを用いて、適切な宿主を形質転換し、形質転換した宿主を、組換えタンパク質の生産が可能な条件下にて培養する。任意に、

組換えタンパク質を、培地または細胞から単離する。タンパク質の回収および精製は、不純物が許容される場合、または組換え細胞が例えばハイスループットアッセイにて使用される場合、必ずしも必要でない。

【0168】

先述の工程のそれぞれは、様々な様式で実行することができる。例えば、所望のコード配列を、ゲノム断片から得て、適切な宿主に直接使用してもよい。様々な宿主にて発現を調整することができる発現ベクターの構築は、上述のように、適切なレプリコンおよび制御配列を用いて達成される。制御配列、発現ベクターおよび形質転換法は、遺伝子を発現するのに使用される宿主細胞型に依存し、先だって詳述してきた。適切な制限部位が、一般に利用可能でない場合、コード配列の末端に付加され、これらのベクターに挿入するための切除可能な遺伝子を提供し得る。当業者は、組換えタンパク質を生産するために、本発明の核酸分子とともに使用するための当該技術分野で既知の任意の宿主/発現系を容易に見出すことができる。

【0169】

一実施形態では、Mr gまたはd r g - 1 2は、相同組換えにより生じ得る。簡潔に述べると、Mr gまたはd r g - 1 2コード遺伝子を含む一次ヒト細胞をベクターで形質転換し、該ベクターは増幅を可能にする遺伝子（例えば、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（DHFR））およびMr gまたはd r g - 1 2遺伝子のコード領域の遺伝子座にてDNA配列と相同的な少なくとも約150bp長の少なくとも1つのフランキング領域を含む。増幅を可能にする遺伝子は、Mr gまたはd r g - 1 2遺伝子の発現を妨害しないように位置しなければならない。形質転換時に、構築物は、一次細胞のゲノムに相同的に組み込まれるようになり、増幅を可能にする領域を規定する。

【0170】

次に、構築物中に存在する増幅を可能にする遺伝子または別のマーカーに基づいて、形質転換細胞を選択する。マーカー遺伝子の存在は、宿主ゲノムに構築物が存在することおよび組込まれていることを確実にする。PCR、続くシーケンシングまたは制限断片分析を用いて、相同組換えが生じたことを確認し得る。

【0171】

次に、増幅を可能にする領域の全体を、同定一次細胞から単離して、宿主細胞に形質転換する。次に、増幅を可能にする領域を含むクローンを選択した後、増幅作用物質との処理により増幅する。最終的に、遺伝子を発現させ、所望のタンパク質を生産するために、宿主細胞を成長させる。

【0172】

本発明のタンパク質は、直接的に生産するだけでなく、異種ポリペプチドとの融合ポリペプチドとして、組換え的に生産されてもよい。一実施形態では、異種ポリペプチドは、シグナル配列であってもよい。一般に、シグナル配列は、ベクターの成分であり得るか、またはそれは、ベクターに挿入されるMr gもしくはd r g - 1 2 DNAの一部であり得る。選択される異種シグナル配列は、好ましくは、宿主細胞により認識およびプロセッシングされる（すなわち、シグナルペプチドにより切断される）配列である。原核宿主細胞における発現に関して、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、l p p、および熱安定性エンテロトキシンIIリーダーからなる群から選択される原核生物シグナル配列であってもよい。酵母分泌に関して、自然シグナル配列は、例えば酵母インベルターゼリーダー、因子リーダー（サッカロミセス属およびクルイベロマイセス属因子リーダー、または酸性ホスファターゼリーダー、およびC . アルピカンスグルコアミラーゼリーダーを含む）により置換されてもよい。哺乳動物細胞発現において、任意の自然シグナル配列は適している。あるいは、それは、関連タンパク質からのシグナル配列、ならびにウイルス分泌リーダー（例えば、単純ヘルペスg Dシグナル）により置換されてもよい。かかる前駆物質領域のためのDNAは、リーディングフレームにて、成熟タンパク質またはその可溶性変異体をコードするDNAに連結される。

【0173】

異種ポリペプチドはまた、例えば融合タンパク質の発現位置を同定するために使用され得るマーカーポリペプチドであり得る。蛍光タンパク質のようなマーカーポリペプチドが当該技術分野にて既知であり得る。好ましいマーカータンパク質は、グリーン蛍光タンパク質（GFP）である。

【0174】

G . M r g ポリペプチドの修飾

M r g および d r g - 1 2 ならびにそれらの各変異体の共有結合的修飾は本発明の範囲内に含まれる。一実施形態では、本発明のポリペプチドの特定アミノ酸残基を、誘導体化する有機試薬と反応させる。二官能性作用物質による誘導体化は、例えば非水溶性支持体またはその表面に、M r g または M r g 断片もしくはは誘導体を架橋するのに有用であり、抗 M r g 抗体の精製、ならびに結合パートナーおよびリガンドを同定する方法として使用することができる。さらに、M r g または M r g 断片は、結合特異性およびエフェクター機能を調節するために、互いに架橋されてもよい。多くの架橋剤が当該技術分野で既知であり、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、ビス - N - マレイミド - 1, 8 - オクタンのような二官能性マレイミド、およびメチル - 3 - [(p - アジドフェニル)ジチオ]プロピオイミデートのような作用物質が挙げられるが、これらに限定されない。

【0175】

他の意図される修飾としては、グルタミル残基およびアスパラギン残基の、それぞれ相当するグルタミンおよびアスパルチル残基への脱アミド化、プロリンおよびリシンのヒドロキシル化、セリル残基またはトレオニル残基の水酸基のリン酸化、リシン、アルギニンおよびヒスチジン側鎖の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、および任意のC末端カルボキシル基のアミド化が挙げられる。

【0176】

本発明のポリペプチドのグリコシル化パターンの修飾も意図される。ポリペプチドのグリコシル化パターンの改変方法が当該技術分野で既知である。例えば、自然配列 M r g または d r g - 1 2 に見られる1つまたはそれ以上の炭水化物部分は、化学的に、酵素的に、またはグリコシル化部位の修飾により除去されてもよい。あるいは、例えば直接的に炭水化物部分の組成を操作することより、あるいはアミノ酸配列を改変することで自然配列 M r g または d r g - 1 2 に存在し

ないグルコシル化部位を付加することにより、さらにグリコシル化してもよい。

【0177】

本発明のポリペプチドの別のタイプの共有結合的修飾は、米国特許第4,640,835号、米国特許第4,496,689号、米国特許第4,301,144号、米国特許第4,670,417号、米国特許第4,791,192号、または米国特許第4,179,337号に記載される様式で、ポリペプチドまたはその断片もしくは誘導体を、様々な非タンパク質ポリマー（例えばポリエチレングリコール（PEG）、ポリプロピレングリコールまたはポリオキシアルキレン）の1つに連結することを含む。

【0178】

本発明のポリペプチドはまた、別の異種ポリペプチドまたはアミノ酸配列に融合されたMr gまたはd r g - 12を含むキメラ分子を形成する方法にて修飾され得る。

【0179】

一実施形態では、かかるキメラ分子は、抗タグ抗体が選択的に結合され得るエピトープを有するタグポリペプチドと、Mr gまたはd r g - 12との融合を含む。エピトープタグは、ポリペプチドのアミノ末端またはカルボキシル末端に置かれるのが一般である。エピトープタグは、キメラタンパク質の同定を可能にし、ならびにエピトープタグに結合する抗タグ抗体または別のタイプのアフィニティマトリックスを用いたアフィニティ精製によるキメラタンパク質の精製を可能にする。多数のタグポリペプチドおよびそれらに対するそれぞれの抗体は、当該技術分野で既知である。既知のタグとしては、ポリヒスチジン（poly-his）タグまたはポリヒスチジン-グリシン（poly-his-gly）タグ、flue HAタグポリペプチド(Field et al., Mol. Cell. Biol., 8:2159-2165 (1988))、c-mycタグ(Evan et al., Molecular and Cellular Biology, 5:3610-3616 (1985))、単純ヘルペスウイルス糖タンパク質D (gD) タグ(Paborsky et al., Protein Engineering, 3(6):547-553 (1990))、およびFla gペプチド(Hopp et al., Bio Technology, 6:1204-1210 (1988))が挙げられる。

【0180】

別の実施形態では、キメラ分子は、免疫グロブリンまたは免疫グロブリンの特定領域と、Mr gまたはd r g - 1 2との融合を含む。イムノアドヘシンを生産するために、本発明のポリペプチドまたはそれらの断片もしくは特定ドメイン（複数可）は、I g G分子のF c領域と融合され得る。典型的に、免疫グロブリン重鎖定常領域配列と融合される。本発明における使用のためのMr gまたはd r g - 1 2免疫グロブリンキメラは一般的に、免疫グロブリン定常ドメイン配列のN末端をコードする核酸にC末端で融合したMr gまたはd r g - 1 2受容体の、1つまたはそれ以上の細胞外ドメインをコードする核酸、またはそれらの断片から調製される。N末端融合もまた可能である。

【0181】

本発明のイムノアドヘシンにて必要ではないが、免疫グロブリン軽鎖は、Mr gまたはd r g - 1 2免疫グロブリン重鎖融合ポリペプチドに共有結合されているか、あるいはMr gまたはd r g - 1 2に直接融合されて、存在してもよい。共有結合させるために、免疫グロブリン軽鎖をコードするDNAが、Mr gまたはd r g - 1 2免疫グロブリン重鎖融合タンパク質をコードするDNAと同時発現されてもよい。分泌時に、ハイブリッド重鎖およびハイブリッド軽鎖は、2つのジスルフィド連結免疫グロブリン重鎖 - 軽鎖対を含む免疫グロブリン様構造を有するために、共有結合されるであろう。

【0182】

二重特異性イムノアドヘシンもまた作製され得る。二重特異性イムノアドヘシンは、Mr gまたはd r g - 1 2ドメイン、および別の受容体由来の細胞外ドメインのようなドメインとを組み合わせ得る。あるいは、本明細書中のイムノアドヘシンは、それぞれが免疫グロブリン重鎖定常ドメイン配列に融合した2つの異なるMr g受容体部分を含んでもよい。

【0183】

さらに別の実施形態では、本発明のキメラ分子は、Mr gまたはd r g - 1 2あるいはその断片もしくはドメイン（複数可）と、異種受容体またはその断片もしくはドメイン（複数可）との融合を含む。異種受容体は、関連Mr gまたはd r g - 1 2ファミリーの成員であってもよく、あるいは完全に非関連であっても

よい。特定リガンドに関する所望のリガンド特異性または所望の親和性を有する融合タンパク質を得るために、あるいは所望のエフェクター機能を有する融合タンパク質を得るために、Mr gタンパク質またはd r g - 1 2タンパク質に融合される異種タンパク質が選択され得る。

【0184】

H. 分子プローブもしくは診断プローブとしてm r gまたはd r gを使用する方法

本発明の配列および抗体、タンパク質およびペプチドは、知覚、特に疼痛の認知に関連もしくは関与した細胞または組織の検出のための分子プローブとして使用してもよい。多くの方法が、インサイチューにて本発明の核酸またはタンパク質を検出するのに使用され得るが、好ましいプローブとしては、アンチセンス分子および抗m r gまたは抗d r g - 1 2抗体が挙げられる。

【0185】

本発明の核酸またはタンパク質の検出用プローブは、緑内障または慢性疼痛のような特定の病状にて、あるいは増大または抑制された知覚にて、Mr gまたはd r g - 1 2タンパク質の関与を同定するために使用することを見出し得る。特に、例えば異痛症、痛覚過敏または慢性疼痛を有する患者、または緑内障のような疾患もしくは障害を有する患者のような、知覚の変化を示す患者にて、本発明のプローブは、Mr gまたはd r g - 1 2発現が増加または減少しているかどうかを確定する際に有用であり得る。本発明のポリペプチドの発現の減少または過剰発現を確定することは、例えば、Mr gもしくはd r g - 1 2アゴニストまたはアンタゴニストを投与するような、障害を治療する治療上のアプローチを同定する際に有用であり得る。

【0186】

病状、特に疼痛の動物モデルでのMr gまたはd r g - 1 2発現レベルの変化の確定はまた、その発現または活性を調整する化合物により、効果的に治療され得る障害の種類を同定する際に有用であり得る。

【0187】

さらに、本発明のプローブ、例えばアンチセンス分子および抗体は、Mr g変

異体または *dr g - 12* 変異体の突然変異体または変異体形態の発現を検出するのに使用され得る。かかる変異体を検出する能力は、特定の病状にて、および特定の患者が感じている症状にて変異体が果たす役割を同定する際に有用であり得る。疾患もしくは障害における *Mr g* 変異体または *dr g - 12* の変異体の関与の同定は、遺伝子治療、または受容体変異体に結合することが知られているアゴニストもしくはアンタゴニストを投与するような、疾患または障害の治療のための治療上のアプローチを提案し得る。

【0188】

さらに、本発明のプローブは、互いの関係を含めた様々な *Mr g* および *dr g - 12* ファミリーの成員の正確な発現パターンを確定するのに使用され得る。例えば、図2のインサイチュウハイブリダイゼーションの検鏡画像によると、新生野生型 (WT) マウスおよびニューロゲニン1ヌル突然変異 (*Ng n 1⁺*) マウス由来の後根神経節 (DRG) の横断切片における配列番号2 (「*mr g 3*」) および配列番号4 (「*mr g 4*」) のヌクレオチドに対するアンチセンス染色が局在化していることを示す。白点線は、DRGの輪郭を描いており、黒点線は、脊髄の輪郭を描いている。*Ng n 1⁺* 突然変異体にて、DRGの大きさが、3つの他の別個のマーカー (*tr k A*、*VR - 1* および *SNS - TTX i* (Ma et al., (1999))) を用いて同定した場合、侵害受容感覚ニューロンの損失に起因して、激しく減少していることに留意されたい。*mr g 3* は、WTマウスにてDRGサブセットで発現される (A) が、*Ng n 1⁺* DRGでは存在しない (B)。 *mr g 4* は、*mr g 3* よりも小さいDRGサブセットで発現される (C)。 *mr g 4* もまた、*Ng n 1⁺* DRGでは存在しない (D)。 *Ng n 1⁺* DRGにおける *mr g* 発現ニューロンの損失は、これらのニューロンが侵害受容性である可能性が高いことを示す。

【0189】

後根神経節 (DRG) ニューロンのサブセットでの *mr g* の発現を図2Aに示す。野生型マウス (a ~ i) および *ng n 1⁺* (j) 突然変異新生マウス由来のDRGの凍結した横断切片をアンチセンスジゴキゲニンRNAプローブを用いてアニーリングして、アルカリホスファターゼ結合抗体を用いてハイブリダイゼー

ションを可視化した。陽性シグナルを濃紫染色として示す。TrkAは、野生型DRGニューロンの大部分で発現される(a)が、ngn1⁺のニューロンでは存在しない(データを示さず)。8個のmr g遺伝子のそれぞれが、野生型DRGにおけるニューロンの小さなサブセットで発現され(b~i)、ngn1⁺DRGでは完全に存在しない(j以外にデータを示さず)。黒点線は、ngn1⁺突然変異DRGの輪郭を描いている。

【0190】

図2Bでは、mr gは、TrkA⁺侵害受容ニューロンにより発現される。二重標識技法を用いて、DRGニューロンにおけるTrkA(緑、[b、e])およびmr g(赤、[a、d])を同時局在化した。二重標識実験中、mr g3(a~c)またはmr g5(d~f)フルオレセイン標識アンチセンスRNAプローブのいずれかを用いて、野生型DRGの凍結切片をインサイチューハイブリダイズした後、抗TrkA抗体免疫染色した。同一の2つの枠(aおよびb、dおよびe)は、同時局在化の程度を明らかにするためにデジタル方式で重ね合わせた(c、f)。mr g3またはmr g5のいずれかとのTrkAの同時局在化は、合併画像にて黄色のように見える(それぞれ、c、f)。白矢頭は、二重陽性細胞の例を示す。

【0191】

図2Cでは、mr gおよびVR1が、DRGにおける2つの異なる侵害受容ニューロンの集団を規定する。mr g3またはmr g5フルオレセイン標識アンチセンスRNAプローブのいずれかを用いたインサイチューハイブリダイゼーション(赤)と抗VR-1抗体免疫染色(緑)との組合せにより、mr g3(a~c)もmr g5(d~f)も、VR-1陽性ニューロンにより発現されないことを実証した。併合画像(c、f)では、mr g3またはmr g5とのVR1の同時局在化は存在しなかった。白矢頭は、mr g発現侵害受容ニューロンであるが、VR1(を発現しない)陰性の侵害受容ニューロンを指し示す。

【0192】

図2Dでは、mr gが、IB4⁺侵害受容ニューロンにより発現されることがわかる。二重標識技法を用いて、DRGニューロンにおけるIB4(緑、[b、

e]) および m r g (赤、 [a、 d]) を同時局在化した。 m r g 3 および m r g 5 の発現は、上述のように、インサイチュールハイブリダイズすることにより可視化した。続いて同一 D R G 切片を F I T C 結合レクチンにより I B 4 結合を施した。併合画像 (c、 f) では、 m r g および I B 4 染色との間に広範囲の重なりが存在した (矢頭で示した黄色いニューロン) 。

【 0 1 9 3 】

正常組織における、および疾患の動物モデルから、あるいは疾患または障害を患う患者から摂取した組織における本発明の受容体の発現パターンに関する情報は、受容体の生物学的機能をさらに規定する際に、および特定の疾患または障害に関与する特定受容体または受容体の組合せに対して、治療方法を適合させる際に有用であろう。

【 0 1 9 4 】

I . 結合パートナーの同定方法

以下により詳述するように、数個のペプチドが、 M r g 受容体の内因性リガンドとして推定的に同定された。特に、 N P A F および N P F F を含む R F - アミドペプチドは、幾つかの M r g 受容体を効果的に刺激することがわかった。 M r g 受容体のさらなる新規リガンドおよび d r g - 1 2 のリガンドを同定するために、これらの受容体に結合する化合物を同定することがまず必要である。したがって、本発明の別の実施形態は、本発明のタンパク質の結合パートナーまたはリガンドを単離および同定する方法を提供する。 M r g と相互作用する巨大分子は、この議論のために「結合パートナー」と名付ける。以下の議論は具体的には、 M r g 受容体に関する結合パートナーを同定することに関するが、本発明のアッセイは同様に d r g - 1 2 に関する結合パートナーを同定するために使用され得ることが意図される。

【 0 1 9 5 】

受容体結合は、自然源から単離されるか、または直接合成される M r g 受容体を用いて試験され得る。しかしながら、上述の組換え法により得られる M r g 受容体が好ましい。

【 0 1 9 6 】

本発明によりスクリーニングされ得る化合物としては、ポリペプチド、ペプチド（ランダムペプチドライブラリーの成員（例えば、Lam, K.S. et al., 1991, Nature 354:82-84; Houghten, R. et al., 1991, Nature 354:84-86を参照）、およびDおよび/またはL配置アミノ酸から作製されるコンビナトリアルケミストリー由来の分子ライブラリーを含むが、これに限定されない）、ホスホペプチド（ランダムまたは部分的縮重指向性ホスホペプチドライブラリーを含むが、これに限定されない、例えばSongyang, Z. et al., 1993, Cell 72:767-778を参照）、ペプチド擬似体、抗体（ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、抗イディオタイプ抗体、キメラ抗体または単鎖抗体、F A b、F (a b)₂およびF A b発現ライブラリー断片、ならびにそれらのエピトープ結合断片を含むが、これらに限定されない）、および小有機分子または小無機分子が挙げられるが、これらに限定されない。

【0197】

候補または試験化合物が、M r g受容体と結合する能力は、例えば競合的結合アッセイにて、直接的または間接的に測定することができる。競合結合実験では、受容体に結合した別の化合物の50%と取って代わるのに必要な試験化合物濃度（I C₅₀）が、結合親和性の尺度として用いられる。これらの実験では、受容体に結合した別の化合物とは、R F - アミドペプチドのような、高親和性でM r g受容体に結合することが知られているリガンドである。

【0198】

生化学的スクリーニングアッセイ、免疫アッセイ、細胞ベースのアッセイおよびタンパク質 - タンパク質結合アッセイを含む様々なアッセイ形式が用いられてもよく、それらのすべてが当該技術分野で十分に特徴づけされている。一実施形態では、アッセイは、試験化合物を固相上に固着することと、M r g受容体を含む非固定化成分を添加することと、反応終了時に固相上に固着したM r g / 試験化合物複合体を検出することを含む。代替的实施形態では、試験化合物を固着するのではなく、M r gが固体表面上へ固着されてもよい。両方の状況にて、複合体の同定を可能にするために、試験化合物またはM r g受容体のいずれかが、直接的あるいは間接的に標識される。例えば、M r g - I gイムノアドヘシンが固

体支持体に固着され、1つまたはそれ以上の試験化合物と接触させてもよい。

【0199】

マイクロタイタープレートは、好ましくは、固相として利用され、固着成分は、非共有結合または共有結合により固定化され得る。非共有結合は、タンパク質溶液で固体表面を単にコーティングして、乾燥することにより達成され得る。あるいは、固定化されるべきタンパク質に特異的な固定化抗体、好ましくはモノクローナル抗体を用いて、タンパク質を固体表面に固着してもよい。

【0200】

あるいは、反応は、液相で行うことができ、反応産物を未反応成分から分離し、複合体を検出することができる。例えば、溶液中で形成される任意の複合体を固着するためのMr gポリペプチド、ペプチドまたは融合タンパク質、あるいは試験化合物に特異的な固定化抗体、および固着した複合体を検出するための考え得る複合体以外の成分に特異的な標識抗体を用いることにより複合体を検出することができる。

【0201】

これらの方法の一実施形態では、潜在的結合パートナーが本発明のタンパク質と会合できる条件下にて、本発明のタンパク質または本発明のタンパク質断片（例えば、細胞外ドメイン断片）を、1つまたはそれ以上の潜在的結合パートナー、または細胞の抽出物もしくは分画と混合する。混合後、本発明のタンパク質と会合したペプチド、ポリペプチド、タンパク質または他の分子を混合物から分離する。次に、本発明のタンパク質に結合した結合パートナーを取り出し、同定し、さらに分析する。結合パートナーを同定および単離するために、全Mr gタンパク質、例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107または109の全アミノ酸配列を含むタンパク質が使用され得る。あるいは、Mr gポリペプチド断片が使用され得る。

【0202】

本明細書で使用する場合、細胞抽出物は、溶解細胞または破壊細胞から作製される調製物あるいは分画である。細胞抽出物の好ましい供給源は、DRGに由来する細胞であろう。あるいは、細胞抽出物は、正常ヒト腎組織を含む任意の組織、または利用可能な細胞系、特に腎臓由来細胞系に由来する細胞から調製されてもよい。

【0203】

様々な方法を用いて、細胞抽出物を得ることができる。細胞は、物理的または化学的な破壊方法を用いて破壊することができる。物理的破壊方法としては、超音波処理および機械的剪断が挙げられるが、これらに限定されない。化学的溶解方法としては、洗浄剤溶解および酵素溶解が挙げられるが、これらに限定されない。本方法で使用するための抽出物を得るために、当業者は、細胞抽出物を調製する方法を容易に選択することができる。

【0204】

細胞抽出物がいっただん調製されると、その抽出物は、タンパク質が結合パートナーと会合しうる条件下にて、本発明のタンパク質と混合される。あるいは、1つまたはそれ以上の既知の化合物または分子を本発明のタンパク質と混合することができる。様々な条件を使用することができ、最も好ましいのは、ヒト細胞の細胞質にて見られる条件に非常に似た条件である。モル浸透圧濃度、pH、温度および使用する細胞抽出物濃度のような条件を、結合パートナーとタンパク質との会合を最適化するために変化させることができる。

【0205】

適切な条件下で混合した後、結合した複合体を混合物から分離する。混合物を分離するために、様々な技法を利用することができる。例えば、本発明のタンパク質に特異的な抗体は、結合パートナー複合体を免疫沈降するために使用することができる。あるいは、クロマトグラフィーおよび密度/沈降物遠心分離のような標準的な化学的分離技法を使用することができる。

【0206】

抽出物中に見られる非会合細胞構成成分および/または未結合化合物または分

子を除去した後、従来法を用いて、複合体から結合パートナーを解離することができる。例えば、解離は、混合物の塩濃度またはpHを変えることにより達成され得る。

【0207】

混合抽出物から、会合した結合パートナー対を分離するのを助長するために、本発明のタンパク質を固体支持体上に固定化することができる。例えば、タンパク質を、ニトロセルロース支持体またはアクリルビーズに結合することができる。固体支持体へのタンパク質の結合は、抽出物中に見られる他の構成成分から、ペプチド/結合パートナー対を分離するのに役立つ。同定した結合パートナーは、単一タンパク質、あるいは2つもしくはそれ以上のタンパク質または任意の他の高分子から構成される複合体であり得る。

【0208】

あるいは、結合パートナーは、Takayama et al. *Methods Mol. Biol.* 69:171-84 (1997)またはSauder et al. *J. Gen. Virol.* 77(5): 991-6の手順にしたがってファーウェスタンアッセイを用いて同定されてもよく、あるいはエピトープでタグ付けしたタンパク質またはGST融合タンパク質の使用により同定されてもよい。

【0209】

結合パートナーはまた、当該技術分野で既知の全細胞結合アッセイにて同定されてもよい。一実施形態では、Mr g受容体は、COS細胞のような、Mr g受容体が通常は発現されない細胞にて発現される。次に、Mr gを発現する細胞を、好ましくは放射性マーカ―または蛍光マーカ―であらかじめ標識した潜在的結合パートナーと接触させる。続いて、細胞を洗浄して、未結合物質を除去し、潜在的結合パートナーの細胞との結合を評価する。例えば、フィルター上で細胞を収集し、放射活性を計数することにより評価する。トランスフェクトしていない細胞または見せかけのトランスフェクトした細胞に潜在的結合パートナーが結合する量をバックグラウンドとして補正する。

【0210】

このタイプのアッセイは、幾つかの代替的様式で実行されてもよい。例えば、

一実施形態では、全細胞ではなく、Mr gでトランスフェクトした細胞からの、またはMr gを発現することが既知の細胞からの細胞膜分画を用いて、アッセイが行われる。別の実施形態では、精製Mr gは、アッセイにて使用される膜を生産するために脂質にてリフォールディングされる。

【0211】

あるいは、本発明の核酸分子は、タンパク質 - タンパク質相互作用を検出するために、細胞ベースの系にて使用することができる（国際公開第99/55356号を参照）。これらの系を用いて、他のタンパク質パートナー対を同定し、本明細書中に記載の核酸分子を使用するように容易に適応させることができる。

【0212】

Mr g受容体と相互作用する溶解性タンパク質、膜貫通タンパク質、または細胞内タンパク質を含むが、これらに限定されないタンパク質を同定するために、タンパク質 - タンパク質相互作用を検出するのに適切な任意の方法を用いてもよい。Mr gと相互作用するタンパク質を同定するために使用され得る伝統的な方法には、免疫共沈降、架橋およびグラジエントまたはクロマトグラフィーカラムによる共精製がある。かかるアッセイに関して、Mr g成分は、完全長タンパク質、それらの溶解性誘導体、所定ドメインに相当するペプチド、あるいはMr gの幾つかの領域を含有する融合タンパク質であり得る。

【0213】

Mr gと相互作用することが可能なタンパク質をコードする遺伝子を同時同定する方法が使用されてもよい。これらの方法としては、例えば標識Mr gまたはそれらの変異体を用いて、発現ライブラリーを精査することが挙げられる。

【0214】

Mr g結合パートナーを同定するのに使用され得るインビボでタンパク質相互作用を検出する方法は、酵母ツーハイブリッドシステムである。このシステムは、当該技術分野で既知であり、Clontech(Palo Alto, CA)から市販されている。

【0215】

簡潔に言うと、一方がMr g受容体、あるいはそれらに由来するポリペプチド

、ペプチドまたは融合タンパク質に融合された転写活性化因子タンパク質のDNA結合ドメインを含み、他方は未知の標的タンパク質に融合された転写活性化因子タンパク質の活性化ドメインを含むツ-ハイブリッドタンパク質が用いられる。これらのタンパク質は、調節領域が転写活性化因子の結合部位を含有するレポーター遺伝子（例えば、HBSまたはlacZ）を含有する酵母サッカロミセス・セレビシエ(*Saccharomyces cerevisiae*)の株にて発現される。どちらかのハイブリッドタンパク質のみでは、レポーター遺伝子の転写を活性化することはできないが、二つのハイブリッドタンパク質の相互作用により、機能的活性化因子タンパク質が再構成され、レポーター遺伝子の発現をもたらし、それはレポーター遺伝子産物をアッセイすることにより検出される。

【0216】

標的タンパク質は、好ましくは、DRG細胞のような、Mrg受容体を発現することが知られている組織または細胞から得られる。例えば、DRG細胞から調製されるcDNAライブラリーを使用してもよい。

【0217】

結合パートナーはまた、既知のリガンドの相互作用を妨害または崩壊するそれらの能力により同定されてもよい。Mrg受容体を活性化しない結合パートナーであっても、既知のリガンドとの相互作用を妨害する結合パートナーは、身体中のMrg活性を調節または増大する際、および/またはMrg活性（またはそれらの欠損）に関連した障害を制御する際に有用であり得る。

【0218】

Mrgおよび既知のリガンドとの間の相互作用を妨害する化合物は、Mrg、あるいはそれらのある種の変異体または断片、およびRF-アミドペプチドのような既知の結合パートナーを含む反応混合物を、この2つを相互作用および結合させるのに十分な条件かつ十分な時間で調製し、複合体を形成することにより同定され得る。抑制活性に関して化合物を試験するために、試験化合物の存在下および非存在下にて、反応混合物を調製する。試験化合物は、反応混合物中に初めから含入されていてもよく、あるいはMrgおよびその結合パートナーの添加の後に、続いて添加されてもよい。対照反応混合物を試験混合物なしでインキュベ

ートする。次に、Mr gおよび結合パートナー間の任意の複合体の形成を検出する。対照反応中で複合体を形成する一方、試験化合物を含有する反応混合物中ではその複合体を形成しないことは、化合物がMr gおよび既知の結合パートナーの相互作用を妨害していることを示す。さらに、試験化合物および正常なMr gタンパク質を含む反応混合物内の複合体形成と、試験化合物および突然変異Mr gを含む反応混合物内の複合体形成とを比較してもよい。この比較は、突然変異体、すなわち突然変異したMr gの相互作用を特異的に崩壊するが、正常なMr gタンパク質の相互作用は崩壊しない化合物を同定しようとする場合に重要であり得る。

【0219】

反応物の添加の順序は、試験される化合物に関する種々の情報を得るために変化させることができる。例えば、競合により相互作用を妨害する試験化合物は、試験物質の存在下にて結合反応を実施することにより同定することができる。この場合、試験化合物は、Mr gおよび既知の結合パートナーが添加されるよりも前に、あるいはそれと同時に反応混合物に添加される。あるいは、予め形成した複合体を崩壊する能力を有する試験化合物は、複合体が形成された後に、反応混合物に試験化合物を添加することにより同定され得る。

【0220】

本発明の代替的实施形態では、Mr gおよび相互作用性結合パートナーの形成した複合体が予め調製され、この場合、Mr gまたはその結合パートナーのいずれかが標識されているが、その標識により発生するシグナルは、複合体が形成されると抑圧される（例えば、米国特許第4,109,496号(Rubenstein)を参照、これはイムノアッセイのためにこのアプローチを利用する）。予め形成した複合体から結合対の1つと競合して置換する試験化合物を添加すると、バックグラウンドを超えるシグナルが発生する結果となる。このようにして、相互作用を崩壊する試験物質を同定することができる。

【0221】

Mr gを発現する全細胞、Mr gを発現する細胞から調製される膜分画、またはリフォールディングされたMr gを含む膜は、上述のアッセイにて使用されて

もよい。しかしながら、これらの同一アッセイは、完全長タンパク質の一方または両方の代わりに、Mr gの結合ドメインおよび/または相互作用性パートナーもしくは結合パートナー（結合パートナーがタンパク質である場合）に相当するペプチド断片を用いて使用することができる。当該技術分野でルーチンに実施される任意の多数の方法を用いて、結合部位を同定および単離することができる。これらの方法としては、Mr gタンパク質をコードする遺伝子の突然変異誘発、および既知のリガンドの結合崩壊に関するスクリーニングが挙げられるが、これらに限定されない。

【0222】

同定した化合物は、例えば、野生型Mr gおよび/または突然変異Mr gの活性を調節する際に有用であり得て、Mr g受容体の生物学的機能を詳しく調べる際に有用であり得て、正常なMr g受容体相互作用を崩壊するか、またはそれ自体かかる相互作用を崩壊もしくは活性化し得る化合物を同定するためのスクリーニングにて利用することができ、かつ治療上有用であり得る。

【0223】

J. 核酸の発現を調節する作用物質の同定方法

本発明の別の実施形態は、本発明のmr gまたはdr g - 12タンパク質、あるいはmr gまたはdr g - 12媒介経路に關与する別のタンパク質をコードする核酸の発現を調節する作用物質の同定方法を提供する。これらの作用物質は、適切な細胞へ（例えば、DRGの細胞へ）侵入して、遺伝子の発現に影響を及ぼすことが可能なペプチド、ペプチド擬似体、および小有機分子であり得るが、これらに限定されない。Mr gもしくはdr g - 12、またはmr g媒介経路におけるタンパク質の発現を調節する作用物質は、例えば、疼痛の認知のような知覚を増大または減少させるために、緑内障を治療するために、あるいは創傷治癒を増大または減少させるために、治療上有用であり得る。

【0224】

かかるアッセイは、本発明の核酸の発現レベルの変化をモニターすることができる任意の手段を利用してもよい。本明細書中で使用する場合、作用物質は、細胞中の遺伝子もしくはmRNAレベルの核酸の発現をアップまたはダウンレギュ

レートすることが可能である場合に、本発明の核酸、例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107または109の配列を有するタンパク質をコードする核酸の発現を調節すると言われる。

【0225】

一アッセイ形式では、本発明の遺伝子のオープンリーディングフレームおよび/または5'または3'調節配列と、任意のアッセイ可能な融合パートナーとの間でのレポーター遺伝子融合を含む細胞系を調製してもよい。ホタルルシフェラーゼ遺伝子およびクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼをコードする遺伝子を含む数多くのアッセイ可能な融合パートナーが既知であり、容易に利用可能である(Alam et al. Anal. Biochem. 188:245-254 (1990))。次にレポーター遺伝子融合を含む細胞系を、適切な条件下および時間で、試験されるべき作用物質に曝露する。作用物質に曝露した試料と対照試料との間のレポーター遺伝子の発現の差異は、m r gまたはd r g - 1 2タンパク質をコードする核酸の発現を調節する作用物質を同定する。

【0226】

さらなるアッセイ形式は、本発明のm r gまたはd r g - 1 2タンパク質をコードする核酸の発現を調節する作用物質の能力をモニターするために使用してもよい。例えば、mRNA発現は、本発明の核酸へのハイブリダイゼーションにより直接的にモニターされてもよい。適切な条件下および時間で、細胞系を試験されるべき作用物質に曝露して、Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)に開示されるような標準的手順により、全RNAまたはmRNAが単離される。

【0227】

作用物質に曝露した細胞および対照細胞間のRNA発現レベルの差異を検出するためのプローブは、本発明の核酸から調製されてもよい。高ストリンジェンシ

一条件下にて、標的核酸とのみハイブリダイズするプローブを設計することが好ましいが、必ずしも必要ではない。非常に相補的な核酸ハイブリッドのみが、高ストリンジェンシー条件下にて形成する。したがって、アッセイ条件のストリンジェンシーが、ハイブリッドを形成するために2つの核酸鎖間に存在すべき相補性の量を決定する。ストリンジェンシーは、プローブ：標的ハイブリッド、および潜在的プローブ：非標的ハイブリッドとの間の安定性の差異が最大になるように選択されるべきである。

【0228】

プローブは、当該技術で既知の方法により、本発明の核酸から設計されてもよい。例えば、プローブのG + C含有量、およびプローブ長は、その標的配列へのプローブ結合に影響を及ぼし得る。プローブの特異性を最適化する方法は一般に、Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, 1989)、またはAusubel et al. (Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Co., NY, 1995)にて利用可能である。

【0229】

ハイブリダイゼーション条件は、各プローブに関して要される場合、Sambrook et al.およびAusubel et al.により記載されるような既知の方法を用いて変更される。全細胞RNAまたはポリA RNAに関して濃縮したRNAのハイブリダイゼーションは、任意の利用可能な形式で達成され得る。例えば、全細胞RNAまたはポリA RNAに関して濃縮したRNAは、固体支持体に固定され、その固体支持体は、プローブが特異的にハイブリダイズすると考えられる条件下にて、本発明の配列の少なくとも1つ、または少なくともその1つの一部を含む、少なくとも1つのプローブに曝露され得る。あるいは、本発明の配列の少なくとも1つ、あるいはその1つの一部を含む核酸断片は、シリコンチップまたは多孔質ガラスウェハーのような固体支持体に固定され得る。次に、そのウェハーは、固定した配列が特異的にハイブリダイズすると考えられる条件下にて、試料由来の全細胞RNAまたはポリA RNAに曝露され得る。かかるウェハーおよびハイブリダイゼーション方法は、広範に利用可能であり、それらは例えばBeattie

により開示される(国際公開第95/11755)。所定のプローブが、未処理細胞集団からの、および作用物質に曝露した細胞集団からのRNA試料に特異的にハイブリダイズする能力に関して検査、比較することにより、mrgまたはdrg-12をコードする核酸の発現をアップレギュレートまたはダウンレギュレートする作用物質が同定される。

【0230】

mRNAの定性的および定量的分析のためのハイブリダイゼーションもまた、RNアーゼ保護アッセイ(すなわち、RPA、Ma et al. Methods 10: 273-238 (1996)を参照)を用いて実施されてもよい。簡潔に言うと、遺伝子産物をコードするcDNAおよびファージ特異的DNA依存性RNAポリメラーゼプロモーター(例えば、T7、T3またはSP6RNAポリメラーゼ)を含む発現媒体を、ファージプロモーターの下流にあるcDNA分子の3'末端にて線状化し、続いてかかる線状化分子は、インビトロ転写によるcDNAの標識アンチセンス転写物の合成のための鋳型として使用される。次に、80%ホルムアミド、40mM Pipes、pH6.4、0.4M NaClおよび1mM EDTAを含む緩衝液中で一晩、45にてインキュベートすることにより、標識転写物を単離RNA(すなわち、全または分画mRNA)の混合物にハイブリダイズさせる。次に、得られたハイブリッドを、40µg/mlのリボヌクレアーゼAおよび2µg/mlのリボヌクレアーゼを含む緩衝液中で消化させる。外来性タンパク質を不活性化し、さらに抽出後、分析用に尿素/ポリアクリルアミドゲル上に試料を載せる。

【0231】

別のアッセイ形式では、mrgまたはdrg-12遺伝子産物を生理学的に発現する産物、細胞または細胞系がまず同定される。そのように同定された細胞および/または細胞系は、転写装置の調節の適合度が適切な表面伝達メカニズムおよび/またはサイトゾルカスケードと作用物質との、外因性の接触に関して維持されるように、必要な細胞機構を含むことが予想される。次にかかる細胞または細胞系を、即時の(instant)遺伝子産物に特有な1つまたはそれ以上の抗原断片に融合された即時の(instant)遺伝子産物をコードする構造遺伝子の末端を含

む発現を制御することができる非翻訳5'または3'プロモーターを含む発現媒体（例えば、プラスミドまたはウイルスベクター）構築物により形質導入またはトランスフェクトするが、ここで上記断片は、上記プロモーターの転写制御下にあり、分子量が天然に存在するポリペプチドと区別することができるポリペプチド、あるいは免疫学的に明瞭なタグをさらに含み得るポリペプチドとして発現する。かかるプロセスは、当該技術分野で既知である。

【0232】

次に、上記に概説した形質導入もしくはトランスフェクトした細胞または細胞系を適切な条件下にて作用物質と接触させて、例えば作用物質は、薬学的に許容可能な賦形剤を含み、生理学的pHにあるリン酸緩衝生理食塩水（PBS）、生理学的pHにあるイーグル平衡塩溶液（BSS）、血清を含むPBSもしくはBSS、あるいは37℃でインキュベートしたPBSもしくはBBSおよび/または血清を含む条件培地のような、生理学的緩衝水溶液中に含まれる細胞と接触させる。上記条件は、当業者により必要と思われる場合に調節され得る。作用物質との細胞の接触に続いて、ポリペプチド分画をプールし、免疫学的アッセイ（例えば、ELISA、免疫沈降またはウェスタンブロット）によりさらに処理されるべき抗体と接触できるように、上記細胞を破壊して、可溶化液のポリペプチドを分画する。「作用物質に接触させた」試料から単離されるタンパク質プールは、賦形剤のみを細胞と接触させた対照試料と比較して、「作用物質に接触させた」試料から免疫学的に発生されるシグナルが増加または減少することを観察することによって、作用物質の有効性を識別できるであろう。

【0233】

適用した作用物質に応答したMr g mRNAの発現の差異を同定するための上述のプロープはまた、哺乳動物集団、例えば知覚レベルの異なる集団におけるMr g mRNAの発現の差異を同定するのに使用することができる。遺伝子の発現の差異を同定する方法は、当該技術分野で既知である。一実施形態では、mRNAは、神経障害性疼痛を感じる患者、あるいはMr g受容体が役割を果たし得る疾患または障害を患う患者、例えば緑内障を患う患者のように、変化した知覚を示す患者から採取した組織または細胞から調製され、Mr g発現レベルは、

上述のプロープを用いて定量化される。次に、Mr g 発現レベルを他の集団の発現レベルと比較して、Mr g 発現が知覚の変化にて果たす役割を決定することができ、かつMr g 発現レベルの増加および減少を目的とした治療が適切であるかどうかを確定することができる。

【0234】

K . D R G一次感覚ニューロンのタンパク質のタンパク質レベルまたは少なくとも1つの活性を調節する作用物質の同定方法

本発明の別の実施形態は、アゴニストおよびアンタゴニストを含む、本発明のmr gまたはdr g - 12タンパク質のタンパク質レベルおよび/または少なくとも1つの活性を調節する作用物質あるいは条件を同定する方法を提供する。かかる方法またはアッセイは、所望の活性をモニターまたは検出する任意の手段を利用し得る。

【0235】

一形式では、試験されるべき作用物質に曝露されていない対照細胞集団に比較した場合の、試験されるべき作用物質に曝露された細胞集団の、本発明のタンパク質の相対量がアッセイされ得る。この形式で、特定抗体のようなプロープを用いて、異なる細胞集団におけるタンパク質の発現の差異をモニターする。細胞系または集団を適切な条件下および時間で試験されるべき作用物質に曝露する。曝露細胞系または集団、および対照の非曝露細胞系または集団から、細胞可溶化液を調製することができる。次に細胞可溶化液をプロープで分析する。

【0236】

別の実施形態では、Mr gまたはdr g - 12受容体を発現することが知られている動物を、特定の環境的刺激にさらし、刺激へ曝露することにより、Mr gまたはdr g - 12タンパク質の発現において生じる任意の変化を測定する。特定位置にて特定のMr gを発現するように生産されたトランスジェニックマウスのようなトランスジェニック動物を使用してもよい。環境的刺激は、例えば、ストレスを引き起こす条件への曝露、あるいは有害な刺激または痛みを伴う刺激への曝露であり得るが、これらに限定されない。環境的刺激に応答したMr g受容体発現レベルの差異は、Mr gの生物学的役割、および使用した刺激に関連する

疾患または障害の治療可能性に対する洞察を提供する。

【0237】

抗体プローブは、本発明のペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質が、免疫原性を高めるのに十分な長さである場合、あるいはそれが望ましい場合またはそれが必要である場合に、適切なキャリアと結合させて、それらの結合体を用いて、適切な免疫化プロトコルにて適切な哺乳動物宿主を免疫化することにより調製される。BSA、KLHまたは他のキャリアタンパク質のようなキャリアとの免疫原性結合体を調製する方法は、当該技術分野で既知である。場合によっては、例えばカルボジイミド試薬を用いた直接的な結合が効果的である。他の場合では、ハプテンへの接近を提供するためにPierce Chemical Co. (Rockford, IL)により供給されるような連結試薬が望ましい。ハプテンペプチドは、システイン残基で、アミノ末端またはカルボキシ末端のいずれかにて伸長され得るか、あるいは例えばキャリアへの連結を容易にするためにシステイン残基を点在させ得る。免疫原の投与は、当該技術分野で一般に理解されているように、一般に適切な期間にわたる注入により、かつ適切なアジュバントを用いて実施される。免疫化スケジュール中、抗体形成の妥当性を確定するために抗体力価が調べられる。

【0238】

このようにして生産したポリクローナル抗血清は、幾つかの用途に満足なものであり得るが、薬学的組成物に関して、モノクローナル調製物を使用するのが好ましい。所望のモノクローナル抗体を分泌する不死化細胞系は、一般に知られているように、Kohler and Milstein Nature 256:495-497 (1975)の標準的方法、あるいはリンパ球または脾細胞の不死化をもたらす変法を用いて調製され得る。所望の抗体を分泌する不死化細胞系は、抗原がペプチドハプテン、ポリペプチドまたはタンパク質であるイムノアッセイによりスクリーニングされる。所望の抗体を分泌する適切な不死化細胞培養が同定されると、インビトロにて、あるいは腹水液中の生産により、細胞を培養することができる。

【0239】

次に、所望のモノクローナル抗体を培養上清から、または腹水上清から回収する。免疫学的に有意な部分を含有するモノクローナル抗血清またはポリクローナ

ル抗血清の断片をアンタゴニスト、ならびに無傷抗体として使用することができる。Fab、Fab' またはF(ab')₂断片のような免疫学的に反応性の断片の使用は、これらの断片が免疫グロブリン全体よりも免疫原性が一般に低いため、特に治療上の状況で多くの場合好ましい。

【0240】

抗体または断片はまた、現在の技術を用いて、組換え手段により生産してもよい。タンパク質の所望の領域に特異的に結合する抗体領域はまた、以下に詳述するように、ヒト化抗体のような複数種起源を有するキメラの状況で生産してもよい。

【0241】

1. アゴニストおよびアンタゴニストの同定

本発明は、Mr gおよび/またはdr g - 12の1つまたはそれ以上の生物学的特性を有するアゴニストあるいはアンタゴニストとして作用する化合物を同定するためのアッセイを提供する。Mr gアゴニストおよびアンタゴニストは、知覚、特に侵害受容に関連した問題を防止または治療するのに有用であり得る。例えば、Mr g受容体アゴニストとして同定された化合物は、Mr g受容体の活性化を刺激するのに使用されてもよく、したがって、疼痛を患う哺乳動物を治療するのに有効であり得る。Mr g受容体アンタゴニストとして同定された化合物は、例えば、Mr g受容体のエフェクター機能を減少するのに使用され得る。これは、Mr g受容体の応答性が増大している突然変異を含む場合に、またはMr g受容体が過剰発現している場合に有用であり得る。例えば、Mr g受容体アンタゴニストは、幾つかの形態の糖尿病のような、知覚応答性が低減する疾患のように、適切な場合に哺乳動物の疼痛の対する感受性を増大するのに有用であり得る。

【0242】

アゴニストまたはアンタゴニストを同定するためのアッセイは、受容体にリガンドが結合した後の細胞応答をモニタリングすることにより、インビトロまたはインビボにて実施され得る。アゴニストは細胞性応答をもたらす一方で、アンタゴニストは、細胞性応答に対して影響しないが、既知のアゴニストに対する細胞

性応答を防止することが可能であろう。

【0243】

a. 小分子

小分子は、Mr g アゴニストまたはアンタゴニストとして作用する能力を有してもよく、したがって、Mr g の生物学的活性に対する影響に関してスクリーニングされてもよい。小分子は、好ましくは、10 k D 未満、より好ましくは5 k D 未満、さらに好ましくは2 k D 未満の分子量を有する。かかる小分子は、天然の小分子、合成有機化合物または合成無機化合物、ペプチドおよびペプチド擬似体を含み得る。しかしながら、本発明における小分子は、これらの形態に限定されない。小分子の広範なライブラリーが市販され、所望の活性に関してこれらの分子をスクリーニングするための各種アッセイは、当該技術分野で既知である。

【0244】

Mr g アゴニストおよびアンタゴニストの小分子の候補は、好ましくは、潜在的小分子のアゴニストおよびアンタゴニストの迅速な同定を可能にするアッセイにてまず同定される。かかるアッセイの例は、結合アッセイであり、ここで上述のように、Mr g 受容体への候補分子の結合能力が測定される。別の例では、Mr g A 1 への既知のリガンド（例えばFMRF アミド）の結合を妨害する候補化合物の能力を測定する。続いて、Mr g タンパク質に結合する能力、または既知のリガンドの結合を妨害する能力により同定される候補分子は、1つまたはそれ以上の生物学的活性を刺激するそれらの能力に関して試験される。

【0245】

本発明のタンパク質の活性は、試験されるべき作用物質（単数または複数）へ曝露した際の細胞における生理学的変化をアッセイすることにより、本発明のMr g および/またはd r g - 1 2 タンパク質を発現する細胞においてモニターされ得る。かかる生理学的変化としては、細胞膜を通過する電流が挙げられるが、これに限定されない。

【0246】

一実施形態では、タンパク質は、第二メッセンジャー応答を生じることが可能である細胞であって、かつMr g またはd r g - 1 2 を正常に発現しない細胞に

において発現される。次に、細胞を所定の化合物と接触させて、第二メッセンジャー応答の変化を測定する。これらの変化をモニターまたはアッセイする方法は、容易に利用可能である。例えば、本発明のmrg遺伝子は、Gタンパク質サブユニットであるG15を発現する細胞にて発現され得るが、該Gタンパク質サブユニットは、Chandrashekar et al. Cell 100: 703-711, (2000)に開示されるように、FURA-2カルシウム指示色素を用いて、単一細胞レベルにてモニターされ得る細胞内カルシウム $[Ca^{2+}]$ を増加させる受容体活性化に関連する。このアッセイは、実施例5にてより詳述する。

【0247】

同様のアッセイもまた、Mrgもしくはdrg-12活性化の阻害剤またはアンタゴニストを同定するのに用いられ得る。例えば、Mrgまたはdrg-12を発現する細胞であって、かつ受容体活性化に対する定量可能な応答をもたらし得る細胞を、既知のMrgまたはdrg-12活性化因子、および試験されるべき化合物と接触させる。一実施形態では、G15およびMrgA1を発現するHEK細胞を、FMRFアミドおよび試験されるべき化合物と接触させる。細胞性応答、この場合には $[Ca^{2+}]$ の増加が測定される。既知の活性化因子だけで処理した場合と比較して、応答が減少した場合は、その化合物が活性化の阻害剤として作用していること示す。

【0248】

かかるアッセイは、任意の様式で構成されてもよいが、特に好ましい形式は、ハイスループットスクリーニング(HTP)が可能なものである。本発明のHTPアッセイでは、一日に、数千もの異なるモジュレーターまたはリガンドをスクリーニングすることが可能である。例えば、マイクロタイタープレートの各ウェルを用いて、別個のアッセイ、例えば上述のように受容体活性化由来の分子内カルシウムの増加を調節する試験化合物の能力に基づいたアッセイを実行することができる。

【0249】

上述の方法にてアッセイされる作用物質は、ランダムに選択され得るか、あるいは合理的に選択または設計され得る。本明細書で使用する場合、作用物質が、

本発明のタンパク質の単独での会合に関与した特定配列、またはその会合基質（結合パートナー等）の会合に関与した特定配列を考慮せずにランダムに選択される場合に、作用物質は、ランダムに選択されると言われる。ランダムに選択した作用物質の例は、化学的ライブラリー、またはペプチドコンビナトリアルライブラリー、あるいは生物体の成長プロスの使用である。

【0250】

本明細書で使用する場合、作用物質が、作用物質の作用と関連した標的部位の配列および/またはその立体配座を考慮する非ランダムな基礎に基づいて選択される場合に、作用物質は、合理的に選択または設計されると言われる。所定の部位は、膜貫通領域内のペプチド、これらの膜貫通領域間の細胞質および細胞外ペプチドループ、あるいはN末端細胞外ドメインまたはC末端細胞内ドメイン内の選択配列であってもよい。作用物質は、これらの部位を構成するペプチド配列を利用することにより合理的に選択され得るか、または合理的に設計され得る。

【0251】

本発明の作用物質は、例えば、ペプチド、小分子、ビタミン誘導体、ならびに炭水化物であり得る。優性ネガティブタンパク質、これらのタンパク質をコードするDNA、これらのタンパク質に対する抗体、これらのタンパク質のペプチド断片、またはこれらのタンパク質の擬似体を細胞に導入して、機能に影響を及ぼし得る。本明細書で使用する「擬似体」は、親ペプチドと化学的には異なる構造であるが、親ペプチドと組織分布的および機能的に類似した構造を提供するための、ペプチド分子の一つのまたは幾つかの領域の修飾体を指す（Grant GA. in: Meyers (ed.). *Molecular Biology and Biotechnology* (New York, VCH Publishers, 1995), pp. 659-664を参照）。当業者は、本発明の作用物質の構造的性質に関して限定されないことを容易に理解することができる。

【0252】

本発明のペプチド作用物質は、従来技術で既知であるように、標準的な固相（または溶液相）ペプチド合成法を用いて調製することができる。さらに、これらのペプチドをコードするDNAは、市販のオリゴヌクレオチド合成装置を用いて合成してもよく、また標準的な組換え生産系を用いて組換え的に生産してもよい。

。遺伝子によりコードされないアミノ酸が含まれる場合には、固相ペプチド合成を用いた生産が必要である。

【0253】

b. 抗体

本発明の別の種類の作用物質は、本発明のタンパク質の非常に重要な位置での免疫反応性を有する抗体である。これらの抗体は、ヒトもしくは非ヒトのポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体であり得て、アゴニスト抗体または中和抗体として作用し得る。それらには、抗体のアミノ酸配列変異体、抗体のグリコシル化変異体および抗体の断片が含まれる。抗体作用物質は、抗原領域として、抗体により標的とされることを目的とするタンパク質部分を含むペプチドで、適切な哺乳動物被験体を免疫化することにより得られる。かかる抗体産生の一般的技法、およびアゴニスト抗体または中和抗体の選択は、当該技術分野で既知である。

【0254】

本発明の抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、異種複合抗体、または抗体断片であり得る。さらに、抗体は、組換え方法を含む当該技術分野で既知の任意の方法により作製され得る。

【0255】

Mr g アゴニスト抗体および中和抗体は、Mr g 受容体に結合するそれらの能力に基づいて予備的に同定されてもよい。例えば、当該技術分野で既知のウェスタンブロット技法を用いて、様々な抗体をMr g に結合する能力に関してスクリーニングしてもよい。次に、Mr g アゴニスト抗体および中和抗体は、それらの生物活性に基づいて、候補とした抗体の群から同定される。一実施形態では、Mr g アゴニスト抗体は、Mr g タンパク質を発現し、かつ第二メッセンジャー系を有する細胞において、第二メッセンジャー系の活性化を誘発するそれらの能力により同定される。例えば、G15を過剰発現し、かつmr gでトランスフェクトしたHEK細胞を、潜在的Mr g アゴニスト抗体と接触させてもよい。実施例5に記載するように測定される細胞内カルシウムの増加は、その候補とした抗体がアゴニスト抗体であることを示すであろう。

【0256】

中和抗体の特異性は、Mr gを発現する細胞を、RF-アミドペプチドのような既知のMr gリガンドと、および候補とした抗体とを接触させること、ならびにMr g活性化に対する抗体の効果を観察することを含む。一実施形態では、G15を過剰発現するHEK細胞にて発現されるMr g受容体を、FMRFアミドのようなMr gリガンド、および候補とした中和抗体と接触させる。実施例5に記載するように測定されるリガンドに対する応答性の減少は、その候補とした抗体が中和抗体であることを示すであろう。

【0257】

c. 他のアンタゴニスト

Mr gまたはdr g-12アンタゴニストは、Mr gまたはdr g-12リガンドに限定されない。他のアンタゴニストには、内因性リガンドを結合する能力を保持するが、生物学的応答を媒介することができない自然Mr g受容体または自然dr g-12受容体の変異体が含まれる。Mr gリガンドまたはdr g-12リガンドを結合する可溶性受容体およびイムノアドヘシンは、結合部位付近のリガンドを特異的に結合し、自然受容体との相互作用を阻止する抗体であり得るように、アンタゴニストであり得る。これらのアンタゴニストは、上述のアッセイにて同定され得る。

【0258】

d. コンピュータモデリング

コンピュータモデリングおよび検索技術は、Mr g受容体発現または活性を調節することができる化合物の同定またはすでに同定した化合物の改良を可能にする。いったんアゴニストまたはアンタゴニストが同定されれば、リガンド結合部位のような活性部位または領域が決定される。活性部位は、当該技術分野で既知の方法を用いて（例えばリガンド結合に対する様々なアミノ酸置換または欠失の影響を確定することにより、あるいはX線結晶学のような、その天然リガンドとの関連化合物または組成物の複合体の研究から）同定することができる。

【0259】

次に、活性部位の三次元幾何学構造は、例えば、X線結晶学、NMR、化学的

架橋または当該技術分野で既知の方法により決定される。コンピュータモデリングを利用して、実験結果が明確でない構造に関する予測がなされ得る。分子モデリングシステムの例は、CHARMMおよびQUANTAプログラム(Polygen Corporation, Waltham, MA)である。いったん予測構造が確定されると、活性部位と相互作用することが可能な構造を有する化合物を見つけ出すために、それらの分子構造に関する情報とともに化合物を含むデータベースを検索することにより、候補とする調節化合物が同定され得る。この検索から見つけ出される化合物は、本発明のタンパク質の活性の潜在的モジュレーターであり、上述のアッセイにて試験され得る。

【0260】

上述するように細胞ベースのアッセイにて同定される試験化合物のアゴニスト活性またはアンタゴニスト活性は、動物、例えば以下に詳述するようなMr g受容体を過剰発現するトランスジェニック動物を用いたアッセイにてさらに解明され得る。一実施形態では、有害な刺激または痛みを伴う刺激のような知覚刺激に対するかかるトランスジェニック動物の応答性に及ぼす潜在的Mr gアンタゴニストまたはアゴニストの投与の効果測定する。かかる化合物の治療上の有用性は、これらのタイプの実験にて、あるいは特定障害の動物モデル(例えば、神経障害性疼痛の動物モデル)にて試験することにより確認されてもよい。

【0261】

L. タンパク質の少なくとも1つの活性を調節する作用物質の使用

実施例にて提供されるように、本発明のmr gまたはdr g-12のタンパク質および核酸は、DRGの一次侵害受容感覚ニューロンにて発現される。さらに、Mr g受容体は、創傷修復の役割を果たす特殊皮膚細胞にて発現される。さらに、Mr g受容体に相同的なタンパク質は、眼の小柱網にて発現され、眼圧の調節において役割を果たすと提唱されてきた(Gonzalez et al. Invest. Ophth. Vis. Sci. 41: 3678-3693 (2000))。したがって、本発明はさらに、本発明のタンパク質の発現または少なくとも1つの活性を調節する、1つまたはそれ以上の作用物質を含む組成物を提供する。例えば、本発明は、Mr g受容体を直接活性化するリガンドを提供する。

【0262】

タンパク質の発現を調節、アップあるいはダウンレギュレートする作用物質、またはタンパク質の少なくとも1つの活性のアゴニストもしくはアンタゴニストのような作用物質を用いて、タンパク質の機能および活性に関連した生物学的プロセスおよび病理学的プロセスを調節してもよい。RF-アミドペプチドを含むMr g受容体を活性化する幾つかの作用物質が、実施例にて同定される。したがって、本発明は、神経障害性疼痛を含む疼痛を治療する方法、ならびに創傷治癒を促進する方法、損傷後に正常感受性を回復する方法、および眼の症状、特に緑内障のような圧力に関連した症状を治療する方法を提供する。

【0263】

図および実施例に記載するように、本発明のタンパク質の発現は、侵害受容の生物学的プロセスに関連し、それらはまた、病理学的プロセスとみなされてもよい。本明細書中で使用する場合、作用物質が、プロセスの度合い、重篤性または性質を変質する場合、作用物質は、生物学的または病理学的プロセスを調節すると言われる。例えば、疼痛シグナルの神経伝達は、本発明のタンパク質の発現もしくは少なくとも1つの活性を、何らかの方法で、アップレギュレート、ダウンレギュレートまたは調節する作用物質の投与により阻止あるいは調節され得る。

【0264】

本発明のタンパク質ならびにそれらのアゴニストおよびアンタゴニストにより治療され得る疼痛は、いかなる場合においても限定されず、該疼痛としては、疾患または障害に関連した疼痛、組織損傷に関連した疼痛、炎症に関連した疼痛、任意の種類有害な刺激に関連した疼痛、および末梢神経障害に関連した疼痛を含む神経障害性疼痛、ならびに原因が同定できない疼痛が含まれる。疼痛は、主観的であってもよく、客観的に同定可能な作用または応答と関連する必要はない。

【0265】

疼痛の治療のほかに、本発明の化合物および方法は、知覚応答を増加または減少させるのに有用であり得る。刺激に対する応答性の減少を特徴とする幾つかの病状にて、例えば糖尿病にて、有害な刺激および痛みを伴う刺激を含む刺激に対

する応答性を増加させるのに有用であり得る。

【0266】

疼痛および末梢神経障害に関連した慢性病状のようなある種の症状、特に欠損 Mr g 遺伝子に起因する症状は、Mr g 受容体リガンドに対する応答性の増加により利益を得ることができる。したがって、これらの症状は、かかる症状を患う患者の細胞において機能的Mr g 受容体の数を増加させることによって治療され得る。これは、Mr g コード核酸を用いた遺伝子治療により細胞中のMr g 受容体の発現を増加し得る。これには、単一治療により持続性効果が達成される遺伝子治療、および発現の増加が一過性である遺伝子治療の両方が含まれる。適切な細胞中のMr g の選択的発現は、組織特異的に、もしくは誘導性プロモーターにより制御されるMr g 遺伝子を使用することにより、または組換えMr g 遺伝子を保有する複製欠陥ウイルスを用いて限局性感染を生じることにより、あるいは当該技術分野において既知の任意の他の方法により達成され得る。

【0267】

さらなる実施形態では、過剰なMr g、Mr g リガンドに対する過敏症、またはMr g の過剰な活性化を患う患者は、Mr g 遺伝子コード領域に相当するアンチセンスRNAまたはアンチセンスオリゴデオキシリボヌクレオチドを有効量投与することにより、したがってMr g の発現を減少させることにより治療され得る。

【0268】

本明細書中で使用する場合、哺乳動物が本発明のタンパク質により媒介される病理学的または生物学的プロセスの調節を必要とする限り、治療されるべき被験体は、任意の哺乳動物であり得る。例えば、被験体は、疼痛を感じていてもよく、あるいは手術のような、疼痛を伴う事象を待ちうけていてもよい。本発明は、ヒト被験体の治療にて特に有用である。

【0269】

本発明の治療方法にて、本発明のMr g タンパク質、ペプチド断片、Mr g 変異体、Mr g アゴニスト、Mr g アンタゴニストまたは抗Mr g 抗体のような本発明の組成物を有効量、患者に投与する。

【0270】

本発明の作用物質は、単独で、あるいは特定の生物学的または病理学的プロセスを調節する他の作用物質と併用して提供され得る。例えば、本発明の作用物質を、他の既知の薬剤と併用して投与することができ、あるいは1つもしくはそれ以上の他の病理学的プロセスの存在または非存在下にて生じる疼痛の治療中に使用される鎮痛薬あるいは非鎮痛薬と併用してもよい。本明細書中で使用する場合、2つまたはそれ以上の作用物質は、2つの作用物質が同時投与されるか、あるいは作用物質が同時に作用するような様式で別個に投与される場合に、併用して投与されると言われる。

【0271】

本発明の作用物質は、既知の方法にしたがって、哺乳動物、好ましくはヒト患者に投与される。したがって、本発明の作用物質は、非経口、皮下、静脈内、筋内、腹腔内、脳脊髄内、関節内、滑液包内、鞘内、経皮、局所、吸入または頬経路により投与され得る。それらは、輸液またはボラス注射により連続的に投与してもよい。一般に、作用物質は、障害が認められる部位へ部位特異的な方法で送達されるべきである。あるいは、経口経路投与を併用してもよい。投与される投薬量は、患者の年齢、健康状態、および体重、もし存在するのであれば同時に施されている治療の種類、治療頻度、および所望の効果の性質に依存するであろう。

【0272】

本発明の作用物質の毒性および治療上の有効性は、細胞培養または実験動物にて標準的薬学的手法により決定することができる。有毒な副作用を示す作用物質が使用され得るかぎりには、副作用を低減するために、所望の作用部位へかかる化合物を特異的に送達できる送達系を設計し、対策がとられるべきである。

【0273】

個々の必要性が様々であると同時に、各成分の有効量の最適範囲の決定は、先行技術の範囲内である。疾患の予防または治療に関して、作用物質の適切な投薬量は、治療されるべき疾患の型、疾患の重篤性および経過、作用物質が予防目的または治療目的で投与されるかどうか、これまでの治療、患者の臨床的病歴およ

び作用物質に対する応答、ならびに主治医の判断に依存するであろう。治療上の薬剤は、一度に、または一連の治療にわたって、患者に適切に投与される。典型的な投薬量は、 $0.1 \sim 100 \mu\text{g} / \text{kg}$ 体重を含む。好ましい投薬量は、 $0.1 \sim 10 \mu\text{g} / \text{kg}$ 体重を含む。最も好ましい投薬量は、 $0.1 \sim 1 \mu\text{g} / \text{kg}$ 体重を含む。症状によっては、数日またはそれ以上にわたる反復投与によって、病状の望ましい抑制が起きるまで治療が続けられる。この療法の経過は、従来の技法および従来のアッセイにより簡単にモニターされる。

【0274】

薬理的に活性な作用物質のほかに、本発明の組成物は、作用部位へ送達するために薬学的に使用され得る調製物へと活性化化合物を加工しやすくする賦形剤および助剤を含む、薬学的に許容な適切なキャリアを含みうる。非経口投与のための適切な配合物としては、水溶性形態、例えば水溶性塩のような活性化化合物の水溶液が挙げられる。さらに、適切な油状注射懸濁液としての活性化化合物の懸濁液を投与してもよい。適切な親油性溶媒または媒質としては、脂肪油（例えば、ゴマ油）、または合成脂肪酸エステル（例えば、オレイン酸エチルまたはトリグリセリド）が挙げられる。水性注射懸濁液は、懸濁液の粘度を増加させる物質を含有してもよく、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、および/またはデキストランが挙げられる。任意に、懸濁液はまた、安定剤を含有してもよい。細胞へ送達するために、作用物質を被包するためのリポソームを使用することもできる。作用物質はまた、タンパク質を含む固形疎水性ポリマーの半透性支持体を含む、持続的放出性配合物として調製することもできる。持続的放出性調製物は、ゲル、フィルムまたはカプセルの形態をとり得る。

【0275】

本発明による全身投与のための薬学的配合物は、経腸、非経口または局所投与用に配合され得る。実際には、3つのタイプすべての配合物は、有効成分の全身投与を達成するのに同時に使用され得る。

【0276】

経口投与に適切な配合物としては、硬質または軟質ゼラチンカプセル、丸剤、被覆錠剤を含む錠剤、エリキシル、懸濁液、シロップまたは吸入薬、およびそれ

らの制御放出性形態が挙げられる。

【0277】

本発明の方法を実施する際、本発明の化合物は、単独で、あるいは他の治療薬または診断薬と併用して使用してもよい。ある好ましい実施形態では、本発明の化合物は、一般に受け入れられている医学上の実践にしたがって、これらの症状のために典型的に処方される他の化合物と一緒に同時投与されてもよい。本発明の化合物は、インビボにて、通常、ヒト、ヒツジ、ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコ、ラットおよびマウスのような哺乳動物にて、あるいはインビトロにて利用され得る。インビボで使用される場合、化合物は、滅菌性でなくてはならない。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。

【0278】

a. 製造品

本発明の別の実施形態では、上述の障害の治療に有用な物質を含有する製造品が提供される。製造品は、容器および、容器上のまたは容器に付随したラベルもしくは添付文書（複数可）を含む。適切な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ等が挙げられる。容器は、ガラスまたはプラスチックのような様々な材料から形成され得る。容器は、症状を治療するのに効果的な組成物を収容し、滅菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、皮下注射針により突き刺すことが可能なストッパーを有する静脈溶液バッグまたはバイアルであってもよい）。組成物中の少なくとも1つの活性な作用物質は、Mr gアゴニストである。ラベルまたは添付文書は、組成物が、選ばれた症状を治療するために、例えば神経障害性疼痛を低減するために使用されることを示す。一実施形態では、ラベルまたは添付文書は、Mr gアゴニストを含む組成物は、疼痛、緑内障を治療するために、あるいは創傷治癒を促進するために使用することができることを示す。

【0279】

M. トランスジェニック動物

mr gおよび/またはdr g - 12配列に相当する突然変異遺伝子、ノックアウト遺伝子または改変遺伝子を含有するトランスジェニック動物もまた本発明に

含まれる。トランスジェニック動物は、組換え遺伝的物質、外因性遺伝的物質またはクローン化遺伝的物質を実験的に移入した遺伝子改変動物である。かかる遺伝的物質は、多くの場合「導入遺伝子」と命名される。導入遺伝子の核酸配列、この場合、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、20、22、24、26または28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106または108の形態が、特定の核酸配列が他の位置では通常は見出されないゲノムの位置にて、あるいは導入遺伝子用の正常な位置にて組み込まれ得る。導入遺伝子は、標的動物種と同一種または異種のゲノムに由来する核酸配列から構成され得る。

【0280】

「生殖細胞系トランスジェニック動物」という用語は、遺伝的改変または遺伝情報が生殖細胞系に導入され、それによりトランスジェニック動物が遺伝情報を子孫に伝えるための能力が付与されたトランスジェニック動物を指す。実際にかかる子孫がその改変または遺伝情報のいくらかまたは全てを保有する場合、それらもまたトランスジェニック動物である。

【0281】

改変または遺伝情報は、レシピエントが属する動物種にとって外来性であってもよく、特定の個々のレシピエントにとってのみ外来性であってもよく、あるいはレシピエントがすでに保有している遺伝情報であってもよい。最後の 경우에는、改変遺伝子または導入遺伝子は、自然遺伝子と異なって発現され得る。

【0282】

トランスジェニック動物は、トランスフェクション、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、胚幹細胞における遺伝子ターゲティング、ならびに組換えウイルス感染および組換えレトロウイルス感染を含む種々様々な方法により生産され得る（例えば、米国特許第4,736,866号、米国特許第5,602,307号、Mullins et al. Hypertension 22(4):630-633 (1993)、Brenin et al. Surg. Oncol. 6(2)99-110 (1997)、Tuan (ed.), Recombinant Gene E

xpression Protocols, Methods in Molecular Biology No. 62, Humana Press (1997)を参照)。

【0283】

活性発癌遺伝子配列を発現するマウス(米国特許第4,736,866号)、サルSV40 T抗原を発現するマウス(米国特許第5,728,915号)、インターフェロン調節因子1(IRF-1)の発現を欠如したマウス(米国特許第5,731,490号)、ドーパミン作動性機能不全を示すマウス(米国特許第5,723,719号)、血圧制御に関与した少なくとも1つのヒト遺伝子を発現するマウス(米国特許第5,731,489号)、天然のアルツハイマー病に現れる症状に対して非常に類似性を示すマウス(米国特許第5,720,936号)、細胞接着を媒介する能力が低減したマウス(米国特許第5,602,307号)、ウシ成長ホルモン遺伝子を保有するマウス(Clutter et al. Genetics 143(4): 1753-1760 (1996))、または完全ヒト抗体応答を発生することが可能なマウス(McCarthy The Lancet 349 (9049): 405 (1997))を含む多くの組換えマウスまたはトランスジェニックマウスが生産されている。

【0284】

マウスおよびラットは、ほとんどのトランスジェニック実験にとって選り抜きの動物であるものの、場合によっては、代替的動物種を使用することが好ましいか、あるいは代替的動物種の使用が必要でさえある。トランスジェニック手法は、例えば、ヒツジ、ヤギ、ブタ、イヌ、ネコ、サル、チンパンジー、ハムスター、ウサギ、ウシおよびモルモットを含めた種々の非マウス動物において首尾よく利用されてきた(例えば、Kim et al. Mol. Reprod. Dev. 46(4): 515-526 (1997)、Houdebine Reprod. Nutr. Dev. 35 (6) 609-617 (1995)、Petters Reprod. Fertil. Dev. 6(5): 643-645 (1994)、Schnieke et al. Science 278 (5346): 2130-2133 (1997) およびAmoah J. Animal Science 75(2): 578-585 (1997)を参照)。

【0285】

組換えコンピテント哺乳動物細胞に核酸断片を導入する方法は、複数の核酸分子を同時に形質転換するのに好都合な任意の方法であり得る。米国特許第5,4

89, 743号および米国特許第5,602,307号での開示を含むトランスジェニック動物を生産する詳細な手法は、当業者に容易に利用可能である。

【0286】

特定のMr gまたはd r g - 12遺伝子を欠如したマウス、あるいは特定のMr gまたはd r g - 12の発現が増加または減少したマウスは、Mr gが知覚応答、特に痛みを伴う刺激に対する応答を含む反応にどのように影響を及ぼすかを確定するためのアッセイにて使用することを企図する。特に、トランスジェニックマウスは、Mr gが機械的、熱的または化学的といった特定型の有害な刺激に対する応答を媒介するかどうかを確定するために使用されるであろう。したがって、一実施形態では、自然Mr g受容体を欠如したトランスジェニックマウス、またはMr g受容体発現レベルが改変されたトランスジェニックマウスは、圧力、温度、および他の有害な刺激に対するそれらの感受性を確定するために試験されるであろう。刺激に対する感受性を確定するためのアッセイは、当該技術分野で既知である。これらとしては、機械的疼痛（フォン・フライ毛またはテイルピンチ）、熱的疼痛（ホットプレートアッセイにて全速力で動くか、または飛び回るための潜伏期間）、化学的疼痛（カプサイシンまたはホルマリンのような有害な物質が脚に注射される場合の、全速力で動くための潜伏期間）、内臓疼痛（酢酸の腹腔内注射に反応した腹部ストレッチング）、および神経障害性疼痛に対する応答性を測定するアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。例えば、1つまたはそれ以上のMr gが欠失されたマウスは、様々な強度の様々な痛みを伴う刺激に対するそれらの応答性に関して試験されるであろう。Mr g受容体により媒介される知覚応答を確定することにより、Mr g受容体を刺激または抑制することが知られている治療薬が、これらのタイプの応答を含むことが知られている病状の治療のために選択され得る。さらに、これらの応答を含む疾患の治療を特異的にねらった治療薬は、Mr g受容体を標的とすることにより開発され得る。

【0287】

一実施形態では、1つまたはそれ以上のヒトMr gタンパク質を発現するトランスジェニックマウスが生産される。次に、ヒトMr gタンパク質の発現パター

ンを決定してもよく、様々な知覚様式に対するヒトMr gタンパク質の発現の効果を研究し得る。さらに、潜在的治療薬の有効性は、これらのマウスにおいて研究されてもよい。

【0288】

さらに、特定のMr gタンパク質の発現レベルの変化の影響は、病状の動物モデルにて研究され得る。Mr g受容体レベルおよび活性化を増加または減少させることによる影響を同定することにより、疾患を治療するのに有用な治療方法を開発することができる。一実施形態では、Mr g受容体発現レベルが増加または減少したマウスは、神経障害性疼痛のモデルにて試験される。

【0289】

さらに、Mr g発現レベルを操作したマウスは、鎮痛薬のような、疼痛に対する応答性を調節することが知られている化合物に対して応答するそれらの能力に関して試験されてもよい。このようにして、疼痛知覚におけるMr gの役割がさらに解明され得る。例えば、Mr gを欠如したトランスジェニックマウスにおける既知の鎮痛薬に対して応答がなければ、Mr g受容体が鎮痛薬の作用を媒介する役割を果たすことを示すであろう。

【0290】

別の好ましいトランスジェニックマウスは、Mr g遺伝子がグリーン蛍光タンパク質(GFP)のようなマーカーまたはトレーサーを発現するように改変されるものである。マーカーまたはトレーサーの発現パターンを検査することにより、Mr gを含有するニューロンおよび他の細胞の正確な位置および投影がマッピングされ得る。この情報を、特定の病状における関与がすでに同定されているニューロンおよび他の細胞の位置および投影と比較する。このようにして、本発明の化合物が治療において使用される可能性がさらに高まり得る。

【0291】

N. 診断方法

実施例にて記載するように、本発明の遺伝子およびタンパク質は、感覚ニューロン、および感覚ニューロンにおける生物学的もしくは病理学的活性の存在または非存在を診断あるいはモニターするために使用してもよい。例えば、本発明の

遺伝子またはタンパク質の発現を観察して、急性疼痛、慢性難治性疼痛、または異痛症に関連した知覚神経活性が正常か異常かを区別してもよい。発現レベルは、神経異常の様々な段階または重篤性を区別するために使用することができる。本発明の核酸分子またはタンパク質を用いて疼痛伝達に関与した感覚ニューロンの病理学的状態を診断する一方法は、生存被験体から組織を得ることを含む。これらの被験体は、疼痛を患う非ヒト動物モデルであり得る。

【0292】

分子生物学的ツールの使用は、法医学的技術において日常的になってきた。例えば、核酸プローブは、法医学的/病理学的検体において、本発明の配列のすべてまたは少なくとも一部を含む核酸分子の発現を確定するために使用してもよい。さらに、核酸アッセイは、転写プロファイリング分析を実施する任意の手段により実行され得る。核酸分析のほかに、本発明の法医学的方法は、遺伝子のアップまたはダウンレギュレーションを確定するために、本発明のタンパク質を標的とし得る(Shiverick et al., *Biochim Biophys Acta* 393 (1): 124-33 (1975))。

【0293】

本発明の方法は、組織をコラゲナーゼまたは他のプロテアーゼで処理し、細胞溶解しやすい組織を作製することを含みうる(Semenov et al., *Biull Eksp Biol Med* 104(7): 113-6 (1987))。さらに、分析用の腎組織または他の組織の種々の領域から生検試料を得ることが可能である。

【0294】

本発明の核酸またはタンパク質分子を検出するためのアッセイは、任意の利用可能な形式であり得る。核酸分子用の典型的なアッセイとしては、ハイブリダイゼーションベースのまたはPCRベースのアッセイが含まれる。本発明のタンパク質、ポリペプチドまたはペプチドの検出のための典型的なアッセイには、インサイチュー結合アッセイ等のような任意の利用可能な形式での抗体プローブの使用が含まれる。Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988 ans Section Gを参照されたい。好ましい実施形態では、アッセイは、適切な対照とともに実行される。

【0295】

上記方法はまた、他の組織または器官における病状を検出するためのプロトコルおよび方法を含む他の診断プロトコルにて使用されてもよい。

【0296】

O. 一次侵害受容感覚ニューロンにて発現される他の遺伝子を同定する方法
実施例に記載するように、本発明のmrg遺伝子およびdrg-12遺伝子は、野生型のDRGにて発現されるが、Ngn1突然変異マウスのDRGでは発現されない遺伝子を濃縮させ、抑制PCRベースの方法(Clontech)を用いて、RNA同定した。この一般的な方法を用いて、DRGニューロンの侵害受容サブセットの発達または存在に必要な他の遺伝子を発現しないトランスジェニックマウスを生産することにより他のDRG特異的遺伝子を同定および単離してもよい。例えば、TrkA⁺マウスは、侵害受容DRGニューロンに関連した他の遺伝子を単離するために、本発明の方法にて使用してもよい(Lindsay Philos. Trans R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 351 (1338): 365-73 (1996)、およびWalsh et al. J. Neurosci. 19(10): 4155-68を参照)。

【0297】

さらなる説明がなくても、先述の説明および以下の例示的な実施例を用いて、当業者は、本発明の化合物を作製および利用することができ、また特許請求した方法を実施することができると考えられる。したがって、以下の実用的な実施例は、本発明の好ましい実施形態を具体的に指摘し、いかなる場合においても本開示の残部を限定するものと解釈されるべきではない。

【0298】

[実施例]

実施例1：侵害受容に関与する候補遺伝子を同定するための、野生型DRGおよびNgn1⁺DRG間のポジティブ選択に基づいた差次的ハイブリダイゼーション

これまでの研究は、bHLH転写因子であるニューロゲニン1(Ngn1)(Ma et al. Cell 87: 43-52 (1996))が、後根神経節(DRG)における侵害受容感覚ニューロンの細胞の予定運命の決定に必要であることを示した(Ma et al. G

enes & Dev. 13: 1717-1728 (1999))。N g n⁺1 突然変異マウス胚において、全部ではないがほとんどの t r k A⁺ニューロン (これは、侵害受容サブクラスを含む) は生成されていない。この突然変異体の表現型を利用して、新生期野生型 D R G および N g n⁺1⁺ D R G から c D N A を抜き出すことにより、かかるニューロンにて特異的に発現される遺伝子を単離した。野生型 D R G の c D N A 集団では発現されるが、N g n⁺1⁺ D R G の c D N A 集団では発現されない遺伝子は、t r k A⁺侵害受容ニューロンに特異的である。

【0299】

新生児野生型マウスまたは N g n⁺1⁺マウスの後根神経節 (D R G) から全 R N A を単離した (Ma et al. Genes Develop. 13: 1717-1728(1999), Fode et al. Neuron 20: 483-494 (1988)、および Ma et al. Neuron 20:469-482 (1988) を参照)。次に、抑制 P C R に基づいた方法 (Clontech) を用いて、野生型 D R G では発現されるが、N g n⁺1 突然変異 D R G では発現されない遺伝子を濃縮した。簡潔に述べると、S u p e r s c r i p t 逆転写酵素 (Gibco) を使用して、オリゴ d T プライマーを用いて R N A から c D N A を合成し、S m a r t P C R 増幅キット (Clontech) を用いて増幅した。増幅した野生型 D R G c D N A および N g n⁺1⁺ D R G c D N A を、P C R セレクトサブトラクティブハイブリダイゼーションプロトコル (Clontech) にて、それぞれテスターおよびドライバーとして使用した。ドットプロット分析による差次的スクリーニングは、N g n⁺1⁺ D R G 由来の c D N A と比較して、野生型 D R G 由来の c D N A が濃縮された幾つかのクローンを同定した。これらのクローンを、ヌクレオチドシーケンシングおよびインサイチュウハイブリダイゼーションによりさらに分析した。

【0300】

約 1 , 6 0 0 個の陽性の遺伝子が、一次スクリーンにて同定され、これらのうち 1 4 2 個をシーケンシングした。これらのうち 5 0 個が既知の遺伝子を表し、9 2 個が新規遺伝子を表した (第 1 表を参照)。既知の遺伝子の中に、侵害受容感覚ニューロンにて特異的に発現される幾つかのシグナル伝達分子が存在した。これらには、V R - 1、カルシトニン遺伝子関連ペプチド (C G R P)、テトロドトキシン非感受性ナトリウムチャンネル (S N S - T T X i) およびジアシルグ

リセソールキナーゼが含まれていた。新規遺伝子の中には、イオンチャネルまたは受容体に特徴的な構造的特徴を有する幾つかのコードタンパク質が存在し、インサイチュハイブリダイゼーションによりDRG感覚ニューロンのサブセットにて特異的に発現されることが明らかとなった。これらの分子について実施例2および3にて詳述する。

【0301】

【表1】

第1表
疼痛知覚に関与する遺伝子に関する差次的ハイブリダイゼーションスクリーニングの結果の概要

スクリーンから単離した回数	名称
A. 既知の遺伝子	
13	NaN
9	ジアシルグリセロールキナーゼ
7	シナプトフィジン リア
5	バニリノイド受容体
3	GluR5-2c
2	CGRP
2	CLJM1
1	SNS-TTXi
1	α -N-カテニン
1	脳 Naチャンネル III
1	NICAG
1	セクレトグラニン
B. 新規遺伝子	
2	Mrg3 (新規Gタンパク質共役受容体)
2	DRG12

注釈：従来の研究は、太字の遺伝子が侵害受容器で特異的に発現されることを示す。

【0302】

実施例2：侵害受容感覚ニューロンにおいて特異的に発現される推定Gタンパク質共役受容体の新規ファミリー

スクリーンから単離された新規遺伝子の中に、Gタンパク質共役受容体の特徴である7つの膜貫通セグメント(配列番号1)を有する受容体タンパク質をコードする2つの別個のクローンが存在した。単離した新規の7つの膜貫通セグメントを有する受容体は、発癌遺伝子(mas)に最も密接に関連しており、したが

って、mas 関連遺伝子 - 3 (mrg 3) と命名した。mrg 3 はまた、mas 関連遺伝子 A 1、すなわち Mr g A 1 としても知られている。mrg 3 に関する完全コード配列を、ゲノム DNA 配列から推定した (図 1 A および配列番号 2) 。Mr g A 1 は、MAS 1 に対して有意な相同性 (35% 同一性) を示す (Young et al. Cell 45: 711-9 (1986))。それはまた、Mas 関連遺伝子 1 (MRG 1) (Monnot et al. Mol Endocrinol 5: 1477-87 (1991)) およびラット胸大動脈 (RTA) (Ross et al. Proc Natl Acad Sci USA 87:3052-6 (1990)) と呼ばれる 2 つの他の哺乳動物 GPCR と有意な相同性 (30 ~ 35% 同一性) を共有する。

【0303】

かかる G タンパク質共役受容体は、嗅覚ニューロンおよび味覚ニューロンのような他の種類の感覚ニューロンにて発現されるが、この種類の分子は、プロテアーゼ活性化受容体 (PAR) を除いて、DRG 感覚ニューロンに関してこれまでになんら説明されてない。

【0304】

プローブとして mrg 3 DNA を用いて、マウス DRG cDNA ライブラリーおよびマウスゲノムライブラリーをさらにスクリーニングすることにより、mrg 4 (Mr g A 2)、mrg 5 (Mr g A 3)、mrg 6、mrg 7、mrg 8 (Mr g A 4)、mrg 9 (Mr g A 5)、mrg 10 (Mr g A 6)、mrg 11 (Mr g A 7)、および mrg 12 (Mr g A 8) と命名される、密接に関連した 9 個の遺伝子をさらに同定した。それらのうち、mrg 4、mrg 5 および mrg 8 ~ 12 は、完全長オープンリーディングフレームを含む (図 1 を参照)。ブラストプログラムを用いてデータベースを検索することにより、2 つのヒト相同体が見出された。8 個の mrg 遺伝子、すなわち mrg 3 ~ 8 およびヒト 1 ~ 2 のタンパク質アラインメントは、それらが新規 G タンパク質共役受容体遺伝子ファミリーを規定することを示唆した (図 1 A)。

【0305】

特に、PO マウス DRG cDNA ライブラリーから Mr g A 1 ~ 4 を単離し、フィルター上に配列したマウスゲノム BAC ライブラリー (Incyte Genomics)

からMRGA 5~8の全ORFを含有するクローンを単離した。図6Aは、MrGA 1~8のポリペプチド配列のアラインメントを示し、膜貫通ドメインならびに細胞質および細胞外ループを示す。さらに、クエリーとしてMrGA 1を用いて、TB L A S T Nプログラムを使用してCeleraマウスおよびヒト(Venter et al. Science 291: 1304-51 (2001))ゲノムデータベースを検索することにより、他のマウスMrGA配列、ならびに他のヒトMrGA配列を同定した。表3は、MrGA遺伝子が互いに高度に相同性であることを示す。ある特徴的な保存残基の存在と組み合わせたこの高度の相同性は、それらがGPCRのMASファミリーの新規サブファミリーを規定することを示す。

【0306】

マウスMrGAファミリーの成員をさらに同定するために、クエリーとしてMRGA 1およびMRGA 4タンパク質配列を用いて、Celeraマウス断片データベース(2001年1月7日掲載、18,251,375個の断片)に対してTB L A S T N検索を実行した。これらの検索により、299個の特有のマウスゲノムDNA断片を同定した。これらの断片の配列をダウンロードし、ストリンジェントな条件下にてG E L M E R G E (GGG Wisconsin Package)を用いてコンティグを構築した(90%同一性、20nt最小重複)。G E L M E R G Eを再び実行して(80%同一性、20nt最小重複)、さらにデータセットを絞りこんだ。次に、各コンティグからのコンセンサヌクレオチド配列を、B L A S T Nを用いてCeleraマウス断片データベースに対して照会し、構築のためのさらなる配列を同定した(最終n=536の断片)。最終構築からのコンセンサス配列をF A S T Aフォーマット済データベースに入れた。次に、クエリーとしてMRGA 1を用いてT F A S T Yによりこのデータベースを検索して、誤りがちな(error-prone)ゲノム配列がタンパク質へ終止コドンまたはフレームシフトを導入したかどうかに関わらず、各コンセンサス配列からの潜在的コード領域を同定した(Pearson, W.R. (1999). Flexible similarity searching with the FASTA3 program package. In Bioinformatics Methods and Protocols, S. Misener and S.A. Krawetz, eds. (Totowa, NJ: Humana Press), pp. 185-219)。次に、これらの検索からのタンパク質配列を、系統学的分析のために単一F A S T Aフォーマット

ト済ファイルに合体させた。

【0307】

この分析を用いて、マウスMr g Aサブファミリーの16個のさらなる成員を同定した(図6B)。このサブファミリーのほかに、Mr g BおよびMr g Cと呼ばれる2つの密接に関連したMr gサブファミリーもまた発見された(図6B)。マウスMr g B遺伝子におけるORFの存在を確認するために、ハイファイデリティPCRを用いて、C57Bl/6マウスゲノムDNAからmMr g B1~5、mMr g D、およびmMr g Eを増幅した。幾つかの別個のクローンをシーケンシングし、ORF予測を確認した。構築したCelera配列における数多くの終止コドンおよびフレームシフトの存在は、mMr g C遺伝子が偽遺伝子であることを示した。

【0308】

Mr g Bサブファミリーが14個の遺伝子を含むのに対し、Mr g Cは12個の成員を有する。これらのサブファミリーそれぞれの間の配列同一性パーセントは、50%よりも大きい(第2表)。際立って、12個のMr g Cの成員すべてが、複数の早発性終止コドン、早発性フレームシフト突然変異、またはその両方を含有するため、すべて偽遺伝子のようなものである(図1B、" ")。したがって、総合して、Mr g AおよびMr g Bサブファミリーは、36個の無傷ORFを含む。

【0309】

【表2】

第2表

マウスMRGサブファミリー間の類似性および同一性

	mMR GA1	mMR GA2	mMRG A3	mMRG B1	MMRG B2	mMR GB3	mMR GC1	mMR GC2	mMR GC3
mMRGA1	----	77.9	73.1	48.1	46.3	43.6	44.9	46.7	47.8
mMRGA2	87.5	----	71.8	42.4	45.4	42.7	41.5	44.5	43.5
mMRGA3	85.1	83.1	----	47.9	46.8	44.2	46.0	49.8	46.6
mMRGB1	72.1	66.8	70.2	----	57.6	50.0	42.9	47.1	45.3
mMRGB2	68.7	67.7	69.4	72.7	----	53.5	41.8	44.4	43.1
mMRGB3	65.2	65.7	64.6	69.5	73.5	----	37.0	38.8	36.4
mMRGC1	69.5	65.2	70.9	64.4	67.0	63.3	----	76.0	79.1
mMRGC2	69.8	72.5	74.2	69.4	70.8	65.7	81.4	----	78.8
mMRGC3	70.9	67.2	71.0	66.2	69.5	64.6	86.1	86.3	----

【0310】

タンパク質配列間の同一性パーセント（右上、太字）および類似性パーセント（左下）を示す。「hMRG」は、ヒトMRGアミノ酸配列を示し、「mMRG」は、マウスMRG配列を示す。「hMRGX」は、mMRGAおよびmMRGB配列のヒト相同体を示すのに使用される（図1B）。値は、GCGパッケージ中のGAPプログラムを用いた包括的なアラインメントから得た値である。

【0311】

BLAST(Altschul et al. Journal of Molecular Biology 215: 403-410 (1990))およびHidden Markovモデル(HMM(Eddy. Bioinformatics 14, 755-63 (1998)))の両方を用いたCelera(Venter et al. Science 291: 1304-51 (2001))およびパブリック(Consortium. Nature 409: 860-921 (2001))ゲノム配列データベースの検索により、4個の密接に関連した(「50%同一性」)完全長ヒト遺伝子、および少なくとも10個のヒト偽遺伝子が明らかとなった。簡潔に述べると、クエリーとしてmMr g A 1タンパク質配列を用いて、Celeraヒトゲノムデータベース(Venter et al. Science 291: 1304-51 (2001))に対してTB L A S T N検索を実行した。この検索にて同定されるゲノム配列をダウンロードし、FASTAフォーマット済データベースに入れて、TF A S T Yを用いて検索して、タンパク質の非重複性セットを同定した。h M r g X 3、h M r g E、およびh M r g 8を除いて、パブリックヒトゲノム配列(Consortium. Nature 409: 860-921 (2001))の同様の分析から、すべてのヒトM r gが別個に同定された。

ヒトMr g X 1 ~ 4配列は、遺伝子を含むヒトBACクローンに由来するPCR増幅産物から別個に立証された。

【0312】

明確なオルソログ対がない状態にて、ヒト遺伝子は、系統樹によるとMr g BサブファミリーよりもマウスMr g Aサブファミリーに類似しているように見える(図6B、hMr g X 1 ~ 4)が、本発明者等は、現段階でヒト遺伝子をhMr g X遺伝子と称する。Mr g A、BおよびCサブファミリーのほかに、本発明者等がMr g D ~ Fと命名したものを含む多数のさらなるMas - 1関連オープンPCRがこの検索により同定された(図6B)。Mr g Dのようなこれらの配列の幾つかは、明確なヒトオルソログを有する(図6B、hMr g Dおよび第3表)。まとめて、本発明者等は、このファミリーに属するほぼ45個のマウスの、および9個のヒトの無傷コード配列を同定した。

【0313】

【表3】

第3表

ヒトおよびマウスMRG間の類似性および同一性

	hMRGX 2	hMRGD	hMRGE	mMRG A1	MMRG B4	mMRG B1	mMRG D	mMRG E
hMRGX2	----	39.3	40.2	55.6	50.1	53.4	40.5	38.8
hMRGD	65.4	----	34.4	37.6	35.4	33.8	55.8	35.9
hMRGE	62.8	54.6	----	36.6	32.8	32.8	33.9	76.5
mMRGA1	74.8	63.4	57.7	----	48.1	48.1	37.1	39.7
mMRGB4	71.0	64.0	58.0	70.4	----	54.5	34.8	36.6
mMRGB1	73.5	58.6	60.5	72.1	74.1	----	36.5	33.8
mMRGD	61.1	72.6	57.6	59.5	64.2	61.3	----	35.1
mMRGE	59.0	59.5	84.0	62.5	63.7	59.1	59.3	----

【0314】

タンパク質配列間の同一性パーセント(右上、太字)および類似性パーセント(左下)を示す。「hMRG」は、ヒトMRGアミノ酸配列を示し、「mMRG」は、マウスMRGアミノ酸配列を示す。「hMRGX」は、mMRGAおよびmMRGB配列のヒト相同体を示すのに使用される(図1B)。値は、GCGパッケージ中のGAPプログラムを用いた包括的なアラインメントから得られた。

【0315】

M R G受容体は、外見上シグナルペプチドのない、短い(3~21アミノ酸) N末端を有し、細胞外に位置すると予測される。膜貫通ドメインおよび細胞内ドメインは、高度に保存され、受容体が共有機能を有することを示唆する。M R G Aファミリー受容体のほとんどの多岐にわたる領域は、細胞外ループに局在化しているようであり(図6A)、これらの受容体が、異なるリガンド、あるいは同一リガンドであっても異なる親和性を有するリガンドを認識することを示唆する。興味深いことに、本発明者等は、マウス株C57BL/6Jおよび129SvJ間のM r g A 1コード配列において12個の一塩基多型を同定した。これらの12個の変化は、6個のアミノ酸置換を生じる結果となり、それらすべては、保存的であるか、または他のファミリー成員により同じ位置にて発現される置換残基であった。

【0316】

巨大マウスゲノムコンティグを、M r g A配列を含有する重複B A Cクローンを分析することにより構築した(図6C)。このコンティグには、3個の偽遺伝子を含む7個のM r g A遺伝子が存在していた。かかるクラスター形成は、G P C Rコード遺伝子ファミリーの共通の特徴である(Xie et al. Mamm Genome 11: 1070-8 (2000))。際立って、ヒトM r g 遺伝子すべて(M a s 1およびM r g 1を除く)は、第11番目染色体に位置し、それらはまた、ヒト嗅覚受容体遺伝子すべての50%を含有する。マウスB A Cコンティグ(図6C)におけるM r g A遺伝子の全ては、多くの他のG P C Rコード遺伝子と同様に、N末端メチオンを有する無傷O R Fをコードする。Celeraマウスゲノムデータベースを用いて、各M r g Aコード領域に隣接する配列を獲得および分析した。この分析により、少なくとも6個のM r g A遺伝子がそれらのコード配列の650bp下流に位置するL1レトロトランスポゾン配列を有することが明らかとなった(図6B、「L1」で示す)。

【0317】

8個の完全長m a s 関連遺伝子m r g 3~5、およびm r g 8~12のすべては、n g n 1*突然変異D R Gにて排除されるD R G感覚ニューロンのサブセッ

トにおいてそれらが発現されることから示されるように、侵害受容感覚ニューロンにて濃縮される(図2および2A)。

【0318】

実施例3：侵害受容感覚ニューロンにて特異的に発現される新規の2つの膜貫通セグメントタンパク質

このスクリーニングにて単離される別の新規遺伝子 *dr g 1 2* (配列番号13) は、2つの推定膜貫通セグメントを有するタンパク質をコードする(配列番号14)。インサイチューハイブリダイゼーションは、*mr g* 遺伝子と同様に、この遺伝子 *dr g 1 2* もまたDRG感覚ニューロンのサブセットにて特異的に発現されることを示す。このタンパク質とデータベース中の他の配列との間に明白な相同性は存在しないが、侵害受容感覚ニューロンにて特異的に発現される2つのプリン受容体 (P_2X_2 および P_2X_3) が、類似した二連膜貫通トポロジーを有することは注目に値する。したがって、*dr g 1 2* はまた、侵害受容感覚伝達またはその調節に関与した受容体あるいはイオンチャネルをコードすると思われる。*dr g 1 2* ヒト配列(配列番号19)の相同領域の疎水性を、図4の *dr g 1 2* マウス配列の相同領域の疎水性と比較する。

【0319】

実施例4：*mr g* および *dr g - 1 2* 遺伝子は、侵害受容感覚ニューロンにて特異的に発現される。

mr g ファミリー遺伝子および *dr g - 1 2* 遺伝子に関する機能は、以下に記載するようなりガンドの同定を考慮しつつ、それらの構造および発現パターンに基づいて、予測される。*Mr g* タンパク質がDRGニューロンにて発現されるかどうかを確定するために、ジオキシゲニン(dioxygenin)標識リボプローブを用いたインサイチューハイブリダイゼーションを実施した。簡潔に述べると、POマウスの子から組織を得て、4%パラホルムアルデヒド中にて4時間一晩固定し、30%ショ糖中で一晩凍結保護し、OCT中に包埋した。組織切片を18 μ mにて低温維持装置上で横方向に切断した。cRNAプローブを用いて、これまでに記載されたように、凍結切片に関して非同位体性インサイチューハイブリダイゼーションを実施した(Ma et al. Cell 87: 43-52 (1996); Perez et al. Develop

ment 126: 1715-1728 (1999)。8個のMr g A、5個のMr g BおよびMr g Dをプローブとして使用した。少なくとも10個のDRGを分析して、各プローブに関して陽性であるニューロン数を計数した。

【0320】

8個のMr g A (Mr g A 1 ~ 8) すべてを含むMr gおよびdr g 12 遺伝子は、マウスの後根神経節 (DRG) における小径感覚ニューロンのサブセットにて発現される (図7B ~ I)。重要なことに、8個すべてのMr g Aの発現は、サブストラクティブハイブリダイゼーションスクリーンのパターンと合致して、Ngn1⁺動物のDRGにて事実上存在しなかった (図7J)。検査した8個のMr g Aクローンの中で、Mr g A 1は、DRG中の感覚ニューロン内で最も広範に発現する (13.5%)。他のMr g Aは、DRG切片中の数個の細胞にて発現されるだけである (0.2 ~ 1.5%の範囲のDRGニューロン)。この存在量の差は、Mr g A 1のみがオリジナルスクリーンにて単離された理由を説明し得る。Mr g A 1 ~ 8の発現パターンの明らかな差異は、異なる軸レベルからのDRGにて認められなかった。身体のいかなる他の組織においても、またはこれまで検査した神経系のいかなる他の領域においても、これらの遺伝子の発現がこれまでは検出されなかったという点で、この発現は非常に特異的である。

【0321】

Mr g A遺伝子と同様に、Mr g Dもまた、DRG感覚ニューロンのサブセットにて特異的に発現する (以下を参照、図15)。対照的に、Mr g B 1 ~ 5は、DRGにて発現が検出できなかった。しかしながら、mMr g B 1発現は、新生児マウスの皮膚の表皮層中の、ならびに脾臓および顎下腺中の散乱細胞にて観察された (図13および14)。これらの細胞は、創傷修復において役割を果たす免疫細胞のようである。mMr g B 2もまた、この発現パターンを示す。対照的に、mMr g B 3、mMr g B 4およびmMr g 5は、これらの組織のいずれにおいても発現されないようである。

【0322】

これらの結果は、Mr gおよびdr g 12 遺伝子が一次感覚ニューロンにて発現されることを示す。しかしながら、DRGは、種々のタイプの感覚 (例えば、

熱、疼痛、触覚および体位)を助長する種々の種類のニューロンを含む。Ngn1突然変異は、個々のマーカー *trkA*、*VR-1* および *SNS-TTXi* の発現により同定されるDRGニューロンの侵害受容(有害な刺激感知)サブセットのそれぞれを独立して、大部分または完全に排除することが知られている(Ma et al. *Genes & Dev.* 13:1717-1728 (1999))ため、*mrg* ファミリーおよび *drg12* 遺伝子を発現するニューロンがNgn1⁺DRGにおいて大部分または完全に排除されるという事実により個々の同定がされる(図2)。したがって、Ngn1⁺突然変異DRGにおける *mrg* および *drg-12* 発現ニューロンの損失は、これらの遺伝子が侵害受容感覚ニューロンにて発現される可能性が非常に高いことを示す。他の種類の少数の感覚ニューロン(*trkB*⁺および *trkC*⁺)は、同様にNgn1⁺突然変異体にて排除されるものの、*mrg* および *drg12* 遺伝子は、これらの種類の感覚ニューロンにて発現されないと思われる。なぜならば、それらが *mrg* および *drg12* 発現感覚ニューロンの大部分である場合にNgn1⁺突然変異体にて残されると予測されるが、その予測が事実とは異なるからである。

【0323】

Ngn1⁺マウスからのDRGにおける *MrgA* の発現の欠如は、それらが皮膚感覚ニューロンにおいて発現されるという概念と合致する。さらに、*MrgA1*⁺細胞の分布は、侵害受容感覚ニューロンのマーカーである *trkA* を発現するニューロンの分布と類似していた(McMahon et al. *Neuron* 12: 1161-71 (1994)); Snider and Silos-Santiago *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 351:395-403(1996))(図7A、B)。 *MrgA* 遺伝子が *trkA*⁺細胞にて発現されるかどうかを直接確定するために、新生期DRGにおいて、抗 *trkA* 抗体を用いた免疫標識と合わせて、*MrgA1*、*A3* および *A4* に関してインサイチューハイブリダイゼーションを実施した。フルオレセイン-UTP 標識cRNAプローブを、アルカリホスファターゼ(AP)結合抗フルオレセイン抗体(1:2000、Roche)を用いて検出し、ファストレッド(Roche)を用いて発色させて、赤色蛍光シグナルを発生させた。蛍光インサイチューハイブリダイゼーションを実施した後、切片を *TrkA* に対する一次抗体(1:5000、Louis Reichardt博士

から寄贈)、VR1 (1:5000、D. Julius博士から寄贈)、CGRP (1:500、Chemicon)、またはサブスタンスP (1:1000、Diasorin) にてインキュベートした。すべての抗体は、1%正常ヤギ血清および0.1%トリトンX-1000を含有する1×PBSにて希釈した。一次抗体インキュベーションを4 にて一晩実施した。使用した二次抗体は、Alexa488に結合したヤギ抗ウサギIgG (1:250、Molecular Probes)であった。Griffonia simplicifolia IB4レクチンでの二重標識のために、インサイチューハイブリダイゼーション後に、12.5 μg/mlのFITC結合IB4レクチン(Sigma)とともに切片をインキュベートした。

【0324】

抗trkA抗体によるmr gアンチセンスRNAプローブを用いた二重標識実験により、mr g、具体的にはMr g Aが、DRGにてtrkA⁺侵害受容ニューロンにより同時発現されることが確認された(図7Bおよび図8A~Cを参照)。同様の結果がMr g Dに関して得られた(図8D)。合わせて、これらのデータは、Mr g AおよびMr g DがDRGにおいて侵害受容感覚ニューロンにより特異的に発現されることを示す。

【0325】

侵害受容器の特定のサブセットにてMr gが発現されるかどうかを確定するために、さらなる実験を行った。上述するように、抗VR1標識による、およびイソレクチンB4 (IB4) 標識によるmr gアンチセンスRNAプローブを用いたさらなる二重標識実験は、mr gがIB4⁺侵害受容ニューロンにより優先的に発現されるが、一方、VR-1発現侵害受容ニューロンにおいては発現されないことを示した(図2Cおよび2D)。特に、Mr g A1、A3、A4およびMr g Dプローブを用いたインサイチューハイブリダイゼーションとともにIB4に関する併用蛍光標識は、これらの受容体がIB4⁺ニューロンにより発現され(図8E~H)、このサブセットに発現が制限され得ることを明確に示した。この結果は、これらのMr gがIIi層に突き出た非ペプチド作動性侵害受容ニューロンにより発現されることを示す(Snider and McMahon Neuron 20: 629-32 (1998))。この結果に合致して、Mr g A1⁺の大部分(90%)、およびMr g A

3⁺、A 4⁺およびMr g D⁺全ての細胞が、サブスタンスP発現を欠如する(図8 I ~ L)。同様に、Mr g A 1⁺の大部分の細胞(70%)、およびMr g A 3⁺、A 4⁺およびMr g D⁺の全ての細胞が、C線維侵害受容器により発現される別の神経ペプチドであるCGRPを発現しない(図8 M ~ P)。これまでの研究は、IB 4⁺侵害受容ニューロンが、神経損傷に起因する神経障害性疼痛に関与することを示した(Malmberg, A. B. et al. Science 278: 279-83 (1997))。疱疹後神経痛、反射性交感神経性ジストロフィー、および幻肢痛を含む神経障害性疼痛は、最も管理しにくい疼痛である。Mr gは、神経障害性疼痛を媒介する本質的な役割を果たし、神経障害性疼痛を管理するための代替的解決法を提供する。

【0326】

最近の研究によると、IB 4⁺侵害受容器の神経化学的および機能的に異なった2つのサブ集団：バニロイド受容体VR 1を発現するもの(Caterina et al. Science 288: 306-13 (1997))、および発現しないもの(Michael and Priestley J Neurosci 19: 1844-54 (1999); Stucky and Lewin J Neurosci 19: 6497-505 (1999))の存在に関する証拠が提供されている。顕著なことに、抗VR 1抗体免疫染色と合わせたMr g AプローブおよびMr g Dプローブを用いたインサイチュールハイブリダイゼーションは、Mr g A 1、A 3、A 4およびMr g Dを発現する細胞集団が、VR 1⁺(VR 1を発現する)細胞と相容れないことを示した(図8 Q ~ T)。まとめると、これらの発現データは、Mr g A遺伝子およびMr g D遺伝子が、IB 4⁺およびVR 1⁻である非ペプチド作動性皮膚感覚ニューロンのサブクラスにおいて発現されることを実証する(図9)。

【0327】

Mr g A 1は、他のMr g A遺伝子とともに同時発現される

Mr g A 1は、他のMr g A遺伝子よりも広く発現され(図2)、Mr g A 1およびMr g A 2 ~ 8が、侵害受容器の異なるサブセットまたは重複サブセットにより発現されることを示唆する。ジゴキシゲニンおよびフルオレセインで標識したプローブを用いた二重標識インサイチュールハイブリダイゼーションによる研究は、Mr g A 3またはMr g A 4を発現するほとんどのニューロンもしくは全

部のニューロンがMr g A 1を同時発現することを示した(図10A~F)。興味深いことに、チラミド増幅を用いたMr g A 3およびMr g A 4に関するインサイチュハイブリダイゼーションシグナルにおける蛍光は多くの場合、ファストレッドにより検出されるMr g A 1 mRNAの細胞質発現により区切られる核内ドットとして出現した(図10F)。かかるドットは、低感度ファストレッド検出方法を用いると観測されず、Mr g A 1⁺細胞の核にてのみ観察された。同様の核内ドットが、フェロモン受容体遺伝子発現の研究にてこれまでに観察されており、転写部位を表すことが示唆されてきた(Pantages and Dulac Neuron 28: 835-845 (2000))。Mr g A 1、3および4に関する結果は、より稀なMr g A 遺伝子(Mr g A 2~8)を発現するニューロンは、Mr g A 1をも発現するニューロンのサブセットであることを示す。

【0328】

Mr g A 2~A 8が同一のニューロンにて発現されるのか、または異なるニューロンにて発現されるのかどうかの問題に対処するために、単一プローブにより標識されるニューロン数を、7つ全てのプローブの混合物により標識されるニューロン数と比較した(Buck and Axel Cell 65: 175-187 (1991))。Mr g A 4に対する別個のプローブによる標識よりも、約3倍以上のニューロン(4.5%対1%)が混合プローブにより標識され(図10J、K)、これらの遺伝子が、同一のニューロン集団にてすべて同時発現されるわけではないことを示す。しかしながら、混合プローブにより標識されるニューロンのパーセント(4.5%)は、7つの別個のプローブのそれぞれにより標識されるニューロンのパーセントの総計よりは小さいので、Mr g A 2~A 8の発現は、一定の重複が存在することを示す。さらに、単一プローブを用いる場合よりも混合プローブを用いた場合に、より高いシグナル強度が個々のニューロンにて観察された。

【0329】

Mr g A 1およびMr g Dプローブを用いた二重標識実験もまた実施した。これらのタンパク質は、図6Bおよび表3に示すように、60%だけの配列類似性を共有する。これらの実験の結果によって、これら2つの受容体を発現するニューロン間の重複は、ほんの部分的であることを示した(図10G~I)。Mr g

A1またはMr g Dを発現するニューロンの約15% (118/786) は両遺伝子を同時発現した。Mr g A1⁺細胞の34% (118/344) がMr g Dを同時発現したのに対して、Mr g D⁺細胞の26.7% (118/442) がMr g A1を同時発現した。

【0330】

合わせて、これらのデータは、IB4⁺、VR1⁻感覚ニューロンの少なくとも3つの別個のサブ集団: Mr g A1⁺Mr g D⁺、Mr g A1⁺Mr g D⁻、およびMr g A1⁻Mr g D⁺の存在を示す。Mr g A1⁺サブセットはさらに、1つまたはそれ以上のMr g A2~A8を発現する異なるサブセットに分割される。

【0331】

Mr gファミリー遺伝子は、推定Gタンパク質共役受容体(GPCR)をコードする

mr gファミリー遺伝子のコードアミノ酸配列の疎水性プロットは、7つの膜貫通セグメントを有する膜タンパク質を予測する。かかる構造は、「Gタンパク質」を通じてシグナル伝達する受容体に特徴的である。Gタンパク質は、環状ヌクレオチド(cAMP、cGMP)、IP₃および細胞内遊離カルシウム(Ca²⁺)のような「第二メッセンジャー」分子の発生または減損に關与する酵素を活性化あるいは抑制する細胞質分子のファミリーである。続いて、かかる第二メッセンジャー分子は、イオンチャネルおよび他の受容体のような細胞内シグナル伝達に關与する他の分子を活性化あるいは抑制する。

【0332】

Gタンパク質共役受容体(GPCR)は、膜受容体の最大のスーパーファミリーの1つを構成し、異なるリガンドに特異的な受容体の多くのサブファミリーを含む。これらのリガンドには、身体により製造される神経伝達物質および神経ペプチド(例えば、それぞれノルアドレナリン、アドレナリン、ドーパミン、およびサブスタンスP、スマトスタチン)、ならびに外界に存在する感覚分子(臭気物質、風味物質)が含まれる。

【0333】

mr gファミリー遺伝子は高度に相同性であるが、最も相同性の低い領域は、

細胞外ドメインであった(図6A参照)。mrgファミリーの細胞外ドメインの可変性は、それらが異なるリガンドを認識し得ることを示唆する。

【0334】

mrgファミリー遺伝子がGPCRをコードし、侵害受容感覚ニューロンにて特異的に発現されるという事実は、これらの受容体が、疼痛、熱もしくは他の有害な刺激の知覚または調節に、直接的あるいは間接的に関与することを示唆する。したがって、mrgコード受容体は、疼痛、熱もしくは他の有害な刺激の知覚または調節をするのに効果のある薬剤を同定するための標的として有用である。最も有用な型の薬剤(アゴニスト性またはアンタゴニスト性)の性質は、かかる有害な刺激の知覚に対してこれらの受容体が受ける一般的な影響の性質に依存するであろう。例えば、mrgコード受容体が一般に負に作用する場合、疼痛を抑制または抑圧するために、アゴニスト性薬剤が有用な治療薬となり、反対に、受容体が一般に正に作用する場合、疼痛を促進または増大するために、アンタゴニスト性薬剤が有用な治療薬となるであろう。ある種の臨床場面において、例えば糖尿病に関連した抹消神経感覚神経障害において、有害な刺激に対する感受性を高めるのに有用であり得る。

【0335】

疼痛知覚に対するmrgコードGPCRの影響の性質は、マウスにおけるこれらの遺伝子の標的突然変異の表現型の結果により明らかとなった。例えば、かかるマウスが有害な刺激に対する感受性が増大した場合、受容体は一般に疼痛応答および抗血清を抑制または抑圧するために機能し、またその逆においても機能することを結論付けることができた。あるいは、ハイスループットスクリーンを用いて、mrgコード受容体に強固に結合する小分子を同定してもよい。かかる分子は、2つのカテゴリー：アゴニストおよびアンタゴニストに分類されると予測される。アゴニストが、受容体依存性様式で細胞内第二メッセンジャー経路を活性化する能力により同定される一方で、アンタゴニストは、それらを抑制する能力により同定されるであろう。次に、疼痛感受性の動物モデルでのかかる薬剤の試験は、GPCRの機能に関するさらなる情報を明らかにするであろう。例えば分子がインビトロにて受容体アンタゴニストとして作用し、かつ、それらがイン

ビボで有害な刺激に対する感受性または応答性を抑圧する場合に、受容体は一般に、疼痛知覚を促進または増大するために機能することが結論付けられ得る。逆に、受容体アゴニストがインビボにて疼痛知覚を抑圧し、一方アンタゴニストがそれを増大する場合、受容体は一般に、疼痛知覚を抑圧または抑制するために機能することが結論付けられ得る。

【0336】

dr g 1 2 は、推定膜貫通シグナル伝達分子をコードする

dr g 1 2 遺伝子のコードアミノ酸配列の疎水性プロットは、膜タンパク質が2つの膜貫通セグメントを有していることを予測させる。このタンパク質は、ポリペプチドのエピトープタグ付け様式でトランスフェクトした培養細胞の免疫染色により膜局在化していることが立証された。*DR G 1 2* アミノ酸配列はタンパク質の既知のファミリーに対して相同性はなかったものの、その二連膜貫通構造は、それが細胞内シグナル伝達のいくつかの局面において、例えば受容体、イオンチャネルまたは別の受容体のモジュレーターもしくはイオンチャネルのモジュレーターに關与することを強く示唆する。この予測は、類似した二連膜貫通トポロジーであるプリン作動性 P_2X_2 および P_2X_3 受容体を有する2つの既知の受容体が、*DR G 1 2* と同様に侵害受容感覚ニューロンにて特異的に発現されるという公知の知見により支持される。

【0337】

この構造データ、および侵害受容感覚ニューロンにおいて特異的に発現することを考慮すれば、*MR G 1 2* が、有害な刺激の知覚または調節に、直接的あるいは間接的に關与する可能性がある。したがって、*dr g 1 2* コードタンパク質は、疼痛治療のための新規治療薬の開発用の有用な標的である。

【0338】

実施例5：*Mr g* タンパク質は、神経ペプチドのための受容体である

上述のように、*Mr g* 遺伝子によりコードされるタンパク質の構造は、それらが受容体として機能することを示す。*Mr g* 受容体に関するリガンドを同定するために、選択した *Mr g A* 遺伝子を、カルシウム放出アッセイにて試験した。*Mr g A 1* および *Mr g A 4* を含む *Mr g A* 遺伝子を真核生物発現ベクターにクロ

ーニングし、ヒト胚腎 (HEK) 293細胞にトランスフェクトした。HEK 293細胞は、ATCCから得られ、10%ウシ胎児血清を補充したDMEM中で培養した。Aurora Biosciences Corporationから G_{15} を安定に発現するHEK 293 - G_{15} 細胞系が提供され、Matrigel (登録商標) (成長因子を減じたMatrigel、Becton Dickinson、血清を含まないDMEMで1:200希釈) で被覆したフラスコ上で成長させ、10%熱不活性化ウシ胎児血清、2 mMのL-グルタミン、0.1 mMの非必須アミノ酸、1 mMのピルビン酸ナトリウム、25 mMのHepes、および3 μ g/mlのブラストジジンSを補充したDMEM(GibcoBRL)中で37 °Cにて維持した。トランスフェクションのために、Matrigelで被覆した35 mmのガラス底皿(Biotech Inc., Butler, PA)上に細胞を播種した。16~24時間後、FuGENE 6 (Roche)を用いて細胞をトランスフェクトした。トランスフェクション効率は、MRGA1およびA4のC末端に融合したGFPの可視化により概算され、典型的に60%を超えた。さらに、MRGAコード配列のC末端に対してGFPを融合することにより、受容体の細胞内分布およびトランスフェクトした細胞におけるそれらの膜組込みを可視的に確認することが可能になった (図11D)。

【0339】

カルシウム放出アッセイの感受性を増加するために、幾つかの実験にて、MRGA-GFP融合タンパク質が、 G_{15} を発現するように改質されたHEK 293細胞にて発現され、細胞内遊離 Ca^{2+} の放出を誘発するシグナル伝達経路にGPCRを連結する (Offermann and Simon J Biol Chem 270: 15175-80 (1995))。このカルシウム放出は、蛍光指示色素としてFura-2を用いて比較測定的に (ratiometrically) にモニターされ得る (Tsien et al. Cell Calcium 6: 145-57 (1985)) (図11A~C)。この異種発現系は、味覚受容体用のリガンドを同定するためにこれまで使用されてきた (Chandrashekar et al. Cell 100: 703-11 (2000))。

【0340】

MRGAは、ペプチドホルモン受容体に対して最高の配列類似性を示すので、細胞内 Ca^{2+} 放出アッセイを用いて、MRGA1を活性化する能力に関して約4

5個の候補ペプチドをスクリーニングした。簡潔に述べると、トランスフェクトした細胞を、11 mMのD-グルコースおよび10 mMのHepes、を有するハンクスの平衡塩溶液(pH 7.4)(アッセイ緩衝液)で一度洗浄し、2 μ MのFura-2 AM(Molecular Probes)を室温にて90分間、回転させながら負荷した。負荷した細胞をアッセイ緩衝液で2回洗浄し、微小灌流チャンバ(Bioptech)に入れた。チャンバをOlympus IMT 2倒立顕微鏡の最上部に置き、Olympus DP1anApo40X油浸対物レンズにより結像した。75Wのキセノン球で試料を照射し、コンピュータ制御フィルター交換器(Lambda-10; Shutter Instruments)を用いて、励起波長を切替えた。蛍光を検出する際に、冷却CCDカメラ(Photometric)を使用した。励起波長400 nm、2色505 nmロングパスフィルター、および535 nmのエミッターバンドパス(Chroma Technology)を用いて、フィールド内のGFP陽性細胞を同定した。同じフィールド内で、励起波長340 nmおよび380 nm、ならびに発光波長510 nmにてカルシウム測定を実施した。アッセイ緩衝液でアゴニストを希釈し、微小灌流ポンプ(Bioptech)により溶液変化が達成された。GFP陽性細胞から生じるFura-2蛍光シグナル(340 nm、380 nmおよび340/380比)を、Axon Imaging Workbench 4.0ソフトウェア(Axon)を用いて、0.4または1秒間隔で連続的にモニターおよび収集した。計装の較正は、ガラス底皿(MatTek Corp.)にて標準カルシウム溶液(Molecular probes)を用いて実施した。

【0341】

濃度1 μ Mにて、数多くの神経ペプチドにより、Mr g A 1発現細胞が、幾分か活性化された(図12A)。これらの神経ペプチドの中には、ACTH、CGRP-IおよびCGRP-II、NPYならびにソマトスタチン(SST)が含まれていた。それにもかかわらず、多くの他のペプチドホルモン(アンギオテンシンI~IIIならびにニューロキニンAおよびB、 α -MSHおよび β -MSHを含む)は、MRGA1を活性化しなかった(図12A以外にデータを示さず)。Mr g A 1は、プロスタグランジンE1およびアラキドン酸のようなエコサノイドリガンドによっては、わずかに活性化されただけであった(データを示さず)。

【0342】

Mr g A 1 発現 H E K 細胞における最も効果的な応答は、F L R F および軟体動物心臓作用性神経ペプチド F M R F アミドを含む R F アミドペプチドにより誘発された (Price and Greenberg Science 197:670-671 (1977)) (P h e - M e t - A r g - P h e - アミド) (図 1 1 C、1 2 A)。次に、共通のプロペプチド前駆物質から切断される (Vilim et al. Mol Pharmacol 55: 804-11 (1999)) 2 つの哺乳動物 R F アミドペプチド、N P A F および N P F F を試験した。1 μ M の N P F F に対する Mr g A 1 発現細胞の応答は、F M R F アミドを用いた場合に見られる応答と類似している一方で、N P A F に対する応答は、有意に低かった (図 1 2 A)。Mr g A 1 はまた、2 つの他の R F アミドリガンド、₁ M S H および s c h i s t o F L R F によってもわずかに活性化された (データは示さず)。

【0343】

Mr g A 1 および A 4 の活性化の特異性をさらに検査するために、初期スクリーンによって見いだした最良の候補リガンドを、R F アミドペプチドに対する応答を保持するこの系にて発現される G_{15} Mr g A 1 および A 4 が欠如した H E K 細胞にて発現されるこれらの同一受容体に関して試験し (図 1 2 B、C)、初期スクリーンにおいて見られる細胞内 $C a^{2+}$ 放出応答が、外因性 G_{15} の存在に依存していないことを実証する。このことは、Mr g A が G q または G i を介して H E K 細胞にて作用することを示す。N P F F に対する Mr g A 1 発現 H E K 細胞の応答は、F L R F に対する応答より低く、N P A F に対しては応答しなかった (図 1 2 B)。反対に、Mr g A 4 発現細胞は、N P A F に対して応答したが、N P F F または F L R F には応答しなかった (図 1 2 C)。両方の場合において、 G_{15} 発現細胞において見られる N P Y に対する応答 (図 1 1 A) は完全に失われる一方で、C G R P - I I および A C T H に対する応答は相当減少した。

【0344】

Mr g A 1 および A 4 を活性化することが可能な R F アミドリガンドの最低濃度を決定するために、より大きな感受性をもたらす G_{15} を発現する H E K 細胞に

て、用量応答実験を実施した(図12D、E)。これらの実験は、Mr g A 1がナノモル濃度のFLRFにより(図12D、 EC_{50} 20 nM)、および概してそれよりもより高濃度のNPFFにより(図12D、 EC_{50} 200 nM)活性化され得る一方で、NPAFはかなり効果が少ないことを示す。対照的に、Mr g A 4は、NPAFにより十分に活性化され(図12E、 EC_{50} 60 nM)、FLRFおよびNPFFによりかなり弱く活性化された。どちらの受容体も、異なる前駆物質から生産される一連のRFアミドリガンドであるRFRP-1、2または3に応答した強力な活性化を示さなかった(Hinuma et al. Nat Cell Biol 2: 703-8 (2000))。これらのデータにより、Mr g A 1およびMr g A 4が、この系における種々のRFアミドリガンドに対する種々の選択性を示すことが確認される。対照的に、これらの受容体は、ACTHに対しては同様に応答した(それぞれ、Mr g A 1およびA 4に関して EC_{50} 60および200 nM、データは示さず)。

【0345】

最終的に、MRGA受容体およびMAS1との間の配列類似性を考えて、NPFF、NPAFおよびFLRFに対する外因性Mas1を発現する細胞の応答性を試験した。MAS1は、Mr g A 1およびMr g A 4のいずれとも異なるプロフィールを示した(図12F)。Mr g A 1と同様に、それは、ペプチドの同程度の濃度(EC_{50} 400 nM)にてNPFFにより活性化されたが、Mr g A 1と異なり、それは、FLRFによりあまり活性化されなかった。Mr g A 4とは対照的に、MAS1は、NPAFに対して十分に応答しなかった。この受容体を活性化するとこれまでに報告されていたリガンドであるアンジオテンシンIおよびIIに対して曝露しても、MAS-1発現細胞にて応答は検出されなかった(Jackson, T. R., et al. Nature 335: 437-40 (1988))。MAS1はまたACTHに対しても応答しなかった。したがって、この異種系で発現されるMAS1、Mr g A 1およびMr g A 4は、RFアミドファミリーリガンドによりすべて活性化されるが、異なるリガンド感受性および選択性を有する(第4表)。

【0346】

【表4】

第4表

H E K細胞におけるR FーアミドリガンドによるM a s関連G P C Rの活性化の
選択性

受容体	A. リガンド		
	FLRF	NPFF	NPAF
MRGA1	+++	++	+/-
MRGA4	+/-	+/-	+++
MAS1	+/-	++	+/-

【0347】

示したりガンドによる受容体の活性化の相対的有効性を示す。定量化に関しては、図6を参照されたい。「+++」は、 $10\text{ nm} < EC_{50} < 100\text{ nm}$ を示し、「++」は、 $100\text{ nm} < EC_{50} < 500\text{ nm}$ を示し、「+/-」は、 $1\text{ }\mu\text{M}$ にて見られる弱い応答を示す。詳細に関しては、図6を参照されたい。

【0348】

約50個のMAS1関連Gタンパク質共役受容体から構成される新規ファミリーが同定された。侵害受容感覚ニューロンのサブセットにおいて、これらの受容体の幾つかの種類が特異的に発現することは、これらの受容体が疼痛の知覚または調節にて役割を果たすことを示す。一貫して、これらの受容体は、無痛覚を媒介することが知られているR Fアミド神経ペプチドにより活性化されることがわかった。結果として、これらの受容体は、抗侵害受容薬剤のための新規標的を提供する。

【0349】

本発明は、上述の例を参照して詳細に記載してきたが、各種変更は、本発明の精神を逸脱することなくなされ得ることが理解される。したがって、本発明は、併記の特許請求の範囲によってのみ制限される。本出願にて参照したすべての引用特許、特許出願および刊行物は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【図面の簡単な説明】

【図1】

配列番号2、4、6、8、10および12、ならびにmrgファミリーの2つのヒト成員(配列番号16および18)のアミノ酸配列の相同領域のアラインメントを示す。

【図1A】

mrgが新規のGタンパク質共役受容体遺伝子ファミリーを規定することを示す。ClustalWを用いて8つのマウス完全長mrg遺伝子のアミノ酸配列をアラインさせた。予測タンパク質の50%より大きい同一残基を暗色陰影で示す。保存的置換は明灰色で目立たせている。予測膜貫通ドメイン1~7のおよその位置をTM1~TM7として配列の上部に示す。予測細胞外ドメインおよび細胞質ドメインは、それぞれE1~E7およびC1~C7として示す。

図2におけるインサイチュウハイブリダイゼーションの顕微鏡像は、新生野生型(WT)マウスおよびニューロゲニン1ヌル突然変異(Ngn1⁺)マウスからの後根神経節(DRG)の横断切片中の配列番号2(「mrg3」)および配列番号4(「mrg4」)のヌクレオチドに対するアンチセンス染色の局在化を示す。白点線はDRGの輪郭を描き、黒点線は脊髄の輪郭を描く。3つの別々のマーカー(trkA、VR-1およびSNS-TTXi(Ma et al.,(1999)))を用いて同定した場合、Ngn1⁺において、DRGの大きさが侵害受容感覚ニューロンの損失に起因して、激しく減少することに留意されたい。mrg3はWTマウスにおけるDRGのサブセット中では発現される(A)が、Ngn1⁺DRG中には存在しない(B)。mrg4は、mrg3が発現されるDRGのサブセットよりさらに小さいDRGのサブセット中で発現される(C)。これはまたNgn1⁺DRGの中には存在しない(D)。Ngn1⁺DRG中にmrg発現ニューロンが存在しないことは、これらのニューロンが侵害受容性である可能性が高いことを示す。

【図2A】

後根神経節(DRG)ニューロンのサブセット中のmrgの発現を示す。野生型(a~i)およびn gn 1⁺(j)突然変異新生マウスからのDRGの凍結横断切片をアンチセンスジゴキシゲニンRNAプローブを用いてアニーリングして、アルカリホスファターゼ-結合抗体を用いてハイブリダイゼーションを可視化

した。陽性シグナルを濃紫染色として示す。TrkAは、野生型DRGニューロンの大部分において発現される(a)が、しかしngn1⁺中には存在しない(データは示さず)。8つのmr g遺伝子(b~i)の各々は、野生型DRG中のニューロンの小サブセット中で発現され、ngn1⁺DRG中では完全に存在しない(j以外のデータは示さず)。黒点線は、ngn1⁺突然変異DRGの輪郭を描く。

【図2B】

mr gがTrkA⁺侵害受容ニューロンにより発現されることを示す。二重標識技法を用いて、DRGニューロン中のTrkA(b、e)およびmr g(a、d)を同時局在化した。二重標識実験中、mr g3(a~c)またはmr g5(d~f)フルオロセイン標識アンチセンスRNAプローブのどちらかを用いて、インサイチュウハイブリダイゼーションを行った後、抗TrkA抗体免疫染色を野生型DRGの凍結切片にて施した。同一の2つのフレーム(aおよびb、dおよびe)をデジタル方式で重ね合わせて、同時局在化の程度を明示した(c、f)。白矢頭は、二重陽性細胞の例を示す。

【図2C】

mr gおよびVR1が、DRG中の侵害受容ニューロンの2つの異なる集団を規定することを示す。mr g3またはmr g5フルオレセイン標識アンチセンスRNAプローブを用いたインサイチュウハイブリダイゼーションおよび抗VR1抗体免疫染色の組合せは、mr g3(a~c)およびmr g5(d~f)共にVR1⁺陽性ニューロンにより発現されないことを実証した。併合画像(c、f)では、mr g3またはmr g5とのVR1の同時局在化は認められない。白矢頭は、mr gを発現するが、VR1陰性である侵害受容ニューロンを指す。

【図2D】

mr gがIB4⁺侵害受容ニューロンにより発現されることを示す。二重標識技法を用いて、DRGニューロン中のIB4(b、e)およびmr g(a、d)を同時局在化した。上記と同様にインサイチュウハイブリダイゼーションにより、mr g3およびmr g5の発現を可視化した。その後、同一DRG切片にFITC結合レクチンによりIB4結合を施した。併合画像(c、f)では、mr g

染色およびIB4染色間の広範な重複が認められた(黄色ニューロンを矢頭で示す)。

【図3】

(A) m r g 3 (配列番号2)、(B) ヒト1遺伝子(配列番号15)、および(C) ヒト2遺伝子(配列番号17)のアミノ酸配列の膜貫通領域を予測する疎水性プロットを比較する。陽性値が高いほどより疎水性であることを示す。

【図4】

(A) マウス d r g 1 2 (配列番号14); (B) ヒト d r g 1 2 (配列番号19)のアミノ酸配列の膜貫通領域を予測する疎水性プロットを比較する。

【図5】

m r g 9 (配列番号21)、m r g 1 0 (配列番号23)、m r g 1 1 (配列番号25)、およびm r g 1 2 (配列番号27)のアミノ酸配列の膜貫通領域を予測する疎水性プロットを比較する。

【図6】

Aは株C57BL/6JマウスからのcDNAおよびBACクローンのヌクレオチド配列から推定されるMRGA1~A8のアミノ酸配列のアラインメントである。膜貫通(TM1~TM7)、細胞外(E1~E4)および細胞質(C1~C4)ドメインの予測位置を、アラインした配列上に示す。

Bはデータベース検索から同定されたMRGファミリー成員の系統発生的分析を示す。CLUSTALWを用いて、MRGのタンパク質配列をアラインした(Thompson et al. Nucleic Acids Res 22:4673-80(1994))。Neighbor-Joining法および1,000ブートストラップ試験を用いたPHYLUソフトウェアパッケージにより、樹状図を作成した。枝の水平長は、アミノ酸の数の変化に比例する。垂直距離は任意である。それらの停止コドンのレトロトランスポゾン配列~650nt3'を有するマウス(m)Mr g遺伝子を強調表示する(L1)。偽遺伝子をコードすると予測される遺伝子はすべて、プサイ(Ψ)の記号で示す。

Cは重複BACクローンの分析から推定された一マウスMr gクラスターの染色体構成を示す。クラスターは、4つの無傷ORFおよび3つの偽遺伝子を含む。

【図7】

AはNGF受容体 *trkA* の発現により明示されるような生後0日目 (P0) DRG中の侵害受容感覚ニューロンの分布を示す。この集団は、*Ngfn1*⁺突然変異体において選択的に排除される (Ma et al. Genes & Dev. 13:1717-1728(1999))。

Bは *MrgA1* を検出する cRNAプローブを用いたインサイチュハイブリダイゼーションを示す。*MrgA1* は、図7Aに示した隣接切片上の *trkA*⁺ニューロンと同様のパターンで発現される。

Cは *MrgA2* ~ *MrgA8* を検出する cRNAプローブを用いたインサイチュハイブリダイゼーションを示す。

Jは *MrgA1* 発現が、他の *MrgA* 遺伝子の発現 (示されていない) と同様に、*Ngfn1*⁺マウス中で排除されることを示す。残りのDRGニューロンは点線で境界を画する領域中に存在し、一般的ニューロンマーカーの発現により可視化され得る。

【図8】

MrgA の発現が、内部II層に向かって突出する非ペプチド作動性侵害受容器に制限されることを示す。*trkA* (A~D)、サブスタンスP (I~L)、CGRP (M~P)、VR1 (Q~T) の蛍光抗体検出または蛍光イソレクチンIB4 (IB4; E~H) による染色と組合せた、指示 *Mrg* プローブを用いたインサイチュハイブリダイゼーションの共焦点顕微鏡像を示す。*MrgA*⁺または *MrgD*⁺細胞は *trkA* および IB4 を同時発現する (A~H、矢頭) が、ほとんどが *subP*、CGRPまたはVR1を発現しない (I~T、矢頭; I、Mの矢印は、*SubP* および CGRP を同時発現する *MrgA1*⁺ニューロンのマイナーのサブセットを示す)。

【図9】

IIi層に向けて突出する非ペプチド作動性IB4⁺、VR1 感覚ニューロンへの *MrgA* (および *MrgD*) 発現の制限の模式図である (Snider and McMahon Neuron 20: 629-32(1998))。IIi層中のシナプス後ニューロンはPKCを発現する。

【図10】

個々の感覚ニューロンが複数のMr g Aを同時発現することを示す。(A~C) Mr g A 1 (A) およびA 3 (B) を用いた二重標識インサイチュウハイブリダイゼーション。(D~F) Mr g A 1 (D) およびA 4 (E) を用いた二重標識。両方の場合に、Mr g A 3 またはA 4 を発現する細胞は、Mr g A 1 を発現するもののサブセットである(C、F、矢頭)。(F)の矢印は、転写の部位を表し得るMr g A 4 発現の核内ドットを示す。(G~I) Mr g A 1 およびMr g D を用いたインサイチュウでの二重標識。2つの集団間の多少の重複が観察される(I、矢頭)が、一方、ほとんどの細胞はある受容体は発現するが、他のものは発現しない(I、矢印)。Mr g A 1 またはMr g D を発現する細胞のうち、約15%が、両遺伝子を同時発現する。パネル(C、F、I)の右に付した垂直バーは、Y軸に沿って見られるzシリーズを表し、パネルの下の水平バーはx軸に沿って見られるzシリーズを表す。(J、K)それぞれの単一Mr g A プローブ(J)および7つのMr g A プローブの混合物(K)を用いて得られたインサイチュウハイブリダイゼーションシグナルの比較。約1%のニューロンがMr g A 4 プローブにより標識され、一方、~4.5%が混合プローブにより標識された。個々のMr g A 2~8 プローブにより標識されたニューロンのパーセンテージの和は~6.6%であり、これは、この集団内に部分重複が存在することを示唆する。(L)インサイチュウ分析により明示された遺伝子発現の組合せを示すベン図。例えばMr g A 2~8 がMr g D と部分的に重複するかどうか、われわれには分からないため、図は、サブセットの数の控えめの概算である。円の大きさは比例していない。

【図11】

MRGA1を発現するHEK細胞のFLRFにより引き出される細胞内遊離Ca⁺⁺の増大を示す。(A、B)および(E、F)は、MRGA1-GFP融合タンパク質(A~D)またはGFP単独(E~H)を発現するHEK-G₁₅細胞中での340nm(A、E)および380nm(B、F)でのFura-2蛍光を示す。画像は、1MのFLRFアミドの添加の2分後に撮った。内在性GFP蛍光により明示されたMRGA1-GFPの核周囲斑点状分布(D、矢頭)はER

- ゴルジ網状構造に特徴的であり、これは受容体の膜取込みおよび細胞内輸送を示す。これに対比して、対照GFPタンパク質は細胞質である(H)。細胞内 Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) 放出は、FURA-2 340nm/380nm発光比から確定される(C、G)。MRGA1発現細胞(しかし周囲の非トランスフェクト細胞ではない)は340/380nmでのFura-2蛍光の比率の増大を示す(C、矢頭)が、これは $[Ca^{2+}]_i$ の増大を示すことに留意されたい。これに対比して、対照GFP発現細胞においてはこのような増大は観察されない(G)。MRGA1発現細胞において観察された340/380nmでの蛍光の増大は、リガンドの付加に依存する(図示せず)。

【図12】

Aは神経ペプチドリガンドにより異種細胞中で発現されるMRGA受容体の活性化を示す。1 μ Mの濃度で指示リガンドを用いて、MRGA1を発現するHEK-G₁₅細胞(Offermanns and Simon, J Biol Chem 270:15175-80(1995))を試験した。データは、カルシウム応答を示すGFP陽性(すなわちトランスフェクトされた)細胞の平均パーセンテージを示す。指示されたアゴニストで、トランスフェクトされていない細胞中の内因性受容体による任意の応答を示したものはなかった。RFアミド神経ペプチドであるFMRF、FLRFおよびNPFF、ならびにNPY、ACTH、CGRP-IおよびIIそしてソマトスタチン(SS-T)が最強応答を生じたことに留意されたい。

BはG₁₅を欠くHEK細胞中で発現されたMRGA1のリガンド選択性を示す。(A)の場合と同様に、1 μ Mの濃度で細胞をリガンドに曝露した。

CはMRGA4のリガンド選択性を示す。図12Bおよび12Cに提示したデータは、ほとんどの有効リガンドに対する応答がG₁₅の存在に依存しないことを示す。MRGA1発現細胞はFLRFおよびNPFFに反応するが、NPAFには反応せず、一方逆にMRGA4発現細胞はNPAFに反応するが、NPFFまたはFLRFに反応しないことに留意されたい。

Dは選択RFアミド神経ペプチドに対してHEKG₁₅細胞中で発現されるMRGA1に関する用量-応答曲線を示す。各データ点は、少なくとも3つの個々の確定の平均(\pm)S.E.M.を表す。各確定に関して、少なくとも20のGF

P⁺細胞を分析した。その後、5 μM濃度のFLRFに対して同一細胞により示される最大応答に、各リガンド濃度での応答を標準化した。MRGA1(D)はFLRF(四角、EC₅₀20 nM)に対して最高感受性を、そしてNPFF(丸、EC₅₀200 nM)に対してはより低い感受性を示す。

Eは選択RFアミド神経ペプチドに対してHEKG₁₅細胞中で発現されるMRGA4に関する用量-応答曲線を示す。各データ点は、少なくとも3つの個々の確定の平均(±)S.E.M.を表す。各確定に関して、少なくとも20のGFP⁺細胞を分析した。その後、5 μM濃度のNPAFに対して同一細胞により示される最大応答に、各リガンド濃度での応答を標準化した。MRGA4は、NPAF(三角、EC₅₀60 nM)により優先的に活性化される。

Fは選択RFアミド神経ペプチドに対してHEKG₁₅細胞中で発現されるMAS1に関する用量-応答曲線を示す。各データ点は、少なくとも3つの個々の確定の平均(±)S.E.M.を表す。各確定に関して、少なくとも20のGFP⁺細胞を分析した。その後、5 μM濃度のNPFFに対して同一細胞により示される最大応答に、各リガンド濃度での応答を標準化した。MAS1は、MRGA1と同様に、同様の効果を有するNPFF(EC₅₀400 nM)により活性化されるが、FLRF(四角)により同様に活性化されるわけではない。

【図13】

新生マウスの矢状切片(sagittal section)中のmMr g B 1の発現パターンを示す。染色パターンは、mMr g B 1遺伝子が、皮膚の上皮層中、脾臓中および顎下腺中の分散細胞中で発現されることを示す。

【図14】

図13に示した脾臓および皮膚中でのmMr g B 1発現の高倍率図である。

【図15】

成体後根神経節中でのmMr g Dの発現を示す。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> California Institute of Technology
Anderson, David J.
Dong, Xinzhong
Zylka, Mark
Simon, Melvin
Han, Sang-kyou

<120> PAIN SIGNALING MOLECULES

<130> CALTE.004C1

<150> US 60/222,344
<151> 2000-08-01

<150> US 60/202,027
<151> 2000-05-04

<150> US 09/704,707
<151> 2000-11-03

<150> US unknown
<151> 2001-04-19

<160> 109

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 1088
<212> DNA
<213> Mus Musculus

<220>
<221> CDS
<222> (115)...(1026)

<400> 1
acagaagcca gagagctaca tccagcaaga ggaatggggg aaagcagcac ctgtgcaggg 60
tttctagccc taaacacatc ggcctcgcca acagcaccca caacaactaa tcca atg 117
Met
1
gac aat acc atc cct gga ggt atc aac atc acg att ctg atc cca aac 165
Asp Asn Thr Ile Pro Gly Gly Ile Asn Ile Thr Ile Leu Ile Pro Asn
5 10 15
ttg atg atc atc atc ttc gga ctg gtc ggg ctg aca gga aat ggc att 213
Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Gly Ile
20 25 30
gtg ttc tgg ctc ctg ggc ttc tgt ttg cac agg aac gcc ttc tca gtc 261
Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe Cys Leu His Arg Asn Ala Phe Ser Val
35 40 45
tac atc cta aac tta gct cta gct gac ttc ttc ttc ctc cta ggt cac 309
Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Phe Phe Leu Leu Gly His
50 55 60 65
atc ata gat tcc ata ctg ctt ctt ctc aat gtt ttc tac cca att acc 357
Ile Ile Asp Ser Ile Leu Leu Leu Leu Asn Val Phe Tyr Pro Ile Thr
70 75 80

ttt ctc ttg tgc ttt tac acg atc atg atg gtt ctc tat atc gca ggc 405
 Phe Leu Leu Cys Phe Tyr Thr Ile Met Met Val Leu Tyr Ile Ala Gly
 85 90 95

ctg agc atg ctc agt gcc atc agc act gag cgc tgc ctg tct gta ctg 453
 Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu
 100 105 110

tgc ccc atc tgg tat cac tgt cac cgc cca gaa cac aca tca act gtc 501
 Cys Pro Ile Trp Tyr His Cys His Arg Pro Glu His Thr Ser Thr Val
 115 120 125

atg tgt gct gtc atc tgg gtc ctg tcc ctg ttg atc tgc att ctg aat 549
 Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu Asn
 130 135 140 145

agt tat ttc tgc ggt ttc tta aat acc caa tat aaa aat gaa aat ggg 597
 Ser Tyr Phe Cys Gly Phe Leu Asn Thr Gln Tyr Lys Asn Glu Asn Gly
 150 155 160

tgt ctg gca ttg aac ttc ttt act gct gca tac ctg atg ttt ttg ttt 645
 Cys Leu Ala Leu Asn Phe Phe Thr Ala Ala Tyr Leu Met Phe Leu Phe
 165 170 175

gtg gtc ctc tgt ctg tcc agc ctg gct ctg gtg gcc agg ttg ttc tgt 693
 Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu Val Ala Arg Leu Phe Cys
 180 185 190

ggt act ggg cag ata aag ctt acc aga ttg tat gta acc att att ctg 741
 Gly Thr Gly Gln Ile Lys Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Ile Leu
 195 200 205

agc att ttg gtt ttt ctc ctt tgc gga ttg ccc ttt ggc atc cac tgg 789
 Ser Ile Leu Val Phe Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile His Trp
 210 215 220 225

ttt ctg tta ttc aag att aag gat gat ttt cat gla ttt gat ctt gga 837
 Phe Leu Leu Phe Lys Ile Lys Asp Asp Phe His Val Phe Asp Leu Gly
 230 235 240

ttt tat ctg gca tca gtt gtc ctg act gct att aat agc tgt gcc aac 885
 Phe Tyr Leu Ala Ser Val Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys Ala Asn
 245 250 255

ccc atc att tac ttc ttc gtg gga tcc ttc agg cat cgg ttg aag cac 933
 Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu Lys His
 260 265 270

cag acc ctc aaa atg gtt ctc cag aat gca ctg caa gac act cct gag 981
 Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Asn Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu
 275 280 285

aca gcc aaa atc atg gtg gag atg tca aga agc aaa tca gag cca
 1026
 Thr Ala Lys Ile Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ser Glu Pro
 290 295 300

tgatgaagag cctttgctg gccottagaa gtggccttgg ggtgagcatt gccctgctgc
 1086
 ac
 1088

<210> 2
 <211> 304
 <212> PRT
 <213> Mus Musculus

```

<400> 2
Met Asp Asn Thr Ile Pro Gly Gly Ile Asn Ile Thr Ile Leu Ile Pro
 1      5      10      15
Asn Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Gly
 20      25      30
Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe Cys Leu His Arg Asn Ala Phe Ser
 35      40      45
Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Phe Phe Leu Leu Gly
 50      55      60
His Ile Ile Asp Ser Ile Leu Leu Leu Leu Asn Val Phe Tyr Pro Ile
 65      70      75      80
Thr Phe Leu Leu Cys Phe Tyr Thr Ile Met Met Val Leu Tyr Ile Ala
 85      90      95
Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val
 100     105     110
Leu Cys Pro Ile Trp Tyr His Cys His Arg Pro Glu His Thr Ser Thr
 115     120     125
Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu
 130     135     140
Asn Ser Tyr Phe Cys Gly Phe Leu Asn Thr Gln Tyr Lys Asn Glu Asn
 145     150     155     160
Gly Cys Leu Ala Leu Asn Phe Phe Thr Ala Ala Tyr Leu Met Phe Leu
 165     170     175
Phe Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu Val Ala Arg Leu Phe
 180     185     190
Cys Gly Thr Gly Gln Ile Lys Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Ile
 195     200     205
Leu Ser Ile Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile His
 210     215     220
Trp Phe Leu Leu Phe Lys Ile Lys Asp Asp Phe His Val Phe Asp Leu
 225     230     235     240
Gly Phe Tyr Leu Ala Ser Val Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys Ala
 245     250     255
Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu Lys
 260     265     270
His Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Asn Ala Leu Gln Asp Thr Pro
 275     280     285
Glu Thr Ala Lys Ile Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ser Glu Pro
 290     295     300

```

```

<210> 3
<211> 1234
<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>
<221> CDS
<222> (137)...(1051)

```

```

<400> 3
tctgtagtga ctgtatcttt ccttctacac aagccagtga gctacatcca acaagaggat 60
tggggaaagc aatgggtaag catttcttgc ctttaagacc tcagcctcac caacagcacc 120
agtgacaaca aatcca atg gac gaa acc ctc cct gga agt atc aac att agg 172
          Met Asp Glu Thr Leu Pro Gly Ser Ile Asn Ile Arg
          1          5          10

att ctg atc cca aaa ttg atg atc atc atc ttc gga ctg gtc gga ctg 220
Ile Leu Ile Pro Lys Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu
          15          20          25

atg gga aac gcc att gtg ttc tgg ctc ctg ggc ttc cac ttg cgc aag 268
Met Gly Asn Ala Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe His Leu Arg Lys
          30          35          40

```

aat gac ttc tca ctc tac atc cta aac ttg gcc cgg gct gac ttc ctt	316
Asn Asp Phe Ser Leu Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Arg Ala Asp Phe Leu	
45 50 55 60	
ttc ctc ctc agt agt atc ata gct tcc acc ctg ttt ctt ctc aaa gtt	364
Phe Leu Leu Ser Ser Ile Ile Ala Ser Thr Leu Phe Leu Leu Lys Val	
65 70 75	
tcc tac ctc agc atc atc ttt cac ttg tgc ttt aac acc att atg atg	412
Ser Tyr Leu Ser Ile Ile Phe His Leu Cys Phe Asn Thr Ile Met Met	
80 85 90	
gtt gtc tac atc aca ggg ata agc atg ctc agt gcc atc agc act gag	460
Val Val Tyr Ile Thr Gly Ile Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu	
95 100 105	
tgc tgc ctg tct gtc ctg tgc ccc acc tgg tat cgc tgc cac cgt cca	508
Cys Cys Leu Ser Val Leu Cys Pro Thr Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro	
110 115 120	
gta cat aca tca act gtc atg tgt gct gtg atc tgg gtc cta tcc ctg	556
Val His Thr Ser Thr Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu	
125 130 135 140	
ttg atc tgc att ctg aat agc tat ttc tgt gct gtc tta cat acc aga	604
Leu Ile Cys Ile Leu Asn Ser Tyr Phe Cys Ala Val Leu His Thr Arg	
145 150 155	
tat gat aat gac aat gag tgt ctg gca act aac atc ttt acc gcc tcg	652
Tyr Asp Asn Asp Asn Glu Cys Leu Ala Thr Asn Ile Phe Thr Ala Ser	
160 165 170	
tac atg ata ttt ttg ctt gtg gtc ctc tgt ctg tcc agc ctg gct ctg	700
Tyr Met Ile Phe Leu Leu Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu	
175 180 185	
ctg gcc agg ttg ttc tgt ggc gct ggg cag atg aag ctt acc aga ttt	748
Leu Ala Arg Leu Phe Cys Gly Ala Gly Gln Met Lys Leu Thr Arg Phe	
190 195 200	
cat gtg acc atc ttg ctg acc ctt ttg gtt ttt ctc ctc tgc ggg ttg	796
His Val Thr Ile Leu Leu Thr Leu Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu	
205 210 215 220	
ccc ttt gtc atc tac tgc atc ctg tta ttc aag att aag gat gat ttc	844
Pro Phe Val Ile Tyr Cys Ile Leu Leu Phe Lys Ile Lys Asp Asp Phe	
225 230 235	
cat gta tta gat gtt aat ttt tat cta gca tta gaa gtc ctg act gct	892
His Val Leu Asp Val Asn Phe Tyr Leu Ala Leu Glu Val Leu Thr Ala	
240 245 250	
att aac agc tgt gcc aac ccc atc atc tac ttc ttc gtg ggc tct ttc	940
Ile Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe	
255 260 265	
aga cat cag ttg aag cac cag acc ctc aaa atg gtt ctc cag agt gca	988
Arg His Gln Leu Lys His Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Ala	
270 275 280	
ctg cag gac act cct gag aca gct gaa aac atg gta gag atg tca agt	1036
Leu Gln Asp Thr Pro Glu Thr Ala Glu Asn Met Val Glu Met Ser Ser	
285 290 295 300	
aac aaa gca gag cct tgatgaagag cctctacctg gacctcagag gtggctttgg	

1091

Asn Lys Ala Glu Pro
305

agtgagcact gccctgctgc acttgaccac tgtccactct tctctcagct tactgatttg
 1151
 acatgcctca gtggtcacc aacaacttca acatctctcc actaacttag tttttctacc
 1211
 cctctgaat aaaagcatta atc
 1234

<210> 4

<211> 305

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 4

Met Asp Glu Thr Leu Pro Gly Ser Ile Asn Ile Arg Ile Leu Ile Pro
 1 5 10 15
 Lys Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Met Gly Asn Ala
 20 25 30
 Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe His Leu Arg Lys Asn Asp Phe Ser
 35 40 45
 Leu Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Arg Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Ser
 50 55 60
 Ser Ile Ile Ala Ser Thr Leu Phe Leu Leu Lys Val Ser Tyr Leu Ser
 65 70 75 80
 Ile Ile Phe His Leu Cys Phe Asn Thr Ile Met Met Val Val Tyr Ile
 85 90 95
 Thr Gly Ile Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Cys Cys Leu Ser
 100 105 110
 Val Leu Cys Pro Thr Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Val His Thr Ser
 115 120 125
 Thr Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile
 130 135 140
 Leu Asn Ser Tyr Phe Cys Ala Val Leu His Thr Arg Tyr Asp Asn Asp
 145 150 155 160
 Asn Glu Cys Leu Ala Thr Asn Ile Phe Thr Ala Ser Tyr Met Ile Phe
 165 170 175
 Leu Leu Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu
 180 185 190
 Phe Cys Gly Ala Gly Gln Met Lys Leu Thr Arg Phe His Val Thr Ile
 195 200 205
 Leu Leu Thr Leu Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Val Ile
 210 215 220
 Tyr Cys Ile Leu Leu Phe Lys Ile Lys Asp Asp Phe His Val Leu Asp
 225 230 235 240
 Val Asn Phe Tyr Leu Ala Leu Glu Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys
 245 250 255
 Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Gln Leu
 260 265 270
 Lys His Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Ala Leu Gln Asp Thr
 275 280 285
 Pro Glu Thr Ala Glu Asn Met Val Glu Met Ser Ser Asn Lys Ala Glu
 290 295 300
 Pro
 305

<210> 5

<211> 1312

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (165)...(1070)

<400> 5

```

cgcggcgcg tgcacaagaa atattctgta gtgactgtat ccttccttct acacaagcca 60
gcaagctaca tccagcaaga ggaatgggag aaagcaacac cagtgcaggg tttctggccc 120
gaaacacctc agcctcgaca atgacaccca caacaacaaa ttca atg aac gaa acc 176
                                     Met Asn Glu Thr
                                     1

atc cct gga agt att gac atc gag acc ctg atc cca gac ttg atg atc 224
Ile Pro Gly Ser Ile Asp Ile Glu Thr Leu Ile Pro Asp Leu Met Ile
5 10 15 20

atc atc ttc gga ctg gtc ggg ctg aca gga aat gcg att gtg ttc tgg 272
Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala Ile Val Phe Trp
25 30 35

ctc ctt ggc ttc cgc atg cac agg act gcc ttc tta gtc tac atc cta 320
Leu Leu Gly Phe Arg Met His Arg Thr Ala Phe Leu Val Tyr Ile Leu
40 45 50

aac ttg gcc ctg gct gac ttc ctc ttc ctt ctc tgt cac atc ata aat 368
Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys His Ile Ile Asn
55 60 65

tcc aca gtg gat ctt ctc aag ttt acc cta ccc aaa gga att ttt gcc 416
Ser Thr Val Asp Leu Leu Lys Phe Thr Leu Pro Lys Gly Ile Phe Ala
70 75 80

ttt tgt ttt cac act atc aaa agg gtt ctc tat atc aca ggc ctg agc 464
Phe Cys Phe His Thr Ile Lys Arg Val Leu Tyr Ile Thr Gly Leu Ser
85 90 95 100

atg ctc agt gcc atc agc act gag cgc tgc ctg tct gtc ctg tgc ccc 512
Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu Cys Pro
105 110 115

atc tgg tat cac tgc cgc cgc cca gaa cac aca tca act gtc atg tgt 560
Ile Trp Tyr His Cys Arg Arg Pro Glu His Thr Ser Thr Val Met Cys
120 125 130

gct gtg atc tgg gtc ctg tcc ctg ttg atc tgc att ctg gat ggt tat 608
Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu Asp Gly Tyr
135 140 145

ttc tgc ggt tac tta gat aac cat tat ttc aat tac tct gtg tgt cag 656
Phe Cys Gly Tyr Leu Asp Asn His Tyr Phe Asn Tyr Ser Val Cys Gln
150 155 160

gca tgg gac atc ttt atc gga gca tac ctg atg ttt ttg ttt gta gtc 704
Ala Trp Asp Ile Phe Ile Gly Ala Tyr Leu Met Phe Leu Phe Val Val
165 170 175 180

ctc tgt ctg tcc acc ctg gct cta ctg gcc agg ttg ttc tgt ggt gct 752
Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys Gly Ala
185 190 195

agg aat atg aaa ttt acc aga tta ttc gtg acc atc atg ctg acc gtt 800
Arg Asn Met Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile Met Leu Thr Val
200 205 210

ttg gtt ttt ctt ctc tgt ggg ttg ccc tgg ggc atc acc tgg ttc ctg 848
Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Trp Gly Ile Thr Trp Phe Leu
215 220 225

tta ttc tgg att gca cct ggt gtg ttt gta cta gat tat agc cct ctt 896

```

Leu Phe Trp Ile Ala Pro Gly Val Phe Val Leu Asp Tyr Ser Pro Leu
 230 235 240

ctg gtc cta act gct att aac agc tgt gcc aac ccc att att tac ttc 944
 Leu Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe
 245 250 255 260

ttc gtg ggc tcc ttc agg caa cgg ttg aat aaa cag acc ctc aaa atg 992
 Phe Val Gly Ser Phe Arg Gln Arg Leu Asn Lys Gln Thr Leu Lys Met
 265 270 275

gtt ctc cag aaa gcc ctg cag gac act cct gag aca cct gaa aac atg
 1040
 Val Leu Gln Lys Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu Thr Pro Glu Asn Met
 280 285 290

gtg gag atg tca aga aac aaa gca gag ccg tgatgaagag cctctgccta
 1090
 Val Glu Met Ser Arg Asn Lys Ala Glu Pro
 295 300

gacttcagag gtggatttgg agtgagcaact gccctgctgc acttgaccac tgtccactct
 1150
 cctctcagct tactgacttg acatgcctca ctgggtccacc aacaccttcc aaagctctcc
 1210
 actgacttag tatttataacc tctcccaaac aatagcatta ttcaaaaact ataatttctg
 1270
 catccttctt tacattaata aaattcccat actaagtcca aa
 1312

<210> 6
 <211> 302
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 6
 Met Asn Glu Thr Ile Pro Gly Ser Ile Asp Ile Glu Thr Leu Ile Pro
 1 5 10 15
 Asp Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala
 20 25 30
 Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met His Arg Thr Ala Phe Leu
 35 40 45
 Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys
 50 55 60
 His Ile Ile Asn Ser Thr Val Asp Leu Leu Lys Phe Thr Leu Pro Lys
 65 70 75 80
 Gly Ile Phe Ala Phe Cys Phe His Thr Ile Lys Arg Val Leu Tyr Ile
 85 90 95
 Thr Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser
 100 105 110
 Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr His Cys Arg Arg Pro Glu His Thr Ser
 115 120 125
 Thr Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile
 130 135 140
 Leu Asp Gly Tyr Phe Cys Gly Tyr Leu Asp Asn His Tyr Phe Asn Tyr
 145 150 155 160
 Ser Val Cys Gln Ala Trp Asp Ile Phe Ile Gly Ala Tyr Leu Met Phe
 165 170 175
 Leu Phe Val Val Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu
 180 185 190
 Phe Cys Gly Ala Arg Asn Met Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile
 195 200 205
 Met Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Trp Gly Ile
 210 215 220
 Thr Trp Phe Leu Leu Phe Trp Ile Ala Pro Gly Val Phe Val Leu Asp
 225 230 235 240

<400> 8

```

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

```

<210> 9

<211> 459

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(459)

<400> 9

```

ctg tgc ccg acg tgg tat cgc tgc cac cgt cca gta cat aca tca act 48
Leu Cys Pro Thr Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Val His Thr Ser Thr
1      5      10      15

gtc atg tgt gct gtg atc tgg gtc cta tcc ctg ttg atc tgc att ctg 96
Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu
20      25      30

aat agc tat ttc tgt gct gtc tta cat acc aga tat gat aat gac aat 144
Asn Ser Tyr Phe Cys Ala Val Leu His Thr Arg Tyr Asp Asn Asp Asn
35      40      45

gag tgt ctg gca act aac atc ttt acc gcc tcg tac atg ata ttt ttg 192
Glu Cys Leu Ala Thr Asn Ile Phe Thr Ala Ser Tyr Met Ile Phe Leu
50      55      60

ctt gtg gtc ctc tgt ctg tcc agc ctg gct ctg ctg gcc agg ttg ttc 240
Leu Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe
65      70      75      80

tgt ggc gct ggg cag atg aag ctt acc aga ttt cat gtg acc atc ttg 288
Cys Gly Ala Gly Gln Met Lys Leu Thr Arg Phe His Val Thr Ile Leu
85      90      95

ctg acc ctt ttg gtt ttt ctc ctc tgc ggg ttg ccc ttt gtc atc tac 336
Leu Thr Leu Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Val Ile Tyr
100     105     110

tgc atc ctg tta ttc aag att aag gat gat ttc cat gta tta gat gtt 384
Cys Ile Leu Leu Phe Lys Ile Lys Asp Asp Phe His Val Leu Asp Val
115     120     125

aat ctt tat cta gca tta gaa gtc ctg act gct att aac agc tgt gcc 432

```

Asn Leu Tyr Leu Ala Leu Glu Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys Ala
 130 135 140

aac ccc atc atc tac ttc ttc gtc gga 459
 Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly
 145 150

<210> 10
 <211> 153
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 10
 Leu Cys Pro Thr Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Val His Thr Ser Thr
 1 5 10 15
 Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu
 20 25 30
 Asn Ser Tyr Phe Cys Ala Val Leu His Thr Arg Tyr Asp Asn Asp Asn
 35 40 45
 Glu Cys Leu Ala Thr Asn Ile Phe Thr Ala Ser Tyr Met Ile Phe Leu
 50 55 60
 Leu Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe
 65 70 75 80
 Cys Gly Ala Gly Gln Met Lys Leu Thr Arg Phe His Val Thr Ile Leu
 85 90 95
 Leu Thr Leu Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Val Ile Tyr
 100 105 110
 Cys Ile Leu Leu Phe Lys Ile Lys Asp Asp Phe His Val Leu Asp Val
 115 120 125
 Asn Leu Tyr Leu Ala Leu Glu Val Leu Thr Ala Ile Asn Ser Cys Ala
 130 135 140
 Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly
 145 150

<210> 11
 <211> 2853
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1820)...(2734)

<400> 11
 caaggattct acaaaccocaa gtatgcaagt caacaatcta aatataattt gttccttttg 60
 aagttagtgg ttcaatataa cagacaaata catcatgccc tgaaatttagc tttgaacaat 120
 gctaagccca taatgggaag taaaagattt gcttggttcc cactttcttc cttttctatt 180
 ccgtttggac catagtggct agtgtctctt acaagatcac aagaaggagg ctctgcattt 240
 atttctgagt gcctgtctgc atctctcttt ggcctggagg tcctctatga aatcctgaag 300
 taagaaagaa atgttccaga ctctgatttt tcttccataga ccaatgctat tcccttccat 360
 gttgccaaca acttctcatic actctttctg tactttcttt tagctgggtg gtttcttaat 420
 ctacagtatt gactgtcatg tcaaagttgg gtattttttg gcttttagata tttcttctct 480
 ggcttttctc ccatccacac ataatacaaaa cactgagggtg atgacactaa gggactgctc 540
 aaagaaaaag ggtgggttcc tgggcttttg ggttattaat aatttgctg tccctcgcca 600
 gcctctatca actcccctaa aacacaaaaa taattgttcc tagcaggcaa gcacgacctg 660
 acaattaatt aatgatcata aaaagtgcata tataaacatc tgaaaacctc ataataaac 720
 tcaacacctt atacagttag tatgttgtgg ggtctgcata aatccaacaa aactccaatg 780
 gagtggtagt cagctattaa aaatgaggaa ttcacgaaat tcttagccaa atgattagaa 840
 gtagaaaata tgatcctgag tgagaaaaga acaggcttgg tatgtactca ctgataagtg 900
 gatactagcc caaaagctgc aaataatcag gataaaattc acagaccaca tgaacctcaa 960
 taagaaggaa gaccaaagta tgggcgtttc ggtccttctt agaaggagaa caaaatactc
 1020
 ccaagagcaa atatggagat aaagtgtaga acaggcacta aaggaaaagt caccagagaa
 1080

atgttccacc tggggattca tcccatatac agttacaaa cccagacact cttatggatg
1140
ccaaggagtg aatgctgaca tagctgtttc ctaagaggcc atgccagaca cttacaaata
1200
cagaggccca agttagcaac caaccattag actgagcaca gggttcctaa tagaggagt
1260
agagaaagga ctgagggagt tgaaggggtt tgcattccca taagaaaaac aacaacatga
1320
accaacaaga cactctcccc accaaccccc tgaactccta gggactaagc catcaacaaa
1380
agagtacaca tggctccaga tgcatatggt gcagaggatg gccatatcat gcattgatgg
1440
aagaggtcct tgaacctatg aaggttctat tgatgcccc gtgtaagga atcaggggca
1500
gagaggtgga agtgggtgtg tgggttgagc aacaccctca cagaagcagg gggagggagg
1560
atgagatggg ggtttccagg aaggggggaa gcaggaagg ggataacatt ttaaatttaa
1620
atatagaaaa tatccaatac aaaacatttt gaacaacaaa caaaaaactc acaaaaacaa
1680
caacaacaaa aaaaagaaat taaaagttgt gttcatagtg aaggcctcat ttcttctttg
1740
tgttcccagc aacaccagtg cagggtttct ggcctaaac acctcagcct cggcaatggc
1800
accacaaca acaaatcca atg aac gaa acc atc cct gga agt att gac atc
1852

Met Asn Glu Thr Ile Pro Gly Ser Ile Asp Ile
1 5 10

gag acc ctg atc cca aac ttg atg atc atc atc ttc gga ctg gtc ggg
1900

Glu Thr Leu Ile Pro Asn Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly
15 20 25

ctg aca gga aat gtc att ttg ttt tgg ctc ctg ggc ttc cac ttg cac
1948

Leu Thr Gly Asn Val Ile Leu Phe Trp Leu Leu Gly Phe His Leu His
30 35 40

agg aat gcc ttc tta gtc tac atc cta aac ttg gcc ctg gct gac ttc
1996

Arg Asn Ala Phe Leu Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe
45 50 55

ctc ttc ctt ctc tgt cac atc ata aat tcc aca atg ctt ctt ctc aag
2044

Leu Phe Leu Leu Cys His Ile Ile Asn Ser Thr Met Leu Leu Leu Lys
60 65 70 75

gtt cac cta ccc aac aat att ttg aac cat tgc ttt gac atc atc atg
2092

Val His Leu Pro Asn Asn Ile Leu Asn His Cys Phe Asp Ile Ile Met
80 85 90

aca gtt ctc tac atc aca ggc ctg agc atg ctc agt gcc atc agc act
2140

Thr Val Leu Tyr Ile Thr Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr
95 100 105

gag cgc tgc ctg tct gtc ctg tgc ccc atc tgg tat cgg tgc cgc cgc
2188

Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Arg Arg
110 115 120

cca gaa cac aca tca act gtc ctg tgt gct gtg atc tgg ttc ctg ccc
2236

Pro Glu His Thr Ser Thr Val Leu Cys Ala Val Ile Trp Phe Leu Pro
 125 130 135
 ctg ttg atc tgc att ctg aat gga tat ttc tgt cat ttc ttt ggt ccc
 2284
 Leu Leu Ile Cys Ile Leu Asn Gly Tyr Phe Cys His Phe Phe Gly Pro
 140 145 150 155
 aaa tat gta att gac tct gtg tgt ctg gca acg aac ttc ttt atc aga
 2332
 Lys Tyr Val Ile Asp Ser Val Cys Leu Ala Thr Asn Phe Phe Ile Arg
 160 165 170
 aca tac ccg atg ttt ttg ttt ata gtc ctc tgt ctg tcc acc ctg gct
 2380
 Thr Tyr Pro Met Phe Leu Phe Ile Val Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala
 175 180 185
 ctg ctg gcc agg ttg ttc tgt ggt ggt ggg aag acg aaa ttt acc aga
 2428
 Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys Gly Gly Gly Lys Thr Lys Phe Thr Arg
 190 195 200
 tta ttc gtg acc atc atg ctg acc gtt ttg gtt ttt ctt ctc tgt ggg
 2476
 Leu Phe Val Thr Ile Met Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly
 205 210 215
 ttg ccc ctg ggc ttc ttc tgg ttt ctg gtg ccg tgg att aac cgt gat
 2524
 Leu Pro Leu Gly Phe Phe Trp Phe Leu Val Pro Trp Ile Asn Arg Asp
 220 225 230 235
 ttc agt gta cta gat tat ata ctt ttt cag aca tca ctt gtc cta act
 2572
 Phe Ser Val Leu Asp Tyr Ile Leu Phe Gln Thr Ser Leu Val Leu Thr
 240 245 250
 tct gtt aac agc tgt gcc aac ccc atc att tac ttc ttt gtg gcc tcc
 2620
 Ser Val Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser
 255 260 265
 ttc agg cat cgg ttg aag cac aag acc ctc aaa atg gtt ctc cag agt
 2668
 Phe Arg His Arg Leu Lys His Lys Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser
 270 275 280
 gca ttg cag gac act oct gag aca cct gaa aac atg gtg gag atg tca
 2716
 Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu Thr Pro Glu Asn Met Val Glu Met Ser
 285 290 295
 aga agc aaa gca gag ccg tgatgaagag cctctacctg gacctcagag
 2764
 Arg Ser Lys Ala Glu Pro
 300 305
 gtggctttgg attgagcact gcctgtctgc acttgaccac tgtccactct cctctcagct
 2824
 tactgacttt ggatgcctca gtggtccaa
 2853
 <210> 12
 <211> 305
 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 12

Met Asn Glu Thr Ile Pro Gly Ser Ile Asp Ile Glu Thr Leu Ile Pro
 1 5 10 15
 Asn Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Val
 20 25 30
 Ile Leu Phe Trp Leu Leu Gly Phe His Leu His Arg Asn Ala Phe Leu
 35 40 45
 Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys
 50 55 60
 His Ile Ile Asn Ser Thr Met Leu Leu Leu Lys Val His Leu Pro Asn
 65 70 75 80
 Asn Ile Leu Asn His Cys Phe Asp Ile Ile Met Thr Val Leu Tyr Ile
 85 90 95
 Thr Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser
 100 105 110
 Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Arg Arg Pro Glu His Thr Ser
 115 120 125
 Thr Val Leu Cys Ala Val Ile Trp Phe Leu Pro Leu Leu Ile Cys Ile
 130 135 140
 Leu Asn Gly Tyr Phe Cys His Phe Phe Gly Pro Lys Tyr Val Ile Asp
 145 150 155 160
 Ser Val Cys Leu Ala Thr Asn Phe Phe Ile Arg Thr Tyr Pro Met Phe
 165 170 175
 Leu Phe Ile Val Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu
 180 185 190
 Phe Cys Gly Gly Gly Lys Thr Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile
 195 200 205
 Met Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Leu Gly Phe
 210 215 220
 Phe Trp Phe Leu Val Pro Trp Ile Asn Arg Asp Phe Ser Val Leu Asp
 225 230 235 240
 Tyr Ile Leu Phe Gln Thr Ser Leu Val Leu Thr Ser Val Asn Ser Cys
 245 250 255
 Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu
 260 265 270
 Lys His Lys Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Ala Leu Gln Asp Thr
 275 280 285
 Pro Glu Thr Pro Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu
 290 295 300
 Pro
 305

<210> 13

<211> 3391

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (170)...(574)

<400> 13

ccgaaaacca acaaaataga acgcggggtg cttttctcca gctgggatga aggacttgag 60
 cagaaactca ttgccagctt cctccctacg cgagagccga ctgagtccca ggtccccagt 120
 cttcccccg gacgttggtgc acggtgccca ttcttgagca gccacaaca atg gag gtg 178
 Met Glu Val
 1

ctc ccc aag gcc ctg gag gta gac gag agg tct cca gag tcc aag gac 226
 Leu Pro Lys Ala Leu Glu Val Asp Glu Arg Ser Pro Glu Ser Lys Asp
 5 10 15

ctg ctg ccc agc cag aca gcc agc tcc ctg tgc atc agt tcc aga agt 274

Leu Leu Pro Ser Gln Thr Ala Ser Ser Leu Cys Ile Ser Ser Arg Ser
 20 25 30 35
 gag tct gtc tgg acc acc aca ccc aaa agc aac tgg gaa atc tac cac 322
 Glu Ser Val Trp Thr Thr Thr Pro Lys Ser Asn Trp Glu Ile Tyr His
 40 45 50
 aag ccc atc atc atc atg tca gtg gga gct gcc att ctg ctc ttt ggc 370
 Lys Pro Ile Ile Ile Met Ser Val Gly Ala Ala Ile Leu Leu Phe Gly
 55 60 65
 gtg gcc atc acc tgt gtg gcc tac atc ttg gaa gag aag cat aaa gtt 418
 Val Ala Ile Thr Cys Val Ala Tyr Ile Leu Glu Glu Lys His Lys Val
 70 75 80
 gtg caa gtg ctc agg atg ata ggg cct gcc ttc ctg tcc ctg gga ctc 466
 Val Gln Val Leu Arg Met Ile Gly Pro Ala Phe Leu Ser Leu Gly Leu
 85 90 95
 atg atg ctg gtg tgt ggg ctg gtg tgg gtc ccc ata atc aaa aag aag 514
 Met Met Leu Val Cys Gly Leu Val Trp Val Pro Ile Ile Lys Lys Lys
 100 105 110 115
 cag aag caa agg cag aag tcc aac ttc ttc caa agc ctc aag ttc ttc 562
 Gln Lys Gln Arg Gln Lys Ser Asn Phe Phe Gln Ser Leu Lys Phe Phe
 120 125 130
 ctc ctg aac cgc tgatgactgg ttgtccagaa gatctgctaa ccaataagca 614
 Leu Leu Asn Arg
 135
 gctcctacc ttctcttgg gtaaccacaaa gttgatccag gcaaacctc ctcttggccc 674
 tgtggacagg atagagctca gggcttcacc ctcatacaac ctagcagcat tgctgactga 734
 gtctcacctg gtttccatag ctgtggatgc tgtgcccttg gatactttca ttaccctcat 794
 ccctggcacc tgcattcagc catcagccat ccattctct ctgccaaggg caatgtgtgc 854
 atgctaggaa attctttggg ggttgactac attcccaagg agaacttgta tgttacggtt 914
 gtgtgcctga tcttagattc ccatctacat ccttctggaa ccaaaagtga ccaagcagat 974
 aaggctgact tcagtcocat tgggtttgac agccttggct cctccttgg atgggacatt
 1034
 gactaacatt acaagagaaa ggatatgtct catgtatcac acattccaaa atctggacag
 1094
 tgatggggct gggggtgagg gaaacactgt cttagtataa ccattcctct gggagtaatc
 1154
 tggaacttat acagtgaagg aagttagctc ctaaataat gatattggca caagaggcaa
 1214
 tatgcaggct aagaggtatc aacacttccc cttgatcctc caatgcgctt ottgcagaat
 1274
 gcctttatat tagcaattag ccaagaacaa atgctctttg ttctaacttc ottccccacc
 1334
 acatctctgc gtctacacag ctccagaaca gaaggacggg aggccacaga tgtgacctgt
 1394
 aagatcatct ccttctctg tcaatcaaga octaacotga aattgaatgc catgtccgac
 1454
 tcacgctgca tggggtttta gagatagggt cactggaaaa aaggaaatct cagcctccct
 1514
 octcctggt cctccctacc aaacaagcaa gtatttattg agtttccttc tctaggccta
 1574
 cgttgggaac agccagaccc agtctctgat gtcattttat ttccaaaagt gaaagaggga
 1634
 aaaacatggc caagccaact ggcaatactc catactgagt tottaggggt gccatgggaa
 1694
 cacatggatc taacaaatgt acaggaagat agatttctgg agaccatgtt cacccttct
 1754
 gaatatgaag ggaaggaag tgtttggaat gagcaagatg tgcaaggtag tcagcaactg
 1814
 ccttgcattg ggagaagcta aggggaaaga gacagggtgg ggttaggatt ccgcatagct

1874
 cccggatgct attccatcct ctcttgcccta cttccccct gcttccccag gtaccttaca
 1934
 tccagctact ccttggtaca ctgcaggctt ctggggctcaa tagggactgg gaggggcatc
 1994
 tccagagggc ctaacaagta gatataacc aagaggtaag taccctcaaa acttcattat
 2054
 agtcaccaag acacctttag gcaaaagacc gggcacctat aagaaatttc caaagctgtt
 2114
 ccaggcaagg ccaggccaga ggcagagga aggtacctag tagcaaagt aatgacaaga
 2174
 gctgcattgg ttcaggttga ctcttcattc ttaacotttg ggcatttggg aacactatgg
 2234
 caaacaacct ccaacaggtc tccagatata tcaaccattc acagtacttc tataggcagt
 2294
 tagaatccac cacctttggt cctggttgc tgtgggacat tcctcggagg aagtatttgt
 2354
 tttgtggaat caacacacac acacacacgc acagagagag agagagagag agagagagag
 2414
 agagagagag agagagagag agagaaagaa agagaaagaa agaaagaaag agaaagagac
 2474
 tgactcccta actaaaaagt cagagtttgg gaagcctgtg gcctttcaaa gctcacttaa
 2534
 gaatatcatg ttctcatta agaactacat catcgagccc aggccttgca gtccaacct
 2594
 tccctgaata caggcagctc aggaccaacc ctggggttgt tgaataactg cctagtgtct
 2654
 ccacgaatgt ctaatgcctc catgacaggg ctttcagacc actcctttct cctgacatgg
 2714
 aaggacagcc ctgggggtga gcctctcaat cttctgtgcc ttcatgaaag ggaacacaca
 2774
 gatgagctca cagccagctc acttggaaac cgcaccccat gcacctcatt gtccctgagag
 2834
 ctcattgtct gggcacagct gtgggaagac ctttgacagat ctcactttca agtatgtctc
 2894
 aacagaaggg agtttgggga taatcacgat gccaggaaat cttcaagttc tagacatctt
 2954
 tcatagccac atcagtaact gttccccaac ccctgcccct caaggtaagt acttagcaaa
 3014
 caaaatcaaa gagcctttga gaaaatatc caaatactgg ttaactcccc cggccttgca
 3074
 ccaaactccc cacaaaagt atagtcagga agtgagcaga gtcacacca acatcttggg
 3134
 aaattttgcc aaagaccatt gcctcatgaa aactgggggtg gggataacct gtgagtgcag
 3194
 ccgggttggg tgccgtgtct ctgcaacaaa gcattctggg tagtgatttc agtcatctca
 3254
 gaagacaaga gcaacatcca cagcaccatc ccaccggact gtattacggg cttctgtcgc
 3314
 tcttctgttt tggagaattt aatctaacc aacgcctaata ggaatcaatg tcgtattgaa
 3374
 ctgtattctg tttaaaa
 3391

<210> 14
 <211> 135
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 14
 Met Glu Val Leu Pro Lys Ala Leu Glu Val Asp Glu Arg Ser Pro Glu
 1 5 10 15
 Ser Lys Asp Leu Leu Pro Ser Gln Thr Ala Ser Ser Leu Cys Ile Ser
 20 25 30
 Ser Arg Ser Glu Ser Val Trp Thr Thr Pro Lys Ser Asn Trp Glu
 35 40 45

Ile Tyr His Lys Pro Ile Ile Ile Met Ser Val Gly Ala Ala Ile Leu
 50 55 60
 Leu Phe Gly Val Ala Ile Thr Cys Val Ala Tyr Ile Leu Glu Glu Lys
 65 70 75 80
 His Lys Val Val Gln Val Leu Arg Met Ile Gly Pro Ala Phe Leu Ser
 85 90 95
 Leu Gly Leu Met Met Leu Val Cys Gly Leu Val Trp Val Pro Ile Ile
 100 105 110
 Lys Lys Lys Gln Lys Gln Arg Gln Lys Ser Asn Phe Phe Gln Ser Leu
 115 120 125
 Lys Phe Phe Leu Leu Asn Arg
 130 135

<210> 15
 <211> 2040
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (328)...(1293)

<400> 15
 gccaggata gagtaatcat cgggtccaca gcctggota gatgagtggg ggtgttttga 60
 tcctaagtgt attccatgt tagcacagaa ctgtgtgtgc agtagagaga ggtagcaggtt 120
 cagagtcagc aagaactgga ttccaaactg gatttgagga cccccacctt ttgatagggtg 180
 acttattctc tgtgagtctc tgatctgcc tctttaaagt aggaagtaaa tcccacatgg 240
 caggggtggtg gggagaatca gagatcatac agctgggtgat cacaactggt ttctgtttcc 300
 agggtcacca gactagggtt tctgagc atg gat cca acc atc tca acc ttg gac 354
 Met Asp Pro Thr Ile Ser Thr Leu Asp
 1 5

aca gaa ctg aca cca atc aac gga act gag gag act ctt tgc tac aag 402
 Thr Glu Leu Thr Pro Ile Asn Gly Thr Glu Glu Thr Leu Cys Tyr Lys
 10 15 20 25

cag acc ttg agc ctc acg gtg ctg acg tgc atc gtt tcc ctt gtc ggg 450
 Gln Thr Leu Ser Leu Thr Val Leu Thr Cys Ile Val Ser Leu Val Gly
 30 35 40

ctg aca gga aac gca gtt gtg ctc tgg ctc ctg ggc tgc cgc atg cgc 498
 Leu Thr Gly Asn Ala Val Val Leu Trp Leu Leu Gly Cys Arg Met Arg
 45 50 55

agg aac gcc ttc tcc atc tac atc ctc aac ttg gcc gca gca gac ttc 546
 Arg Asn Ala Phe Ser Ile Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Ala Ala Asp Phe
 60 65 70

ctc ttc ctc agc ggc cgc ctt ata tat tcc ctg tta agc ttc atc agt 594
 Leu Phe Leu Ser Gly Arg Leu Ile Tyr Ser Leu Leu Ser Phe Ile Ser
 75 80 85

atc ccc cat acc atc tct aaa atc ctc tat cct gtg atg atg ttt tcc 642
 Ile Pro His Thr Ile Ser Lys Ile Leu Tyr Pro Val Met Met Phe Ser
 90 95 100 105

tac ttt gca ggc ctg agc ttt ctg agt gcc gtg agc acc gag cgc tgc 690
 Tyr Phe Ala Gly Leu Ser Phe Leu Ser Ala Val Ser Thr Glu Arg Cys
 110 115 120

ctg tcc gtc ctg tgg ccc atc tgg tac cgc tgc cac cgc ccc aca cac 738
 Leu Ser Val Leu Trp Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Thr His
 125 130 135

ctg tca gcg gtg gtg tgt gtc ctg ctc tgg gcc ctg tcc ctg ctg cgg 786

Leu Ser Ala Val Val Cys Val Leu Leu Trp Ala Leu Ser Leu Leu Arg
 140 145 150
 agc atc ctg gag tgg atg tta tgt ggc ttc ctg ttc agt ggt gct gat 834
 Ser Ile Leu Glu Trp Met Leu Cys Gly Phe Leu Phe Ser Gly Ala Asp
 155 160 165
 tct gct tgg tgt caa aca tca gat ttc atc aca gtc gcg tgg ctg att 882
 Ser Ala Trp Cys Gln Thr Ser Asp Phe Ile Thr Val Ala Trp Leu Ile
 170 175 180 185
 ttt tta tgt gtg gtt ctc tgt ggg tcc agc ctg gtc ctg ctg atc agg 930
 Phe Leu Cys Val Val Leu Cys Gly Ser Ser Leu Val Leu Leu Ile Arg
 190 195 200
 att ctc tgt gga tcc cgg aag ata ccg ctg acc agg ctg tac gtg acc 978
 Ile Leu Cys Gly Ser Arg Lys Ile Pro Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr
 205 210 215
 atc ctg ctc aca gta ctg gtc ttc ctc ctc tgt ggc ctg ccc ttt ggc
 1026
 Ile Leu Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly
 220 225 230
 att cag ttt ttc cta ttt tta tgg atc cac gtg gac agg gaa gtc tta
 1074
 Ile Gln Phe Phe Leu Phe Leu Trp Ile His Val Asp Arg Glu Val Leu
 235 240 245
 ttt tgt cat gtt cat cta gtt tct att ttc ctg tcc gct ctt aac agc
 1122
 Phe Cys His Val His Leu Val Ser Ile Phe Leu Ser Ala Leu Asn Ser
 250 255 260 265
 agt gcc aac ccc atc att tac ttc ttc gtg ggc tcc ttt agg cag cgt
 1170
 Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Gln Arg
 270 275 280
 caa aat agg cag aac ctg aag ctg gtt ctc cag agg gct ctg cag gac
 1218
 Gln Asn Arg Gln Asn Leu Lys Leu Val Leu Gln Arg Ala Leu Gln Asp
 285 290 295
 gcg tct gag gtg gat gaa ggt gga ggg cag ctt cct gag gaa atc ctg
 1266
 Ala Ser Glu Val Asp Glu Gly Gly Gly Gln Leu Pro Glu Glu Ile Leu
 300 305 310
 gag ctg tcg gga agc aga ttg gag cag tgaggaagag cctctgccct
 1313
 Glu Leu Ser Gly Ser Arg Leu Glu Gln
 315 320
 gtcagacagg actttgagag caacactgcc ctgccacct tgacaattat atgcgttttt
 1373
 cttagccttc tgcctcagaa atgtctcagt ggctcctcaa ggtcttcaaa tagatgttta
 1433
 tctaacctga cagttgoggt tttcaccat ggaaagcatt agtctgacag tacaatgttt
 1493
 agattctcct tgatattacc aacacatttt ccctgttatc toacactgaa tctttctac
 1553
 agaacaottt ttctgcaatt ttctttgtaa taaaaggagt tcoctgtacaa aaccctaaaa
 1613
 cactctttat acttctttcc taactgatag catcaaaaag gaagattcct tattaatctc
 1673

tcagactatg ttcccctgaa aatcatgttc ccttctatga ctggaggcat tactgcagtt
 1733
 agaagctcga ttcttaataa gtgagttctg ctatctctac attccattga attctcagat
 1793
 acagagcaaa ataatgtcct tagagacaga ctctctcttc ataaaaacac tctcacctat
 1853
 tggttttata aaaagtcttc cctgtgcatt tgttcacagc atgggtgatat gttggccttg
 1913
 gtttctagta aagacaactg tggccccttc cccttgagaa cttttaagtg cttattttagc
 1973
 tcttcoctgga ctaatggacc agtgaggagc ccataaatgt gccccagttc tattttggcc
 2033
 attggaa
 2040

<210> 16
 <211> 322
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 16
 Met Asp Pro Thr Ile Ser Thr Leu Asp Thr Glu Leu Thr Pro Ile Asn
 1 5 10 15
 Gly Thr Glu Glu Thr Leu Cys Tyr Lys Gln Thr Leu Ser Leu Thr Val
 20 25 30
 Leu Thr Cys Ile Val Ser Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala Val Val
 35 40 45
 Leu Trp Leu Leu Gly Cys Arg Met Arg Arg Asn Ala Phe Ser Ile Tyr
 50 55 60
 Ile Leu Asn Leu Ala Ala Asp Phe Leu Phe Leu Ser Gly Arg Leu
 65 70 75 80
 Ile Tyr Ser Leu Leu Ser Phe Ile Ser Ile Pro His Thr Ile Ser Lys
 85 90 95
 Ile Leu Tyr Pro Val Met Met Phe Ser Tyr Phe Ala Gly Leu Ser Phe
 100 105 110
 Leu Ser Ala Val Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu Trp Pro Ile
 115 120 125
 Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Thr His Leu Ser Ala Val Val Cys Val
 130 135 140
 Leu Leu Trp Ala Leu Ser Leu Leu Arg Ser Ile Leu Glu Trp Met Leu
 145 150 155 160
 Cys Gly Phe Leu Phe Ser Gly Ala Asp Ser Ala Trp Cys Gln Thr Ser
 165 170 175
 Asp Phe Ile Thr Val Ala Trp Leu Ile Phe Leu Cys Val Val Leu Cys
 180 185 190
 Gly Ser Ser Leu Val Leu Leu Ile Arg Ile Leu Cys Gly Ser Arg Lys
 195 200 205
 Ile Pro Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Leu Leu Thr Val Leu Val
 210 215 220
 Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile Gln Phe Phe Leu Phe Leu
 225 230 235 240
 Trp Ile His Val Asp Arg Glu Val Leu Phe Cys His Val His Leu Val
 245 250 255
 Ser Ile Phe Leu Ser Ala Leu Asn Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr
 260 265 270
 Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Gln Arg Gln Asn Arg Gln Asn Leu Lys
 275 280 285
 Leu Val Leu Gln Arg Ala Leu Gln Asp Ala Ser Glu Val Asp Glu Gly
 290 295 300
 Gly Gly Gln Leu Pro Glu Glu Ile Leu Glu Leu Ser Gly Ser Arg Leu
 305 310 315 320
 Glu Gln

<210> 17

<211> 1300
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (171)...(1160)

<400> 17
 tccctggccc ttaataaatg acttaaatctc ttcaagcctc tgatttcctc tcctgtaaaa 60
 caggggagggt aattaccaca taacaggctg gtcgatgaaa tcagtgaaca tgcagcagggt 120
 gctcaagtct tgtttttggt tccaggggca ccagtggagg ttttctgagc atg gat 176
 Met Asp
 1

cca acc acc cgg gcc tgg gga aca gaa agt aca aca gtg aat gga aat 224
 Pro Thr Thr Pro Ala Trp Gly Thr Glu Ser Thr Thr Val Asn Gly Asn
 5 10 15

gac caa gcc ctt ctt ctg ctt tgt ggc aag gag acc ctg atc cgg gtc 272
 Asp Gln Ala Leu Leu Leu Leu Cys Gly Lys Glu Thr Leu Ile Pro Val
 20 25 30

ttc ctg atc ctt ttc att gcc ctg gtc ggg ctg gta gga aac ggg ttt 320
 Phe Leu Ile Leu Phe Ile Ala Leu Val Gly Leu Val Gly Asn Gly Phe
 35 40 45 50

gtg ctc tgg ctc ctg ggc ttc cgc atg cgc agg aac gcc ttc tct gtc 368
 Val Leu Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met Arg Arg Asn Ala Phe Ser Val
 55 60 65

tac gtc ctc agc ctg gcc ggg gcc gac ttc ctc ttc ctc tgc ttc cag 416
 Tyr Val Leu Ser Leu Ala Gly Ala Asp Phe Leu Phe Leu Cys Phe Gln
 70 75 80

att ata aat tgc ctg gtg tac ctc agt aac ttc ttc tgt tcc atc tcc 464
 Ile Ile Asn Cys Leu Val Tyr Leu Ser Asn Phe Phe Cys Ser Ile Ser
 85 90 95

atc aat ttc cct agc ttc ttc acc act gtg atg acc tgt gcc tac ctt 512
 Ile Asn Phe Pro Ser Phe Phe Thr Thr Val Met Thr Cys Ala Tyr Leu
 100 105 110

gca ggc ctg agc atg ctg agc acc gtc agc acc gag cgc tgc ctg tcc 560
 Ala Gly Leu Ser Met Leu Ser Thr Val Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser
 115 120 125 130

gtc ctg tgg ccc atc tgg tat cgc tgc cgc cgc ccc aga cac ctg tca 608
 Val Leu Trp Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Arg Arg Pro Arg His Leu Ser
 135 140 145

gcg gtc gtg tgt gtc ctg ctc tgg gcc ctg tcc cta ctg ctg agc atc 656
 Ala Val Val Cys Val Leu Leu Trp Ala Leu Ser Leu Leu Leu Ser Ile
 150 155 160

ttg gaa ggg aag ttc tgt ggc ttc tta ttt agt gat ggt gac tct ggt 704
 Leu Glu Gly Lys Phe Cys Gly Phe Leu Phe Ser Asp Gly Asp Ser Gly
 165 170 175

tgg tgt cag aca ttt gat ttc atc act gca gcg tgg ctg att ttt tta 752
 Trp Cys Gln Thr Phe Asp Phe Ile Thr Ala Ala Trp Leu Ile Phe Leu
 180 185 190

ttc atg gtt ctc tgt ggg tcc agt ctg gcc ctg ctg gtc agg atc ctc 800
 Phe Met Val Leu Cys Gly Ser Ser Ser Leu Ala Leu Leu Val Arg Ile Leu
 195 200 205 210

tgt ggc tcc agg ggt ctg cca ctg acc agg ctg tac ctg acc atc ctg 848
 Cys Gly Ser Arg Gly Leu Pro Leu Thr Arg Leu Tyr Leu Thr Ile Leu
 215 220 225

ctc aca gtg ctg gtg ttc ctc ctc tgc ggc ctg ccc ttt ggc att cag 896
 Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile Gln
 230 235 240

tgg ttc cta ata tta tgg atc tgg aag gat tct gat gtc tta ttt tgt 944
 Trp Phe Leu Ile Leu Trp Ile Trp Lys Asp Ser Asp Val Leu Phe Cys
 245 250 255

cat att cat cca gtt tca gtt gtc ctg tca tct ctt aac agc agt gcc 992
 His Ile His Pro Val Ser Val Val Leu Ser Ser Leu Asn Ser Ser Ala
 260 265 270

aac ccc atc att tac ttc ttc gtg ggc tct ttt agg aag cag tgg ogg
 1040
 Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Lys Gln Trp Arg
 275 280 285 290

ctg cag cag ccg atc ctc aag ctg gct ctc cag agg gct ctg cag gac
 1088
 Leu Gln Gln Pro Ile Leu Lys Leu Ala Leu Gln Arg Ala Leu Gln Asp
 295 300 305

att gct gag gtg gat cac agt gaa gga tgc ttc cgt cag ggc acc ccg
 1136
 Ile Ala Glu Val Asp His Ser Glu Gly Cys Phe Arg Gln Gly Thr Pro
 310 315 320

gag atg tcg aga agc agt ctg gtg tagagatgga cagcctctac ttccatcaga
 1190
 Glu Met Ser Arg Ser Ser Leu Val
 325 330

tatatgtggc tttgagaggc aactttgccc ctgtctgtct gatttgctga actttctcag
 1250
 tcctgatttt aaaacagtta agagagtcct tgtgaggatt aagtgagaca
 1300

<210> 18
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 18
 Met Asp Pro Thr Thr Pro Ala Trp Gly Thr Glu Ser Thr Thr Val Asn
 1 5 10 15
 Gly Asn Asp Gln Ala Leu Leu Leu Leu Cys Gly Lys Glu Thr Leu Ile
 20 25 30
 Pro Val Phe Leu Ile Leu Phe Ile Ala Leu Val Gly Leu Val Gly Asn
 35 40 45
 Gly Phe Val Leu Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met Arg Arg Asn Ala Phe
 50 55 60
 Ser Val Tyr Val Leu Ser Leu Ala Gly Ala Asp Phe Leu Phe Leu Cys
 65 70 75 80
 Phe Gln Ile Ile Asn Cys Leu Val Tyr Leu Ser Asn Phe Phe Cys Ser
 85 90 95
 Ile Ser Ile Asn Phe Pro Ser Phe Phe Thr Thr Val Met Thr Cys Ala
 100 105 110
 Tyr Leu Ala Gly Leu Ser Met Leu Ser Thr Val Ser Thr Glu Arg Cys
 115 120 125
 Leu Ser Val Leu Trp Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Arg Arg Pro Arg His
 130 135 140

Leu Ser Ala Val Val Cys Val Leu Leu Trp Ala Leu Ser Leu Leu Leu
 145 150 155 160
 Ser Ile Leu Glu Gly Lys Phe Cys Gly Phe Leu Phe Ser Asp Gly Asp
 165 170 175
 Ser Gly Trp Cys Gln Thr Phe Asp Phe Ile Thr Ala Ala Trp Leu Ile
 180 185 190
 Phe Leu Phe Met Val Leu Cys Gly Ser Ser Leu Ala Leu Leu Val Arg
 195 200 205
 Ile Leu Cys Gly Ser Arg Gly Leu Pro Leu Thr Arg Leu Tyr Leu Thr
 210 215 220
 Ile Leu Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly
 225 230 235 240
 Ile Gln Trp Phe Leu Ile Leu Trp Ile Trp Lys Asp Ser Asp Val Leu
 245 250 255
 Phe Cys His Ile His Pro Val Ser Val Leu Ser Ser Leu Asn Ser
 260 265 270
 Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Lys Gln
 275 280 285
 Trp Arg Leu Gln Gln Pro Ile Leu Lys Leu Ala Leu Gln Arg Ala Leu
 290 295 300
 Gln Asp Ile Ala Glu Val Asp His Ser Glu Gly Cys Phe Arg Gln Gly
 305 310 315 320
 Thr Pro Glu Met Ser Arg Ser Ser Leu Val
 325 330

<210> 19
 <211> 135
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 19
 Met Glu Thr Leu Pro Lys Val Leu Glu Val Asp Glu Lys Ser Pro Glu
 1 5 10 15
 Ala Lys Asp Leu Leu Pro Ser Gln Thr Ala Ser Ser Leu Cys Ile Ser
 20 25 30
 Ser Arg Ser Glu Ser Val Trp Thr Thr Pro Arg Ser Asn Trp Glu
 35 40 45
 Ile Tyr Arg Lys Pro Ile Val Ile Met Ser Val Gly Gly Ala Ile Leu
 50 55 60
 Leu Phe Gly Val Val Ile Thr Cys Leu Ala Tyr Thr Leu Lys Leu Ser
 65 70 75 80
 Asp Lys Ser Leu Ser Ile Leu Lys Met Val Gly Pro Gly Phe Leu Ser
 85 90 95
 Leu Gly Leu Met Met Leu Val Cys Gly Leu Val Trp Val Pro Ile Ile
 100 105 110
 Lys Lys Lys Gln Lys His Arg Gln Lys Ser Asn Phe Leu Arg Ser Leu
 115 120 125
 Lys Ser Phe Phe Leu Thr Arg
 130 135

<210> 20
 <211> 970
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> CDS
 <222> (83)...(943)

<400> 20
 gtgtcaccac cagcaccac aacaaatcca atggacaaac ctotttggaa gtatggacat 60
 ctggattotg acccgaaact ag atg atc atc ata ttc aga ctg gtt ggg atg 112
 Met Ile Ile Ile Phe Arg Leu Val Gly Met
 1 5 10

aca gga aat gcc att gtg ttc tgg ctc ctg ggc ttc agc ttg cac agg	160
Thr Gly Asn Ala Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe Ser Leu His Arg	
15 20 25	
aat gcc ttc tca gtc tac att tta aac ttg gcc ctt gct gac ttc gtc	208
Asn Ala Phe Ser Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Val	
30 35 40	
ttc ctc ctc tgt cac atc ata gat tcc atg ctg ctt ctt ctc act gtt	256
Phe Leu Leu Cys His Ile Ile Asp Ser Met Leu Leu Leu Thr Val	
45 50 55	
ttc tac ccc aac aat atc ttt tct ggg tac ttt tac acc atc atg acg	304
Phe Tyr Pro Asn Asn Ile Phe Ser Gly Tyr Phe Thr Ile Met Thr	
60 65 70	
gtt ccc tac atc gca ggc ctg agc atg ctc agt gcc atc agc act gag	352
Val Pro Tyr Ile Ala Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu	
75 80 85 90	
ctc tgc ctg tct gtc ctg tgc ccc atc tgg tat cgc tgc cac cac cca	400
Leu Cys Leu Ser Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His His Pro	
95 100 105	
gaa cac aca tca act gtc atg tgt gct gcg ata tgg gtc ctg ccc ctg	448
Glu His Thr Ser Thr Val Met Cys Ala Ala Ile Trp Val Leu Pro Leu	
110 115 120	
ttg gtc tgc att ctg aat agg tat ttc tgc agt ttc tta gat atc aat	496
Leu Val Cys Ile Leu Asn Arg Tyr Phe Cys Ser Phe Leu Asp Ile Asn	
125 130 135	
tat aac aat gac aaa cag tgt ctg gca tca aac ttc ttt act aga gca	544
Tyr Asn Asn Asp Lys Gln Cys Leu Ala Ser Asn Phe Phe Thr Arg Ala	
140 145 150	
tac ctg atg ttt ttg ttt gtg gtc ctt tgt ctg tcc agc atg gct ctg	592
Tyr Leu Met Phe Leu Phe Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Met Ala Leu	
155 160 165 170	
ctg gcc agg ttg ttc tgt ggc act ggg cag atg aag ctt acc aga ttg	640
Leu Ala Arg Leu Phe Cys Gly Thr Gly Gln Met Lys Leu Thr Arg Leu	
175 180 185	
tac gtg acc atc atg ctg act gtt ttg ggt ttt ctc ctc tgt ggg ttg	688
Tyr Val Thr Ile Met Leu Thr Val Leu Gly Phe Leu Leu Cys Gly Leu	
190 195 200	
ccc ttt gtc atc tac tac ttc ctg tta ttc aat att aag gat ggt ttt	736
Pro Phe Val Ile Tyr Tyr Phe Leu Leu Phe Asn Ile Lys Asp Gly Phe	
205 210 215	
tgt tta ttt gat ttt aga ttt tat atg tca aca cat gtc ctg act gct	784
Cys Leu Phe Asp Phe Arg Phe Tyr Met Ser Thr His Val Leu Thr Ala	
220 225 230	
att aac aac tgt gcc aac ccc ata att tac ttt ttc gag gcc tcc ttc	832
Ile Asn Asn Cys Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Glu Gly Ser Phe	
235 240 245 250	
agg cat cag ttg aag cac cag acc ctc aaa atg gtt ctc cag agt gta	880
Arg His Gln Leu Lys His Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Val	
255 260 265	
ctg cag gac act cct gag ata gct gaa aat atg gtg gag atg tca aga	928

Leu Gln Asp Thr Pro Glu Ile Ala Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg
 270 275 280

aac ata cca aag cca tgatgaaaag cctttgcctg gacctca 970
 Asn Ile Pro Lys Pro
 285

<210> 21
 <211> 287
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 21
 Met Ile Ile Ile Phe Arg Leu Val Gly Met Thr Gly Asn Ala Ile Val
 1 5 10 15
 Phe Trp Leu Leu Gly Phe Ser Leu His Arg Asn Ala Phe Ser Val Tyr
 20 25 30
 Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Val Phe Leu Leu Cys His Ile
 35 40 45
 Ile Asp Ser Met Leu Leu Leu Leu Thr Val Phe Tyr Pro Asn Asn Ile
 50 55 60
 Phe Ser Gly Tyr Phe Tyr Thr Ile Met Thr Val Pro Tyr Ile Ala Gly
 65 70 75 80
 Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Leu Cys Leu Ser Val Leu
 85 90 95
 Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His His Pro Glu His Thr Ser Thr Val
 100 105 110
 Met Cys Ala Ala Ile Trp Val Leu Pro Leu Leu Val Cys Ile Leu Asn
 115 120 125
 Arg Tyr Phe Cys Ser Phe Leu Asp Ile Asn Tyr Asn Asn Asp Lys Gln
 130 135 140
 Cys Leu Ala Ser Asn Phe Phe Thr Arg Ala Tyr Leu Met Phe Leu Phe
 145 150 155 160
 Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Met Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys
 165 170 175
 Gly Thr Gly Gln Met Lys Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Met Leu
 180 185 190
 Thr Val Leu Gly Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Val Ile Tyr Tyr
 195 200 205
 Phe Leu Leu Phe Asn Ile Lys Asp Gly Phe Cys Leu Phe Asp Phe Arg
 210 215 220
 Phe Tyr Met Ser Thr His Val Leu Thr Ala Ile Asn Asn Cys Ala Asn
 225 230 235 240
 Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Glu Gly Ser Phe Arg His Gln Leu Lys His
 245 250 255
 Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Val Leu Gln Asp Thr Pro Glu
 260 265 270
 Ile Ala Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Asn Ile Pro Lys Pro
 275 280 285

<210> 22
 <211> 1024
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> CDS
 <222> (16)...(918)

<400> 22
 ccagtgcacg aaacc atg cat aga agt atc agc atc agg att ctg ata aca 51
 Met His Arg Ser Ile Ser Ile Arg Ile Leu Ile Thr
 1 5 10

aac	ttg	atg	atc	gtc	atc	ctc	gga	cta	gtc	ggg	ctg	aca	gga	aac	gcc	99
Asn	Leu	Met	Ile	Val	Ile	Leu	Gly	Leu	Val	Gly	Leu	Thr	Gly	Asn	Ala	
	15						20					25				
att	gtg	ttc	tgg	ctc	ctg	ctc	ttc	cgc	ttg	ogc	agg	aac	gcc	ttc	tca	147
Ile	Val	Phe	Trp	Leu	Leu	Leu	Phe	Arg	Leu	Arg	Arg	Asn	Ala	Phe	Ser	
	30					35				40						
atc	tac	atc	cta	aac	ttg	gcc	ctg	gct	gac	ttc	ctc	ttc	ctc	ctc	tgc	195
Ile	Tyr	Ile	Leu	Asn	Leu	Ala	Leu	Ala	Asp	Phe	Leu	Phe	Leu	Leu	Cys	
	45				50					55					60	
cac	atc	ata	gct	tcc	aca	gag	cat	att	ctc	agc	ttt	tcc	tcc	ccc	aac	243
His	Ile	Ile	Ala	Ser	Thr	Glu	His	Ile	Leu	Thr	Phe	Ser	Ser	Pro	Asn	
				65				70						75		
agt	atc	ttt	atc	aat	tgc	ctt	tac	acc	ttc	agg	gtg	ctt	ctc	tac	atc	291
Ser	Ile	Phe	Ile	Asn	Cys	Leu	Tyr	Thr	Phe	Arg	Val	Leu	Leu	Tyr	Ile	
			80					85						90		
gca	ggc	ctg	agc	atg	ctc	agt	gcc	atc	agc	att	gag	cgc	tgc	ctg	tct	339
Ala	Gly	Leu	Ser	Met	Leu	Ser	Ala	Ile	Ser	Ile	Glu	Arg	Cys	Leu	Ser	
		95					100					105				
gtc	atg	tgc	ccc	atc	tgg	tat	cgc	tgc	cac	agc	cca	gaa	cac	aca	tca	387
Val	Met	Cys	Pro	Ile	Trp	Tyr	Arg	Cys	His	Ser	Pro	Glu	His	Thr	Ser	
	110					115					120					
act	gtc	atg	tgt	gct	atg	atc	tgg	gtc	ctg	tct	cta	ttg	ctc	tgc	att	435
Thr	Val	Met	Cys	Ala	Met	Ile	Trp	Val	Leu	Ser	Leu	Leu	Leu	Cys	Ile	
	125				130					135					140	
ctg	tat	agg	tat	ttc	tgc	ggc	ttc	ttg	gat	acc	aaa	tat	gaa	gat	gac	483
Leu	Tyr	Arg	Tyr	Phe	Cys	Gly	Phe	Leu	Asp	Thr	Lys	Tyr	Glu	Asp	Asp	
				145					150					155		
tat	ggg	tgt	cta	gca	atg	aac	ttc	ctt	act	acc	gca	tac	ctg	atg	ttt	531
Tyr	Gly	Cys	Leu	Ala	Met	Asn	Phe	Leu	Thr	Thr	Ala	Tyr	Leu	Met	Phe	
			160					165					170			
ttg	ttt	gta	gtc	ctc	tgt	gtg	tcc	agc	ctg	gct	ctg	ctg	gcc	agg	ttg	579
Leu	Phe	Val	Val	Leu	Cys	Val	Ser	Leu	Ala	Leu	Leu	Ala	Arg	Leu		
		175					180					185				
ttc	tgt	ggc	gct	gga	ogc	atg	aag	ctt	acc	aga	tta	tac	gtg	acc	atc	627
Phe	Cys	Gly	Ala	Gly	Arg	Met	Lys	Leu	Thr	Arg	Leu	Tyr	Val	Thr	Ile	
	190					195					200					
acg	ctg	acc	ctt	ttg	gtt	ttt	ctc	ctc	tgc	ggg	ttg	ccc	tgt	ggc	ttc	675
Thr	Leu	Thr	Leu	Leu	Val	Phe	Leu	Leu	Cys	Gly	Leu	Pro	Cys	Gly	Phe	
	205				210					215					220	
tac	tgg	ttc	ctg	tta	tcc	aaa	att	aag	aat	gtt	ttt	act	gta	ttt	gaa	723
Tyr	Trp	Phe	Leu	Leu	Ser	Lys	Ile	Lys	Asn	Val	Phe	Thr	Val	Phe	Glu	
				225					230					235		
ttt	agt	ctt	tat	ctg	gca	tca	gtt	gtc	ctg	act	gct	att	aac	agc	tgt	771
Phe	Ser	Leu	Tyr	Leu	Ala	Ser	Val	Val	Leu	Thr	Ala	Ile	Asn	Ser	Cys	
			240					245					250			
gcc	aac	ccc	atc	att	tac	ttc	ttt	gtg	ggc	tca	ttc	agg	cat	cgg	ttg	819
Ala	Asn	Pro	Ile	Ile	Tyr	Phe	Phe	Val	Gly	Ser	Phe	Arg	His	Arg	Leu	
		255					260					265				
aag	cac	cag	acc	ctc	aaa	atg	gtt	ctc	cag	agt	gca	ctg	cag	gac	act	867
Lys	His	Gln	Thr	Leu	Lys	Met	Val	Leu	Gln	Ser	Ala	Leu	Gln	Asp	Thr	

<222> (106)...(1020)

<400> 24

tttgtgttca tagtgaatga ctaatttctt ctttgtgttc ccagtgcaga gtttctggcc 60
 ctaaaccact cagcctcagc aatgtcacc cagacaacaa gtcca atg gac gaa acc 117
 Met Asp Glu Thr
 1

agc cct aga agt att gac atc gag tca ctg atc cca aac ttg atg atc 165
 Ser Pro Arg Ser Ile Asp Ile Glu Ser Leu Ile Pro Asn Leu Met Ile
 5 10 15 20

atc atc ttt gga ctg gtt ggg ctg aca gga aat gcc att gtg ctc tgg 213
 Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala Ile Val Leu Trp
 25 30 35

ctc ctg ggc ttc tgc ttg cac agg aat gcc ttc tta gtc tac atc cta 261
 Leu Leu Gly Phe Cys Leu His Arg Asn Ala Phe Leu Val Tyr Ile Leu
 40 45 50

aac ttg gcc ctg gct gac ttc ctc ttc ctt ctc tgt cac ttc ata aat 309
 Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys His Phe Ile Asn
 55 60 65

tca gca atg ttt ctt ctc aag gtt cct ata ccc aac ggt atc ttt gtc 357
 Ser Ala Met Phe Leu Leu Lys Val Pro Ile Pro Asn Gly Ile Phe Val
 70 75 80

tat tgc ttt tac acc atc aaa atg gtt ctc tac atc aca ggc ctg agc 405
 Tyr Cys Phe Tyr Thr Ile Lys Met Val Leu Tyr Ile Thr Gly Leu Ser
 85 90 95 100

atg ctc agt gcc atc agc act gag cgc tgc ctt tct gtc ctg tgc ccc 453
 Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu Cys Pro
 105 110 115

atc tgg tat cac tgc cgc cgc cca gaa cac aca tca act gtc atg tgt 501
 Ile Trp Tyr His Cys Arg Arg Pro Glu His Thr Ser Thr Val Met Cys
 120 125 130

gct gtg att tgg atc ttt tcc gtg ttg atc tgc att ctg aaa gaa tat 549
 Ala Val Ile Trp Ile Phe Ser Val Leu Ile Cys Ile Leu Lys Glu Tyr
 135 140 145

ttc tgt gat ttc ttt ggt acc aaa ttg gga aat tac tat gtg tgt cag 597
 Phe Cys Asp Phe Phe Gly Thr Lys Leu Gly Asn Tyr Tyr Val Cys Gln
 150 155 160

gca tcc aac ttc ttt atg gga gca tac cta atg ttt ttg ttt gta gtc 645
 Ala Ser Asn Phe Phe Met Gly Ala Tyr Leu Met Phe Leu Phe Val Val
 165 170 175 180

ctc tgt ctg tcc acc ctg gct ctg ctg gcc agg ttg ttc tgt ggt gct 693
 Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys Gly Ala
 185 190 195

gag aag atg aaa ttt acc aga tta ttc gtg acc atc atg ctg acc att 741
 Glu Lys Met Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile Met Leu Thr Ile
 200 205 210

ttg gtt ttt ctc ctc tgt ggg ttg cca tgg ggc ttc ttc tgg ttc ctg 789
 Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Trp Gly Phe Phe Trp Phe Leu
 215 220 225

tta atc tgg att aag ggt ggt ttt agt gta cta gat tat aga ctt tat 837
 Leu Ile Trp Ile Lys Gly Gly Phe Ser Val Leu Asp Tyr Arg Leu Tyr

230		235		240		
ttg gca tca att gtc cta act gtt gtt aac agc tgt gcc aac ccc atc						885
Leu Ala Ser Ile Val Leu Thr Val Val Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile						
245		250		255		260
att tac ttc ttc gtg gga tca ttc agg cat cgg ttg aag cac cag acc						933
Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu Lys His Gln Thr						
		265		270		275
ctc aaa atg gtt ctc cag agt gca ctg cag gac act cct gag aca cat						981
Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu Thr His						
		280		285		290
gaa aac atg gtg gag atg tca aga atc aaa gca gag cag tgatgaagag						
1030						
Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Ile Lys Ala Glu Gln						
		295		300		305
cctctgcctg gacct						
1045						
<210> 25						
<211> 305						
<212> PRT						
<213> Mus musculus						
<400> 25						
Met Asp Glu Thr Ser Pro Arg Ser Ile Asp Ile Glu Ser Leu Ile Pro						
1 5				10		15
Asn Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala				25		30
		20				
Ile Val Leu Trp Leu Leu Gly Phe Cys Leu His Arg Asn Ala Phe Leu				40		45
		35				
Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys				55		60
		50				
His Phe Ile Asn Ser Ala Met Phe Leu Leu Lys Val Pro Ile Pro Asn				70		80
		65				
Gly Ile Phe Val Tyr Cys Phe Tyr Thr Ile Lys Met Val Leu Tyr Ile				90		95
		85				
Thr Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser				105		110
		100				
Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr His Cys Arg Arg Pro Glu His Thr Ser				120		125
		115				
Thr Val Met Cys Ala Val Ile Trp Ile Phe Ser Val Leu Ile Cys Ile				135		140
		130				
Leu Lys Glu Tyr Phe Cys Asp Phe Phe Gly Thr Lys Leu Gly Asn Tyr				155		160
		145				
Tyr Val Cys Gln Ala Ser Asn Phe Phe Met Gly Ala Tyr Leu Met Phe				170		175
		165				
Leu Phe Val Val Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu				185		190
		180				
Phe Cys Gly Ala Glu Lys Met Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile				200		205
		195				
Met Leu Thr Ile Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Trp Gly Phe				215		220
		210				
Phe Trp Phe Leu Leu Ile Trp Ile Lys Gly Gly Phe Ser Val Leu Asp				235		240
		225				
Tyr Arg Leu Tyr Leu Ala Ser Ile Val Leu Thr Val Val Asn Ser Cys				250		255
		245				
Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu				265		270
		260				
Lys His Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Ala Leu Gln Asp Thr				280		285
		275				
Pro Glu Thr His Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Ile Lys Ala Glu				295		300
		290				

Gln
305

<210> 26
<211> 980
<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>
<221> CDS
<222> (45)...(959)

<400> 26
tagacacctc agcatatgca atggcaccoca cgaccacaaa tcca atg gac aaa acc 56
Met Asp Lys Thr
1

atc ctt gga agt att gac atc gag acc ctg atc cga cat ttg atg atc 104
Ile Leu Gly Ser Ile Asp Ile Glu Thr Leu Ile Arg His Leu Met Ile
5 10 15 20

atc atc ttc gga ctg gtc ggg ctg aca gga aat gcc att gtg ttc tgg 152
Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala Ile Val Phe Trp
25 30 35

ctc ctg ggc ttc cac ttg cac agg aat gcc ttc tta gtc tac atc ata 200
Leu Leu Gly Phe His Leu His Arg Asn Ala Phe Leu Val Tyr Ile Ile
40 45 50

aac ttg gcc ctg gct gac ttc ttc tat ctg ctc tgt cac atc ata aat 248
Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Phe Tyr Leu Leu Cys His Ile Ile Asn
55 60 65

tcc ata atg ttt ctt ctc aag gtt ccc tca ccc aac att atc ttg gac 296
Ser Ile Met Phe Leu Leu Lys Val Pro Ser Pro Asn Ile Ile Leu Asp
70 75 80

cat tgc ttt tac acc atc atg ata gtt ctc tac atc aca ggc ctg agc 344
His Cys Phe Tyr Thr Ile Met Ile Val Leu Tyr Ile Thr Gly Leu Ser
85 90 95 100

atg ctc agc gcc atc agc act gag cgc tgc ctg tct gtc ctg tgc ccc 392
Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu Cys Pro
105 110 115

atc tgg tat cgc tgc cac cgt cca gaa cac aca tca act gtc atg tgt 440
Ile Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Glu His Thr Ser Thr Val Met Cys
120 125 130

gct gtg atc tgg gta atg tcc ctg ttg atc tct att ctc aat gga tat 488
Ala Val Ile Trp Val Met Ser Leu Leu Ile Ser Ile Leu Asn Gly Tyr
135 140 145

ttc tgt aat ttc tct agt ccc aaa tat gta aat aac tct gtg tgt cag 536
Phe Cys Asn Phe Ser Ser Pro Lys Tyr Val Asn Asn Ser Val Cys Gln
150 155 160

gca tca cac atc ttt atc aga aca tac cca ata ttt ttg ttt gta ctc 584
Ala Ser His Ile Phe Ile Arg Thr Tyr Pro Ile Phe Leu Phe Val Leu
165 170 175 180

ctc tgt ctg tcc acc ctt gct ctg ctg gcc agg ttg ttc tct ggt gct 632
Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Ser Gly Ala
185 190 195

ggg aag agg aaa ttt acc aga tta ttc gtg acc atc atg ctg gcc att	680
Gly Lys Arg Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile Met Leu Ala Ile	
200	205
210	
ttg gtt ttt ctt ctc tgt ggg tta ccc ctg ggc ttc ttc tgg ttt ctg	728
Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Leu Gly Phe Phe Trp Phe Leu	
215	220
225	
tca ccc tgg att gag gat cgt ttc att gta cta gat tat aga ctt ttt	776
Ser Pro Trp Ile Glu Asp Arg Phe Ile Val Leu Asp Tyr Arg Leu Phe	
230	235
240	
ttt gca tca gtt gtc cta act gtt gtt aac agc tgt gcc aac ccc atc	824
Phe Ala Ser Val Val Leu Thr Val Val Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile	
245	250
255	260
att tac ttc ttt gtg ggc tcc ttc agg cat cgg ttg aag caa cag acc	872
Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu Lys Gln Gln Thr	
265	270
275	
ctc aaa atg ttt ctc cag aga gca ctg cag gac acc cct gag aca cct	920
Leu Lys Met Phe Leu Gln Arg Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu Thr Pro	
280	285
290	
gaa aac atg gtg gag atg tca aga agc aaa gca gag ccg tgatgaagag	969
Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu Pro	
295	300
305	
cctcttccag g	980
<210> 27	
<211> 305	
<212> PRT	
<213> Mus musculus	
<400> 27	
Met Asp Lys Thr Ile Leu Gly Ser Ile Asp Ile Glu Thr Leu Ile Arg	
1 5 10 15	
His Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala	
20 25 30	
Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe His Leu His Arg Asn Ala Phe Leu	
35 40 45	
Val Tyr Ile Ile Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Phe Tyr Leu Leu Cys	
50 55 60	
His Ile Ile Asn Ser Ile Met Phe Leu Leu Lys Val Pro Ser Pro Asn	
65 70 75 80	
Ile Ile Leu Asp His Cys Phe Tyr Thr Ile Met Ile Val Leu Tyr Ile	
85 90 95	
Thr Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser	
100 105 110	
Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Glu His Thr Ser	
115 120 125	
Thr Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Met Ser Leu Leu Ile Ser Ile	
130 135 140	
Leu Asn Gly Tyr Phe Cys Asn Phe Ser Ser Pro Lys Tyr Val Asn Asn	
145 150 155 160	
Ser Val Cys Gln Ala Ser His Ile Phe Ile Arg Thr Tyr Pro Ile Phe	
165 170 175	
Leu Phe Val Leu Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu	
180 185 190	
Phe Ser Gly Ala Gly Lys Arg Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile	
195 200 205	
Met Leu Ala Ile Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Leu Gly Phe	
210 215 220	
Phe Trp Phe Leu Ser Pro Trp Ile Glu Asp Arg Phe Ile Val Leu Asp	
225 230 235 240	

Tyr Arg Leu Phe Phe Ala Ser Val Val Leu Thr Val Val Asn Ser Cys
 245 250 255
 Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu
 260 265 270
 Lys Gln Gln Thr Leu Lys Met Phe Leu Gln Arg Ala Leu Gln Asp Thr
 275 280 285
 Pro Glu Thr Pro Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu
 290 295 300
 Pro
 305

<210> 28
 <211> 408
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(405)

<400> 28
 atg gag act ctc ccc aag gtt cta gag gtc gat gag aag tct cca gaa 48
 Met Glu Thr Leu Pro Lys Val Leu Glu Val Asp Glu Lys Ser Pro Glu
 1 5 10 15
 gcc aag gac ctg ctg ccc agc cag acc gcc agc tcc ctg tgc atc agc 96
 Ala Lys Asp Leu Leu Pro Ser Gln Thr Ala Ser Ser Leu Cys Ile Ser
 20 25 30
 tcc agg agc gag tct gtc tgg acc acc acc ccc agg agt aac tgg gaa 144
 Ser Arg Ser Glu Ser Val Trp Thr Thr Thr Pro Arg Ser Asn Trp Glu
 35 40 45
 atc tac cgc aag ccc atc gtt atc atg tca gtg ggc ggt gcc atc ctg 192
 Ile Tyr Arg Lys Pro Ile Val Ile Met Ser Val Gly Gly Ala Ile Leu
 50 55 60
 ctt ttc ggc gtg gtc atc acc tgc ttg gcc tac acc ttg aag ctg agt 240
 Leu Phe Gly Val Val Ile Thr Cys Leu Ala Tyr Thr Leu Lys Leu Ser
 65 70 75 80
 gac aag agt ctc tcc atc ctc aaa atg gta ggg cct ggc ttc ctg tcc 288
 Asp Lys Ser Leu Ser Ile Leu Lys Met Val Gly Pro Gly Phe Leu Ser
 85 90 95
 ctg gga ctc atg atg ctg gtg tgc ggg ctg gtg tgg gtg ccc atc atc 336
 Leu Gly Leu Met Met Leu Val Cys Gly Leu Val Trp Val Pro Ile Ile
 100 105 110
 aaa aag aaa cag aag cac aga cag aag tcg aat ttc tta cgc agc ctc 384
 Lys Lys Lys Gln Lys His Arg Gln Lys Ser Asn Phe Leu Arg Ser Leu
 115 120 125
 aag tcc ttc ttc ctg act cgc tga 408
 Lys Ser Phe Phe Leu Thr Arg
 130 135

<210> 29
 <211> 135
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 29
 Met Glu Thr Leu Pro Lys Val Leu Glu Val Asp Glu Lys Ser Pro Glu

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

<210> 30
 <211> 1400
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (332)...(1297)

<400> 30
 tcaggcccag gatagagtaa tcatcggggtc cacagcaactg gctagatgag tgggggtggtt 60
 ttgatcctaa tgttattccc atgttagcac agaacttggtg tggcagtaga gagagggtcag 120
 gcttcagagt cagcaagaac tggatttcaa actggatttg aggaccccca ccttttgata 180
 ggtgacttat tctctgtgag tctctgatct gccctottta aatgaggaag taaatcccac 240
 atggcagggt ggtggggaga atcagagatc atacagctgg tgatcacaac tggtttctgt 300
 ttccagggtc accagactgg ggtttctgag c atg gat tca acc atc cca gtc 352
 Met Asp Ser Thr Ile Pro Val
 1 5

ttg ggt aca gaa ctg aca cca atc aac gga cgt gag gag act cct tgc 400
 Leu Gly Thr Glu Leu Thr Pro Ile Asn Gly Arg Glu Glu Thr Pro Cys
 10 15 20

tac aag cag acc ctg agc ttc acg ggg ctg acg tgc atc gtt tcc ctt 448
 Tyr Lys Gln Thr Leu Ser Phe Thr Gly Leu Thr Cys Ile Val Ser Leu
 25 30 35

gtc gcg ctg aca gga aac gcg gtt gtg ctc tgg ctc ctg ggc tgc cgc 496
 Val Ala Leu Thr Gly Asn Ala Val Val Leu Trp Leu Leu Gly Cys Arg
 40 45 50 55

atg cgc agg aac gct gtc tcc atc tac atc ctc aac ctg gtc gcg gcc 544
 Met Arg Arg Asn Ala Val Ser Ile Tyr Ile Leu Asn Leu Val Ala Ala
 60 65 70

gac ttc ctc ttc ctt agc ggc cac att ata tgt tgc ccg tta cgc ctc 592
 Asp Phe Leu Phe Leu Ser Gly His Ile Ile Cys Ser Pro Leu Arg Leu
 75 80 85

atc aat atc cgc cat ccc atc tcc aaa atc ctc agt cct gtg atg acc 640
 Ile Asn Ile Arg His Pro Ile Ser Lys Ile Leu Ser Pro Val Met Thr
 90 95 100

ttt ccc tac ttt ata ggc cta agc atg ctg agc gcc atc agc acc gag 688
 Phe Pro Tyr Phe Ile Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu
 105 110 115

cgc tgc ctg tcc atc ctg tgg ccc atc tgg tac cac tgc cgc cgc ccc 736
 Arg Cys Leu Ser Ile Leu Trp Pro Ile Trp Tyr His Cys Arg Arg Pro
 120 125 130 135

aga tac ctg tca tgc gtc atg tgt gtc ctg ctc tgg gcc ctg tcc ctg 784
 Arg Tyr Leu Ser Ser Val Met Cys Val Leu Leu Trp Ala Leu Ser Leu
 140 145 150

ctg cgg agt atc ctg gag tgg atg ttc tgt gac ttc ctg ttt agt ggt 832
 Leu Arg Ser Ile Leu Glu Trp Met Phe Cys Asp Phe Leu Phe Ser Gly
 155 160 165

gct gat tct gtt tgg tgt gaa acg tca gat ttc att aca atc gcg tgg 880
 Ala Asp Ser Val Trp Cys Glu Thr Ser Asp Phe Ile Thr Ile Ala Trp
 170 175 180

ctg gtt ttt tta tgt gtg gtt ctc tgt ggg tcc agc ctg gtc ctg ctg 928
 Leu Val Phe Leu Cys Val Val Leu Cys Gly Ser Ser Leu Val Leu Leu
 185 190 195

gtc agg att ctc tgt gga tcc cgg aag atg ccg ctg acc agg ctg tac 976
 Val Arg Ile Leu Cys Gly Ser Arg Lys Met Pro Leu Thr Arg Leu Tyr
 200 205 210 215

gtg acc atc ctc ctc aca gtg ctg gtc ttc ctc ctc tgt ggc ctg ccc
 1024
 Val Thr Ile Leu Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro
 220 225 230

ttt ggc att cag tgg gcc ctg ttt tcc agg atc cac ctg gat tgg aaa
 1072
 Phe Gly Ile Gln Trp Ala Leu Phe Ser Arg Ile His Leu Asp Trp Lys
 235 240 245

gtc tta ttt tgt cat gtg cat cta gtt tcc att ttc ctg tcc gct ctt
 1120
 Val Leu Phe Cys His Val His Leu Val Ser Ile Phe Leu Ser Ala Leu
 250 255 260

aac agc agt gcc aac ccc atc att tac ttc ttc gtg gcc tcc ttt agg
 1168
 Asn Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg
 265 270 275

cag cgt caa aat agg cag aac ctg aag ctg gtt ctc cag agg gct ctg
 1216
 Gln Arg Gln Asn Arg Gln Asn Leu Lys Leu Val Leu Gln Arg Ala Leu
 280 285 290 295

cag gac acg cct gag gtg gat gaa ggt gga ggg tgg ctt cct cag gaa
 1264
 Gln Asp Thr Pro Glu Val Asp Glu Gly Gly Gly Trp Leu Pro Gln Glu
 300 305 310

acc ctg gag ctg tgc gga agc aga ttg gag cag tgaggaagaa cctctgcct
 1317
 Thr Leu Glu Leu Ser Gly Ser Arg Leu Glu Gln
 315 320

gtcagacagg accttgagag caatgctgcc ctgccacct tgacaattat atgcatttt
 1377
 cttagccttc tgocctcagaa atg
 1400

<210> 31

<211> 322

```

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 31
Met Asp Ser Thr Ile Pro Val Leu Gly Thr Glu Leu Thr Pro Ile Asn
 1          5          10
Gly Arg Glu Glu Thr Pro Cys Tyr Lys Gln Thr Leu Ser Phe Thr Gly
 20          25          30
Leu Thr Cys Ile Val Ser Leu Val Ala Leu Thr Gly Asn Ala Val Val
 35          40          45
Leu Trp Leu Leu Gly Cys Arg Met Arg Arg Asn Ala Val Ser Ile Tyr
 50          55          60
Ile Leu Asn Leu Val Ala Ala Asp Phe Leu Phe Leu Ser Gly His Ile
 65          70          75          80
Ile Cys Ser Pro Leu Arg Leu Ile Asn Ile Arg His Pro Ile Ser Lys
 85          90          95
Ile Leu Ser Pro Val Met Thr Phe Pro Tyr Phe Ile Gly Leu Ser Met
100          105          110
Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Ile Leu Trp Pro Ile
115          120          125
Trp Tyr His Cys Arg Arg Pro Arg Tyr Leu Ser Ser Val Met Cys Val
130          135          140
Leu Leu Trp Ala Leu Ser Leu Leu Arg Ser Ile Leu Glu Trp Met Phe
145          150          155          160
Cys Asp Phe Leu Phe Ser Gly Ala Asp Ser Val Trp Cys Glu Thr Ser
165          170          175
Asp Phe Ile Thr Ile Ala Trp Leu Val Phe Leu Cys Val Val Leu Cys
180          185          190
Gly Ser Ser Leu Val Leu Leu Val Arg Ile Leu Cys Gly Ser Arg Lys
195          200          205
Met Pro Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Leu Leu Thr Val Leu Val
210          215          220
Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile Gln Trp Ala Leu Phe Ser
225          230          235          240
Arg Ile His Leu Asp Trp Lys Val Leu Phe Cys His Val His Leu Val
245          250          255
Ser Ile Phe Leu Ser Ala Leu Asn Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr
260          265          270
Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Gln Arg Gln Asn Arg Gln Asn Leu Lys
275          280          285
Leu Val Leu Gln Arg Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu Val Asp Glu Gly
290          295          300
Gly Gly Trp Leu Pro Gln Glu Thr Leu Glu Leu Ser Gly Ser Arg Leu
305          310          315          320
Glu Gln

```

```

<210> 32
<211> 1604
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> CDS
<222> (433)...(1398)

```

```

<400> 32
tgc atg ggt ct cct ttc tct gt cca tgg gat ga cc agt cct ag tca cga ggt gt gtc aca aacca 60
cct ctt ttt gtt g tat ct ga att cct cca cct g aa ega aaaa tt tca ga ccc ag gat ag at taa 120
tca tcc ggg tcc caa agc cct g gcc gga tga tgg ggg tgt tt tt ga tcc taa t gtt att ccc 180
atg tcc ag cac aga act ttt gtt tgg cag taga gag at gtc ag gct tcc ag agt caa caa ga ac 240
tgg att tcc aa act gga ttt gagg ccc cca cct ttt ggt aa gt gact ttt at ct ggc ggc 300
ctc tgt ttt ct ct ctt tct tta aat gagg aca gtaa at ccca tac ggc aggg tgg tgg ggg ag 360
aat cag agat gata cag ctg gt gat cac at ct ggt ttt gtt tccc agggg cacc agacta 420
gag ttt ct ga gc atg gat cca acc gtc cca gtc ttc ggt aca aaa ctg aca 471

```


tat ctg gtt tgc atg tcc ctg tcc tct cta aac agt agt gcc aac ccc
 1239
 Tyr Leu Val Cys Met Ser Leu Ser Ser Leu Asn Ser Ser Ala Asn Pro
 255 260 265

atc att tac ttc ttc gtg ggc tcc ttt agg cag cgt caa aat agg cag
 1287
 Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Gln Arg Gln Asn Arg Gln
 270 275 280 285

aac ctg aag ctg gtt ctc cag agg gct ctg cag gac aag cct gag gtg
 1335
 Asn Leu Lys Leu Val Leu Gln Arg Ala Leu Gln Asp Lys Pro Glu Val
 290 295 300

gat aaa ggt gaa ggg cag ctt cct gag gaa agc ctg gag ctg tcg gga
 1383
 Asp Lys Gly Glu Gly Gln Leu Pro Glu Glu Ser Leu Glu Leu Ser Gly
 305 310 315

agc aga ttg ggg cca tgagggagag cctctgccct gtcagtcaga cgggactttg
 1438
 Ser Arg Leu Gly Pro
 320

agagcaacac tgtctgccca cccttgacaa ttacatgcgt ttttcttagc gtttcgocctc
 1498
 agaaatgtct cagtggtaac tcaaggtctt caaataaatg tttatctaac ctgacagttg
 1558
 cagttttcac ccatggaaaag cattagtctg acagtacaat gtttgg
 1604

<210> 33
 <211> 322
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 33
 Met Asp Pro Thr Val Pro Val Phe Gly Thr Lys Leu Thr Pro Ile Asn
 1 5 10 15
 Gly Arg Glu Glu Thr Pro Cys Tyr Asn Gln Thr Leu Ser Phe Thr Val
 20 25 30
 Leu Thr Cys Ile Ile Ser Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala Val Val
 35 40 45
 Leu Trp Leu Leu Gly Tyr Arg Met Arg Arg Asn Ala Val Ser Ile Tyr
 50 55 60
 Ile Leu Asn Leu Ala Ala Ala Asp Phe Leu Phe Leu Ser Phe Gln Ile
 65 70 75 80
 Ile Arg Ser Pro Leu Arg Leu Ile Asn Ile Ser His Leu Ile Arg Lys
 85 90 95
 Ile Leu Val Ser Val Met Thr Phe Pro Tyr Phe Thr Gly Leu Ser Met
 100 105 110
 Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu Trp Pro Ile
 115 120 125
 Trp Tyr Arg Cys Arg Arg Pro Thr His Leu Ser Ala Val Val Cys Val
 130 135 140
 Leu Leu Trp Gly Leu Ser Leu Leu Phe Ser Met Leu Glu Trp Arg Phe
 145 150 155 160
 Cys Asp Phe Leu Phe Ser Gly Ala Asp Ser Ser Trp Cys Glu Thr Ser
 165 170 175
 Asp Phe Ile Pro Val Ala Trp Leu Ile Phe Leu Cys Val Val Leu Cys
 180 185 190
 Val Ser Ser Leu Val Leu Leu Val Arg Ile Leu Cys Gly Ser Arg Lys
 195 200 205
 Met Pro Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Leu Leu Thr Val Leu Val


```

Met Asn Gln Thr Leu Asn Ser Ser Gly Thr Val Glu Ser Ala Leu Asn
 1      5      10      15
Tyr Ser Arg Gly Ser Thr Val His Thr Ala Tyr Leu Val Leu Ser Ser
 20      25      30
Leu Ala Met Phe Thr Cys Leu Cys Gly Met Ala Gly Asn Ser Met Val
 35      40      45
Ile Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met His Arg Asn Pro Phe Cys Ile Tyr
 50      55      60
Ile Leu Asn Leu Ala Ala Ala Asp Leu Leu Phe Leu Phe Ser Met Ala
 65      70      75      80
Ser Thr Leu Ser Leu Glu Thr Gln Pro Leu Val Asn Thr Thr Asp Lys
 85      90      95
Val His Glu Leu Met Lys Arg Leu Met Tyr Phe Ala Tyr Thr Val Gly
 100     105     110
Leu Ser Leu Leu Thr Ala Ile Ser Thr Gln Arg Cys Leu Ser Val Leu
 115     120     125
Phe Pro Ile Trp Phe Lys Cys His Arg Pro Arg His Leu Ser Ala Trp
 130     135     140
Val Cys Gly Leu Leu Trp Thr Leu Cys Leu Leu Met Asn Gly Leu Thr
 145     150     155     160
Ser Ser Phe Cys Ser Lys Phe Leu Lys Phe Asn Glu Asp Arg Cys Phe
 165     170     175
Arg Val Asp Met Val Gln Ala Ala Leu Ile Met Gly Val Leu Thr Pro
 180     185     190
Val Met Thr Leu Ser Ser Leu Thr Leu Phe Val Trp Val Arg Arg Ser
 195     200     205
Ser Gln Gln Trp Arg Arg Gln Pro Thr Arg Leu Phe Val Val Leu
 210     215     220
Ala Ser Val Leu Val Phe Leu Ile Cys Ser Leu Pro Leu Ser Ile Tyr
 225     230     235     240
Trp Phe Val Leu Tyr Trp Leu Ser Leu Pro Pro Glu Met Gln Val Leu
 245     250     255
Cys Phe Ser Leu Ser Arg Leu Ser Ser Val Ser Ser Ser Ala Asn
 260     265     270
Pro Val Ile Tyr Phe Leu Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Cys Pro
 275     280     285
Pro Gly Pro Trp Gly Leu Cys Ser Asn Arg Arg Phe Ala Arg Ser Pro
 290     295     300
Ser Trp Lys Val Gly Arg Arg Pro Pro Trp Ala Pro Met Arg Trp Gly
 305     310     315     320
Leu Glu Ser Arg Pro Gln Val Leu Pro Thr Cys Ala Ser Pro Cys Pro
 325     330     335
Gly Asp Ser Arg Ala Val Ser Cys Leu Pro Pro Arg Pro Cys Gln Val
 340     345     350
Ser Gly Pro Pro Ser Trp Gly Ser Pro Lys Asp Phe Ala Ala Ala Cys
 355     360     365
Gly Gly His Phe Pro Ala Cys Gln Asn Ser Pro Gln His Leu Cys Pro
 370     375     380
Gly Ser His Asn Ala Thr Pro Leu Glu Asp Ala Ile Tyr Leu Phe Ile
 385     390     395     400
Ala Asp Tyr Leu Val Gly Gly Lys Tyr
 405

```

```

<210> 36
<211> 767
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> CDS
<222> (2)...(716)

```

```

<400> 36
c cac atg gtg gcc atc gtc ccc gac ttg ctg caa ggc cgg ctg gac ttc 49
  His Met Val Ala Ile Val Pro Asp Leu Leu Gln Gly Arg Leu Asp Phe

```

1	5	10	15	
cgc ggc ttc gtg cag acc agc ctg gca acg ctg cgc ttc ttc tgc tac				97
Pro Gly Phe Val Gln Thr Ser Leu Ala Thr Leu Arg Phe Phe Cys Tyr	20	25	30	
atc gtg ggc ctg agt ctc ctg gcg gcc gtc agc gtg gag cag tgc ctg				145
Ile Val Gly Leu Ser Leu Leu Ala Ala Val Ser Val Glu Gln Cys Leu	35	40	45	
gcc gcc ctc ttc cca gcc tgg tac tgc tgc cgc cgc cca cgc cac ctg				193
Ala Ala Leu Phe Pro Ala Trp Tyr Ser Cys Arg Arg Pro Arg His Leu	50	55	60	
acc acc tgt gtg tgc gcc ctc acc tgg gcc ctc tgc ctg ctg ctg cac				241
Thr Thr Cys Val Cys Ala Leu Thr Trp Ala Leu Cys Leu Leu Leu His	65	70	75	80
ctg ctg ctc agc agc gcc tgc acc cag ttc ttc ggg gag ccc agc cgc				289
Leu Leu Leu Ser Ser Ala Cys Thr Gln Phe Phe Gly Glu Pro Ser Arg	85	90	95	
cac ttg tgc cgg acg ctg tgg ctg gtg gca gcg gtg ctg ctg gct ctg				337
His Leu Cys Arg Thr Leu Trp Leu Val Ala Ala Val Leu Leu Ala Leu	100	105	110	
ctg tgt tgc acc atg tgt ggg gcc agc ctt atg ctg ctg ctg cgg gtg				385
Leu Cys Cys Thr Met Cys Gly Ala Ser Leu Met Leu Leu Leu Arg Val	115	120	125	
gag cga ggc ccc cag cgg ccc cca ccc cgg gcc ttc cct ggg ctc atc				433
Glu Arg Gly Pro Gln Arg Pro Pro Pro Arg Gly Phe Pro Gly Leu Ile	130	135	140	
ctc ctc acc gtc ctc ctc ttc ctc ttc tgc gcc ctg ccc ttc gcc atc				481
Leu Leu Thr Val Leu Leu Phe Leu Phe Cys Gly Leu Pro Phe Gly Ile	145	150	155	160
tac tgg ctg tcc cgg aac ctg ctc tgg tac atc ccc cac tac ttc tac				529
Tyr Trp Leu Ser Arg Asn Leu Leu Trp Tyr Ile Pro His Tyr Phe Tyr	165	170	175	
cac ttc agc ttc ctc atg gcc gcc gtg cac tgc gcg gcc aag ccc gtc				577
His Phe Ser Phe Leu Met Ala Ala Val His Cys Ala Ala Lys Pro Val	180	185	190	
gtc tac ttc tgc ctg gcc agt gcc cag gcc cgc agg ctg ccc ctc cgg				625
Val Tyr Phe Cys Leu Gly Ser Ala Gln Gly Arg Arg Leu Pro Leu Arg	195	200	205	
ctg gtc ctc cag cga gcg ctg gga gac gag gct gag ctg ggg gcc gtc				673
Leu Val Leu Gln Arg Ala Leu Gly Asp Glu Ala Glu Leu Gly Ala Val	210	215	220	
agg gag acc tcc cgc cgg gcc ctg gtg gac ata gca gcc tga g				716
Arg Glu Thr Ser Arg Arg Gly Leu Val Asp Ile Ala Ala *	225	230	235	
ccctggggcc cccgacccca gctgcagccc ccgtgaggca agagggtgac t				767

<210> 37

<211> 237

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

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

<210> 38
 <211> 1361
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> CDS
 <222> (48)...(1064)

<400> 38
 tctttttttt ttttcattgc agaactgaga ttgcaccact cctgaaa atg gac tta 56
 Met Asp Leu
 1
 gtc atc caa gac tgg acc att aat att aca gca ctg aaa gaa agc aat 104
 Val Ile Gln Asp Trp Thr Ile Asn Ile Thr Ala Leu Lys Glu Ser Asn
 5 10 15
 gac aat gga ata tca ttt tgt gaa gtt gtg tct cgt acc atg act ttt 152
 Asp Asn Gly Ile Ser Phe Cys Glu Val Val Ser Arg Thr Met Thr Phe
 20 25 30 35
 ctt tcc ctc atc att gcc tta gtt ggg ctg gtt gga aat gcc aca gtg 200
 Leu Ser Leu Ile Ile Ala Leu Val Gly Leu Val Gly Asn Ala Thr Val
 40 45 50
 tta tgg ttt ctg ggc ttc cag atg agc agg aat gcc ttc tct gtc tac 248
 Leu Trp Phe Leu Gly Phe Gln Met Ser Arg Asn Ala Phe Ser Val Tyr
 55 60 65
 atc ctc aac ctt gct ggt gct gac ttt gtc ttc atg tgc ttt caa att 296
 Ile Leu Asn Leu Ala Gly Ala Asp Phe Val Phe Met Cys Phe Gln Ile
 70 75 80

gta	cat	tgt	ttt	tat	att	atc	tta	gac	atc	tac	ttc	atc	ccc	act	aat	344
Val	His	Cys	Phe	Tyr	Ile	Ile	Leu	Asp	Ile	Tyr	Phe	Ile	Pro	Thr	Asn	
	85					90					95					
ttt	ttt	tca	tct	tac	act	atg	gtg	tta	aac	att	gct	tac	ctt	agt	ggc	392
Phe	Phe	Ser	Ser	Tyr	Thr	Met	Val	Leu	Asn	Ile	Ala	Tyr	Leu	Ser	Gly	
100					105					110					115	
ctg	agc	atc	ctc	act	gtc	att	agc	act	gaa	cgc	ttc	cta	tct	gtc	atg	440
Leu	Ser	Ile	Leu	Thr	Val	Ile	Ser	Thr	Glu	Arg	Phe	Leu	Ser	Val	Met	
				120					125					130		
tgg	ccc	atc	tgg	tac	cgc	tgc	caa	cgc	cca	agg	cac	aca	tca	gct	gtc	488
Trp	Pro	Ile	Trp	Tyr	Arg	Cys	Gln	Arg	Pro	Arg	His	Thr	Ser	Ala	Val	
			135					140					145			
ata	tgt	act	gtg	ctt	tgg	gtc	ttg	tcc	ctg	gtg	ttg	agc	ctc	ctg	gaa	536
Ile	Cys	Thr	Val	Leu	Trp	Val	Leu	Ser	Leu	Val	Leu	Ser	Leu	Leu	Glu	
		150					155					160				
gga	aag	gaa	tgt	ggc	ttc	cta	tat	tac	act	agt	ggc	cct	ggc	ttg	tgt	584
Gly	Lys	Glu	Cys	Gly	Phe	Leu	Tyr	Tyr	Thr	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Cys	
	165					170					175					
aag	aca	ttt	gat	tta	atc	act	act	gca	tgg	tta	att	ggt	tta	ttt	gtg	632
Lys	Thr	Phe	Asp	Leu	Ile	Thr	Thr	Ala	Trp	Leu	Ile	Val	Leu	Phe	Val	
180					185					190					195	
ggt	ctc	ttg	gga	tcc	agt	ctg	gcc	ttg	gtg	ctt	acc	atc	ttc	tgt	ggc	680
Val	Leu	Leu	Gly	Ser	Ser	Leu	Ala	Leu	Val	Leu	Thr	Ile	Phe	Cys	Gly	
			200						205					210		
tta	cac	aag	ggt	cct	gtg	acc	agg	ttg	tat	gtg	acc	att	gtg	ttt	aca	728
Leu	His	Lys	Val	Pro	Val	Thr	Arg	Leu	Tyr	Val	Thr	Ile	Val	Phe	Thr	
			215					220					225			
gtg	ctt	gtc	ttc	ctg	atc	ttt	ggc	ctg	ccc	tat	ggg	atc	tac	tgg	ttc	776
Val	Leu	Val	Phe	Leu	Ile	Phe	Gly	Leu	Pro	Tyr	Gly	Ile	Tyr	Trp	Phe	
		230					235					240				
ctc	tta	gag	tgg	att	agg	gaa	ttt	cat	gat	aat	aaa	cct	tgt	ggc	ttt	824
Leu	Leu	Glu	Trp	Ile	Arg	Glu	Phe	His	Asp	Asn	Lys	Pro	Cys	Gly	Phe	
		245				250					255					
cgt	aac	gtg	aca	ata	ttt	ctg	tcc	tgt	att	aac	agc	tgt	gcc	aac	ccc	872
Arg	Asn	Val	Thr	Ile	Phe	Leu	Ser	Cys	Ile	Asn	Ser	Cys	Ala	Asn	Pro	
260					265					270					275	
atc	att	tac	ttc	ctt	ggt	ggc	tcc	att	agg	cac	cat	cgg	ttt	caa	cgg	920
Ile	Ile	Tyr	Phe	Leu	Val	Gly	Ser	Ile	Arg	His	His	Arg	Phe	Gln	Arg	
				280					285					290		
aag	act	ctc	aag	ctt	ctt	ctg	cag	aga	gcc	atg	caa	gac	tct	cct	gag	968
Lys	Thr	Leu	Lys	Leu	Leu	Leu	Gln	Arg	Ala	Met	Gln	Asp	Ser	Pro	Glu	
			295				300					305				
gag	gaa	gaa	tgt	gga	gag	atg	ggt	tcc	tca	aga	aga	cct	aga	gaa	ata	
1016																
Glu	Glu	Glu	Cys	Gly	Glu	Met	Gly	Ser	Ser	Arg	Arg	Pro	Arg	Glu	Ile	
		310					315					320				
aaa	act	gtc	tgg	aag	gga	ctg	aga	gct	gct	ttg	atc	agg	cat	aaa	tag	
1064																
Lys	Thr	Val	Trp	Lys	Gly	Leu	Arg	Ala	Ala	Leu	Ile	Arg	His	Lys	*	
		325				330					335					

ctttgaagag aactatgttt ttatcacttt gtggcatttt cataatggtt tttagttgat
 1124
 gacccaaggt taactcagtt ggggaagtag tcaatgttgt agaagttgat tgatattgaa
 1184
 cttgttataa atactgagta cagtattttt gcagctatct tgctcagagc tttaccaact
 1244
 ccatttgatg ggactcctta taagctctat ggggtccagg agaggtggtg accacaattg
 1304
 acaaatccct cticagaaga aaactcaaga aagtgcaatg aaaagttata tttcttt
 1361

<210> 39
 <211> 338
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 39
 Met Asp Leu Val Ile Gln Asp Trp Thr Ile Asn Ile Thr Ala Leu Lys
 1 5 10 15
 Glu Ser Asn Asp Asn Gly Ile Ser Phe Cys Glu Val Val Ser Arg Thr
 20 25 30
 Met Thr Phe Leu Ser Leu Ile Ile Ala Leu Val Gly Leu Val Gly Asn
 35 40 45
 Ala Thr Val Leu Trp Phe Leu Gly Phe Gln Met Ser Arg Asn Ala Phe
 50 55 60
 Ser Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Gly Ala Asp Phe Val Phe Met Cys
 65 70 75 80
 Phe Gln Ile Val His Cys Phe Tyr Ile Ile Leu Asp Ile Tyr Phe Ile
 85 90 95
 Pro Thr Asn Phe Phe Ser Ser Tyr Thr Met Val Leu Asn Ile Ala Tyr
 100 105 110
 Leu Ser Gly Leu Ser Ile Leu Thr Val Ile Ser Thr Glu Arg Phe Leu
 115 120 125
 Ser Val Met Trp Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Gln Arg Pro Arg His Thr
 130 135 140
 Ser Ala Val Ile Cys Thr Val Leu Trp Val Leu Ser Leu Val Leu Ser
 145 150 155 160
 Leu Leu Glu Gly Lys Glu Cys Gly Phe Leu Tyr Tyr Thr Ser Gly Pro
 165 170 175
 Gly Leu Cys Lys Thr Phe Asp Leu Ile Thr Thr Ala Trp Leu Ile Val
 180 185 190
 Leu Phe Val Val Leu Leu Gly Ser Ser Leu Ala Leu Val Leu Thr Ile
 195 200 205
 Phe Cys Gly Leu His Lys Val Pro Val Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile
 210 215 220
 Val Phe Thr Val Leu Val Phe Leu Ile Phe Gly Leu Pro Tyr Gly Ile
 225 230 235 240
 Tyr Trp Phe Leu Leu Glu Trp Ile Arg Glu Phe His Asp Asn Lys Pro
 245 250 255
 Cys Gly Phe Arg Asn Val Thr Ile Phe Leu Ser Cys Ile Asn Ser Cys
 260 265 270
 Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Leu Val Gly Ser Ile Arg His His Arg
 275 280 285
 Phe Gln Arg Lys Thr Leu Lys Leu Leu Leu Gln Arg Ala Met Gln Asp
 290 295 300
 Ser Pro Glu Glu Glu Glu Cys Gly Glu Met Gly Ser Ser Arg Arg Pro
 305 310 315 320
 Arg Glu Ile Lys Thr Val Trp Lys Gly Leu Arg Ala Ala Leu Ile Arg
 325 330 335
 His Lys

<210> 40
 <211> 1278
 <212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 40

```

atttctaatt caagaatcta agcaccctcag cctggaaaac gaacatcaca gtgctgaatg 60
gaagetacta catcgatact tcagtttctg tcaccaggaa ccaagccatg attttgcttt 120
ccatcatcat ttccctggtt gggatgggac taaatgccat agtgctgtgg ttccctgggca 180
tccgatgca cagcaatgoc ttcactgtct acattctcaa cctggctatg gctgactttc 240
tttacotgtg ctctcagttt gtaatttctc ttcttattgc cttttatata ttctactcaa 300
ttgacatcaa catccctttg gttctttatg ttgtgccaat atttgcttat ctttcaggtc 360
tgagcattct cagcaccatt agcattgagc gctgcttctc tgaatatagg cccatttggg 420
atcgtgtaa acgtccaaga cacacatcag ctatcacatg ttttctgctt tgggttatgt 480
ccttattggt gggctctcctg gaaggggaagg catgtggctt actgtttaat agctttgact 540
cttattgggt tgaacacatt gatgttatca ctaatatatg gtcagttggt ttttttgggt 600
ttctctgtgg gtctagcttc accctgcttg tcaggatctt ctgtggctca cagcgaattc 660
ctatgaccag gatgtatgtg actattacac tcacagtctt ggtcttctctg atctttggtc 720
ttccctttgg gatctattgg atactctatc agtggattag caatttttat tatgttgaag 780
tttgtaattt ttatcttgag atactattcc tatcctgtgt taacagctgt atgaacccca 840
tcatttattt ccttggtggc tccattaggc accgaaggtt caggcggaag actctcaagc 900
tactctgca gagagccatg caagacacc ctgaggagga acaaagtga aataagagtt 960
cttcagaaca ccctgaagaa ctggaaactg ttcagagctg cagctgacaa ctgcttgatc
1020
agacaaaaat ggttttgatg gaaatacttt ttcttatccg tgtggaccat ttttacaacc
1080
tttattcagt ttgttatctc atcttcaatt gtttaattag gacaataatt tttgtaaaag
1140
ttgagagaaa tgggtcttgt catactaata ctgaatgtag catttctgaa gctgtgttac
1200
ttagggattt accatctcct tttcatggga ctctctgtaa gtattctgtg gtagagaact
1260
tctctattg ttgacaaa
1278

```

<210> 41

<211> 338

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 41

```

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

```

Met Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Thr Leu Thr Val Leu Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Ile Phe Gly Leu Pro Phe Gly Ile Tyr Trp Ile Leu Tyr Gln Trp Ile
 245 250 255
 Ser Asn Phe Tyr Tyr Val Glu Ile Cys Asn Phe Tyr Leu Glu Ile Leu
 260 265 270
 Phe Leu Ser Cys Val Asn Ser Cys Met Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Leu
 275 280 285
 Val Gly Ser Ile Arg His Arg Arg Phe Arg Arg Lys Thr Leu Lys Leu
 290 295 300
 Leu Leu Gln Arg Ala Met Gln Asp Thr Pro Glu Glu Glu Gln Ser Gly
 305 310 315 320
 Asn Lys Ser Ser Ser Glu His Pro Glu Glu Leu Glu Thr Val Gln Ser
 325 330 335
 Cys Ser

<210> 42
 <211> 1009
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 42
 ttttctaagc atggctctaa gaacctcact aataaccacc acagcaccgg ataaaaccag 60
 ccttccaatt tcaatttgta tcatcaagtt ccaagtcag aatttgcttt ccatcaccat 120
 ttccoctggt gggatgttac tgaatatcat agtgctgtgg ttccctgggct tccagatatg 180
 caggaatgcc ttctctgcct acatcctcaa cctggctgtg gctgattttc tcttctctgtg 240
 ttctcattct atattttctt ttcttattgt ctgcaaacctg cactattttt tattctacat 300
 tagacagctt ttggatactg tgacaatggt tgcttatggt ttgggcoctga gcattaccac 360
 catcattagc attgagtgtc gcctgtctat catgtggccc atctgggtatc actgccaacg 420
 tccaagacac acatcagctg tcatttgtgt cttgctttgg gctctatctc tgotgtttcc 480
 tgctctgcag atggaaaaat gttagcgtcct gtttaatact tttgaaatatt cttgggtgtg 540
 gataatcaat ataactctctg gtgcatgggt agttgtttta tttgtgggtc tctgtgggtt 600
 cagcctcatc ctgctcctca ggaatcctctg tggatcacag cagattcctg tgaccaggct 660
 gaatgtaact attgcaactca gagtgtact cctcctgata tttgggtatc cctttgggat 720
 cttctggata gttgacaaaat ggaatgaaga aaatttttc gttagagctt gtggtttttc 780
 acatcatata ctatacgtat actgtattaa catctgtgtc aatgctacca tatacttct 840
 tgttggctcc attaggtatg gcaagtttca gaagatgact ctgaagctga ttctgcagag 900
 agctatacag ggcacccocg aggaagaagg tggagagagg ggtccttaag gaaactactga 960
 agaactggga acagtctagt gcagcaaccg agagctgctt taataataa
 1009

<210> 43
 <211> 312
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 43
 Met Ala Leu Arg Thr Ser Leu Ile Thr Thr Thr Ala Pro Asp Lys Thr
 1 5 10 15
 Ser Leu Pro Ile Ser Ile Cys Ile Ile Lys Phe Gln Val Met Asn Leu
 20 25 30
 Leu Ser Ile Thr Ile Ser Pro Val Gly Met Val Leu Asn Ile Ile Val
 35 40 45
 Leu Trp Phe Leu Gly Phe Gln Ile Cys Arg Asn Ala Phe Ser Ala Tyr
 50 55 60
 Ile Leu Asn Leu Ala Val Ala Asp Phe Leu Phe Leu Cys Ser His Ser
 65 70 75 80
 Ile Phe Ser Phe Leu Ile Val Cys Lys Leu His Tyr Phe Leu Phe Tyr
 85 90 95
 Ile Arg Gln Leu Leu Asp Thr Val Thr Met Phe Ala Tyr Val Phe Gly
 100 105 110
 Leu Ser Ile Thr Thr Ile Ile Ser Ile Glu Cys Cys Leu Ser Ile Met
 115 120 125
 Trp Pro Ile Trp Tyr His Cys Gln Arg Pro Arg His Thr Ser Ala Val

130 135 140
 Ile Cys Val Leu Leu Trp Ala Leu Ser Leu Leu Phe Pro Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Met Glu Lys Cys Ser Val Leu Phe Asn Thr Phe Glu Tyr Ser Trp Cys
 165 170 175
 Gly Ile Ile Asn Ile Ile Ser Gly Ala Trp Leu Val Val Leu Phe Val
 180 185 190
 Val Leu Cys Gly Phe Ser Leu Ile Leu Leu Arg Ile Ser Cys Gly
 195 200 205
 Ser Gln Gln Ile Pro Val Thr Arg Leu Asn Val Thr Ile Ala Leu Arg
 210 215 220
 Val Leu Leu Leu Leu Ile Phe Gly Ile Pro Phe Gly Ile Phe Trp Ile
 225 230 235 240
 Val Asp Lys Trp Asn Glu Glu Asn Phe Phe Val Arg Ala Cys Gly Phe
 245 250 255
 Ser His His Ile Leu Tyr Val Tyr Cys Ile Asn Ile Cys Val Asn Ala
 260 265 270
 Thr Ile Tyr Phe Leu Val Gly Ser Ile Arg His Gly Lys Phe Gln Lys
 275 280 285
 Met Thr Leu Lys Leu Ile Leu Gln Arg Ala Ile Gln Gly Thr Pro Glu
 290 295 300
 Glu Glu Gly Gly Glu Arg Gly Pro
 305 310

<210> 44
 <211> 1219
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 44
 tttatggacc tgtgccagat attcctacat aatcacatgg tcttgactga gactatcttg 60
 tgttcatatc tcgatttctt tgcaggaatg ccagtggaata attccttaagc atgggtacaa 120
 ccaccctggc ctggaacatt aacaacaccg ctgaaaatgg aagttacact gaaatgttct 180
 cctgtatcac caagttcaat accctgaatt ttcttaactgt catcatagct gtggttgcc 240
 tggcagggaaa cggcatagtg ctatggcttc tagccttcca cctgcatagg aatgccttct 300
 ctgtctatgt cctcaatctg gctgggtgctg atttcttgta ccttttcaact caagttgtgc 360
 attccttgga atgtgtcctt cagttagata ataactcctt ttatattctc ctcatgtaa 420
 caatgtttgc ttaccttgcg gttttgtgta tgattgcagc catcagtgct gaacgtgcc 480
 tatctggtat gtggcctatc tggatcact gccaaagacc aagacacaca tcagccatca 540
 tgtgtgctct ggtctgggtt tctctctat tgttgagcct cgtggtaggg ctaggctgtg 600
 gtttctggt cagttattat gattattatt tctgtattac tttgaatttt atcactgctg 660
 ctttttaaat agtgttatct gtggttcttt ctgtatctag cctggccttg ttggtgaaga 720
 ttgtgtgggg gtcacacagg attcctgtga ccaggttctt tgtgaccatt gctctcacag 780
 tgggtgctct catatacttt ggcatgccct ttggtatctg ctggttctct ttatcaagga 840
 ttatggagtt tgatagcatt ttctttaaca atgtttatga aataatagaa ttctgtcct 900
 gtgttaacag ctgtgccaat cccatcattt acttcttctg tggctccatt agacaacaca 960
 ggttgcgatg gcagtcctctg aagctacttc ttcagagagc catgcaggac actcctgagg
 1020
 aagagagtgg agagaggggt ccttogcaaa ggtctgggga actggaacaa gtctagtaca
 1080
 gtagttgagt gagtccctgg tcaaacatag tttctgtgag agtcaatfff gcctttatct
 1140
 atataagcaa ttttcataat ttgtttaatc agtagagaat atagtcattt tatagaaatt
 1200
 aggagaaatg agcttgta
 1219

<210> 45
 <211> 321
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 45
 Met Gly Thr Thr Thr Leu Ala Trp Asn Ile Asn Asn Thr Ala Glu Asn
 1 5 10 15

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

<210> 46
 <211> 1281
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 46
 atggtcctga cagagagtat catgtgttca tatctctatt tttttgoggg aacaccactg 60
 gaaacttcct aaacatgggt ctaaccactc cagcctggaa cattaacaac acagtagtga 120
 atggaagtaa caatactgaa cttttctcct gtgtcagcaa gttcaatacc ctgaactttc 180
 ttactgtcat cattgccatg ttggcctgg caggaaatgc catagtcota tggcttctag 240
 ccttccacct gcttagaat gcotttctctg tctatgtctg caacttggct tgtgctgatt 300
 tcttgcaact ttgcaactcag attttaggtt ccctggaatg tttccttcag ttaaatagga 360
 gacacacttt ttttctcacc gttgtattta tgtttgctta ccttgcaggf ttgtgtatga 420
 ttgcagccat cagtgttgag cgtctctat ctgttatgtg gcccatctgg tctactgcc 480
 aaagaccaag acatacatca tccatcatgt gtgctctgct ctgggcttcc tgtctactgt 540
 tgaatttcct attaggggaa ggctgtggcc ttctgttcag tgatcctaaa tattatttct 600
 gtattacttg tgccttaatc actactgcac ttataatatt attaactgtg gttccttctg 660
 tgtccagcct ggccctgttg gtcaagatga tctgtggatc acacaggatt cctgtgacca 720
 ggtctatgt gaccattgct ctacattgg tggcttccat attcttgggt ctgccctttg 780
 ggatttactic atctttcttg ataatgttta aggagtttca aagcatttcc tcttaccatg 840
 tcottgaagt gacaatattc ctgtcctgtg ttaacagctg tgccaatccc atcatttact 900
 ttcttgttgg ctccattagg cagcacaggf tgcaatggca gtctctgaag ctacttcttc 960
 agagagccat gcaggacact cctgaggaag atagtggaga gagggttccc tcacaaaggf
 1020

ctggggaact ggaaagtgtt tagtgcagta gttgagtgag tctttgatca gacatggtta
 1080
 ctctgagagt cagttttgcc tttgtttatg taagcaatth tcacaatott gtacaatttg
 1140
 taaagaaata gtcattttat agaaattggg agaaaggggc ttgttacaca gaaactgagt
 1200
 gcaacacccat aaagctgtct tatgtgggtc tcattacatt ctctttgtgat ataagccttg
 1260
 taatcacttg ggaacaaaac t
 1281

<210> 47
 <211> 322
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 47
 Met Gly Leu Thr Thr Pro Ala Trp Asn Ile Asn Asn Thr Val Val Asn
 1 5 10 15
 Gly Ser Asn Asn Thr Glu His Phe Ser Cys Val Ser Lys Phe Asn Thr
 20 25 30
 Leu Asn Phe Leu Thr Val Ile Ile Ala Met Phe Gly Leu Ala Gly Asn
 35 40 45
 Ala Ile Val Leu Trp Leu Leu Ala Phe His Leu Pro Arg Asn Ala Phe
 50 55 60
 Ser Val Tyr Val Cys Asn Leu Ala Cys Ala Asp Phe Leu Gln Leu Cys
 65 70 75 80
 Thr Gln Ile Leu Gly Ser Leu Glu Cys Phe Leu Gln Leu Asn Arg Arg
 85 90 95
 His Thr Phe Phe Leu Thr Val Val Phe Met Phe Ala Tyr Leu Ala Gly
 100 105 110
 Leu Cys Met Ile Ala Ala Ile Ser Val Glu Arg Ser Leu Ser Val Met
 115 120 125
 Trp Pro Ile Trp Tyr His Cys Gln Arg Pro Arg His Thr Ser Ser Ile
 130 135 140
 Met Cys Ala Leu Leu Trp Ala Phe Cys Leu Leu Leu Asn Phe Leu Leu
 145 150 155 160
 Gly Glu Gly Cys Gly Leu Leu Phe Ser Asp Pro Lys Tyr Tyr Phe Cys
 165 170 175
 Ile Thr Cys Ala Leu Ile Thr Thr Ala Leu Ile Ile Leu Leu Thr Val
 180 185 190
 Val Pro Ser Val Ser Ser Leu Ala Leu Leu Val Lys Met Ile Cys Gly
 195 200 205
 Ser His Arg Ile Pro Val Thr Arg Phe Tyr Val Thr Ile Ala Leu Thr
 210 215 220
 Leu Val Val Phe Ile Phe Leu Gly Leu Pro Phe Gly Ile Tyr Ser Ser
 225 230 235 240
 Phe Leu Ile Met Phe Lys Glu Phe Gln Ser Ile Phe Ser Tyr His Val
 245 250 255
 Leu Glu Val Thr Ile Phe Leu Ser Cys Val Asn Ser Cys Ala Asn Pro
 260 265 270
 Ile Ile Tyr Phe Leu Val Gly Ser Ile Arg Gln His Arg Leu Gln Trp
 275 280 285
 Gln Ser Leu Lys Leu Leu Leu Gln Arg Ala Met Gln Asp Thr Pro Glu
 290 295 300
 Glu Asp Ser Gly Glu Arg Val Pro Ser Gln Arg Ser Gly Glu Leu Glu
 305 310 315 320
 Ser Val

<210> 48
 <211> 1280
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 48
 ccccaactagt tcataacaca gaatttaaca tgggttcttc ttccacccat aggaatgaac 60
 tccactcttg acagcagccc agctccaggc ctgaccatca gtcccaccat ggacctgtg 120
 acctggatct acctttcagt gacattccct gccatggcca cgtgtgtggg ggggatggc 180
 aggcaactca ttgggtgatt ggctcctgag ctgcaatggc atgcagaggt ctccctctg 240
 tgtctatgtg ctcaacctgg cgggtggctga cttcctcttc ttattctgca tggcctccat 300
 gctcagcctg gaaacagggc ccctgctcat agtcaacatt tctgcaaaa tctatgaagg 360
 gatgaggaga atcaagtact ttgcctatac agcaggcctg agcctgctga cagccatcag 420
 caccagcgc tgcctctccg tgcctttccc catctggtat aagtgccacc ggcccggca 480
 cctgtcatca gtggtatctg gtgcactctg ggcactggcc ttctctgatga acttccctggc 540
 ttctttcttc tgggtccaat tctggcatcc caacaaacac cagtgtctca aggtggacat 600
 tgttttcaac agtcttatcc tgggatctt catgcccgtc atgatcctga ccagccaccat 660
 cctcttcacg cgggtgcgga agaacagcct gatgcagaga cggcggcccc ggoggtgtg 720
 cgtggtcatc ctgacttcca tcttgtctt cctcactgt tctctgccct tgggcatcaa 780
 ctggttctta ctctactggg tggatgtgaa acgggatgtg aggtacttt atagctgctg 840
 atcagccttc tcttctctt tgagcagcag tgccaaccgg gtcatttact tctctgtggg 900
 cagcagaag agccaccggc tgcaggagtc cctgggtgct gtgctggggc gggcactgog 960
 ggatgagcct gagccagagg gcagagagac gccatccacg tgtactaatg atgggtctg
 1020
 aagggagccc aaccaggaac tcttccaaag ccccaccag cccttcccta aaagtaccca
 1080
 gcaagcctgc aatgcaaagg ccttgcaact caaaatggtt gggtcacgtt cctctctgcc
 1140
 agggagggtt caccactatc accttgtggt cctaacttaa actaagaggt gaggcaatat
 1200
 atctttctgt tttacctgtt tagacacaga tcttaacttt gggtcaccatc atgggcaagg
 1260
 ctgtctggga aatggagttt
 1280

<210> 49

<211> 281

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 49

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

Val Gly Ser Gln Lys Ser His Arg Leu Gln Glu Ser Leu Gly Ala Val
 245 250 255
 Leu Gly Arg Ala Leu Arg Asp Glu Pro Glu Pro Glu Gly Arg Glu Thr
 260 265 270
 Pro Ser Thr Cys Thr Asn Asp Gly Val
 275 280

<210> 50
 <211> 1170
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 50
 gacttctgca gacatcagcc atgacgtccc tgagcgtgca cacagattct cccagcacc 60
 agggagaaat ggctttcaac ctgaccatcc tgtccctcac agagctcctc agcctgggcy 120
 ggctgctggg caatggagtg gccctctggc tgcctcaacca aaatgtctac aggaaccct 180
 tctccatcta tctcttggat gtggcctgcy ccgacctcat ctctctctgc tgccacatgg 240
 tggccatcat cctgagctg ctgcaggacc agctgaactt cctgaattt gtacatatca 300
 gcctgaccat gctgogggtt ttctgtaca ttgtgggct gagcctcctg gcggccatca 360
 gcaaggagca gtgcctggcc actctcttcc ctgcctggta cctgtgccc gcgccacgct 420
 acctgaccac ctgtgtgtgt gcctcatctt ggggtctctg cctgtctactg gacctgctgc 480
 tgagcggcgc ctgcaccag ttctttggag caccagcta ccacctgtgt gacatgctgt 540
 ggctgggtgt ggcagttctc ctggctgcc tgtgtgtcac catgtgtgtg accagcctgc 600
 tcctgctgct gcgggtggag cgtggtccag agagacacca gcctcggggc ttccccacc 660
 tggctctgct ggccgtcctg ctcttctctt tctgcggcct gccctttggc atcttctggc 720
 tgtccaagaa cctgtcctgg cacatcccc tctacttcta tcatttcagc ttcttcattg 780
 ccagtgtgca cagtgcagcc aagcctgcca tctacttttt cttgggcagc acacctggcc 840
 agaggtttcg ggaaccctc cggtgtgtgc tccagcgggc acttgagat gagctgagc 900
 tgggagctgg gagagagct tcccaagggg gacttgtgga catgactgtc taagcacagt 960
 gggtcacaac tgcagcttca gccatgggg gtccagggga gctgcctgat gtaggtaaag
 1020
 ctgggatcag agctccatca gtaagactct tgagggacat ctttgtgat gaccagtgcc
 1080
 tgtgtcccct gggaggattc tgggaagggg caagcagaga gtgatgcttc tgtggagggc
 1140
 ctggggttgt gtgtgttagg cagagctcct
 1170

<210> 51
 <211> 310
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 51
 Met Thr Ser Leu Ser Val His Thr Asp Ser Pro Ser Thr Gln Gly Glu
 1 5 10 15
 Met Ala Phe Asn Leu Thr Ile Leu Ser Leu Thr Glu Leu Leu Ser Leu
 20 25 30
 Gly Gly Leu Leu Gly Asn Gly Val Ala Leu Trp Leu Leu Asn Gln Asn
 35 40 45
 Val Tyr Arg Asn Pro Phe Ser Ile Tyr Leu Leu Asp Val Ala Cys Ala
 50 55 60
 Asp Leu Ile Phe Leu Cys Cys His Met Val Ala Ile Ile Pro Glu Leu
 65 70 75 80
 Leu Gln Asp Gln Leu Asn Phe Pro Glu Phe Val His Ile Ser Leu Thr
 85 90 95
 Met Leu Arg Phe Phe Cys Tyr Ile Val Gly Leu Ser Leu Leu Ala Ala
 100 105 110
 Ile Ser Thr Glu Gln Cys Leu Ala Thr Leu Phe Pro Ala Trp Tyr Leu
 115 120 125
 Cys Arg Arg Pro Arg Tyr Leu Thr Thr Cys Val Cys Ala Leu Ile Trp
 130 135 140
 Val Leu Cys Leu Leu Leu Asp Leu Leu Leu Ser Gly Ala Cys Thr Gln
 145 150 155 160
 Phe Phe Gly Ala Pro Ser Tyr His Leu Cys Asp Met Leu Trp Leu Val

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 53

```

Asn Pro Ser Pro Gly Ser Thr Ser Ile Lys Ile Leu Ile Pro Asn Leu
 1          5          10          15
Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala Ile Val
 20          25          30
Phe Trp Leu Leu Gly Phe His Leu Arg Arg Asn Ala Phe Ser Val Tyr
 35          40          45
Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys Arg Ile
 50          55          60
Ile Ala Ser Thr Gln Lys Leu Leu Thr Phe Ser Ser Pro Asn Ile Thr
 65          70          75          80
Phe Leu Ile Cys Leu Tyr Thr Phe Arg Val Ile Leu Tyr Ile Ala Gly
 85          90          95
Leu Ser Met Leu Thr Ala Ile Ser Ile Glu Arg Cys Leu Ser Val Leu
100          105          110
Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Glu His Thr Ser Thr Val
115          120          125
Met Cys Ala Ala Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu Asn
130          135          140
Arg Tyr Phe Cys Gly Phe Leu Asp Thr Lys Tyr Val Asn Asp Tyr Gly
145          150          155          160
Cys Met Ala Ser Asn Phe Phe Asn Ala Ala Tyr Leu Met Phe Leu Phe
165          170          175
Val Val Leu Cys Val Ser Ser Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys
180          185          190
Gly Thr Gly Arg Met Lys Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile Met Leu
195          200          205
Thr Ile Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Cys Gly Leu Tyr Trp
210          215          220
Phe Leu Leu Phe Trp Ile Lys Asn Gly Phe Ala Val Phe Asp Phe Asn
225          230          235          240
Phe Tyr Leu Ala Ser Thr Val Leu Ser Ala Ile Asn Ser Ser Ala Asn
245          250          255
Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu Lys His
260          265          270
Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu
275          280          285
Thr Ala Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu Pro
290          295          300

```

<210> 54

<211> 2093

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 54

```

tggtatgcac tcaactgataa gcggatatag cccaaaagct gcaaacaacc aggataaaat 60
tcacagacca catgaagctc aataagaagg aagaacaaag tgtagggtgtt tcagtccttc 120
ttagaaggag aacaaaat acacaggagc aaatatggag atacagtata gagcagagac 180
taaaggaaaag gtcattcaga gactgtccca actggggatt cattccatat agagatacca 240
aaccagact ctaaattgga tgcaacaag tgcatgccaa aaggagctag ataaggtaac 300
cctgtctcaa aaaaaaaaaa aaggctgtca cctgaaagcc cctgtcaaag gottacaaat 360
acagaagcag atggttagtag tcaacaattg gacagagcat ggggttccta atagaggagt 420
tagaggaagg aattaggagg ttgaagggat ttgcagcccc ataagaacaa caatatcaac 480
caaccggaca ctccccaga tatcacagg tctaagccat caacaaggga gtacacatgg 540
ctccagatgc acatatagca gaggacggcc atgtcatgca tcaatggaag aagagatcct 600
tgtacctatg aaggatcgat agatgaccca gtgtagggga atcaaggaca gaaaggttgg 660
agtggatgtg tggactggcc ggactgacag gaaatgccc tgtgttctgg ctctgctct 720
tccacttgca caggaatgct ttctcaatct acatcttaaa tttggtcata gctgacttcc 780
ttttctcct tggtcacatc atagttcca caatgcaact tctcaaggtt tcctacctca 840
acattatfff tctttaccgt tttcacaaa tcatgatggt gctctacaac acaggcctga 900
ccatgctcag tgccatcaac actaagcact gcctgtctgt cctgtgtccc atctgtatc 960

```

gctcccactg cacaaaacac acatcaactg tcatatgtgc tgctatacgg gacctgtccc
 1020
 tgttgatctg ctttctgaat acgtatttct gtggctctctt agataccaaa tataaaaatg
 1080
 acaatgggtg totggcatcg aatttcttta ttaatgcata ccoctgatggt tttgtttgta
 1140
 gtcctactgt ctgtccactc tggctctgct ggccagggtg ttctgtggtg ctgggaagat
 1200
 gaaatttaca agattattcg tgaccatcat gctgacagtt ttagtttttc tcctctgtgg
 1260
 gttgcoctct gccatctact ggttcoctggt aatctggatt aagattgatt atggtgtatt
 1320
 tgcttatgat gttttctggt catcactcgt cctgagtgct gttaacagct gtgccaaccc
 1380
 catcatttac ttcttctggt gctctttcag gcatoggttg aagcaccaaa ccotcaaaat
 1440
 ggttctccag aatgtactgc aggacactcc tgagacagct gaaaacatgg tagagatgtc
 1500
 aagaggcaaa gcagagccat gatgaagagc ctctgcctgg agctcagagg tggctttgga
 1560
 gtgagcactg ccoctgatgta cttgaccact gtccactctc ctctcagctt actgactaga
 1620
 catgcoctcag tgggccacca tctccaagag ctctccactg actttgtttt ctacctctcc
 1680
 tgaataatag cattaatcag aaagtatcat gtctacatcc ttottgacat taatcaaatt
 1740
 ctcatgctat cttcccctga agctttcttg ctgtttcttt gggacttttt gttgccatgg
 1800
 aaataacaaa ggtccagaac catgactctc ttgcctgtga ttgttctgta cctgaatgta
 1860
 aagataaagg agccaggaga tgatcctgta tcacgggtgct ccataccaaa ataccaccaa
 1920
 gagagctggg ctcccaggag tgcagacaag cctgtgagca caggtaagac caccatttct
 1980
 gctcaaaggg acatgcctgg aacctcagt acacaggaac agaggagcct ggaactggat
 2040
 atttccagtt tccatctgca ccccagagct gactctgtac cacagctctc cat
 2093

<210> 55
 <211> 282
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 55
 Gly Leu Ala Gly Leu Thr Gly Asn Ala Ile Val Phe Trp Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 Phe His Leu His Arg Asn Ala Phe Ser Ile Tyr Ile Leu Asn Leu Val
 20 25 30
 Ile Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Gly His Ile Ile Ala Ser Thr Met
 35 40 45
 Gln Leu Leu Lys Val Ser Tyr Leu Asn Ile Ile Phe Leu Tyr Arg Phe
 50 55 60
 Tyr Thr Ile Met Met Val Leu Tyr Asn Thr Gly Leu Thr Met Leu Ser
 65 70 75 80
 Ala Ile Asn Thr Lys His Cys Leu Ser Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr
 85 90 95
 Arg Ser His Cys Thr Lys His Thr Ser Thr Val Ile Cys Ala Ala Ile
 100 105 110
 Arg Asp Leu Ser Leu Leu Ile Cys Phe Leu Asn Thr Tyr Phe Cys Gly
 115 120 125
 Leu Leu Asp Thr Lys Tyr Lys Asn Asp Asn Gly Cys Leu Ala Ser Asn
 130 135 140
 Phe Phe Ile Asn Ala Tyr Leu Met Phe Leu Phe Val Val Leu Cys Leu
 145 150 155 160
 Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys Gly Ala Gly Lys Met

				165						170					175
Lys	Phe	Thr	Arg	Leu	Phe	Val	Thr	Ile	Met	Leu	Thr	Val	Leu	Val	Phe
			180					185					190		
Leu	Leu	Cys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ala	Ile	Tyr	Trp	Phe	Leu	Leu	Ile	Trp
		195					200					205			
Ile	Lys	Ile	Asp	Tyr	Gly	Val	Phe	Ala	Tyr	Asp	Val	Phe	Leu	Ala	Ser
	210				215						220				
Leu	Val	Leu	Ser	Ala	Val	Asn	Ser	Cys	Ala	Asn	Pro	Ile	Ile	Tyr	Phe
	225				230					235					240
Phe	Val	Gly	Ser	Phe	Arg	His	Arg	Leu	Lys	His	Gln	Thr	Leu	Lys	Met
			245					250						255	
Val	Leu	Gln	Asn	Val	Leu	Gln	Asp	Thr	Pro	Glu	Thr	Ala	Glu	Asn	Met
			260					265					270		
Val	Glu	Met	Ser	Arg	Gly	Lys	Ala	Glu	Pro						
		275					280								

<210> 56
 <211> 2401
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 56
 acttgcataac ttctgtaatt gatggccccc aaacaggaaa catcattata tctcacatga 60
 ctataaattaa tcacccactg tgttcatatc tttgactcaa aatctttccc ttgtagttaa 120
 cttcagacga gcaactcgata gattatagta agatctgaga cttctcagag ttatgaccat 180
 gttgggaatt tggttttccc aaagtcagga atctgtccaa atggattgcc acaactacac 240
 agagatggaa ggaaaggtag agaactttcc cagtgccatt acattctaca ggctacagga 300
 gccttggctg gtcagaatgc aactttgggt ggcactcaga acaatgttaa ttttctttt 360
 caattctctc ctatctcttt ccaactctgct catttgttct gttgcagcac atctgtgact 420
 tccatgtatg aaagtagttt ctttttctac tctactctct caattatctt ttttaattcta 480
 ctatttctac tcacacatta aaatgtgtgt atgtgtggtt gtgttcatac gtgtgtgttg 540
 aggctgattt tttccttatt tgctgtatat gaaactctac attctgttgt acaccccaga 600
 tgtcatgtgt taaattgtat ttcattgttct gctctctaaa acctacattc aggtacagaa 660
 caatcacaga caagagagtc atggttttgg acctgggcta tttccatgrrc aacaaaagt 720
 tcaaagaaac agcaagaag cttcagagga agttagcacg acaatttgat taatgtcaag 780
 aaggatgcag acatgatact ttctgattaa tgcttttact caggagatgg agaaaaacta 840
 agttatggaa gagctgttga aggtgttgg agaccactga ggcattgcaa gtaggtcagc 900
 tgaaggaga gtggacagtg tggcaagtg cagcagggca gtgctcactc caaaactacc 960
 tctgaaatcc aggcagaggc tcttcatcat ggctctgctt tgctttttga catctccact
 1020
 atgttttcag gtgtctcagg aatgtcctgc agtgcactct ggataaccat tttgagggtc
 1080
 tgggtgctgca atcgatgcct gaaggagccc acgaagaagt aaatgatggg gttggcacag
 1140
 ctgtaagag cagtcaggac acttgatgcc ataaaaagac taaaatcaaa tacaataaaa
 1200
 acattcttaa tcttggataa caggaaccag tagatgccag agggcaaccc gcagaggaga
 1260
 aaaacaaaaa tggtcagcat gatggtcacg tacaatctgg taagtttcat acgcccagcg
 1320
 ccacagaaca acctggccag cagagccagg ctggatagac agaggaccac aaacaaaaac
 1380
 atcaggatg cagcagtaaa gaagtttgat gccatacatc catagtcatt tacatatttg
 1440
 gtatctaaga aaacgcagaa ataactattc agaatgctga tcaacagggg caggaccag
 1500
 atcatagcac acgtgacagt tgatgtgtgt tctgggcggt ggcagcgata ccagatggg
 1560
 cacagtacag acagacaccg ttcagtgccg atggcactga gtatgctcag gcctgcaatg
 1620
 tagagaacca gcatgatgct gaagaagcac ctgcgaaaga taatgttagg gtaggaaacc
 1680
 ttgagaagaa acagagtgga agctatgatg tgacagagga ggaagaggaa gtcagccaga
 1740
 gccaaagtta ggatgtagac tgagaaggca ttcttgcgca agcgggaagcc caggagccag

1800
aacacaatgg catttcctgt catcccaacc agtccgaaga tgatgatcat caagtgtggg
1860
atcaggggtgc tgatgtcaat acttccaggg atggtttctg ccattagatt tgttgtcgac
1920
gggtgccattg atgaggcaga ggtgtttagg gccagaaacc ctgcaccggt gctgtctggga
1980
acacaaagaa gaaatgaggc tttccctatg aacacacctt ttgtttttct tttccctttt
2040
ttgtttttgt tgttgttttt aaaaattttt ttctatttga tattttcttt atttaaattt
2100
caaatgttat cccctttcct gcttttcctt ctccaggaaa tccccatctc atcctccctc
2160
cttctgcttc tatgatggtg ttctcaacc cacacacca ctccacctc tctgcctctg
2220
attcccatc actggagcat ctattgagcc ttcaaaggtc ctaggacctt tttttcatt
2280
gatgcatgac acagcaattc tctcatacat atacagctgg agccatgttt acttwctttg
2340
ttgatggctt attccatgga ggctggggcc aggggkgtg tctgatttgt tgatattggt
2400
t
1

240

<210> 57
<211> 305
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 57
Met Asp Glu Thr Ile Pro Gly Ser Ile Asp Ile Ser Thr Leu Ile Pro
1 5 10 15
His Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Met Thr Gly Asn Ala
20 25 30
Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe Arg Leu Arg Lys Asn Ala Phe Ser
35 40 45
Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys
50 55 60
His Ile Ile Ala Ser Thr Leu Phe Leu Leu Lys Val Ser Tyr Pro Asn
65 70 75 80
Ile Ile Phe Arg Arg Cys Phe Phe Ser Ile Met Leu Val Leu Tyr Ile
85 90 95
Ala Gly Leu Ser Ile Leu Ser Ala Ile Gly Thr Glu Arg Cys Leu Ser
100 105 110
Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro Glu His Thr Ser
115 120 125
Thr Val Thr Cys Ala Met Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Ser Ile
130 135 140
Leu Asn Lys Tyr Phe Cys Val Phe Leu Asp Thr Lys Tyr Val Asn Asp
145 150 155 160
Tyr Gly Cys Met Ala Ser Asn Phe Phe Thr Ala Ala Tyr Leu Met Phe
165 170 175
Leu Phe Val Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu
180 185 190
Phe Cys Gly Ala Gly Arg Met Lys Leu Thr Arg Leu Tyr Val Thr Ile
195 200 205
Met Leu Thr Ile Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Cys Gly Ile
210 215 220
Tyr Trp Phe Leu Leu Ser Lys Ile Lys Asn Val Phe Ile Val Phe Asp
225 230 235 240
Phe Ser Leu Phe Met Ala Ser Ser Val Leu Thr Ala Leu Asn Ser Cys
245 250 255
Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu
260 265 270
Gln His Gln Thr Leu Lys Met Val Ile Gln Ser Ala Leu Gln Asp Ile
275 280 285

Pro Glu Thr Pro Glu Asn Ile Val Glu Met Ser Lys Ser Lys Ala Glu
290 295 300

Pro
305

<210> 58
<211> 2110
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 58
agaggtgtaa gtgggtatgt ggggtgagga acacccttca tagaagcagg gggagggagg 60
atgagatggg gttttctggg aaggggcaaa agcaggaaag tggataacat ttgtaattta 120
aataaagaaa atatccaata caaaaaatth aaaaaaaaaa acacaaaacc acacaaaaaa 180
aagacaaaaa aaaagaaatt aaaagtgtg ttcatagtta atgcctcatt tttctttgtg 240
ttcccagcaa aaccagtgca gggtttctgg ccctaaacac cttcagcctt ttcaatggca 300
cccaacgaca accaatacaa tggacgaaac catccctgga cgtattgaca tcgagaccct 360
gatcccaaac ttgatgatca tcatcttcgg actggctggg ctgacaggaa atggcattgt 420
gttctggctc ctgggcttcc gcatgcacag gaatgccttc ttagtctaca tcctaaactt 480
ggccctgggt gactttctct tccttctctg tcacateatt aattccacaa tgcttctct 540
caaggttctc ccaactcaact ggatscttgt tccattgctt taacaccatc agaacggttc 600
tatacatcac aggcctgagc atgctcagcg ccacacac tgagcgtgc ctgtctgtcc 660
tgtgccccat ctgggtatcga tgccgtcgcc gagaaaacac atcagctgtc atgtgtgtc 720
tgatctgggt cctgtccctg ttgatctgta ttctgaatag ttatttctgt tattactctg 780
gtcccaaaga tgtaaataac tctgtgtgtc tggatcgaa attcttcatc agtacatacc 840
caatgttttt gttttagtc ctctgtctgt ccaccctgac tctgctggcc aggttgttct 900
gtgggtctgg gaagagggaaa tttaccagat tattcgtgac catcactctg accattttgg 960
ttttcttct gtgtgggttg cccctgggct tctactggtt cctgttacac tgtattaagg
1020
gtagtttcag tgtactacat aatagacttt ttcaggeatc acttgtccta acttctgtta
1080
acagctgtgc caaccccatc atttacttct togtgggctc cttcagggat cgggtgaagc
1140
accagaccct caaaatggta ctccagaatg cactgcagga cactcctgag acacctgaaa
1200
acaaggtgga gatgtcaaga agtaaagcag agccatgatg aagagactcg gccaggacct
1260
cagaggttagc tttggagtsa gwactgcctt gctrcacttg accactgtcc actctctct
1320
cagcttacts acttyggatg cctcagtggt ccaacaacac cttcaaawgc tctccactga
1380
cttagtattt atacctctcc caagtaatag cattaatcag aaagtatcat gtctgcatcc
1440
ttcttgacat taatccaatt ctcatactaa cttcatctga aactttcttg atgttccttt
1500
ggaacttttg ttgccatggt aatagccyag gtccagcacc atgactctct tgtctgtgat
1560
tkttctgtac ctgaatgtaa agtcaaagga gccaggagat gatcctgtgt cacagtgtc
1620
attaccaaa caccaccaac agagcttgtc tcccaggagt gcagacacgc ctgtgaacac
1680
aggtaagacc accacttctg cttaaaggga catgcctgga accctcagaa cacaggaaga
1740
aaagagcagc cttggacagg atacttccag tttccaactg caccocggag ctgaccctgt
1800
gccacagctc tccataccca aattcctccc agaaagaacy ggtcwaccaa gagtactgac
1860
acayaggctt gcaggagggg caagccacmg tcagagatag caaggaccag ctaacaccag
1920
agataaccag atggcaagag gcaagggcaa aatatataagc aatgggaacc aagactattt
1980
ggcatcatca gaacctagt tctctcaacat ggtgagccat ggctactcca acagacaaga
2040
aaagcatgac tctgatttaa tgtcacagat gatgatgatg atgatgatga tgatgatgat
2100

gatgatgatg
2110

<210> 59
<211> 305
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 59
Met Asp Glu Thr Ile Pro Gly Arg Ile Asp Ile Glu Thr Leu Ile Pro
1 5 10 15
Asn Leu Met Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Gly
20 25 30
Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met His Arg Asn Ala Phe Leu
35 40 45
Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys
50 55 60
His Ile Ile Asn Ser Thr Met Leu Leu Leu Lys Val Leu Pro Pro Thr
65 70 75 80
Gly Ser Leu Phe His Cys Phe Asn Thr Ile Arg Thr Val Leu Tyr Ile
85 90 95
Thr Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser
100 105 110
Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Arg Arg Arg Glu Asn Thr Ser
115 120 125
Ala Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile
130 135 140
Leu Asn Ser Tyr Phe Cys Tyr Tyr Ser Gly Pro Lys Asp Val Asn Asn
145 150 155 160
Ser Val Cys Leu Val Ser Lys Phe Phe Ile Ser Thr Tyr Pro Met Phe
165 170 175
Leu Phe Val Val Leu Cys Leu Ser Thr Leu Thr Leu Leu Ala Arg Leu
180 185 190
Phe Cys Gly Ala Gly Lys Arg Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile
195 200 205
Ile Leu Thr Ile Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Leu Gly Phe
210 215 220
Tyr Trp Phe Leu Leu His Cys Ile Lys Gly Ser Phe Ser Val Leu His
225 230 235 240
Asn Arg Leu Phe Gln Ala Ser Leu Val Leu Thr Ser Val Asn Ser Cys
245 250 255
Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Asp Arg Val
260 265 270
Lys His Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Asn Ala Leu Gln Asp Thr
275 280 285
Pro Glu Thr Pro Glu Asn Lys Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu
290 295 300
Pro
305

<210> 60
<211> 740
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 60
cagggtttct ggcctaaac acctcagcct cggcaatgac acccagcaca aacaattcaa 60
tggacgaaac catccctgga agtattggca ctgagaccct gattcaaaac ttgatgatca 120
tcattctcgg actggctcgg ctgacaggaa atgccattgt gttctggetc ctgggcttcc 180
acttgcacag gaatgccttt ttagtctaca tctaaactt ggcoctggct gatttctct 240
tccttctctg tcacatcata gattccacag tgtttcttct caagggtccc ccaccaacc 300
ggatcttggc ccattgcttt aacatcatca gaattgtaact ctacatcaca ggcttgagca 360
tgctcagtgc catcagcatg gagcgtgcc tgtctgtcct gtgccccatc tggatcgct 420
gccgcgccc agaaaacaca tcaactgtca tttgtgctgt gatctggatc ctgtccctgt 480
tgttctgcat tctgaatgga tatttctggt atttctctgg tcccaactat gtaaagact 540

atgtgtgttt tgcacatggac atctttatca gaacataccc aatgtttttg tttgtagtcc 600
 tctgtctgtc cactctggct ctgctggcca ggttgttctg tggctgctggg aagacgaaat 660
 ttaccagatt attcgtcacc atcatactga ccgtttttgg ttttcttctc tgtgggttgc 720
 ccctgggctt cttctggttc 740

<210> 61
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 61
 Met Asp Glu Thr Ile Pro Gly Ser Ile Gly Thr Glu Thr Leu Ile Gln
 1 5 10 15
 Asn Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala
 20 25 30
 Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe His Leu His Arg Asn Ala Phe Leu
 35 40 45
 Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys
 50 55 60
 His Ile Ile Asp Ser Thr Val Phe Leu Leu Lys Val Pro Pro Pro Asn
 65 70 75 80
 Arg Ile Leu Val His Cys Phe Asn Ile Ile Arg Ile Val Leu Tyr Ile
 85 90 95
 Thr Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Met Glu Arg Cys Leu Ser
 100 105 110
 Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Arg Arg Pro Glu Asn Thr Ser
 115 120 125
 Thr Val Ile Cys Ala Val Ile Trp Ile Leu Ser Leu Leu Phe Cys Ile
 130 135 140
 Leu Asn Gly Tyr Phe Cys Tyr Phe Ser Gly Pro Asn Tyr Val Asn Asp
 145 150 155 160
 Tyr Val Cys Phe Ala Ser Asp Ile Phe Ile Arg Thr Tyr Pro Met Phe
 165 170 175
 Leu Phe Val Val Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu
 180 185 190
 Phe Cys Gly Ala Gly Lys Thr Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile
 195 200 205
 Ile Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Leu Gly Phe
 210 215 220
 Phe Trp Phe
 225

<210> 62¹
 <211> 1979
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 62
 aatacacaata attaaaaaca acaacaacaa caacacgccc cacaaaaaaa gaaaacaaaa 60
 acaaaaaaga aattaaaagt tgtggtcata gtaaaggcct cacttcttct tttgtttccc 120
 agcaacacca gtgcagggtt tctggcccga aacacctcag cctcgacaat gacaccaca 180
 acaacaaatc caatgaacga aacctccct ggaagtattg acatcgagac cctgatacca 240
 aacttgatga tcatcatctt cggactggtc gggctgacag gaaatgccaat tttgttctgg 300
 ctctgggct tccgcatgca caggactgcc ttctcagtct acatcctaaa cttggccctg 360
 gctgacttec tcttcttct ctgtcacatc ataaattcca cagtgttct tctccagggt 420
 tccccaccca acagtacctt ggtccattgc tttgacacca tcagaatggt tctotacatc 480
 gcaggcctga gcatgctcag tgcattagc actgagcact gcctgtctgt cctgtgccc 540
 atctggatc gctgccgccc cccagaacat acttcaactg tcatgtgtgc tttgatctgg 600
 gtcctgtccc tgttgatctg cattotaagt ggatatttct gtaatttttt tcttcacaaa 660
 tatgtatatt actctgtgtg tgggcatctg gaattctgta tcggaacata cccgatgtt 720
 tttgttttgt agtctctgt ctgtccacc tggctctgct ggtcaggttg ttctgtggtg 780
 ctgggaaggc aaaatttacc agattattcg tgaccatcat gctgactgtt ttgtttttc 840
 ttctctgtgg gttgcccctg ttttcttct ggttctctgt agtctggatt aagcgtcctc 900
 tcagtgtact aaatattaca ttttattttg catccattgt cctaactgtt gtaaacagct 960
 gtgccaacc catcatttac ttcttctgtg gctccttcag gcatcggttg aagcaacaga

1020
 acctcaaaat ggttctccag aatgcaactgc aggacactgc tgagacacct gaaaacgtgg
 1080
 cagagatttc aagaagcaaa gcagagccct gatgaggagc ctctgcctgg acctcagagg
 1140
 tggctttggc actgagcaact gccctgctgc acttgccac tgtccactct cctctcagct
 1200
 tactgactgg caataactca gtggtacaac aacaccttca aaagctcacc actgacttag
 1260
 tatttctacc tatcccaagt aatagcatta atcagaaagt atcatgtctg catccttcta
 1320
 gacattattc aaattctcat ccaacttcat ctgaaacttt ctgctattt ctttggaaaca
 1380
 ttttttgcca tggtaatagc ccaggtccag catcatgect ctcttacctt tgattgttct
 1440
 gtacctgaat gtaaagaaaa aggagagaga agatgatcct ctgtcacagt gtcattacc
 1500
 caagcaccac taagagagct tgtctccag gattgcagac aaacctgtga gcacaggtaa
 1560
 gactaccact tctgcttaaa ggggcatgcc tggaaaccac aggacacagg taaagaggag
 1620
 cagcctgaga aaggataactt tccagtttcc aactgcaccc tggagctgac cctgtgccac
 1680
 agctctcccc accttaattc ttcccagaaa gaactggtct mccaggaagt actgacacat
 1740
 agccttgacg gaggtacaag acaactgtcac agatagcaag accagctaac accagagata
 1800
 accagatggc aagaggcaag ggcacaaaaca taagcaatgg gaaccaaggc tacttgcat
 1860
 catcagaacc tagttctctc aacaaagtga gccctggata ctccaacaca caagaaaagt
 1920
 atgactgtga ttaaaagtca ccgatgatga tgatgatgat gatgatgatg atgatgatg
 1979

<210> 63
 <211> 305
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 63
 Met Asn Glu Thr Ile Pro Gly Ser Ile Asp Ile Glu Thr Leu Ile Pro
 1 5 10 15
 Asn Leu Met Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala
 20 25 30
 Ile Val Phe Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met His Arg Thr Ala Phe Ser
 35 40 45
 Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys
 50 55 60
 His Ile Ile Asn Ser Thr Val Leu Leu Leu Gln Val Ser Pro Pro Asn
 65 70 75 80
 Ser Thr Leu Val His Cys Phe Asp Thr Ile Arg Met Val Leu Tyr Ile
 85 90 95
 Ala Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu His Cys Leu Ser
 100 105 110
 Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Arg Arg Pro Glu His Thr Ser
 115 120 125
 Thr Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile
 130 135 140
 Leu Ser Gly Tyr Phe Cys Asn Phe Phe Leu His Lys Tyr Val Tyr Tyr
 145 150 155 160
 Ser Val Cys Arg Ala Leu Glu Phe Cys Ile Gly Thr Tyr Pro Met Phe
 165 170 175
 Leu Phe Val Val Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Val Arg Leu
 180 185 190
 Phe Cys Gly Thr Gly Lys Ala Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile
 195 200 205

Met Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Leu Cys Phe
 210 215 220
 Phe Trp Phe Leu Val Val Trp Ile Lys Arg Pro Leu Ser Val Leu Asn
 225 230 235 240
 Ile Thr Phe Tyr Phe Ala Ser Ile Val Leu Thr Val Val Asn Ser Cys
 245 250 255
 Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu
 260 265 270
 Lys Gln Gln Asn Leu Lys Met Val Leu Gln Asn Ala Leu Gln Asp Thr
 275 280 285
 Ala Glu Thr Pro Glu Asn Val Ala Glu Ile Ser Arg Ser Lys Ala Glu
 290 295 300
 Pro
 305

<210> 64
 <211> 1485
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 64
 aacaacacaa aaccctgaaa aaaaaaaga aattaaagt ttgttcata gtaaaggcct 60
 catttcttct ttgtgttcac agcaacatca gtgcacgggt aatggcaata aacacctcag 120
 cctcggcaat ggcacccaag acaacaaatc caaagggaag caaacaatcc ctgggaagta 180
 ttgacatcga gaccctgatc tcaaaactga tgatcatcat ttctgggctg gtagggctgc 240
 caggaatgc cattgtgttc tggctoctgg gcttctgctt gcacaggaat gccttcttag 300
 tctacatcct aaacttggcc ctggctgacg tcctcttctt tctctgtcac atcataaatt 360
 ccacagtgtc tcttctcaag gttccccac ccaacggtaa tattggtcca ttgcttcaac 420
 atcatcagaa ttgttctcta catcacaggc ctgagcatgc tcagtgccat catcaactgag 480
 cgctgcctgt ctatcctgtg ccccatctgg tatcgcctgc accgccaga acacacatca 540
 actgccaatgt gtgctgtgat ctgggtcctg tctctgttga tctgcattct tggaagaata 600
 tttctgtaat ttttctctc acaaatatgt aaattactct gtgtgtcttg cattggactc 660
 ctttatogga acatacccaa tgttttggct tgtagtctct tgtctgtcca ccatggctct 720
 gctggccagg ttgttctgtg gttctgggaa gacgaaattt accagattat ttgtgacct 780
 catgcttacc gtttgggtt ttctctctct ctgggttgc cctgggctt ctctcgggtc 840
 ctgttactct ggattaaggg tgcttacagt gtactagggt atagatttta ttttgcata 900
 attgtcctaa ctgctgttaa cagctgtgcc aaccccatca ttacttctt catgggctca 960
 ttcaggcaac gattgcagca caagacctc aaaatcgttc tccagagtgc actgcacgac
 1020
 actcctgaga cacctgaaaa catggtggag atgtcaagaa gcaaagcaga gccataatga
 1080
 agagcctctg cctggacctc agaggtggat ttggagtgc aactgcccta cgcttgacca
 1140
 ctgtccactc tcctctcagc ttactgactt tggatgccta agtggtccaa caacaacttc
 1200
 aaaatctctc cactgactta gtatttatac ctctccaag taatagcatt aatcagaaag
 1260
 tatcatgtct gcatccttct tgacattaat ccaattctca tactaacttc atctgaaact
 1320
 ttcttgctgt ttctttggaa cttttgttgc catagtaata gccagatcc agcaccatga
 1380
 ctcaattgtc tgtgattatt ctgtacctga atgtaaagaa aaaggcagga gatgatcctg
 1440
 tatcacagtg ctcatcac aaacaccacc aagaaagctc gtctc
 1485

<210> 65
 <211> 300
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 65
 Gly Ser Ile Asp Ile Glu Thr Leu Ile Ser Asn Leu Met Ile Ile Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Leu Val Gly Leu Pro Gly Asn Ala Ile Val Phe Trp Leu Leu

		20						25				30			
Gly	Phe	Cys	Leu	His	Arg	Asn	Ala	Phe	Leu	Val	Tyr	Ile	Leu	Asn	Leu
		35					40					45			
Ala	Leu	Ala	Asp	Val	Leu	Phe	Leu	Leu	Cys	His	Ile	Ile	Asn	Ser	Thr
	50					55					60				
Val	Leu	Leu	Leu	Lys	Val	Pro	His	Pro	Thr	Val	Ile	Leu	Val	His	Cys
	65				70					75					80
Phe	Asn	Ile	Ile	Arg	Ile	Val	Leu	Tyr	Ile	Thr	Gly	Leu	Ser	Met	Leu
				85					90					95	
Ser	Ala	Ile	Ile	Thr	Glu	Arg	Cys	Leu	Ser	Ile	Leu	Cys	Pro	Ile	Trp
				100				105					110		
Tyr	Arg	Cys	His	Arg	Pro	Glu	His	Thr	Ser	Thr	Ala	Met	Cys	Ala	Val
		115					120					125			
Ile	Trp	Val	Leu	Ser	Leu	Leu	Ile	Cys	Ile	Leu	Gly	Lys	Tyr	Phe	Cys
	130					135					140				
Asn	Phe	Phe	Leu	His	Lys	Tyr	Val	Asn	Tyr	Ser	Val	Cys	Leu	Ala	Leu
	145				150					155					160
Asp	Ser	Phe	Ile	Gly	Thr	Tyr	Pro	Met	Phe	Leu	Leu	Val	Val	Leu	Cys
				165					170					175	
Leu	Ser	Thr	Met	Ala	Leu	Leu	Ala	Arg	Leu	Phe	Cys	Gly	Ser	Gly	Lys
			180					185						190	
Thr	Lys	Phe	Thr	Arg	Leu	Phe	Val	Thr	Ile	Met	Leu	Thr	Val	Leu	Val
	195						200					205			
Phe	Leu	Leu	Cys	Leu	Gly	Leu	Pro	Leu	Gly	Phe	Phe	Trp	Phe	Leu	Leu
	210					215						220			
Leu	Trp	Ile	Lys	Gly	Ala	Tyr	Ser	Val	Leu	Gly	Tyr	Arg	Phe	Tyr	Phe
	225				230					235					240
Ala	Ser	Ile	Val	Leu	Thr	Ala	Val	Asn	Ser	Cys	Ala	Asn	Pro	Ile	Ile
			245						250					255	
Tyr	Phe	Phe	Met	Gly	Ser	Phe	Arg	Gln	Arg	Leu	Gln	His	Lys	Thr	Leu
			260					265					270		
Lys	Ile	Val	Leu	Gln	Ser	Ala	Leu	His	Asp	Thr	Pro	Glu	Thr	Pro	Glu
	275						280					285			
Asn	Met	Val	Glu	Met	Ser	Arg	Ser	Lys	Ala	Glu	Pro				
	290					295					300				

<210> 66
 <211> 1518
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 66
 aacaacaaaa aaaaaaaca gaaaagaaa ttaaaagttg tgtccatagt gaaggcctca 60
 tttcttcttt gtgtttccag caacaccagt gcagggtttc tggacctaaa cacctcagcc 120
 tcggcaatag caccacaac aaccaaacca atggacgaaa ccatccctgg aagtattgac 180
 actgagacc tgtatccaac acttgatgat catcatcttc ggactggctg ggctgacagg 240
 aaatggcatt gtgttggtgc tcctgggctt ccacttgcaa aggaatgcct ttttagtcta 300
 catcctaaac ttggccctag ctgacttcct ctaccttctc tgtcacatca tagattccac 360
 aatgcttctt ctcaaggttc ccccacccaa ctggatcttg gtccattgct ttaggacct 420
 ccaaattttt ctctacatca caggcctgag catgctcagt gccatcagca cagagcgtg 480
 cctgtctgtc ctgtgcccc tctggatctg ctgccgccgc ccagaaaaca catcaactgt 540
 gatgtgtgct gtgatctggg tcctgtcctt gttgatctgc attctgcatg gatatttttc 600
 tgttatttct ctgggtctcag ttatgaaaat tactctgtgt gttttgcatc agcgatcatt 660
 atcagttcat acccaacgtt tttgcttcta gtcctctgtc tgtccacct ggctctgctg 720
 gccaggttgt tctgtgtgct tgggaagagg aaattttcca gattattcgt gaccatcata 780
 cttaccgttt tggtttttct tctctgtggg ttgccctggg gagccctctg gttccatta 840
 ctctggattc aggggtggtt ctggaaaaga cttttcagg catcaattgt cctatcttct 900
 gttaacagct gtgccaacc catcatttat ttcttctgtg gctcattcag gcatogattg 960
 aagcaccaga cccttaaaat ggttctccag aatgcaactg aggacactcc tgagacaact
 1020
 gaaaacatgg tggagatgct aagaagtaaa gcagagccat gatgaagagc ctctgcctgg
 1080
 acctcagagg tggatttggg gtgagcactg ccctgctgca cttgaccact gtccactctc
 1140
 ctctcagctt actgacttgg aatgcctcag tgggtccaaa acaccttcaa aagctctcca

1200
 ctgactaagt atttctacct atcccaagta atagcattaa tcagaaagta ccatgtctgc
 1260
 atccttcttg acattaatca aattctctta ctatcttcat ctgaaacttt cttgttgttt
 1320
 ctttggaaact tttgttgcca tggtaatagc ccaagtcag caccatgact ttcttatctg
 1380
 tgattgttct atacctgaat gtaaaggcaa aggagccagg agatgatcct gtgttacagt
 1440
 gctcattacc caaacaccac caagagagct tgtctcccag gaggcagac acgcctgtga
 1500
 acacaggtaa gaccacca
 1518

<210> 67
 <211> 303
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 67
 Met Asp Glu Thr Ile Pro Gly Ser Ile Asp Thr Glu Thr Leu Tyr Pro
 1 5 10 15
 Asn Leu Met Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Gly
 20 25 30
 Ile Val Leu Trp Leu Leu Gly Phe His Leu Gln Arg Asn Ala Phe Leu
 35 40 45
 Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Tyr Leu Leu Cys
 50 55 60
 His Ile Ile Asp Ser Thr Met Leu Leu Leu Lys Val Pro Pro Pro Asn
 65 70 75 80
 Trp Ile Leu Val His Cys Phe Arg Thr Ile Gln Ile Phe Leu Tyr Ile
 85 90 95
 Thr Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser
 100 105 110
 Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys Arg Arg Pro Glu Asn Thr Ser
 115 120 125
 Thr Val Met Cys Ala Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile
 130 135 140
 Leu His Gly Tyr Phe Cys Cys Tyr Phe Ser Gly Leu Ser Tyr Glu Asn
 145 150 155 160
 Tyr Ser Val Cys Phe Ala Ser Ala Ile Ile Ile Ser Ser Tyr Pro Thr
 165 170 175
 Phe Leu Leu Val Val Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg
 180 185 190
 Leu Phe Cys Gly Ala Gly Lys Arg Lys Phe Ser Arg Leu Phe Val Thr
 195 200 205
 Ile Ile Leu Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Trp Gly
 210 215 220
 Ala Leu Trp Phe Pro Leu Leu Trp Ile Gln Gly Gly Phe Trp Lys Arg
 225 230 235 240
 Leu Phe Gln Ala Ser Ile Val Leu Ser Ser Val Asn Ser Cys Ala Asn
 245 250 255
 Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg His Arg Leu Lys His
 260 265 270
 Gln Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Asn Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu
 275 280 285
 Thr Thr Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu Pro
 290 295 300

<210> 68
 <211> 1500
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 68

ctttttcgga ctggctcggc tgacaggaaa taccattgtg ttctggctcc tgggcttctg 60
 cttgcacagg aatgcctttt tagtctacat cctaaacttg gccctggctg acttccctct 120
 ccttctctgc cacatcataa attccacagt acttcttctc aagggtcccc taccoaactg 180
 gatcttggtc catttgctta acaccatcag aattgttctt tacatcacag gcoctgaacat 240
 gctcagtgcc atcaacatgg agcactgcct gtctgtcctg tgccccatct ggtatcactg 300
 ctgcccgcga gaacacacat caactgtcat gtgtgctgtg atctgggtcc tgtccctgtt 360
 gatctgcatt ctgaatgaat atttctgtga tttctttggg accaaattgg taaattacta 420
 tgtgtgtctg gcatcgaact tctttatggg agcatacctg ttgtttttgt ttgtagtctt 480
 ctgtctgtcc accctggctc tgctggccag gttgttctgt ggtgctggga atacgaaatt 540
 taccagattt cacatgacca tcttgtgtac ccctttgttc tttctcctct gcgggttgcc 600
 ctttgccatc taatgcttcc tgttattcaa gattaaggat gatttccatg tattttatat 660
 taaccttttt ctagcattag aagtccctgac ttctattaac agctgtgaca accccatcat 720
 ctatttcttc ctggactcct tcagacatca ggagaagcac cagaccctca aaatggttct 780
 ccagagtgca ctgcaggata ctcytgagac acctgaaaac atggcagaga tgtcaagaag 840
 caaagcagag ccgtgatgaa gagcctctgc ctggatgtca gaggtggctt tggagtggc 900
 actgccctgc tgcacttgac cactgtcaac tctactctca gcttactgac ttgtcatgcc 960
 tcagtgggtc aacaacacct tcaaaagctc tccactgact tagtattttt acctctccca
 1020
 agtagtagca ttaatcagaa agtatcatgt ctgcacctt cttgacatta ttcaaatctt
 1080
 catctaaact catctgaaac tttctcccta tttctttgga acttttgttg ccatggkaat
 1140
 agcccagatc cagcaccatg actctcttct ctgtgattgt totgaacctg aatgtaaaga
 1200
 caaaggagag agaagatgat cctgtgtcac agtgtctatt acccaagcac cgccaagaga
 1260
 tcttgtctcc caggagtgca gacaagcctg tgcgcaactg taagaccacc acttttgcct
 1320
 aaaggacat gcctggaact ttcaagacag agtaacagag gagcaccctg gaacaggata
 1380
 cttccagttt ccaactgcac accggagctg accctatgca acagctctcc ataccoaact
 1440
 tcttcccaca aagaactggt gctaccagga gtactgacac acaggttttc aggaaggaca
 1500

<210> 69
 <211> 283
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 69
 Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Thr Ile Val Phe Trp Leu
 1 5 10 15
 Leu Gly Phe Cys Leu His Arg Asn Ala Phe Leu Val Tyr Ile Leu Asn
 20 25 30
 Leu Ala Leu Ala Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys His Ile Ile Asn Ser
 35 40 45
 Thr Val Leu Leu Leu Lys Val Pro Leu Pro Asn Trp Ile Leu Phe His
 50 55 60
 Cys Phe Asn Thr Ile Arg Ile Val Leu Tyr Ile Thr Gly Leu Asn Met
 65 70 75 80
 Leu Ser Ala Ile Asn Met Glu His Cys Leu Ser Val Leu Cys Pro Ile
 85 90 95
 Trp Tyr His Cys Cys Arg Pro Glu His Thr Ser Thr Val Met Cys Ala
 100 105 110
 Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Ile Leu Asn Glu Tyr Phe
 115 120 125
 Cys Asp Phe Phe Gly Thr Lys Leu Val Asn Tyr Tyr Val Cys Leu Ala
 130 135 140
 Ser Asn Phe Phe Met Gly Ala Tyr Leu Leu Phe Leu Phe Val Val Leu
 145 150 155 160
 Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys Gly Ala Gly
 165 170 175
 Asn Thr Lys Phe Thr Arg Phe His Met Thr Ile Leu Leu Thr Pro Leu
 180 185 190

Phe Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Phe Ala Ile Cys Phe Leu Leu Phe
 195 200 205
 Lys Ile Lys Asp Asp Phe His Val Phe Tyr Ile Asn Leu Phe Leu Ala
 210 215 220
 Leu Glu Val Leu Thr Ser Ile Asn Ser Cys Asp Asn Pro Ile Ile Tyr
 225 230 235 240
 Phe Phe Leu Asp Ser Phe Arg His Gln Glu Lys His Gln Thr Leu Lys
 245 250 255
 Met Val Leu Gln Ser Ala Leu Gln Asp Thr Pro Glu Thr Pro Glu Asn
 260 265 270
 Met Ala Glu Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu Pro
 275 280

<210> 70
 <211> 2504
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 70
 gtgtgtgcct tggtttttat tgcttatgtt tttgtccttg catcttgcca tctggttatc 60
 tctggtatta gctggctctg atgtctctga ttgtccttgt ccctcctgca agcctgtgtg 120
 tcatttctcc tgggagacca gttatttcta gaagaaatth aggtatgggg agttgtggca 180
 cagggtcagc occagggtgc agatgaaaac tgggaaggatc ctgtcccagg tcgctcctct 240
 atttctgtgt cctgcgggtt ctgggcatgt ccctttgagc agaagtgttg gtcttacctg 300
 tgctcacagg ctgtctgca ctgtggcaca agatcatctc ctggctcctt tgtctttaca 360
 ttcaggtaca gamcaatcmc cagacaagag agtcatgctt ctggacttgg gctatttcca 420
 tggcaacaaa agttccaaag aaacamcaag aaaggttcag aggaagttag catgagaatt 480
 tgattaatgt cataaaggat gcagacatga tactttctga ttaatgatat tactcgagag 540
 aggtagaaaa tctaagtcag tggagagctt ttgaagatgt tggtgacca ctgaggcatg 600
 tcaagtcagt cagcggagag cagagtggac agtgataaag tgcagcaggg cattcttcac 660
 tccaaagcca cctctgaggt ccaggcagag gctcttcac atggctctgc tttacttctt 720
 gacatcccca ccatgttttc aggtgtctca ggagtgtcct acattgtcct ctggagaacc 780
 attttcagtg tctgggtgctg caaccgaagc ctgaaggagc ccgtgaagaa gtaaagtatg 840
 gagttggcac aactgttaat agcagtcag acaagtgatt ccagataaaa tacaagagta 900
 aatacatgaa aagcatcctt aatcttgcac aacagaaacc agtagatgcc aaagttcaat 960
 ctgcaaagga gaaaaccaga gcagtcagca ggatggtcac atactatctg gtaagcttca
 1020
 tttgcccac atcacagaac aacctggcca gcagagccag gctggaaaga cagagatcca
 1080
 caaacaaaac atcaggtatg cagaagtaaa gaagttcaat gccagacacc cattgtcatt
 1140
 ttcataattg ctatgtaaga aacctcagaa ataactattc agaatgcaga tcaacagggg
 1200
 cagtaccag atcacagcac acatggcagc tgatgtatgt tctgggtggt gacagcaatc
 1260
 ccagatgggc acagtacaga caggcogtgc tcagtgtctga tggcagtgag catgctcagg
 1320

attcctccac ccactccac ctctctgcc tctattgcc tacactgggg caactatcaa
 1920
 gccttcacag atccatagaa ctcttctccc atttattcat gacagggcca tctctgcta
 1980
 catatgcagc tggagccatg tgtacttctt tgctgatggc ttgtcccctg ggtgctgggg
 2040
 gattgggtact ggttggttga tattgttttt cttacctatg ggcttgcaaa ccccttcaac
 2100
 tcccttagtc ctttctctaa ttcttctatt agggaccctg ttctcagtct aatggctgga
 2160
 tgctaacatc tgcctctgta ttgttaaggc tctgacagtg cctctcaaga aacagccata
 2220
 ttaggtcctt gtcagcatgc acttcttgca atccacaata gtgtctgggt ttgtaactg
 2280
 tatatggtagc gaatccccag gtgggacagt gtctgtgtga tctttccttt agtctttgct
 2340
 ctagacttta tctccataaa aagtattttg ttctccttct aaaaagcact gaagcaccca
 2400
 ctctttggtc tttcttcttc atggacttca tgtggtctgt gaattttaac ctggttattt
 2460
 ttcagttttt gagctcctat tcacttatca gtgagtgcac acca
 2504

<210> 71

<211> 301

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 71

Met	Asp	Lys	Thr	Ile	Pro	Gly	Gly	Ile	Asn	Ile	Arg	Ile	Leu	Ile	Pro
1			5					10						15	
Asn	Leu	Ile	Thr	Ile	Ile	Phe	Gly	Leu	Val	Gly	Leu	Thr	Gly	Asn	Ser
			20					25					30		
Ile	Val	Phe	Trp	Ile	Leu	His	Phe	Pro	Leu	Arg	Arg	Asn	Ala	Phe	Lys
		35					40					45			
Val	Tyr	Ile	Leu	Asn	Leu	Asp	Leu	Ala	Asp	Phe	Phe	Phe	Leu	Leu	Gly
	50			55						60					
His	Thr	Ile	Asp	Ser	Ile	Leu	Leu	Leu	Leu	Asn	Val	Phe	Tyr	Pro	Ile
65				70						75				80	
Ile	Phe	Ile	Leu	Cys	Phe	Tyr	Ile	Ile	Met	Met	Val	Leu	Tyr	Ile	Ala
			85						90					95	
Gly	Leu	Ser	Met	Leu	Thr	Ala	Ile	Ser	Thr	Glu	His	Gly	Leu	Ser	Val
			100					105					110		
Leu	Cys	Pro	Ile	Trp	Asp	Cys	Cys	His	His	Pro	Glu	His	Thr	Ser	Ala
		115						120				125			
Ala	Met	Cys	Ala	Val	Ile	Trp	Val	Leu	Ser	Leu	Leu	Ile	Cys	Ile	Leu
	130					135					140				
Asn	Ser	Tyr	Phe	Gly	Phe	Leu	His	Ser	Lys	Tyr	Glu	Asn	Asp	Asn	Gly
145				150						155				160	
Cys	Leu	Ala	Leu	Asn	Phe	Phe	Thr	Ser	Ala	Tyr	Leu	Met	Phe	Leu	Phe
			165						170					175	
Val	Asp	Leu	Cys	Leu	Ser	Ser	Leu	Ala	Leu	Leu	Ala	Arg	Leu	Phe	Cys
			180					185					190		
Asp	Val	Gly	Gln	Met	Lys	Leu	Thr	Arg	Tyr	Val	Thr	Ile	Leu	Leu	Thr
	195						200					205			
Ala	Leu	Val	Phe	Leu	Leu	Cys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Ile	Tyr	Trp	Phe
	210					215					220				
Leu	Leu	Cys	Lys	Ile	Lys	Asp	Ala	Phe	His	Val	Phe	Thr	Leu	Val	Phe
225					230					235					240
Tyr	Leu	Glu	Ser	Leu	Val	Met	Thr	Ala	Ile	Asn	Ser	Cys	Ala	Asn	Ser
			245						250					255	
Ile	Ile	Tyr	Phe	Phe	Thr	Gly	Ser	Phe	Arg	Leu	Arg	Leu	Gln	His	Gln
			260					265					270		
Thr	Leu	Lys	Met	Val	Leu	Gln	Arg	Thr	Met	Asp	Thr	Pro	Glu	Thr	Pro
		275					280					285			
Glu	Asn	Met	Val	Gly	Met	Ser	Arg	Ser	Lys	Ala	Glu	Pro			

290 295 300

<210> 72
 <211> 2758
 <212> DNA
 <213> *Mus musculus*

<400> 72
 aatititgtg tttcctcttt aagggttct accaatttat ctgtgttctc ctgtattatt 60
 ttaagggagt tatttatgtc tttcttaatg tcctctatca tcatcatcat catccttatt 120
 attttcatca tcatcaccag aggtgacttt aaatcagagt catgcttttc tgggtgtgtg 180
 gagtatccag ggctcacat gttgagagaa ctaggttctg atgatgcaa gtagccttgg 240
 ttcccattgc ttatgttttt gcccttgcct cttgccatct gattatctct ggagtaagct 300
 ggtcttgctc tctctaactg tggcttgtcc ctccctgcaag cctatgtgtc agtactcctg 360
 gtagaccagt tctttctggg agaaatttgg gtatggagag ctgtggcaca gggtcagctc 420
 cgggtacag ttggaaactg gaagtatcct gtcccaggct gctcctctgt tcctgtgtcc 480
 tgaggattcc aggcattgtc atttaagcag aagtgggtgt cttacctatg ttcacaggca 540
 tatctgcact cctgggagac aagctttctt ggtgtgtgtt gggtaatgag cactgggaca 600
 caggaacatc tcttggctcc tttgtcttta catttgggta cagaacaatc acagacaaga 660
 gagtaattgt gctgaacctc agctattacc atggcaacaa aagttccaaa gaaacagcaa 720
 gaatgtttca gatgaagtta gtatgagaat tggattaatg tcaggaagga tgcagacatg 780
 gtactttctg attaattgcta ttacttggga gaggtagaaa tactaagtca gtggagagct 840
 tttgaagggt ttggttgacc actgaggaat gccaaagtca taagctgaga ggaaagtga 900
 cagtgttcta gtgcagcatg gcagtgtcct ctccaaagcc acctctgagg tccaggcaga 960
 ggctcttcat catggctctg ctttgcctct tgatatabcc acctgtttt cagggtgtctc
 1020
 aggagtgtcc tgcaatgcac tctggagaac cattttgagg gtcttgtgtc tcaacggatg
 1080
 cctgtatgag cccacgaaga agtaaatgat ggggttggca cagctgttaa cagcagttag
 1140
 gacaagtgat gccagaaaga atctatagtc tagtatactg aaaccacct caatccaggg
 1200
 taacaggaac cagaggaagc ccaggggcaa cccacagaga agaaaaacca aaatggtcac
 1260
 catgatggtc atgaataatc tggtaaattt cttctttcca gcaccacaga acaacctggc
 1320
 cagcagagtc agggtagaaa aacagaggac tacaaacaaa aaaatagggg atattctgat
 1380
 gaagaattct gatgcctgac acacagagtt aatttcatat ttgggaccaa ataaatcaca
 1440
 gaaatatctg ttcagaagcc agatcaacag gggacaggac ccagatcacg acacacatga
 1500
 tggttgatgt gtgttmtggg cgggtggcagc gataccagat ggggcacagg acagacaggc
 1560
 agcgmtcagt gctgatggca ctgagcatgc tcaggcctgt gatgtagaga accgttctga
 1620
 tgggtgcaaa gcaatggatg aagatactgt tgtgtgggcg aaccttgaaa agatgcattg
 1680
 tggaaattat gatgtgacag agaagaaaga aggaagtcaag ccagggccaa gtttaggatg
 1740
 tagactaaga tggcattcct gtgaaatcgg aagccagga tccagaatac aatggcattt
 1800
 ccagtcagcc caaccagtcc gaagatgatg atcatcaagt gtgggataag ggtctogatt
 1860
 tcaatacttc cagagatggg ttcattcatt ggatttgttg tcgtgggtgc cattgctgag
 1920
 gctgaggtgt ttagggccag aaaccctgca ctggtattgc tggaaacaca acaagaaat
 1980
 gaggccttca ctgtgaacac aacttttaat ttctttcttt ttgtttgttt gtttgtttgt
 2040
 ttgtggggtt ttgttttttt ttttaatttt tttttgtatt agatattttc ttcatttaat
 2100
 tttcaaagt tatccctttt cctggcttcc cccctccca gaaacccctc tctgatcctc
 2160
 ccaccctctt caaccacac acccacttcc acctctctgc cctgattcc cttacactgg

2220
 agcatctata gaaccttcat aggttcaagg acctcttctt ccatccatgc aagacatggc
 2280
 catcatctgc tacatatgca tctggagcca cacgtactcc tttgttgatg gcttagtccc
 2340
 tgggagttca ggggggtggg gtgggggtgg gggcagtggt ctcttggttc atactgttgc
 2400
 tcttcttatg gagcttcaaa ccacttcaac tccctcagge ctttctctaa ctctctatt
 2460
 agggaccctg tgctcagttt aattgttggc tgctaacatc agactctgca tttgaaaggg
 2520
 cctgacatgg cctcttagga aacagctata tcaggttctt gtcagcattc actccttgac
 2580
 atccacaata gtgtctgcat ttgtaactg tgtatgagat gaatccccag gtggaacatt
 2640
 ctctgggtga cttttccttt agtgtctgtt ctacacatta tctocatatt tgctcttgg
 2700
 agtattttgt tcttcttcta agaaggtctg aaacacccac actttcgtct tccttgtt
 2758

<210> 73
 <211> 304
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 73
 Met Asp Glu Thr Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Glu Thr Leu Ile Pro
 1 5 10 15
 His Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Gly Asn Ala
 20 25 30
 Ile Val Phe Trp Ile Leu Gly Phe Arg Phe His Arg Asn Ala Ile Leu
 35 40 45
 Val Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Phe Phe Phe Leu Leu Cys
 50 55 60
 His Ile Ile Asn Ser Thr Met His Leu Phe Lys Val Arg Pro His Asn
 65 70 75 80
 Ser Ile Phe Ile His Cys Phe Asp Thr Ile Arg Thr Val Leu Tyr Ile
 85 90 95
 Thr Gly Leu Ser Met Leu Ser Ala Ile Ser Thr Asp Arg Cys Leu Ser
 100 105 110
 Val Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His Arg Pro His Thr Ser Thr
 115 120 125
 Ile Met Cys Val Val Ile Trp Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Leu Leu
 130 135 140
 Asn Arg Tyr Phe Cys Asp Leu Phe Gly Pro Lys Tyr Glu Ile Asn Ser
 145 150 155 160
 Val Cys Gln Ala Ser Glu Phe Phe Ile Arg Ile Tyr Pro Ile Phe Leu
 165 170 175
 Phe Val Val Leu Cys Phe Ser Thr Leu Thr Leu Leu Ala Arg Leu Phe
 180 185 190
 Cys Gly Ala Gly Lys Lys Lys Phe Thr Arg Leu Phe Met Thr Ile Met
 195 200 205
 Val Thr Ile Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Leu Pro Leu Gly Phe Leu
 210 215 220
 Trp Phe Leu Leu Pro Trp Ile Glu Gly Gly Phe Ser Ile Leu Asp Tyr
 225 230 235 240
 Arg Phe Phe Leu Ala Ser Leu Val Leu Thr Ala Val Asn Ser Cys Ala
 245 250 255
 Asn Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Tyr Arg His Pro Leu Lys
 260 265 270
 His Lys Thr Leu Lys Met Val Leu Gln Ser Ala Leu Gln Asp Thr Pro
 275 280 285
 Glu Thr Pro Glu Asn Met Val Asp Ile Ser Arg Ser Lys Ala Glu Pro
 290 295 300

<210> 74
 <211> 1738
 <212> DNA
 <213> *Mus musculus*

<400> 74
 caccoacaac aaccaaatcc aatggacgaa accatcccct ggaagtattg acatcaagac 60
 cctgatcgca aatthgatga tcatcatctt cggactggtc gggctgacag aaactgcctt 120
 tgtgttctga ctctgggct tccacttgca caggaacgcc ttcttagtct acatcctaaa 180
 cttggccctg actgacttcc tcttccttct ctgtcacatc ataaattcca cagtattctt 240
 tctcaatggt cccctaccta acatgatctt ggtccattgc tttagacca tcagaatatt 300
 tctcaacatc acaggcctaa gcattctcag tgccatcagc actgagcgct gcctgtctgt 360
 cctgtgcccc atctgggata gctgccacca cccagaacac acatcaactg tcatgtgtgc 420
 tgtgatctga gtccgtgtcc tgttgattg cactctgtat agatatttct gttttttctt 480
 tgggtccaaa tatgtatttg actctgtgtg tctggcaacg acctacttta tcagaacata 540
 cccaatgttt ttgtttatgg tctctgtctt gtccactctg gctctgctgg ccaggttgtt 600
 ctgtggctgt gggaagamra aatttaccag gattattogt gaccatcatg ctgacygttt 660
 tgggttttct tctctgtggg atgcccctag gcttctcttg gttcgtgttc ccatggatta 720
 actgtgattt cagtgtacta gattatagac tttttctggc atcaattgta ctaactgctg 780
 ttaacagtta tggcaacccc atcatttact tcttctgtgg ctccctcagg aatcggttga 840
 agcaccagac cctccaaaag gttctccaga gtgcactgca cgacactcct gagacacctg 900
 aaaacatggt agagatgtca agaagcaaag cagagccatg atgaagagtc tctgacagga 960
 cttcagaggt ggctttggag tgagcactgc cctgctgcac ttaaccacac tccactctcc
 1020
 tctcagctta ctgactatgg atgcctcagt ggtccaacaa tgccttcaaa agctctccac
 1080
 tgacttagta tttctacctc tcccaagtaa tagcattaat cagaaagtac catgtctgca
 1140
 tccttcttga cattaatcca attctcatac taacttcate tgtaactttc ttgotgtttc
 1200
 tttggaactt ttgttaccat agtaatagcc taggtccagc accatgattc cctgtctctg
 1260
 gattgttctg taacctactg aatgtaaagc aaagtagcca ggagatgttc ctgtgtycca
 1320
 gtgctcatta cccaaacacc accaagaaag cttgtctccc aggagtgcag acaagcctgt
 1380
 gaacacaggt aagaccacca ctctctgctta aaggggcatg cctggaaccc tcaggacaca
 1440
 ggaacagagg agcagcctgg gacaggatac ttccagtttc caactgcact ccagagctga
 1500
 ccctgtgcca cagctctcca taccocaaatt cctccagaa agaattggtg taccaggagt
 1560
 actgacacac aggcttgtag aaggaacaag ccacagtcaa agttagcaag acctgctaac
 1620
 accagagata accagatggc aagacacaag ggcaaaaaca taagcaatgg gaaccaagac
 1680
 tacttggcat catcagaaac tagttctctc aacatggtga gccatggata cttcaaca
 1738

<210> 75
 <211> 303
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

<400> 75
 Met Asp Glu Thr Ile Pro Gly Ser Ile Asp Ile Lys Thr Leu Ile Ala
 1 5 10 15
 Asn Leu Met Ile Ile Ile Phe Gly Leu Val Gly Leu Thr Glu Thr Ala
 20 25 30
 Phe Val Phe Leu Leu Gly Phe His Leu His Arg Asn Ala Phe Leu Val
 35 40 45
 Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Leu Thr Asp Phe Leu Phe Leu Leu Cys His
 50 55 60
 Ile Ile Asn Ser Thr Val Ile Leu Leu Asn Val Pro Leu Pro Asn Met
 65 70 75 80
 Ile Leu Val His Cys Phe Ser Thr Ile Arg Ile Phe Leu Asn Ile Thr

85 90 95
 Gly Leu Ser Ile Leu Ser Ala Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val
 100 105 110
 Leu Cys Pro Ile Trp Tyr Arg Cys His His Pro Glu His Thr Ser Thr
 115 120 125
 Val Met Cys Ala Val Ile Val Leu Ser Leu Leu Ile Cys Thr Leu Tyr
 130 135 140
 Arg Tyr Phe Cys Phe Phe Phe Gly Pro Lys Tyr Val Phe Asp Ser Val
 145 150 155 160
 Cys Leu Ala Thr Thr Tyr Phe Ile Arg Thr Tyr Pro Met Phe Leu Phe
 165 170 175
 Met Val Leu Cys Leu Ser Thr Leu Ala Leu Leu Ala Arg Leu Phe Cys
 180 185 190
 Gly Ala Gly Lys Lys Lys Phe Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile Met Leu
 195 200 205
 Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Cys Gly Met Pro Leu Gly Phe Phe Trp
 210 215 220
 Phe Val Phe Pro Trp Ile Asn Cys Asp Phe Ser Val Leu Asp Tyr Arg
 225 230 235 240
 Leu Phe Leu Ala Ser Ile Val Leu Thr Ala Val Asn Ser Tyr Gly Asn
 245 250 255
 Pro Ile Ile Tyr Phe Phe Val Gly Ser Phe Arg Asn Arg Leu Lys His
 260 265 270
 Gln Thr Leu Gln Lys Val Leu Gln Ser Ala Leu His Asp Thr Pro Glu
 275 280 285
 Thr Pro Glu Asn Met Val Glu Met Ser Arg Ser Lys Ala Glu Pro
 290 295 300

<210> 76
 <211> 1011
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 76
 aagaggaaac acatatat ttt gggatgttaa ccaagg tttt ctatagg gaa caatgg aaaa 60
 ctgttcactt caagattaca gtttagctgc atgattaac tttaaattga cattaacatt 120
 taattactgg gttttataaa ggtcctgaga tatttaaggt tggattgtct tttatattat 180
 gatattaata tgcttagaac aaagaaagaa aagtttattg ttcaatggtg aagtgtcttt 240
 taaatagaag tgggcagagt gtcctggcaa acctcaattt ttaccttgac acagattaaa 300
 gtcgtatgag aggagaaatc acaacagcag aatgacaac tgaggaaatg tctagattat 360
 cttggcctgt gggcatgatt atgaggaatt atctttaaca taaattaatg taagcaaaaca 420
 tggctctatgg taggttcac caataagcta ctttaagcagg acctgtaac atccagaatt 480
 ggagcttgga aggagtgttt cttgtagata ctgttcttg tgttcttga gttcctgaca 540
 tgacttccct cactgatgga gtctgtacta agagtataag ccagataacc cattttattt 600
 tctaggatgt ttgtgggtcaa aatgttttcc catgaaacag aaaaggaaac tagaacatgc 660
 acaaattacc taacagatat ttattaagtt agagaatatt ctaagttata caaactactaa 720
 aggaaactac aaatgtggat ctattaaatt cttattttaa caaaatctgt agagatgata 780
 aattgttaaa aatgtcataa attttcaatc actatcaagt tcagttacca atgaaattca 840
 gttattaact gaaaactcct gatctttgga tgaagaaggg gottgtcaaa aatgggagca 900
 gtcttggacc tataattatt acagtgggtc tcatctcaag gggatccagt gaagtgtcat 960
 taagaggaga gtaggaaagt tcaacatagt atttctatta aaagtgtgt a
 1011

<210> 77
 <211> 274
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 77
 Leu Leu Ser Ile Ile Ile Ala Phe Ile Gly Leu Ala Glu Asn Ala Ile
 1 5 10 15
 Val Leu Trp Leu Leu Gly Phe His Met His Arg Asn Ala Phe Ser Val
 20 25 30
 Tyr Ile Leu Asn Ala Gly Ala Asn Phe Leu Phe Leu Cys Pro Tyr Ile
 35 40 45

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

<210> 78
<211> 1358
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 78
taaattactg aatctctgtg atcctgatto cctctcttta tggacctgtg cctgacatac 60
ccacatagtc acatggtcct gacagaaact atcatgtgtt catatctcta tgtcttttca 120
ggaatgtcag tggaaaattc ctaagcatgg gtacaactag cctggcctgg aacattaaca 180
acacagctga aaatggaagc tacactgaaa tgtctcctg tatcaccacg ttcaataccc 240
tgaattttct tactgtcatc attgctgtgg ttgtcctggc aggaaattcc atagtgctat 300
ggcttctagc cttccacctg cacaggaatg ccttcttctg ctatgtcctc aatctggctg 360
gtgctgattt cttgtacctt tgcactcaga ttgtgtattc cctggagtgt gtcattcagt 420
ttgataaaaag ctccttttat attctcctca ttttatcaat gtttgcttac cttgcaggat 480
tgagtatgat tgcaaccatc agtactgagc gctgcctatc tgttatgtgg cccatctggg 540
atcactgccca aagaccaaga cacacatcag coactatgtc tgttctgctc tgggttttct 600
ctatactggt gagcctcctg gtaggactag gctgtgggtt tctgttcaga tattctgaat 660
attatctctg tattactttg aactttatca ctgctgcatt tatcataggg ttatctgtgg 720
ttctttctgt atctagcctg accctgttgg tcaagatcat ctgtggatca cacaggatac 780
ctgtgaccag gttgtttgtt accatttgct ctcacagtgg tggcttccat aatctttggc 840
atgcccttg gaatctgctg gttcctcttt ccaagtatta ttgagtttca taaaatttcc 900
tctaacaatt tttatgaaat gatagcatc ctgtcatgta ttaatagttg tgccaatccc 960
atcatttact tccttgtttg ctctattagg caccacaggt tgaatggca gtctcttaag
1020
ctacttcttc agagagccat gcaggacact cctgaggaag tgagtggaga gaggggtcct
1080
tcagaaaggt ctggggaact ggaaagagtc tagtgcaagta gtggagtggag tccttgatca
1140
gatatagttt ctctgagagt caatcttgcc tttatctatt taggcaattt tcacagtctt
1200
gttcaatcag tagagaaaat agtcatttta tagaaattag gaggaacagg cttgttacac
1260
agaaaactgac ttgcagcacc ataaagctgc cttatgtggg gctcagtcca tcccctcgtg
1320

atataagcct tgtaatcact tggggccaga acagctcc
1358

<210> 79
<211> 268
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 79
Phe Leu Thr Val Ile Ile Ala Val Val Val Leu Ala Gly Asn Ser Ile
1 5 10 15
Val Leu Trp Leu Leu Ala Phe His Leu His Arg Asn Ala Phe Val
20 25 30
Tyr Val Leu Asn Leu Ala Gly Ala Asp Phe Leu Tyr Leu Cys Thr Gln
35 40 45
Ile Val Tyr Ser Leu Glu Cys Val Ile Gln Phe Asp Lys Ser Ser Phe
50 55 60
Tyr Ile Leu Leu Ile Leu Ser Met Phe Ala Tyr Leu Ala Gly Leu Ser
65 70 75 80
Met Ile Ala Thr Ile Ser Thr Glu Arg Cys Leu Ser Val Met Trp Pro
85 90 95
Ile Trp Tyr His Cys Gln Arg Pro Arg His Thr Ser Ala Ile Met Ser
100 105 110
Val Leu Leu Trp Val Phe Ser Ile Leu Leu Ser Leu Leu Val Gly Leu
115 120 125
Gly Cys Gly Phe Leu Phe Arg Tyr Ser Glu Tyr Tyr Phe Cys Ile Thr
130 135 140
Leu Asn Phe Ile Thr Ala Ala Phe Ile Ile Gly Leu Ser Val Val Leu
145 150 155 160
Ser Val Ser Ser Leu Thr Leu Leu Val Lys Ile Ile Cys Gly Ser His
165 170 175
Arg Ile Pro Val Thr Arg Leu Phe Val Thr Ile Cys Phe Thr Val Val
180 185 190
Val Phe Ile Ile Phe Gly Met Pro Leu Gly Ile Cys Trp Phe Leu Phe
195 200 205
Pro Ser Ile Ile Glu Phe His Lys Ile Phe Ser Asn Asn Phe Tyr Glu
210 215 220
Met Ile Ala Phe Leu Ser Cys Ile Asn Ser Cys Ala Asn Pro Ile Ile
225 230 235 240
Tyr Phe Leu Val Gly Ser Ile Arg His His Arg Leu Lys Trp Gln Ser
245 250 255
Leu Lys Leu Leu Leu Gln Arg Ala Met Gln Asp Thr
260 265

<210> 80
<211> 2387
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 80
gggcctgagg cacaaacctc tcgggctggc agatccctgc gcactcacca tgtaagggtgg 60
ccggttgtct ggacgaggaa ttatctttaa cacatgttaa tgcaagcaaa catggcctat 120
ggtaagttgc accaaaaagc tacctaagca ggacctgtaa ccaatccaga attgcagcta 180
ggaaggagag ttctctgtag acaactgttcc ttgtgctgct tgagtttctg acatgacttc 240
cttactgat ggactctgta ctgagaggat aagccagata acccatttta tctcctagga 300
tgtttggtt caaaatgttt tcccatgaaa tagaaaagga aactagaaca ggcacaaatt 360
gcctaaaaga tatttattaa gttagagaat attctaagtc atacaaatac taaaggaaac 420
tacaaatgtg gatctattaa attcttattt atcatctgta gagatgataa attgttaaaa 480
atgtcatata cctttcatca ctatcaagtt cagtgaccaa tgataatcag ttattacctg 540
aagactattg atctttggat gaagaagggg cttgtcaaaa atgggagcag tctctggacc 600
ataattatta cagtgggtct catctcaagg ggatccagtg aagcgtcatt aagaggagag 660
taggaacgtt caacacacta tttctattaa aagtgggtgta ctgatctact ttcaagggaa 720
tggttaatat cccaactgat ttcacctcag gccatcaact cagcagggtt gtagaaatgc 780
cccaaaagga taagggcaaa tttgtcctat aagttctctt gtgtatcctc acagcagctc 840
tcagttgcat cactagagtg tagtactctc ttcactctct tcacctcctt cttgttctac 900

aacttcttca acttcttcat cttcttctc agggctctct tgaatggctc tctgaagaat 960
 cagcctgaga gtcccacact ggaattggca gtgcttaatt gagccaacaa ataagcaaat
 1020
 gataggattg gcacagctgt taacaccgga tagtaggaga attgtctcat aaaataacc
 1080
 acaaggcata attgaattct cttctttctt ccagtaaaag aagcatatgc caatcccaaa
 1140
 gccacagatc aagacgacca gtgctgtaag cataatggct acaagcagcc tggtcacagg
 1200
 tgtctgctgt gaaccacaga agaccctgaa cagcagggct tgattggatc tagaagaac
 1260
 cacaaataaa acaagtaacc atacaactat gatgagagca agtttccaac acatatcca
 1320
 gttataaata taatccagca ctttacaat tatccaattc caaaggggtca acagaagggg
 1380
 aaaaaaccca gagcagagta caaatgacag ttgatgtgtg ttttgggctg tgggcatgat
 1440
 accaagtggg ccaaaggaca gacaaccagt actccacact aatggctgtg atcatgctca
 1500
 cccctgcaag gtatgccagt atggtcacat tgacagaaaa caacgcccat gtgaatgtcg
 1560
 atgtagttaa actgcctaact gagatcttcc agggaaaata caatgtgagt gcagaggaag
 1620
 aggaagtttg cccagacag gttgaagatg tagacagaga aggcattcct gtgcatgtgg
 1680
 aagcccagaa gctgcagcac tatgacattt cctgtcagtc caatgatggc aatgataatg
 1740
 gaaagcaaac tcatggcaag ggacatgtca caagatgaag attccatgaa gtagctttca
 1800
 ttctgttctc tgaattcaat attccagtct gggaaagcttg aatccatgtt tgggaacact
 1860
 cctggaataa aaaacaagac ataatcgcat gctttgcatt ctctaattca caagaccacc
 1920
 ctgatatttg taagctgata tggcacaata tgatggaaaa tgagcttaag aaatttatca
 1980
 aaaccagtat gtttagagac ttcttttaaa accagtctga atttatttgg gttatctaca
 2040
 atccatgtca tgtactaaca cgaatgtagt tgatggtoca agtatacacc ccaagtgtct
 2100
 catgttgtgt ggcagaatga aatggaacac tgaacctgta ggggtttgag tataatggca
 2160
 tccatcaatc catacatttg aatatacagt cactgtttgg tggaaactgtt tggagaaggg
 2220
 ttatatgtag gggtaattct gatgctaagg tcctgctccc caatcagtta ttgatatggt
 2280
 gctaaagaaa gacattggcc ctctgctggt caggggggag ggcaaagggg gatttacagg
 2340
 actttgggta cctggagtca agcagagaga tgcaagagag gaaagga
 2387

<210> 81

<211> 273

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 81

Leu	Leu	Ser	Ile	Ile	Ile	Ala	Ile	Ile	Gly	Leu	Thr	Gly	Asn	Val	Ile
1				5					10					15	
Val	Leu	Gln	Leu	Leu	Gly	Phe	His	Met	His	Arg	Asn	Ala	Phe	Ser	Val
		20						25					30		
Tyr	Ile	Phe	Asn	Leu	Ser	Gly	Ala	Asn	Phe	Leu	Phe	Leu	Cys	Thr	His
		35				40						45			
Ile	Val	Phe	Ser	Leu	Glu	Ile	Ser	Leu	Gly	Ser	Phe	Thr	Thr	Ser	Thr
	50					55					60				
Phe	Thr	Trp	Ala	Leu	Phe	Ser	Val	Asn	Val	Thr	Ile	Leu	Ala	Tyr	Leu
65				70						75					80

Ala Gly Val Ser Met Ile Thr Ala Ile Ser Val Glu Tyr Trp Leu Ser
 85 90 95
 Val Leu Trp Pro Thr Trp Tyr His Ala Gln Arg Pro Lys His Thr Ser
 100 105 110
 Thr Val Ile Cys Thr Leu Leu Trp Val Phe Ser Leu Leu Thr Leu
 115 120 125
 Trp Asn Trp Ile Ile Cys Lys Val Leu Asp Tyr Ile Tyr Asn Trp Asp
 130 135 140
 Met Cys Trp Lys Leu Ala Leu Ile Ile Val Val Trp Leu Leu Val Leu
 145 150 155 160
 Phe Val Val Leu Ser Arg Ser Asn Gln Ala Leu Leu Phe Arg Val Phe
 165 170 175
 Cys Gly Ser Gln Gln Thr Pro Val Thr Arg Leu Leu Val Thr Ile Met
 180 185 190
 Leu Thr Ala Leu Val Val Leu Ile Cys Gly Phe Gly Ile Gly Ile Cys
 195 200 205
 Phe Phe Tyr Trp Lys Lys Glu Glu Asn Ser Ile Met Pro Cys Gly Tyr
 210 215 220
 Phe Tyr Glu Thr Ile Leu Leu Ser Gly Val Asn Ser Cys Ala Asn
 225 230 235 240
 Pro Ile Ile Cys Leu Phe Val Gly Ser Ile Lys His Cys Gln Phe Gln
 245 250 255
 Cys Gly Thr Leu Arg Leu Ile Leu Gln Arg Ala Ile Gln Glu Ser Pro
 260 265 270
 Glu

<210> 82
 <211> 1319
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 82
 tttataaacc aggtcagtaa ttaccacata gcaggatggt cctgaatcag aaagaacata 60
 gcatgtgctc attgttttgt ttattttggt ccagaaatag tactggagac ttccataaca 120
 aggatcctaag catctcaacc ttggaagcta actccagaac atctactgaa cccaatgata 180
 cttcaggttg tggcatcaag ttccaaacca agatgttgct ttccctcatt tccctgtttg 240
 ggatggctact aaatccata gtgctgtgat tgctgagctt ccagggtcac aggaatgcct 300
 tgtttgctca catcctcaac cttgctgtgg ttgacatttt cttccggttt gatcagtttg 360
 cattttgtgt ttttgttatac atttacacta tcaagtccat ttccaatgat atcctatcat 420
 tttttatttt tgtgccagca tttctgtatc ttttaagcct gagcattctc ataaccatta 480
 gcattgaacg atgcctgtat gtcatgtggc ccatctggta tcaactgtcaa tgtccaagac 540
 acacatcagc tgtcatttgt gtcttgcttt gggctctgtc ccttgtgttt atgtttctgg 600
 atgggaaggc atatttttta ctgttttctg accctaacte tttttggtat cagacatttg 660
 atatcatcat tactgtatag acaattggtt tatttgtggg tctctgtggg tccagcttaa 720
 tectacttgt cagaatctc tgtggctccc agcagatccc tgtaaccagg ctggatgtga 780
 tcattgcact cagagtgtt ttcttctga tatttagttt tcccttttgg atctactggc 840
 tccttgacca acggattggg agacgttgta attttttgat gaaatgattt tcttatcctg 900
 tattaagagc tgtgtcaact ccatcattta ctttctgtt gcctccatta tgcaagtag 960
 tggattcaag gtgaagagtc tcaaactatt tccagagaga gccatgcagg acattcctga
 1020
 agaaggagaa ggtgttgaga atagttctta aggaaatcat gaagaactgg agaaatctag
 1080
 tgcagcagac gacagctact ttgattagac agagtggctg tttttcttat ctttgtggac
 1140
 taatttaatg accttattca gtttgttact taatcttcaa tcagttaaaa atgacaatca
 1200
 tttttgtaat agttgaaaga tacagtactt gtcacacaaa tattaactgt gccatttctc
 1260
 ttgctgtggt tttgaggcct ttaccatttc cttttgatgg gactacttgc aagtattct
 1319

<210> 83
 <211> 264
 <212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 83

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

<210> 84

<211> 2349

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 84

tttctttctg agaaatagtt tgttttaaaa taggaatddd aaaacagctt gagacactga 60
 gagtttatac tggaaaccatc aactactcta atgtcaatac aggatatggg ttgtagataa 120
 cccaaatata tatgaatgat atatttaaat taaggctcca gaaatattga ttttgataaa 180
 ttgcttcctg tctaccaccc tgtttcacca ttttaagaac taggtaaacc gttaacatct 240
 ataatgggga tctaagaat cagagaacaa aaagcatgtg ttcattgtctt gtttttcttt 300
 ccagaaacat cagtgggaagg gatctaagag tggattcaaa cataacatac tggggaacaa 360
 acatcacagc tgtgaatgaa agcaaccaya ctggaatgtc attttgtgaa gtcgtgtctt 420
 gtaccatgkt ttttctttcc ctcatgtgtg ccctagtggg gctggttggg aatgccacag 480
 tgctgtgggt cctgggcttc cagatgcgca ggaatgcatt ctctgtttac atcctcaacc 540
 tcgctgggtc tgactttctc ttcatttgc ticaaattgg atattgtttt cacatgatct 600
 tggacattga ttccatcccc attgaaattg atctgtttta ccttgttggg ttaactttc 660
 cttatttttg tggcctgagt atcctcagtg ctattagcat tgaacgttgc ctgtctgtca 720
 tgtggcccat ttggtatcac tgccaacgcc caaggcacac atcagctgtc atatgtaccc 780
 tgctttgggt cttgtcccta gtgtgtagcc tcctggaagg gaaggaatgt ggcttcctat 840
 attacactag tgaccctggt tgggtgaaga catttgattt aatcactgct acatgggtaa 900
 ttgttttatt tgtagctctc ttgggatcca gtctggcctt agtgattacc atcttctggg 960
 gcttacacaa gattcctgtg accaggctgt atgtggccat tgtgttcaca gtgcttgttt
 1020
 tcctgctctt tggctctgcc tatgggatct actggttctt cttagtgtgg attgagaaat
 1080
 tttattatgt tttaccttgt agtatatatc cggtcacagt atttctctcc tgtgttaaca

1140
 gctctgcaaa acccatcatt tattgccttg taggctccat taggcatcat cgatttcaac
 1200
 ggaagactct caagctatct ctgcagagag ccatgcaaga cactcctgag gaggaagaat
 1260
 gtggagagat gggttcctca ggaagatcta gagaaataaa aacaatctgg aaaggactga
 1320
 gagctgcttt gatcaggcat aaagagctct gaagagaact atgtttttat cactttgttg
 1380
 cttttcata acgttgttta gttgatgacc caaggttaac tcagttggga aagtagtcaa
 1440
 tgttgtagaa gttgattgat attggacttg ttacaaatac tgggtacaac atttctgcag
 1500
 ctatcttgcct cagggtttta ccaacttctt ttgatgttac tccttgcaag ctctgtgggg
 1560
 tccaggaag ctggtgacca caatgataa atcccttctt cagaagaaag cttaagaaag
 1620
 tacaggaag ggttgcatct cttaactcac ttaacttgat agtggataaa ttcatgttat
 1680
 attttcaaaa aaaattatct tgtttcaagg caaacttttc ttcagtgttg aagggttaaa
 1740
 tagatacatt atataatccc agacttttatt aatttctgta tgttttaaag aatatgtgga
 1800
 gcaatagttt ttcttataca cttttcttaa taaagaagta aacattctca agagaagtgt
 1860
 taaacatcca tgtacatagg aagggtcagt gtcctctgtg gttctattca cagtttccct
 1920
 ttttagcatcc catagttgag tattgtcttt gatatgatcc tcatgctctc tgactgtgta
 1980
 atccctcatg aaaagtttcc aatgaggtcc tctataaaga ctcccttgaa atacaactta
 2040
 ttttaaatct ataccatttc aaggagccca cagcatctat taacttagct atatgcacag
 2100
 ttttagtaaaa ttttctataa aataatattc cttttataaa gctgcagtaa taatttcaat
 2160
 ttttctacaa ttaagagaat aaaatatcaa caaattaaat aaaactaatc agtaggtttt
 2220
 cttaagttaa tgtagctgca tgactctgta cctaatcaag acacaaaata ctacactata
 2280
 tcttttaatt ttcatttctt ctctgtcat aattttatat cacagataaa tatgatatcc
 2340
 atacttctg
 2349

<210> 85
 <211> 273
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 85
 Phe Leu Ser Leu Ile Val Ala Leu Val Gly Leu Val Gly Asn Ala Thr
 1 5 10 15
 Val Leu Trp Phe Leu Gly Phe Gln Met Arg Arg Asn Ala Phe Ser Val
 20 25 30
 Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Gly Ala Asp Phe Leu Phe Ile Cys Phe Gln
 35 40 45
 Ile Gly Tyr Cys Phe His Met Ile Leu Asp Ile Asp Ser Ile Pro Ile
 50 55 60
 Glu Ile Asp Leu Phe Tyr Leu Val Val Leu Asn Phe Pro Tyr Phe Cys
 65 70 75 80
 Gly Leu Ser Ile Leu Ser Ala Ile Ser Ile Glu Arg Cys Leu Ser Val
 85 90 95
 Met Trp Pro Ile Trp Tyr His Cys Gln Arg Pro Arg His Thr Ser Ala
 100 105 110
 Val Ile Cys Thr Leu Leu Trp Val Leu Ser Leu Val Cys Ser Leu Leu
 115 120 125

Glu Gly Lys Glu Cys Gly Phe Leu Tyr Tyr Thr Ser Asp Pro Gly Trp
 130 135 140
 Cys Lys Thr Phe Asp Leu Ile Thr Ala Thr Trp Leu Ile Val Leu Phe
 145 150 155 160
 Val Ala Leu Leu Gly Ser Ser Leu Ala Leu Val Ile Thr Ile Phe Trp
 165 170 175
 Gly Leu His Lys Ile Pro Val Thr Arg Leu Tyr Val Ala Ile Val Phe
 180 185 190
 Thr Val Leu Val Phe Leu Leu Phe Gly Leu Pro Tyr Gly Ile Tyr Trp
 195 200 205
 Phe Leu Leu Val Trp Ile Glu Lys Phe Tyr Tyr Val Leu Pro Cys Ser
 210 215 220
 Ile Tyr Pro Val Thr Val Phe Leu Ser Cys Val Asn Ser Ser Ala Lys
 225 230 235 240
 Pro Ile Ile Tyr Cys Leu Val Gly Ser Ile Arg His His Arg Phe Gln
 245 250 255
 Arg Lys Thr Leu Lys Leu Phe Leu Gln Arg Ala Met Gln Asp Thr Pro
 260 265 270
 Glu

<210> 86
 <211> 1313
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 86
 tttatttaaat tatttttgta ttgttgtttc aggtagcaag tatttcctaa gcatgggata 60
 tagacatttc gagcctgggc atttacaatca tagcaaccgaa tggaagcagc tacactaata 120
 gtgttgattg tttcttcaaaa atccaagtca tgggttttct ttccctcatc atttccctg 180
 ttgggatggg attaaattcc acagtgcctg ggtttctggg cttccagata cgtaggaatg 240
 ccttctctgt ctacatcctc aacctggcog gggctgactt tctcttctctg cactctcagt 300
 ttttatttta ccttcttgct atttttcctt ccattcctat ccagatccct ctcttttttg 360
 atatgttgac aaaatttgca tatctttctg ggctgagcat tctcagcacc attagcattg 420
 agcgctgcct gtgtgtcatg tggcccatct ggtaccgctg tcaaagacca agacacacat 480
 catctgtaac ctgttctctg ctttgggctt tgtccctgtt gtttgctctt ctggatggga 540
 tgggatgtgg cttactgttt aatagttttg accagctctg gtgtttgaaa ttgatttaa 600
 tcatttgtgc gtggccaatt gttttatttg tggttctctg tgggtccagt ctcatcctac 660
 ttgttaggat cttctgtggc tccagcaga tccctgtgac caggctgtat gtgaccattg 720
 cactcacagt gttattcttc ctaatctgct gtcttccctt tggaatctcc tggatcatcc 780
 aatggagtga aactttgata tatgttggat tttgtgatta ttttcacgag gaactattcc 840
 tatcctgtat taacagctgt gccaaccta tcatttactt ccttgttggg tttattcgtc 900
 agcgaagt ccaacagaag tctctgaagg tgcttcttca aagagcagtg gaggacactc 960
 ctgaagaaga aatgaagac atgggtcctt caagaaatcc agaagaattt gaaacagtct
 1020
 gtagcaactg agaggttctt tgatcagaca gaaatggttt tttagagaaa aaaatttttt
 1080
 ctcatctctg tgggccattt tcacagtttt gyacagtttg tttcctgata ttcaatcagt
 1140
 taaaaaataa gcatttttgt gaaagtggat agatacaaga cttgtcatalc aaatactgac
 1200
 tgtagtattt ttggagctgt tactcagact ttcacatctc ccttttgatg ggattccatg
 1260
 taagtgtctg gagttgagga gatgtgttga ccactattga caaagccttc att
 1313

<210> 87
 <211> 270
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 87
 Phe Leu Ser Leu Ile Ile Ser Pro Val Gly Met Val Leu Asn Ser Thr
 1 5 10 15
 Val Leu Trp Phe Leu Gly Phe Gln Ile Arg Arg Asn Ala Phe Ser Val

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

<210> 88

<211> 1883

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 88

```

cgtgtgccac caccaccaac aggtgggaca tttcttaaag tatactattc attaatctt 60
tatcaagttt aattaccaaa gcaattctga cacttcttgc actaccttga tccttttct 120
gagggaggca tttgttccca gtgagagctg ttctgacccc aagagattac aagggttaca 180
tcacaagggg gtgcagtaag gcatacataa ggcagtttga tgggtgctgca gtgaatttct 240
gagtaacaag ctccatttct cctaatttga ataaaatgac tatttttctct accaattaa 300
caagattgtg aaaactgcct acatagataa aagcaaaatt gactctcaga gaaactatgt 360
ctcatcaagt actctttcaa agcctgcact agactctttc cagttcccta gcctttgtga 420
aggacccttc tctcctctct tttcctcact actgtcctac atggttctct gcagaagttg 480
cttcaaactc tgacattgca acctacggtg cctaacagag ccaaggagag agtaataaat 540
gggattggca cagctgttaa cacaggaatg ctatcacttc aaaaacattg tatgagaaca 600
tgctatgtaa gtccataaac attgtcaaga ggaatgtgca gattccaatg ggcatacca 660
agaatatgaa gacctcaat gtgagggcaa tggacacata gaacatggtc acaggaatcc 720
tgagtgatac acagaacatt tgacaaacag ggccaggcta gacacaaaak aaaccacaga 780
taatactatt atcaatgcag tagygatata gtggcatrta atacagaaat tgtgttcwta 840
ataacttaac agaaagccac agccttgtrc aaasrgaagg atcarcagta tagagaaaac 900
ccagagcaga gcacacatga cagctgatgt gtgtcttggt cttcagcagt gataccagat 960
gggacacata acagataggc agtgctcagc actgattggt gmaatcatac acaaacctgc
1020
aagttaagca atcataaatc ctgtgaggat aaaatgatag tagatcataa gtatcttaag
1080
gaaacactgc aggggaatgt acaaactgtg tgcaaatttg caagaaatca gcacaagaca
1140
ggtttaagac atagacagag aaggcattcc tatgcagggtg gaaggctaga agccatagca
1200
ctatggcatt tcctgccagg ccaagcacag caatgatgac aataagaaaa ttgaatgtgg
1260
tgaacacagga taaatttttc agtgcattaa cttccattga cttctgtggt tttaaatttc

```

1320
 cattccaggg tggttggatc catgcttagg aattttccac tggcattcct gcaaagaaat
 1380
 agagatatga atctagggta ctctttgtag ggactatgtg actatgtagg aatgtatggc
 1440
 acagggtacat aaggagggag aaacaggatc acagagatta agtaatttac caacattcca
 1500
 aaagtgctac acatttttga aatccatttt gtactattca gtctaactgc agaccagtat
 1560
 gatgtaaggt agttgatggg cccagtacag ttgctaggca tttatttcag gttatgtgag
 1620
 gaagagacag aactctgaaa ccaacattct ttttgttcta gggctgagat ttcttctctg
 1680
 gtgtaggaaa atggaagttc ttggtgcaag ccatacttc cctcagtcac tgggaggaat
 1740
 ctatcaaaca ggcaaaatag aatcatgaat gagagtcatg aatgagattc acgaagggaa
 1800
 tggctactgc tatgaagacc tgtaggggaa tagccatgct tcttatgctt gaaagggtag
 1860
 ttgctcatti aacaatttta aaa
 1883

<210> 89

<211> 263

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 89

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

<210> 90

<211> 1219

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 90

```

ttataaatga ttttattaag ccatattgac aataatatct atattatatg atgattgccca 60
gaagaagggt aaatgttaag gtgatcaaat atggctctgt ttctcagaga caccactgga 120
agatttgtga gcatggatcc aaccatctca tcccacaaca cagaatctac accactgaat 180
gaaactggtc attccaaatg cagtccaatc ctgactctgt cctttctggt cctcatcact 240
gtcctgggtg aactaggagg aagcaccatt gtactctggc tcctggaatt cagcatgcc 300
aggaaagcca tctcagctca tgcctcaat ctggctctgg cagactcctt cttcctcggc 360
tgcgatttca ttgaatttct gctacggatc attgacttca tctatgccca taaattaagc 420
aaagatatct taggcaatac agcaatcatt ccttatatcg caggacagaa cgttctcagt 480
gctattagca tggagcactg cctgtctgta ttgtggccaa tctggtaacca ctaccaccac 540
ccaagaaca tgtcagctat catatgtgcc ctaatctggg ttctgtactt tctcatgggc 600
atcctccatt ggttcttctc agtattcctg ggtgaggctc atcatcattt gaggaaaaag 660
gttgacttta ctataactgc atttctgaat ttttatttat gcttcaactc gtgtccagtc 720
tggcctact gctgaggatc ctctgtggct ccaggaggaa acccctgtcc aggtgtatg 780
ttaccatcgc tctcacagtg atggcacct catctctggc ctgcctcttg ggctttactt 840
gttctctgta tactggtttg gggttcattt gcatcatccc tcttgtcaca attaccaagt 900
tacttcagtc ctgccctgtg taaacagcta taacaacccc atcatttact tcattgtagg 960
ctcctttagg cctcttagaa agcattaatc cctccaaact attcttaaga gggctctgga
1020
ggacactcct gaggagcatg aatatacagc cagccatctt cagaaaacca ctgagatgtc
1080
agaaagcatt tttgagagtc aaaacaacat taacttaatc ttctctcaga aaccctcag
1140
tgattgcact gctttcaatt gattatTTTT tatccaattt tcttataactt ctcaaagtag
1200
tcataaataa gaatttctc
1219

```

<210> 91

<211> 270

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 91

```

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

```


Arg Lys Pro Leu Ser Arg Leu Tyr Ala Thr Ile Ser Leu Thr Val Met
 180 185 190
 Val Tyr Leu Ile Cys Gly Leu Pro Leu Gly Leu Tyr Leu Phe Leu Leu
 195 200 205
 His Ser Phe Gly Val Asn Leu His His Pro Phe Cys His Leu Tyr Lys
 210 215 220
 Val Thr Ala Val Leu Ser Cys Val Asn Ile Ser Thr Asn Pro Ile Asn
 225 230 235 240
 His Leu Ile

<210> 94
 <211> 2416
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 94
 atggaggagc ccatggctcc agttgcatgt gtagcagagg atggccttgt agctcatcaa 60
 tgggaggaga gacttttggg cctgtgaagg ccctataccc cagtgttggg ggttgccagg 120
 gagaagaagt gggagtgggt gggttgggtg acagagggag ggcgataatg ggttttcaa 180
 ggaaaaatca ggaaaaggga taacatttga aatgtaaata aagaaaatat ttaataaaaa 240
 gcaaaaatga aaaaaaagtg caaaaacatg ttctattatg ggagtgggtg tgttgaggag 300
 cagtggggga gggttaaata gagaggggac tgttggaggg gaaactagga aaggggataa 360
 cattggaaat gtaataaag aaaatatcta ataaaaaata aaataaaaaa tttggaaga 420
 tatttgaaaa attcatgac aagggcaaga atgttggaga aattcttatt tttgactact 480
 ttgagaagta taagaaaatt agattaaaaa taatcaattg aaagcactgc aatcactgag 540
 gcgtttctga gagaagagta agttaatgtt gtcttgactc tcaacatatg ctttctgaca 600
 tctcagtggt tttctgaaga tggctgtctg tatattcatc ctcttcagga gtgtctttca 660
 gagccctatt aagaatagtt tggaaaggaac aacactttct acaatgccta aaggagccta 720
 caatgaagta aatgatggga ttggcagagc tgtttacaca ggacaggact gcagttactt 780
 gtaaatgtg acaagagggg taatgcaaat gaaccccaaa ccagtgtagc aggaaaaagt 840
 aaagcccaag aggcaggcca cagatgagat agaccatcac tgtgagagag atggtactt 900
 acagcctgga caggggtttc ttcttaggac cacagaggat cctcagcagt agggccagac 960
 tggacacaga gagaagcata aataaaaaaa tcagaatgc agttataata aaggcaacat
 1020
 tttccacaaa tgatgattag tctcaccag gaatcctaag aagaaccaat ccaggatgcc
 1080
 tatgagaatg gacagaacc agattagggc atataggata gctgacatgt tactttgggtg
 1140
 gtggaagtca taccagattg gccacaatac agacagggcag tgctccatgc taatagcact
 1200
 gagcaggctg tgccctgcca tataggaat gattgctgca ttgcctaaga tatctttggt
 1260
 taatttatgg gcatagatga agtcaatgat ccatagcaga gagtcaatga aatggcagca
 1320
 gaggaagaag gagtcgcca gagccagatt gaggacatag cctgagatgg gtttctgtg
 1380
 cattcagaat cccaggagcc agagaacaat cgtgtttcct gccagttcca ccaggacagt
 1440
 gatgaggacc agaaaggagc gagtcaggat tggactgcag ttgggatgac cagtttcatt
 1500
 cagtggatg attcctgtgt tgtgtgatga gatgattgga tccatgctca caaatctttc
 1560
 agtgggtgta ctgagaacac agaccacatt taatcacctt aaaattgacc cttcttctgg
 1620
 aaatcataat ataatataga ttttttgtc aatatgcctt aataaaatca tttataaata
 1680
 aaaggaaagt aacatgacca tatggatcaa gaattctggg ctgtgaattc aaattcagag
 1740
 cttgtgtata ctctatagtg tgggtcatac ttctgtgta taactcagga ctttttaac
 1800
 gcgtggaaat ggttccattc tctcatggac aaggttggat ccatttctctg ctctctgtg
 1860
 accccagaaa gggaaagcacc agatttgcct ccccagggtc taaaataaca caggaaagat
 1920

gaagatatca gggatttgct gaggtacatt aagggaaata tccttctgca tggcctaaaag
 1980
 aatgtattct gagttatgca cctaactctc ggtcgagaca tgacactggt ctgtgcaaca
 2040
 gattacagat cacatgcatt tacctcctcc cttgagatga coaagctgca cctatcagtc
 2100
 acttcaccag gggattgctg aggtggcaga aggaatgaca actcactcat ctttcacagg
 2160
 agttatacct tctctgcagc catctctgac cttccctcag ctggtacagt taagcctgct
 2220
 tgcttttctg aaagcactta aggttccttt ttctttcttt agatctcctt ttcttttgaa
 2280
 catgggtcaa aagaccaagc aacattttcc tgagagtctg gactctctca atcattttctg
 2340
 aaaccacat ctctttccac catgaaagtt ttttcccaac ttccattgct ggacatacca
 2400
 gctttcttgg ggatgt
 2416

<210> 95

<211> 269

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 95

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

<210> 96

<211> 1954

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 96
 tggcattcgg tacctgcctc ctggcagaag atgaaggccc gaaatagggc atgtcccagt 60
 aagctggttag cttctgtatt ccaaactctc acctacacag actagtctca gagggatcgg 120
 ggaaccaaga tggcttcccc atggctactcc agcaaaacac tcccagggtga ggtggacacc 180
 tctcctctga caggggaagg gcccggatat ctggagcctg aaacggggtc tgcctcagaa 240
 gctgttagct tctgtagtcc acactctcac atgtgtaggc tagtctcagc aggatccagg 300
 aaccaagatc agaagggtca atgttcaggt gatcaaatgt agtctgtgtt cacagggata 360
 ccactggaag atttgtgagc atggatccaa tcatctcctc ccacaacaca gaatcacacc 420
 actgaatgaa actggtcato ccaactgcag tacaatcctg actccatcct ttctgggtcct 480
 catcactgtc ctgggtggaac tggcaggaaa taccattgta ctctggctcc tgagattcca 540
 catgcacagg atagcccatc tcagactatg tcctcaatct ggctctggca gattccttct 600
 tcctctcctg ccagttcatt gactctctgc tatggatcct tgacttcatc taggcccata 660
 aattaagcaa agatatctta tggaatgcag caatcattcc caataatgca gggctgagct 720
 acctcagtcg tattagcatg gagcactgcc tgcctgtatt gtggccaatc tggcaccact 780
 gccaccacac aagaaacatg tcagctatca tatgtgcctt aatctgggtt ctgtcctttc 840
 tcatgggcat cctcgattag tacttctcag gattcctggg tgagactcat catcagttgt 900
 ggaaaaatgt tgattttatt ctaactgcat ttctgatttc tttttttttt tattttatgt 960
 tctctctggg tccagctctg ccctacgact gaggatcctc tgtggctcca ggaggaaacc
 1020
 cctgtccttg ctgtatgta tcatctctct cacagtgatg gtctacctca tctgtggcct
 1080
 acctgttggg ctttacttgt tcctgttaaa ctggtttggg gttcatttgc atcatcccat
 1140
 ttgtcacatt tatcaagta ctgcactcct gccctttgta aacagctttg ccaaaccat
 1200
 catttccctc attgtaggct ccttiaggca ttgtagaagc cattggctcc gccaaaactat
 1260
 tattaagagg gctctggagg acactcctga ggaggatgaa tatacagata gccatottca
 1320
 gaaaactact gagatgtcag aaagcagatg ttgagagtca agacaacatt aacttaatct
 1380
 tctctcagaa acacctcact ggttgcagtg ctttcaattg attatttttt aatccaattt
 1440
 tcttataagt ctcaaagtag tcataaataa gaatttctcc aacattcttg gccttgtcaa
 1500
 tgaattttct aaatatcctc caaaacattt tgtatataat ttaatttttt tagatatttt
 1560
 ctatatttat atttccaatg ttatcccctt yccttagttt cccctccaaa agccccctct
 1620
 ccccttcccc cccccactgc tcctcaatat actcactccc ataattgaac acctttttgc
 1680
 acttttttct tttttttcac tttttgtttt ttattagata ttttctttat ttacatttca
 1740
 aatgttgtcc cttttcctga ttttccctct gaaaacccat tactgtcacc cccctgtaca
 1800
 ccctccctcc cacttctact tctatcctag gcattcccct acactggggc atagggcctt
 1860
 cacaggacca agagtctctc ctcccattga tgagctacaa ggccatcctc tgctacacat
 1920
 ggcaactgga gccatgggtc cctccatgtg tact
 1954

<210> 97

<211> 272

<212> PRT

<213> *Mus musculus*

<400> 97

Phe Leu Val Leu Ile Thr Val Leu Val Glu Leu Ala Gly Asn Thr Ile
 1 5 10 15
 Val Leu Trp Leu Leu Arg Phe His Met His Arg Ile Ala Leu Ser Asp
 20 25 30
 Tyr Val Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Ser Phe Phe Leu Ser Cys Gln
 35 40 45
 Phe Ile Asp Ser Leu Leu Trp Ile Leu Asp Phe Ile Ala His Lys Leu
 50 55 60

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

<210> 98
<211> 1893
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 98
ttagcaatcc cctggccagg tgactgacag gtgcagctta gtctttctca agggatgagg 60
taattgcatg tgatctgtaa tctgttgac agaccagtgt catgtctcaa cccagagtta 120
gggtgataac tcagaatcca tttttttgac catgcagaag catctttcct ttaatgtact 180
tcaacaaaac cctgatatct tcatcttttc tgcgttattt taagcoctgg ggaggcaaat 240
atgatgcttc cccittctag gggttacagg ggagcaggaa atggatgcag cctgacat 300
gatagtaggg aatcatttcc atgtgattta aaggctctga gttatacaca ggaagaatga 360
cccagactag agtatgtaca agctctgaat ttgaatccaa atccagaatt cttgatccac 420
atggctcatgt tattctcctt tttttataaa tgattttatt aagccatatt gacaacata 480
tctatattac attatgattg ccagaagaag ggtcaatggt aaggtgatga aatatggtct 540
gtgttctcca ggcacaacac tgaagattt ttgagcatgg atccaacat ctcatccac 600
aacacagaat ctacaccact gaatgaaact tgtcatccaa atacagtcca atcctgactc 660
cgtcctttct ggtcctcatc actgtcctgg tggacctggc aggaaacacc attgttctct 720
ggctcctggg attccgcatg cacaggaaac ccactctcagt ctatgtctc aacctggctc 780
tggcgactc cttctctgac tgccatttca ttgactctct gctatggatc attgacttca 840
tctatgcccc taaattaagc aaagatatct taggcaatgt agcaatcgtt cctatatcg 900
cagggctgag cgtcctcagt gctattagca tggagaactg actgtttata ttgtggccaa 960
tctgttacca ctgccaccac ccaagaaaca tgtcagctat cctatgtgcc ctaatctggg
1020
ttctgttctt tctcatgggc atcctcggtt ggttcttctt aagatttttg ggtgaaactc
1080
atcattgact ttattatacc tgcatttctg attttttttt tatttatgct tctctctggg
1140
tccattctgg ccctactgct gaggatcctc tatggttcca ggaggaaatc cctgtccagg
1200
ttgtatgta acatctctct cacagtgatg gtctacctca tctgtggcct gcctcttggg
1260
ctttacttgg tctctgtata ctgctttggg gttcatttac atcatccctc tctcacatt
1320
taccaagtta ctgtggtctt gtccatgtg gacagctctg ccaaccacat cttttatttc
1380
cttgagggtt ccttttaggta ttgtagaaag cattgggtccc tccaaactct totaaagagg
1440

actctagagg acactcctgg ggaggatgaa tatacagaca gccatcttca gaaaaccact
 1500
 gagatgtcag aaagcagatg ttgagagtca acacattaac ttactcttct ctaagaaacg
 1560
 cctcagtgat tgcaatgctt tcaattgggtt tttcttttta atcaaatttt cttatacttc
 1620
 tcaaagttagt cagaaatgag aatttctoga aaattcttgg cactgtcaat gaatttttca
 1680
 aatatcttcc aaaactttct tattttattt tattttattt ttattagaca ttttctttat
 1740
 ttacatttca aatggttatcc cctttactag tttcccctcc aaaaagcac tatcccctca
 1800
 cccctctacc tgctccccac attacccact cccataattg aacacttttt tcttttttta
 1860
 acttattatt tttattagat attttcttta ttt
 1893

<210> 99
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 99
 Phe Leu Val Leu Ile Thr Val Leu Val Asp Leu Ala Gly Asn Thr Ile
 1 5 10 15
 Val Leu Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met His Arg Lys Pro Ile Ser Val
 20 25 30
 Tyr Val Leu Asn Leu Ala Leu Gly Asp Ser Phe Phe Cys Cys His Phe
 35 40 45
 Ile Asp Ser Leu Leu Trp Ile Ile Asp Phe Ile Tyr Ala His Lys Leu
 50 55 60
 Ser Lys Asp Ile Leu Gly Asn Val Ala Ile Val Pro Tyr Ile Ala Gly
 65 70 75 80
 Leu Ser Val Leu Ser Ala Ile Ser Met Glu Asn Leu Phe Ile Leu Trp
 85 90 95
 Pro Ile Trp Tyr His Cys His His Pro Arg Asn Met Ser Ala Ile Leu
 100 105 110
 Cys Ala Leu Ile Trp Val Leu Phe Phe Leu Met Gly Ile Leu Gly Gly
 115 120 125
 Ser Ser Asp Phe Trp Val Lys Leu Ile Ile Asp Phe Ile Ile Pro Ala
 130 135 140
 Phe Leu Ile Phe Phe Leu Phe Met Leu Leu Ser Gly Ser Ile Leu Ala
 145 150 155 160
 Leu Leu Leu Arg Ile Leu Tyr Gly Ser Arg Arg Lys Ser Leu Ser Arg
 165 170 175
 Leu Tyr Val Asn Ile Ser Leu Thr Val Met Val Tyr Leu Ile Cys Gly
 180 185 190
 Leu Pro Leu Gly Leu Tyr Leu Val Leu Leu Tyr Cys Phe Gly Val His
 195 200 205
 Leu His His Pro Ser Pro His Ile Tyr Gln Val Thr Val Val Leu Ser
 210 215 220
 Tyr Val Asp Ser Ser Ala Asn His Ile Phe Tyr Phe Leu Ala Gly Ser
 225 230 235 240
 Phe Arg Tyr Cys Arg Lys His Trp Ser Leu Gln Thr Leu Leu Lys Arg
 245 250 255
 Thr Leu Glu Asp Thr Pro
 260

<210> 100
 <211> 1290
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 100
 cctctggcta ggtgactgac aggtgcagct tggatcatctc aaggaggag gttactgcat 60

ttgatctata atctgttgca cagaccagtg tcttgtctcg acccagagtt aggtgtataa 120
 ctcagaatcc attcttttga ccggtgcaaaa gtatctttct cttgatgtac ctcaacaaaa 180
 cccatgatcc ttcatctttc ctgtgttatt ttaagccctg ggggagtaca aatctgatgc 240
 ttccctttct gtggttacag gtagagcagg aaatggatcc taccctgacc atgagagaag 300
 ggaatcattt ccatgtgatt aaaaggtcct gagttataca ctggaagatg gaccagact 360
 acagagtata cacaagctct gaatttgaat ccacagtcca gaattcttga tcaatgtagt 420
 catgttactc tccttttttt tataaatgat tttagcaagc catattgaca acaatatcta 480
 tattacatta tgatcgccag aagaaaggtc aatgttaagg tgatcaaaaa tggctctgtt 540
 ctcagggaca ccactggaag atttgtgocg atggatccaa tcatcttata ccacaacaca 600
 gaatcacact gctgaatgaa actgggtcaac ccaacttcag tccaatcctg actctgtctc 660
 tctgtctctc atcactgtcc tgtttgaact ggcaggaaac accattgtac tctggctcct 720
 gggattccac atgcacaagg aaagtcactc cagtctatgt cctcaatctg gctcttgcag 780
 actccttctt cctcagctgc caattcattg actctctgct ttgaagcatt gacttctctc 840
 atgcatataa attaaagcaa gatatcttag gcaatgcagc aatcgttccc tatatcgcag 900
 ggctgagtat cctcagtgct attagcatgg agcactgcct gtctgtatag tggcaaatgc 960
 ggtaccactg ccactaccca agaacaatgt cagctatcct atgtgccta atctgggttc
 1020
 tgttttttct catggacatc ctggattggg tcttctcagg attcctgggt gagactcatc
 1080
 atcatttatg gaaaaatatt gacttcatta taactgcatt tctgattttt ttatttatgc
 1140
 ttctctctgg ctccagctcg gccctactgc tgaggattct ttatggcttc aagaggaaac
 1200
 ccctgtccag gctatatatt atcatctctc tcacagtgat ggtctacctc atctgggcct.
 1260
 gcccttggg ctttcatttt tctgtttaca
 1290

<210> 101
 <211> 207
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 101
 Leu Val Leu Ile Thr Val Leu Phe Glu Leu Ala Gly Asn Thr Ile Val
 1 5 10 15
 Leu Trp Leu Leu Gly Phe His Met Thr Arg Lys Val Ile Ser Val Tyr
 20 25 30
 Val Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Ser Phe Phe Leu Ser Cys Gln Phe
 35 40 45
 Ile Asp Ser Leu Leu Ser Ile Asp Phe Leu Tyr Ala Tyr Lys Leu Ser
 50 55 60
 Lys Asp Ile Leu Gly Asn Ala Ala Ile Val Pro Tyr Ile Ala Gly Leu
 65 70 75 80
 Ser Ile Leu Ser Ala Ile Ser Met Glu His Cys Leu Ser Val Trp Gln
 85 90 95
 Met Arg Tyr His Cys His Tyr Pro Arg Asn Met Ser Ala Ile Leu Cys
 100 105 110
 Ala Leu Ile Trp Val Leu Ser Phe Leu Met Asp Ile Leu Asp Trp Phe
 115 120 125
 Phe Ser Gly Phe Leu Gly Glu Thr His His His Leu Trp Lys Asn Ile
 130 135 140
 Asp Phe Ile Ile Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Phe Met Leu Leu Ser
 145 150 155 160
 Gly Ser Ser Leu Ala Leu Leu Leu Arg Ile Leu Tyr Gly Phe Lys Arg
 165 170 175
 Lys Pro Leu Ser Arg Leu Tyr Ile Ile Ile Ser Leu Thr Val Met Val
 180 185 190
 Tyr Leu Ile Leu Gly Leu Pro Leu Gly Leu Ser Phe Phe Leu Leu
 195 200 205

<210> 102
 <211> 1389
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 102
 ttaaggatgat caaatatggc ctgttttctc agggacacca ctggaagatt tttaaacatg 60
 gatccaaaaca tctcatccca caacacagaa tctactccac tgaatgaaac tggatcatcca 120
 aacttcagta caatactcac gctgtccttt ctggctcctg tcaactgtcct cgtggaactg 180
 gcaggaaaaca ccattgtact ctggctcctg ggattccgca tgcacaggaa agccatctca 240
 gtctatgtoc tcaatctggc tctggcagac tccttcttct gctgccattt cattgactct 300
 ctgctatgga tcaactgactt catctatacc cataaattaa gcaaagatat cttacgcaat 360
 gcagcaattg ttccctatat cgcaagactg agcgtcctca gtgctattag aatggagcac 420
 ttactgttta tattgtggcc aatctggtag cactgccacc acccaagaaa catatcagct 480
 atcctatgtg ccctaactct gggtctgttc tttctcatgg gcactcctga ttggttcttc 540
 ttaggattcc tgggtgagac tcatcatcat ttgtggaaaa atattgactt tattatacct 600
 gcatttctga tttttttaat gctgctttct gggtccactc tggccctact gctgaggata 660
 ctttgtggtt ccaggaggaa actcctgtcc aggcctgtat ttaccatctc tctcacagt 720
 atggtctacc tcatctgtgg catgctctt gggttttact tggctcctgtt atactggttt 780
 gggattcatt tacactatcc ctottgtcac atttaccag ttactgcact cttgtcctat 840
 gtggacagct ctgccaacca catottttat ttcttgttag gctccttag gcattttaga 900
 aagcattggt ccctctaaac tattctaaag aggaccttg agaacattcc tgaggaggat 960
 gaatatacag acagctatct tcagaatacc actgagatgt cagaaatcag atgttgagag

1020
 tcaaacacatt aacttactct tctctcagaa acgctcagc gattgcaacg ctttcaattt
 1080
 ttttgtttgt ttggtttttt tttttttgga ttgttttaaa ttaggtattt tggatattta
 1140
 catttccaaa tttatattta tacttccaaa agtccccat acottccctt gccaatcccc
 1200
 taccacattt ttggccctgg cgtttccctg tactggggca tataaagttt gcaagtccag
 1260
 tggccctctc tttccagtga tggcctacta agccatcttt tgatacatat gcagctagag
 1320
 tcaagagctc cagggtactg attaattcat aatgttgctc cacctatagg gttgcagatc
 1380
 ccttttagca
 1389

<210> 103
 <211> 206
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 103
 Phe Phe Cys Cys His Phe Ile Asp Ser Leu Leu Trp Ile Thr Asp Phe
 1 5 10 15
 Ile Tyr Thr His Lys Leu Ser Lys Val Tyr Leu Thr Gln Cys Ser Asn
 20 25 30
 Phe Pro Tyr Ile Ala Arg Leu Ser Val Leu Ser Ala Ile Arg Met Glu
 35 40 45
 His Leu Leu Phe Ile Leu Trp Pro Ile Trp Tyr His Cys His His Pro
 50 55 60
 Arg Asn Ile Ser Ala Ile Leu Cys Ala Leu Ile Trp Val Leu Phe Phe
 65 70 75 80
 Leu Met Gly Ile Leu Asp Trp Phe Phe Leu Gly Phe Leu Gly Glu Thr
 85 90 95
 His His His Leu Trp Lys Asn Ile Asp Phe Ile Ile Pro Ala Phe Leu
 100 105 110
 Ile Phe Leu Met Leu Leu Ser Gly Ser Thr Leu Ala Leu Leu Leu Arg
 115 120 125
 Ile Leu Cys Gly Ser Arg Arg Lys Leu Leu Ser Arg Leu Tyr Val Thr
 130 135 140
 Ile Ser Leu Thr Val Met Val Tyr Leu Ile Cys Gly Met Pro Leu Gly
 145 150 155 160
 Leu Tyr Leu Phe Leu Leu Tyr Trp Phe Gly Ile His Leu His Tyr Pro
 165 170 175
 Ser Cys His Ile Tyr Gln Val Thr Ala Leu Leu Ser Tyr Val Asp Ser
 180 185 190
 Ser Ala Asn His Ile Phe Tyr Phe Leu Val Gly Ser Phe Arg

195

200

205

<210> 104
 <211> 1420
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 104
 aaaaaggaac cttacacttt tctgagttag tgtgcattca gagaatcaga cagtottaac 60
 tgtaccccct gaggaaggt cagagatggc tgcatagagg gtgcaactcc tftgaaggat 120
 gagtgaattg tcattccttc tgccatctta gcaatcccct ggccagggtga ctgacaggta 180
 caacattgtc aactcaaggg aggakrtaaa tgyrtgtgat ccttaatcta gagcacagac 240
 cagagtcaca tmtcaaccca gagttagggg tagaaytcag aatccattct ttgatgatg 300
 aggaaagtac tttcccttaa tatgcctcaa caaaaccctg atatcatcat cttttctgtg 360
 tcattttaag ccctggggag gtaaagtga tgcttccctt tctggagtta ccaagggtggc 420
 aggaaatgga tccaaccctg accatgaaaa aaggaaatcg tttccatgtg aattaaagat 480
 cctgagttat acacaggaag aatgatgcag actatagagt aaacacaagc tctaattttg 540
 aatccacagt ccagaattct taatcccatg tggatcatgt actttccttt tattataaaa 600
 tcattttatt taataatggt gacaagaata tctatattay rttatgattg ccagaagaag 660
 ggtcagtggt aatgtgtca aatattggtc gtgttctcag ggacacaact ggaagatttg 720
 tgagcatgga ttcaaccatc tcatcccaca acacaawatc tacacaactg aatgaaactg 780
 stratcctaa ctgacgtcca atcctgacmc tgyccttctt ggccctcacc actgocctgg 840
 ttgactggc agaaaacact attatactct gactcctggg attcccctg cacaggaaag 900
 ccatctcagt ctatatcttc aaccaggctc tggcagactc cttcttctc tgctgtcact 960
 tccttgactc tatgtacag atcattgact tctatggcat ctatggccat aaattaagca
 1020
 aagatatctt aggcaatgca gcaatcattc cctatatcac agggctgagc gtcctcagtg
 1080
 ctattagcac tgcctgtcta tattgtggcc aatctggtac cattgccacc acccaagaaa
 1140
 catgtcaggt atcatatgtg ccctaactctg ggttctgtcc tttctcatgg gcatccttga
 1200
 ttggttcttc tcaggattcc tgggtgagac tcattatcat ttgtgggaaa atgttgactt
 1260
 tattataact gcatttttta tttatgcttc tctctgggtc tactcatgag gatcctctgt
 1320
 ggaggaaacc cctgtccagg ctgtatggtta ccactctctc cacagtgatg ggctacctca
 1380
 tctgtggcct gcctcttggg ctttacttgt ctctgttaca
 1420

<210> 105
 <211> 200
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 105
 Phe Leu Ala Leu Ile Thr Ala Leu Val Leu Ala Glu Asn Thr Ile Ile
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Gly Phe Pro Met His Arg Lys Ala Ile Ser Val Tyr Ile
 20 25 30
 Leu Asn Gln Ala Leu Ala Asp Ser Phe Phe Leu Cys Cys His Phe Leu
 35 40 45
 Asp Ser Met Leu Gln Ile Ile Asp Phe Tyr Gly Ile Tyr Gly His Lys
 50 55 60
 Leu Ser Lys Asp Ile Leu Gly Asn Ala Ala Ile Ile Pro Tyr Ile Thr
 65 70 75 80
 Gly Leu Ser Val Leu Ser Ala Ile Ser Thr Asp Leu Ser Ile Leu Trp
 85 90 95
 Pro Ile Trp Tyr His Cys His His Pro Arg Asn Met Ser Gly Ile Ile
 100 105 110
 Cys Ala Leu Ile Trp Val Leu Ser Phe Leu Met Gly Ile Leu Asp Trp
 115 120 125
 Phe Phe Ser Gly Phe Leu Gly Glu Thr His Tyr His Leu Trp Glu Asn
 130 135 140

Val Asp Phe Ile Ile Thr Ala Phe Phe Ile Val Cys Phe Ser Leu Gly
 145 150 155 160
 Leu Leu Met Arg Ile Leu Cys Gly Gly Ile Pro Leu Ser Arg Leu Tyr
 165 170 175
 Val Thr Ile Ser Leu Thr Val Met Gly Tyr Leu Ile Cys Gly Leu Pro
 180 185 190
 Leu Gly Leu Tyr Leu Ser Leu Leu
 195 200

<210> 106
 <211> 730
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 106
 tgtgatctgt gttctcaggg acaccgctgg aagcatttgt gagcatggat ccaatcatct 60
 catcccacaa cacagaatca caccactgaa tgaaactggg catcccact gcagccaat 120
 cctgacacca ttctttctgg tcctcatcac tgtactggg gaattggcag gggaacacca 180
 ttatactctg gctcctggga tttcgcgatga acaggaagc aatctcagt tatgtctca 240
 atctggctct ggcagactcc ttcttttccct ctgttgccat ttcattgact ctctgtaca 300
 gaacattgac ttcatcaatg cccataaatt aagcaaacat atcttaggaa atgcagcaat 360
 cattccctat attgcagggc tgagcctcct cagtgtatt agcatggagc actgcctgtt 420
 tatattatgg ccaatctggg accactgcca ccacatgtca gctatcatat gtgcctaata 480
 ctgggttccg tccttttcca agggcatcct caatttggc ttctcaggat tcctgggtga 540
 gactcatcat catttgtggg aaaatattga ctttattata actgcatttc tgattttttt 600
 atttatgctt ctctgtgggt gcaatttggc cctagagctg aggatactct gtggctccag 660
 gaagaaacc cgtgccaggc tgtaagttac catctctctc acagcgtatg tctacctcat 720
 ctgtggcctg 730

<210> 107
 <211> 198
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 107
 Phe Leu Val Leu Ile Thr Val Leu Val Glu Leu Ala Gly Asn Thr Ile
 1 5 10 15
 Ile Leu Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met Asn Arg Lys Ala Ile Ser Val
 20 25 30
 Tyr Val Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Ser Phe Val Phe Leu Cys Cys
 35 40 45
 His Phe Ile Asp Ser Leu Leu Gln Asn Ile Asp Phe Ile Asn Ala His
 50 55 60
 Lys Leu Ser Lys His Ile Leu Gly Asn Ala Ala Ile Ile Pro Tyr Ile
 65 70 75 80
 Ala Gly Leu Ser Leu Leu Ser Ala Ile Ser Met Glu His Cys Leu Phe
 85 90 95
 Ile Leu Trp Pro Ile Trp Tyr His Cys His His Met Ser Ala Ile Ile
 100 105 110
 Cys Ala Leu Ile Trp Val Pro Ser Phe Leu Lys Gly Ile Leu Asn Leu
 115 120 125
 Phe Phe Ser Gly Phe Leu Gly Glu Thr His His His Leu Trp Glu Asn
 130 135 140
 Ile Asp Phe Ile Ile Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Phe Met Leu Leu
 145 150 155 160
 Cys Gly Cys Thr Leu Ala Leu Glu Leu Arg Ile Leu Cys Gly Ser Arg
 165 170 175
 Lys Lys Pro Leu Ser Arg Leu Val Thr Ile Ser Leu Thr Ala Met Val
 180 185 190
 Tyr Leu Ile Cys Gly Leu
 195

<210> 108
 <211> 847

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 108

```

ttcagaattc ttgatccatg tggatcatggt actcccccttt tattaataaaa tgagtacatt 60
aagccatatt gaaaacaata tctatattat attatgattg cccgaagaag ggtcaatggt 120
aaggtgatca aatatggcct gttttcctca gggacaccaa tgggtgattt gtttagcatg 180
gatccaacca tctcatccca caacacagaa tcacaccact gaatgaacct ggcccatccc 240
gactgcaatc caatcctggt tctgtccttt ctggctcctca tcgctgtcct ggtggaactg 300
gcaggaaaca ccattgttct ctggctcctg ggattccgca tgcacaggaa acccatctca 360
gtctatgtcc tcaatctggc tctggcagac tcctttcttc tctgtctgcca ttccattgac 420
tctctgctac aaatcattga cttcacctat gcccataaat taagcaaaga tatcttagac 480
aatgcagcaa ttgttccctt tatcacaggg ctgagggtcc tcagtgtctat tagcatggag 540
cactgctgtg ctgtattgtg gctaactctgg taccactgcc accacctgag aaatatgtca 600
gctatcctat gtgccctaata ctgggttctg tcctttctca tgtccatcct ggactagttc 660
ttctcagaat tcctgcatga gactcatcat catttgtggg aaaatgttga ctttattata 720
actgcatttc tgattttttt atttatgctt ctctttaggt ccagtctggc cctactgagg 780
aggatcctcc tgtggctcca ggaggaaata cctgtccacg ctatatgtta tcatttctct 840
cacagtg                                     847

```

<210> 109

<211> 192

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 109

```

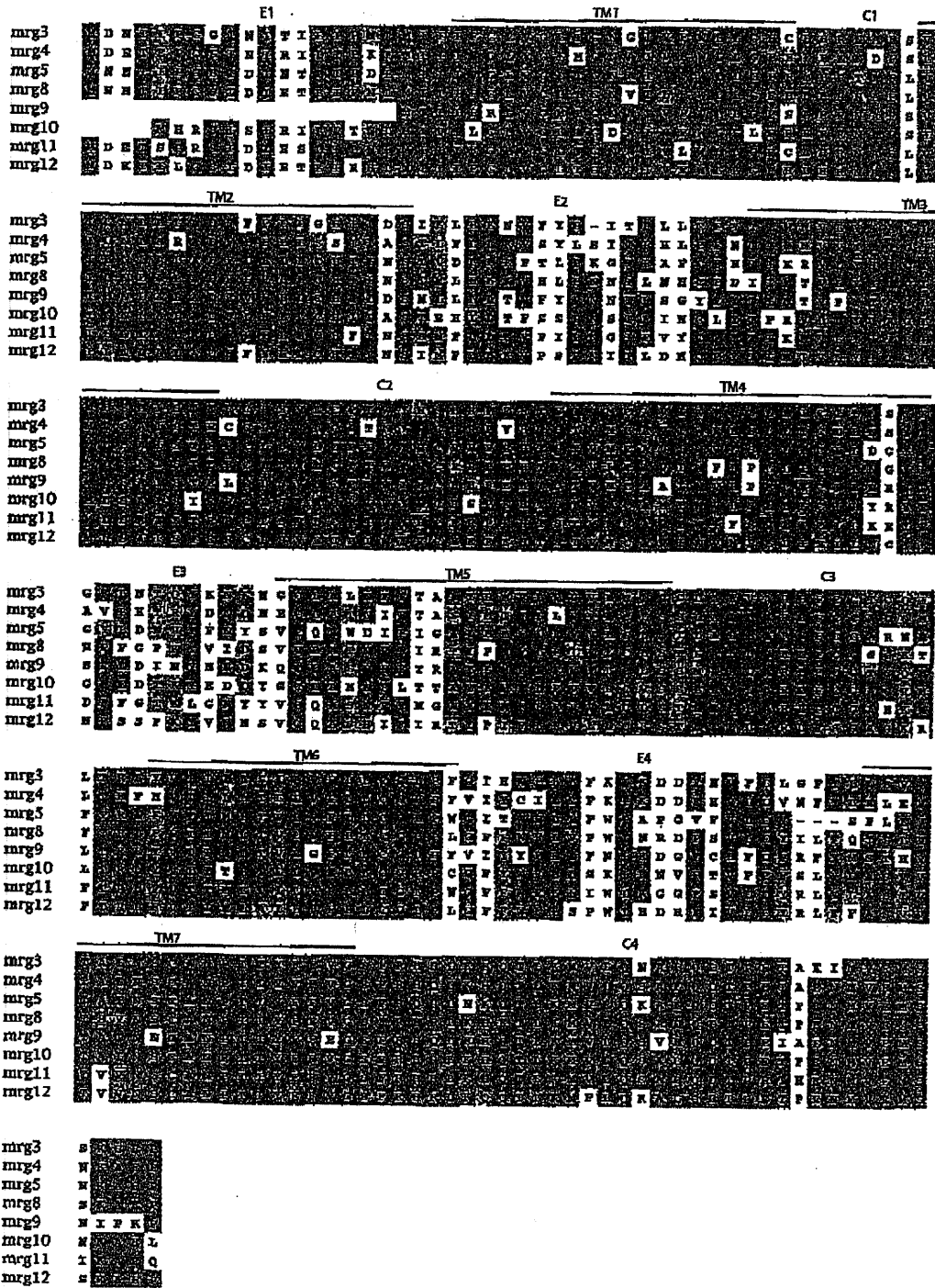
Phe Leu Val Leu Ile Ala Val Leu Val Glu Leu Ala Gly Asn Thr Ile
 1                    5                    10                    15
Val Leu Trp Leu Leu Gly Phe Arg Met His Arg Lys Pro Ile Ser Val
 20                    25                    30
Tyr Val Leu Asn Leu Ala Leu Ala Asp Ser Phe Phe Leu Cys Cys His
 35                    40                    45
Phe Ile Asp Ser Leu Leu Gln Ile Ile Asp Phe Thr Tyr Ala His Lys
 50                    55                    60
Leu Ser Lys Asp Ile Leu Asp Asn Ala Ala Ile Val Pro Phe Ile Thr
 65                    70                    75
Gly Leu Arg Val Leu Ser Ala Ile Ser Met Glu His Cys Leu Ser Val
 85                    90                    95
Leu Trp Leu Ile Trp Tyr His Cys His His Leu Arg Asn Met Ser Ala
100                    105                    110
Ile Leu Cys Ala Leu Ile Trp Val Leu Ser Phe Leu Met Ser Ile Leu
115                    120                    125
Asp Phe Phe Ser Glu Phe Leu His Glu Thr His His His Leu Trp Glu
130                    135                    140
Asn Val Asp Phe Ile Ile Thr Ala Phe Leu Ile Phe Leu Phe Met Leu
145                    150                    155
Leu Phe Arg Ser Ser Leu Ala Leu Leu Arg Arg Ile Leu Cys Gly Ser
165                    170                    175
Arg Arg Lys Tyr Leu Ser Thr Leu Tyr Val Ile Ile Ser Leu Thr Val
180                    185                    190

```

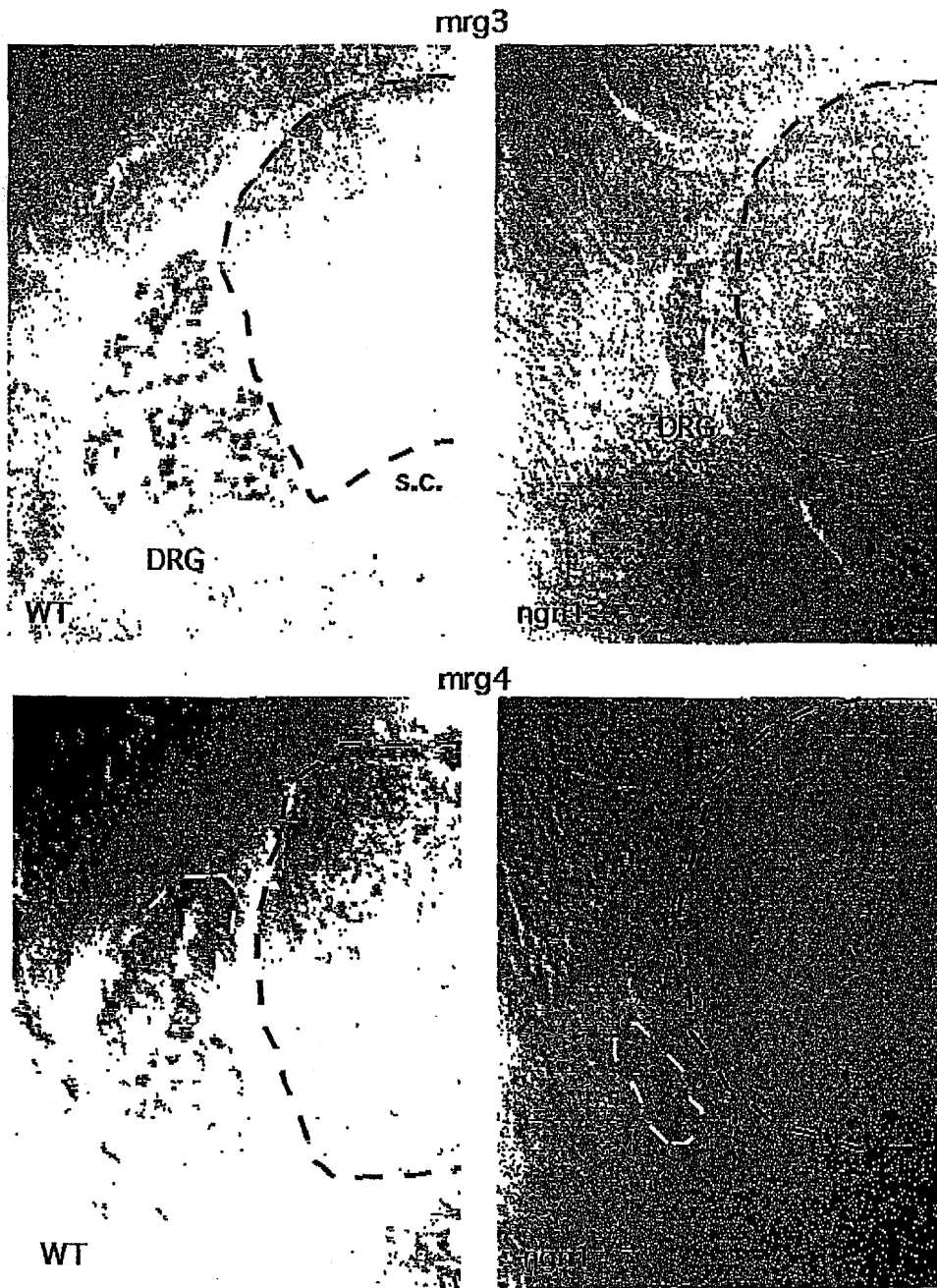
【 図 1 】

mcg3	LCPIWYHCHRPEHTSTVMCAVIWVLSLLICILNSYFCGFLNTQYKNENGCLALNFFFAAYLMLFVVLCLSSLALVA
mcg4	LCPTWYHCHRVPHTSTVMCAAIWVLSLLICILNSYFCGVLHTRYDNDNGCLATWIFTASYMIFELLVVLCLSSLALLA
mcg5	LCPIWYHCHRRPEHTSTVMCAVIWVLSLLICILDGYFCGYLDNHYFNYSVCQAWDFIGAYPMFLFVVLCLSTLALLA
mcg6	LCPIWYHCHRRPEHTSTVMCAVIWVLSLLICILNSYFCGFLNTQYKNENGCLALSFFTAAYLMLFVVLCLSSLALVA
mcg7	LCPTWYRCHRVPHTSTVMCAVIWVLSLLICILNSYFCAVLHTRYDNDNECLATWIFTASYMIFELLVVLCLSSLALLA
mcg8	LCPIWYRCHRPEHTSTIMCVVIWVLSLLICILNRYFCDLFGPKYEINŠVCQASEFFIRIYPIFLFVVLCFSTLTLA
Human1	LWPIWYRCHRPTHLSAVVCVLLWALSLLRSILEWMLCGFLPSGA-DSAWCQTSDFITVAWLIFLCVVLCGSSSLVLLI
Human2	LWPIWYRCHRRPRHLSAVVCVLLWALSLLLSILEGKFCGFLFSDG-DSGWCCQTFDFITAAWELIFLFMVLCGSSSLALLV
mcg3	RLFCGTGQIKLTRLXYVTIMLSILVFLLCGLPFGIHWFLLFKIKDDFHVFDLGPYLASVVLTAINSCANPIIYFFVVG
mcg4	RLFCGAGQMKAYQFHVTTLLTLLVFLLCGLPTAIYCFLLFKIKGDFHVDVNLVLALEVLTAINSCANPIIYFFVVG
mcg5	RLFCGARNMKFTRLFVTIMLTVLVFLLCGLPWGITWFLFWIARGVFPDYSPLL---VLTAINSCANPIIYFFVVG
mcg6	RLFCGARNMKFTRLFVTIMLTVLVFLLCGLPWGITWFLFWIAPGVFVLDYSPLL---VLTAINSCANPIIYFFVVG
mcg7	RLFCGAGQMKLTRFHVTILLTLLVFLLCGLPFVIYICILLFKIKDDFHVLDVNLVLALEVLTAINSCANPIIYFFVVG
mcg8	RLFCGAGKKKFTRLFMTIMVTILVFLLCGLPLGFLWFLPWIEGGFSLDYRFFLASLVLTAVNSCANPIIYFFVVG
human1	RILCGSRKIPULTRLVVTILLTLLVFLLCGLPFGIQOFFLFWIHWVREVLFCHVHLVSIFLSALNSSANPIIYFFVVG
human2	RILCGSRGLPULTRLVVTILLTLLVFLLCGLPFGIQWFLIHWIWKDSVLFCHIHPVSVVLSLSSANPIIYFFVVG

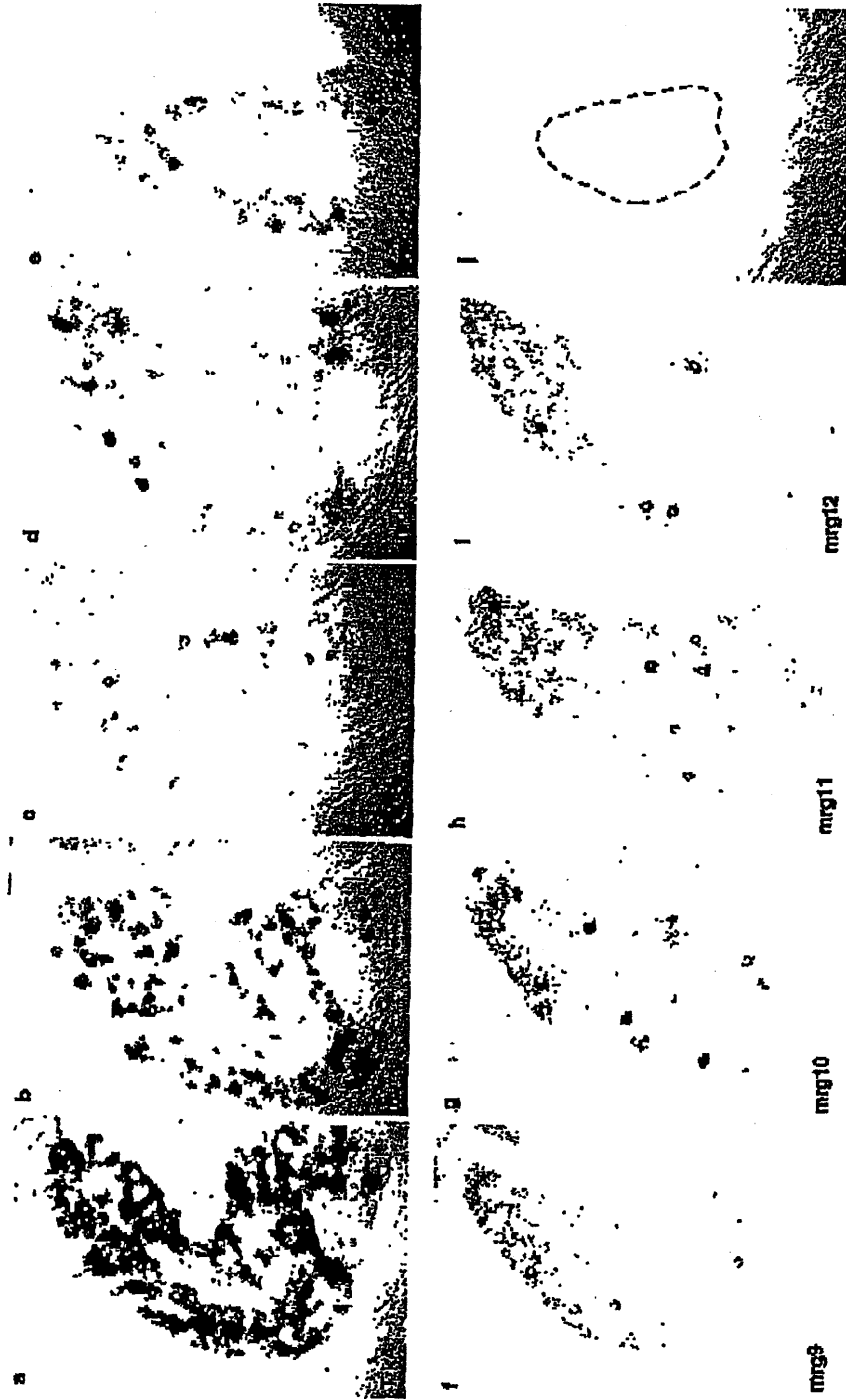
【図 1 A】



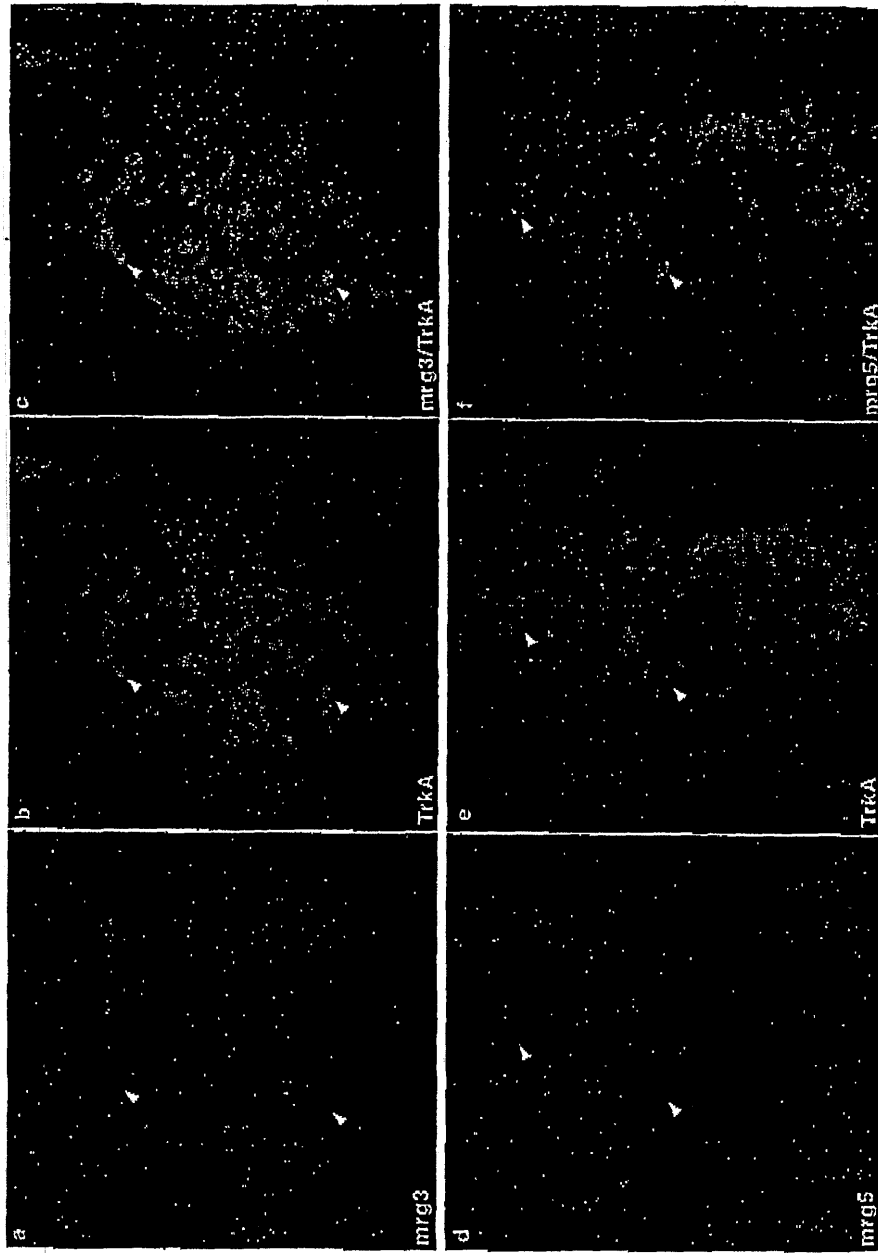
【图2】



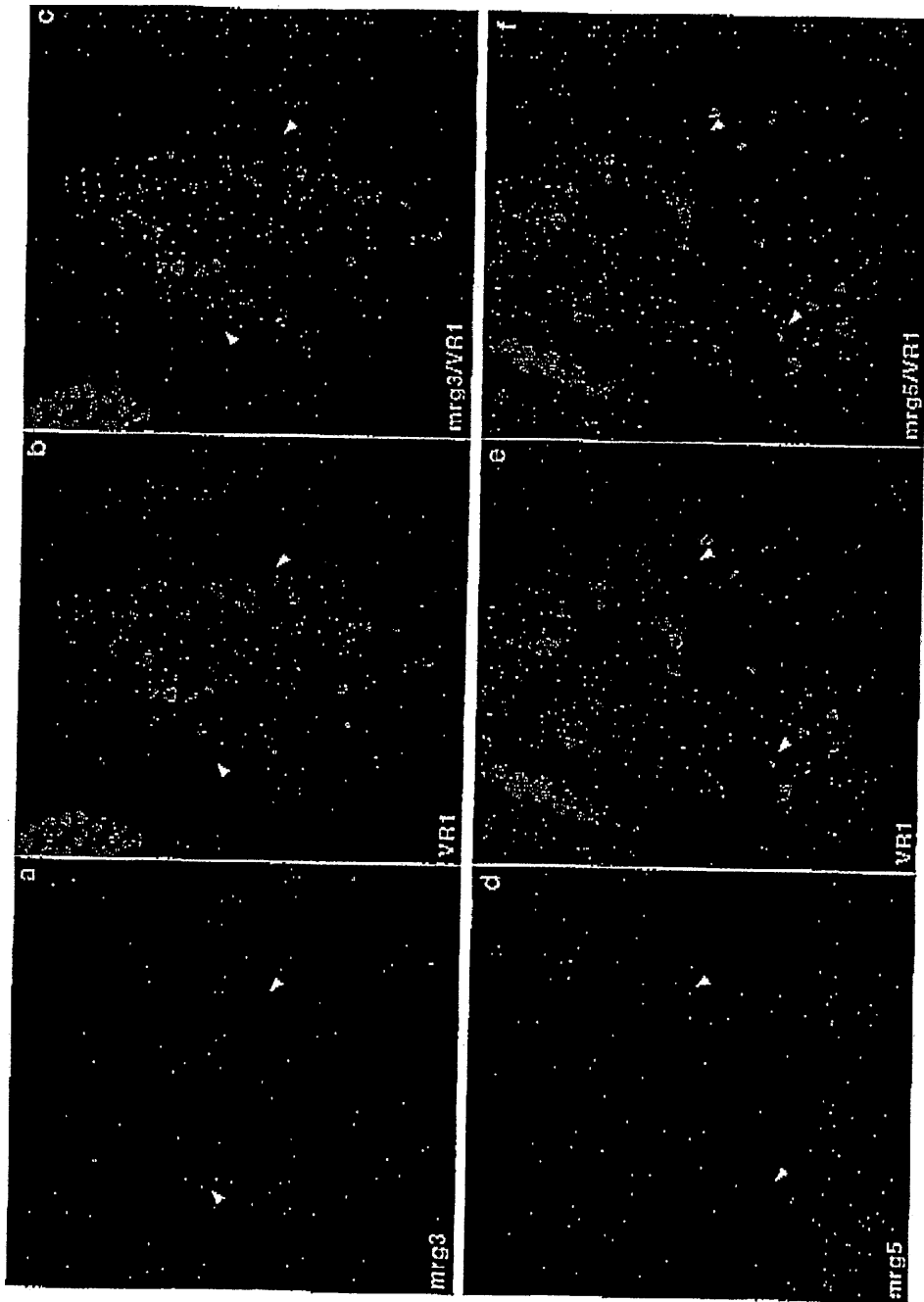
【図 2 A】



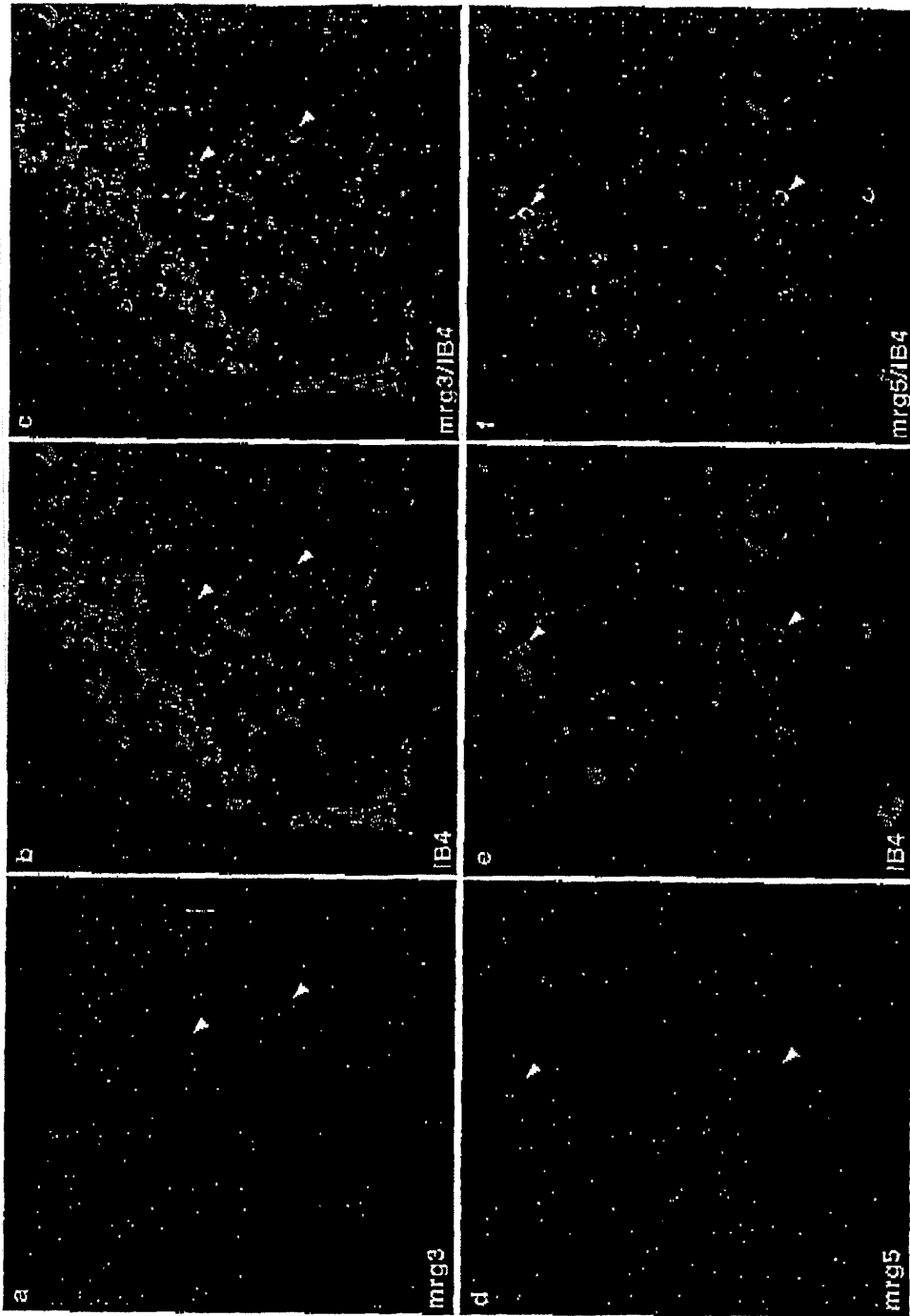
【図 2 B】



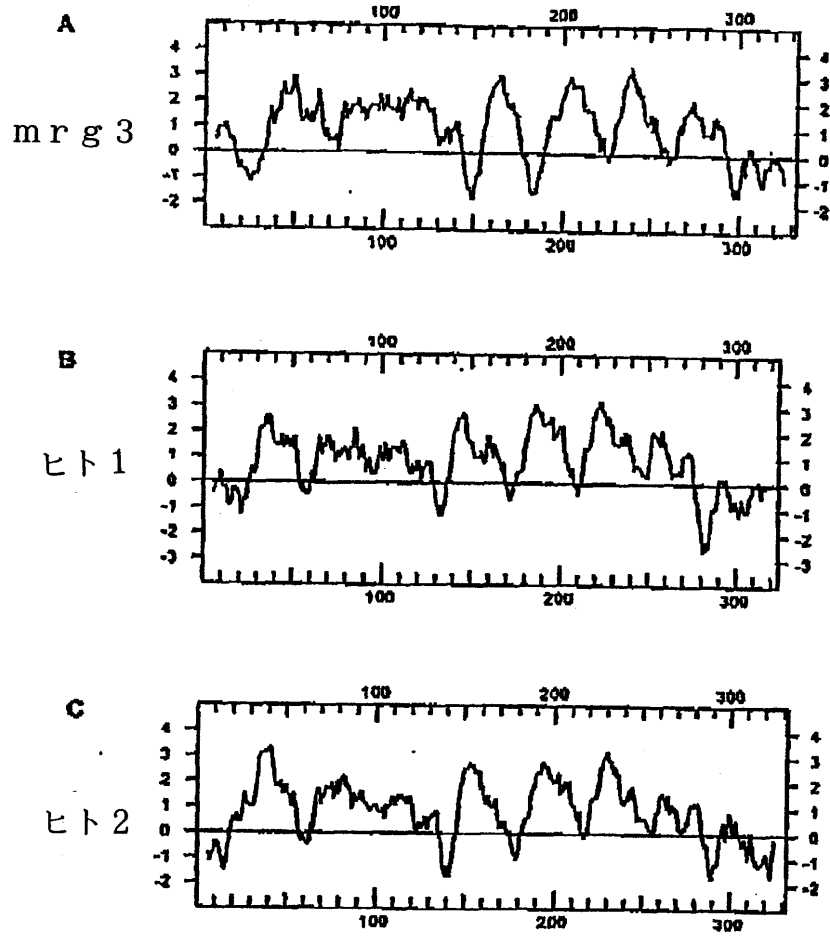
【図 2 C】



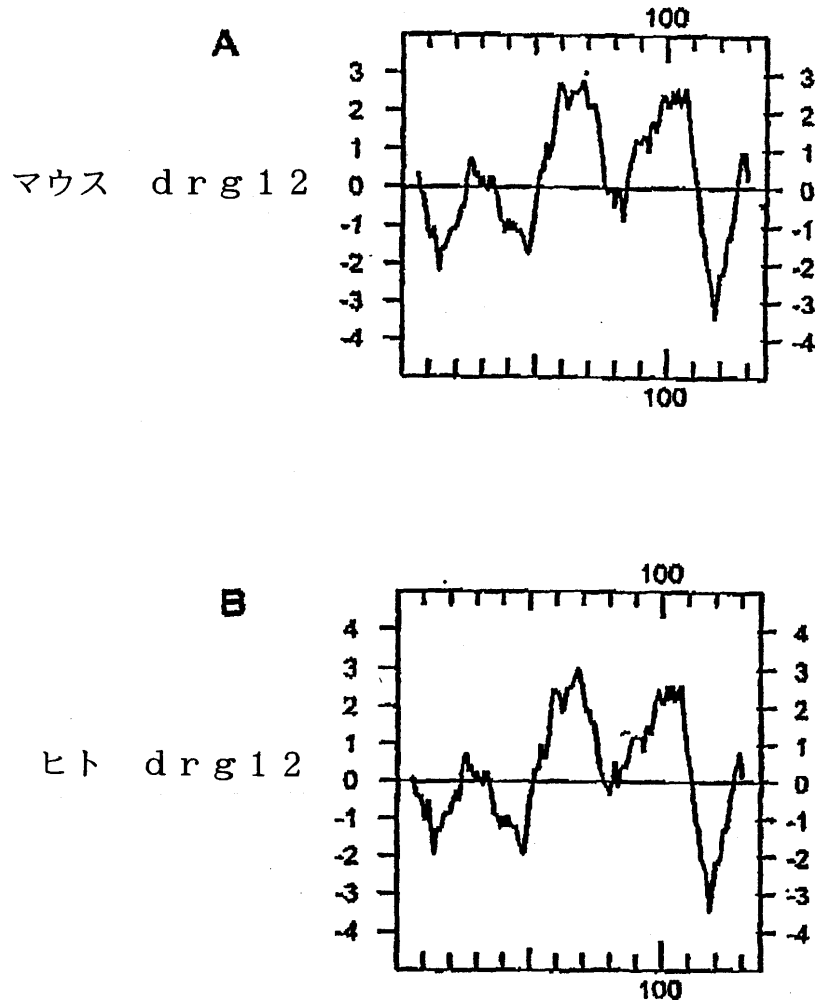
【図 2 D】



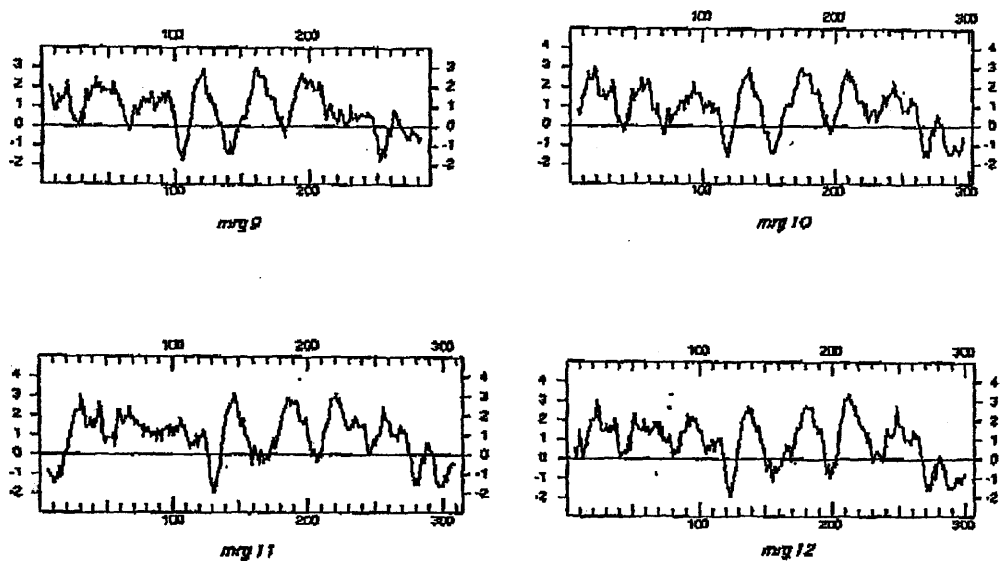
【図3】



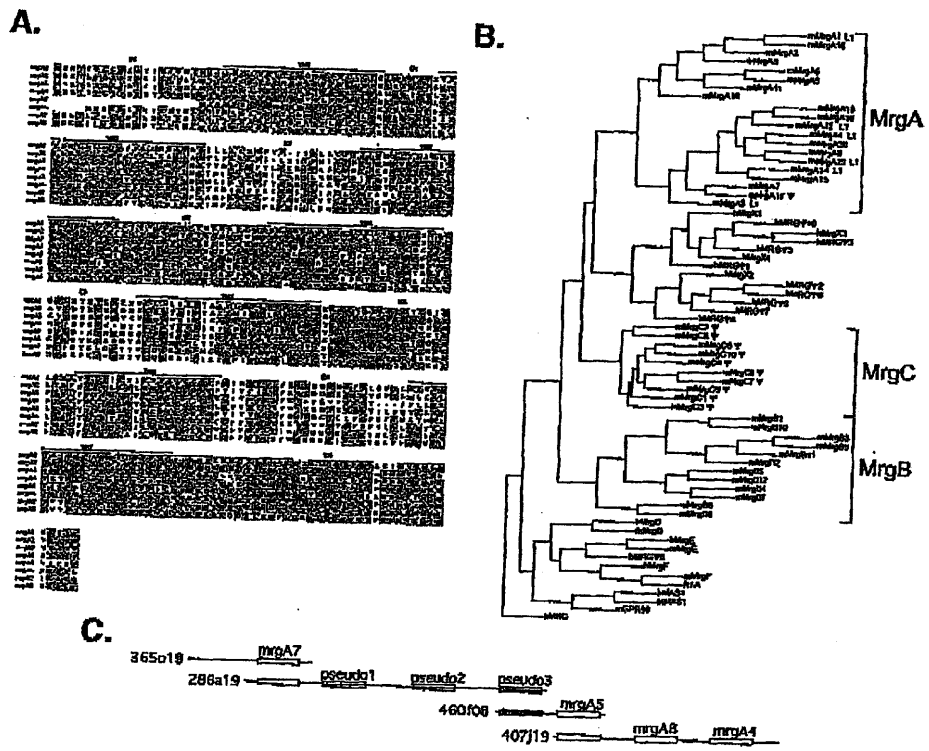
【図4】



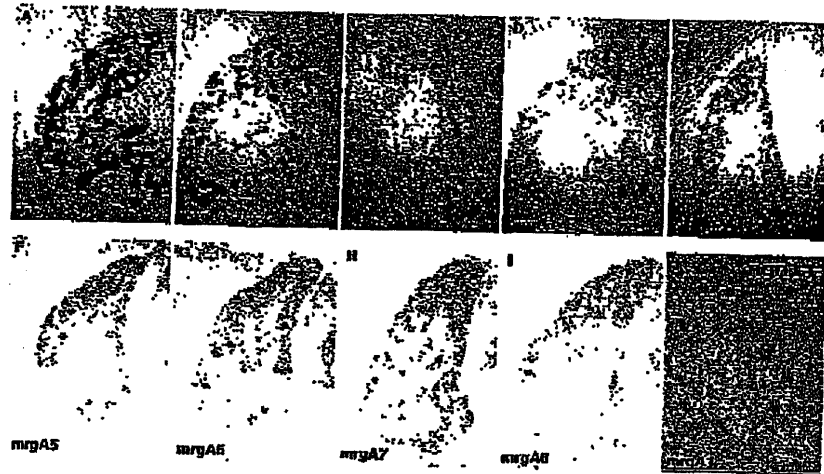
【図5】



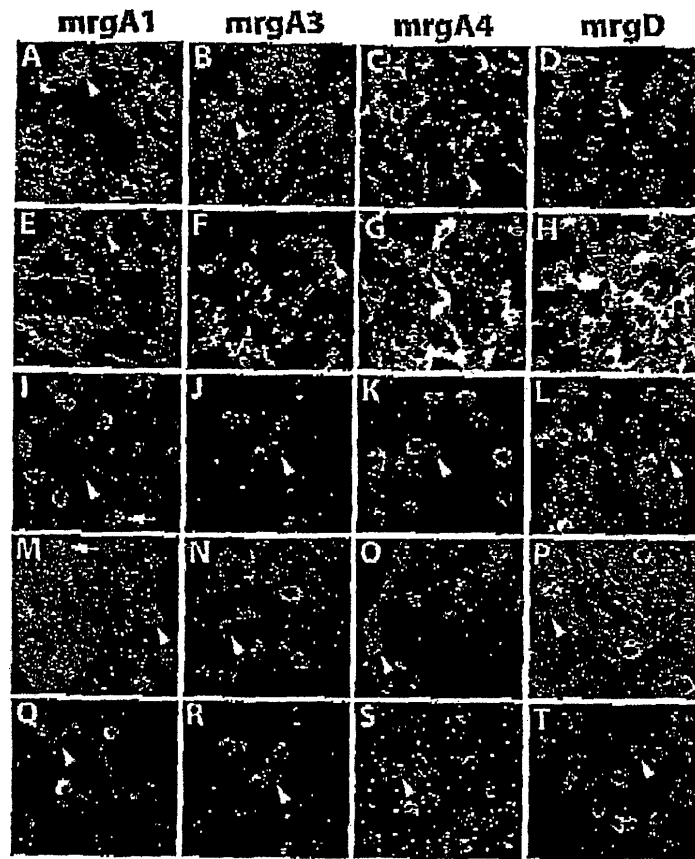
【図 6】



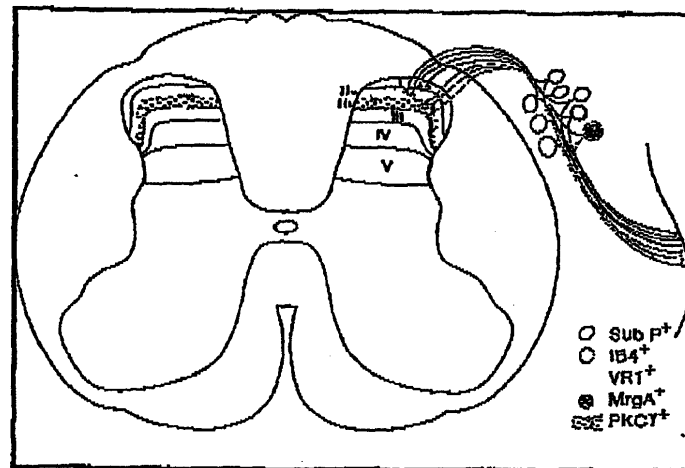
【図 7】



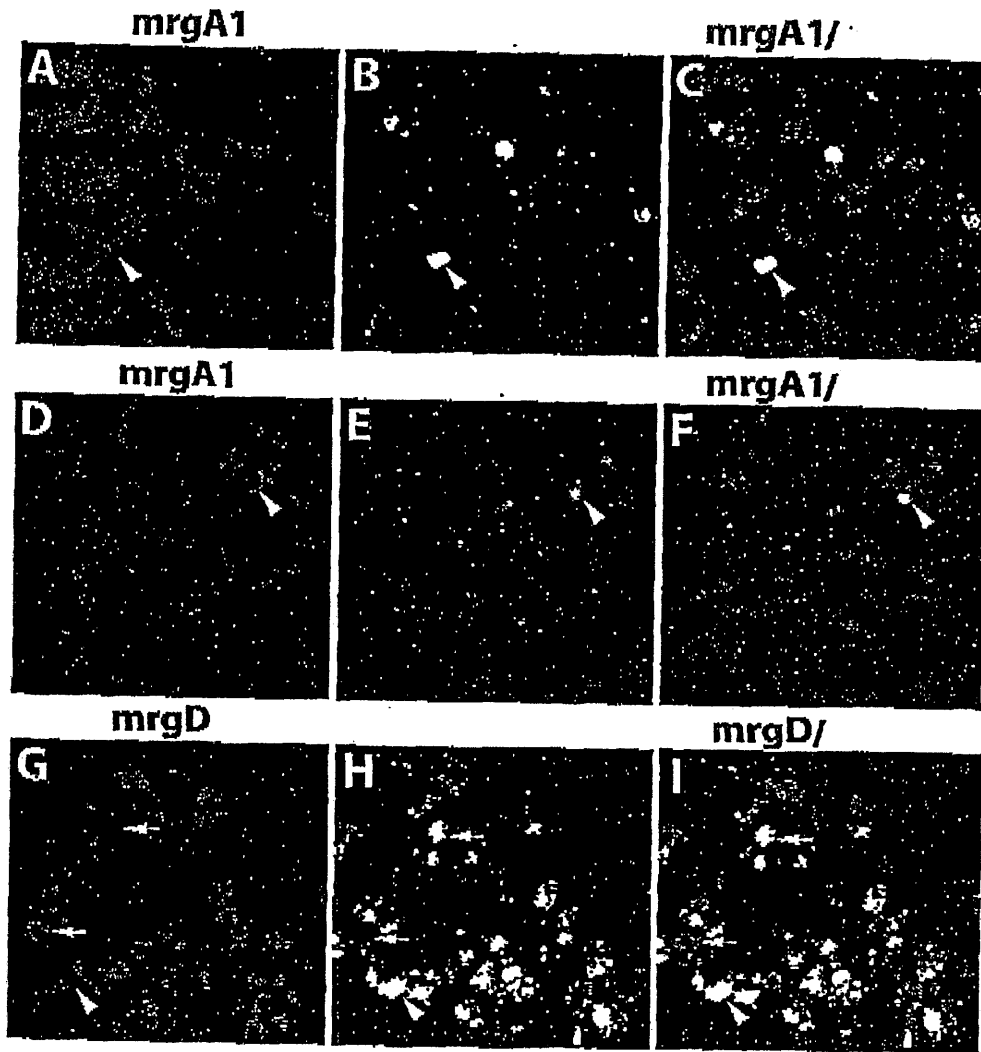
【图 8】



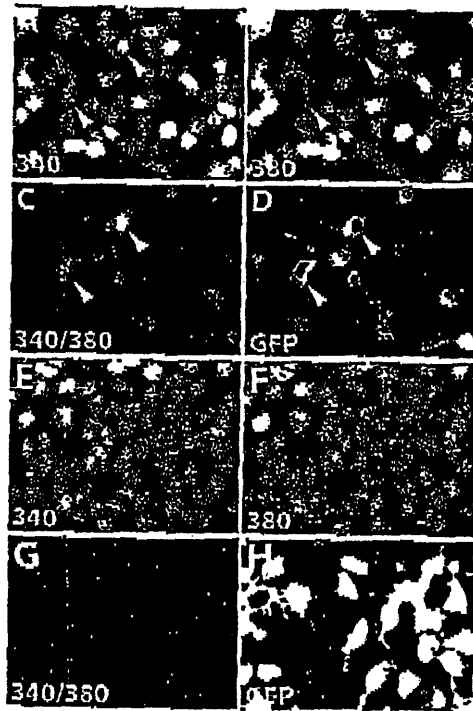
【图 9】



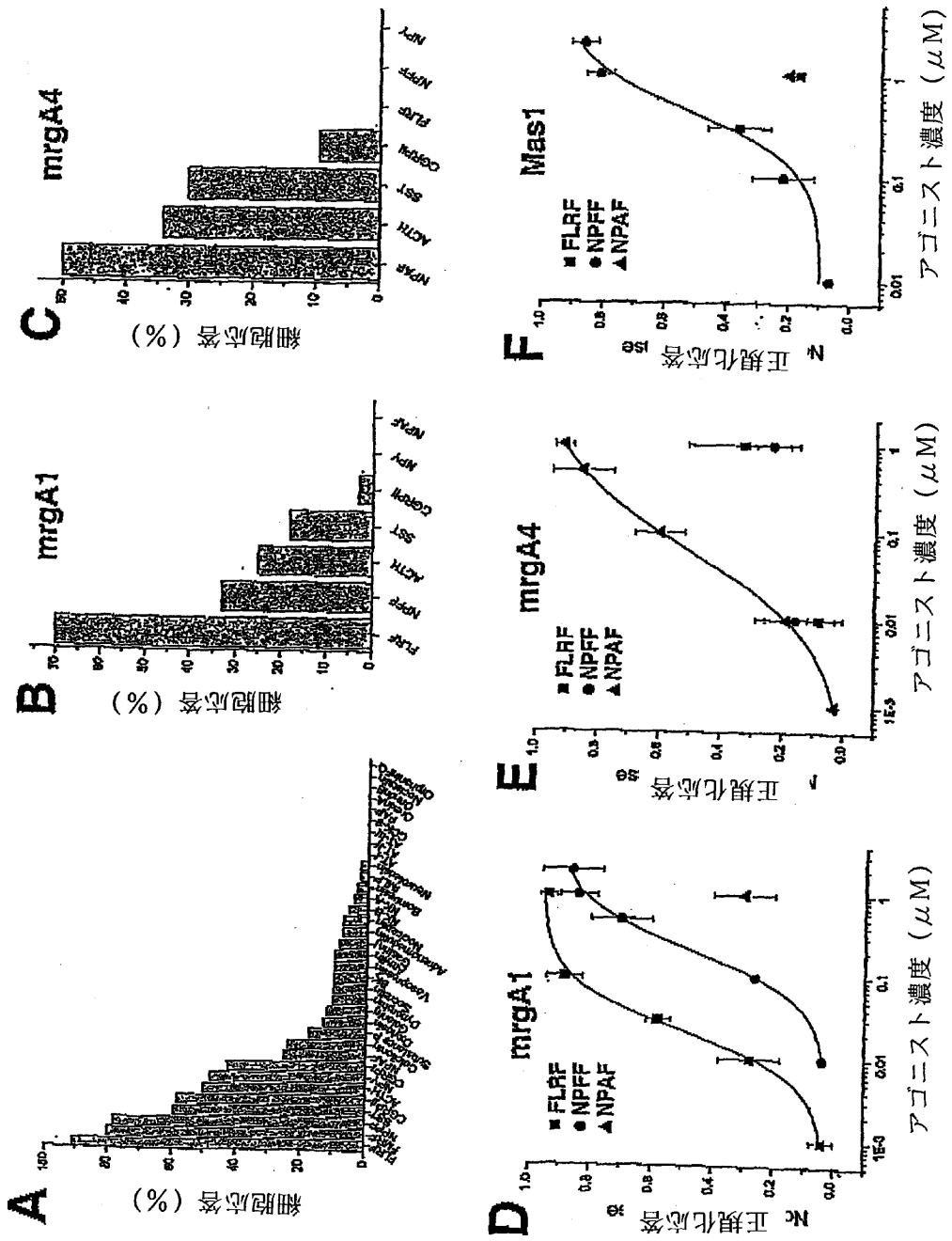
【図10】



【図11】



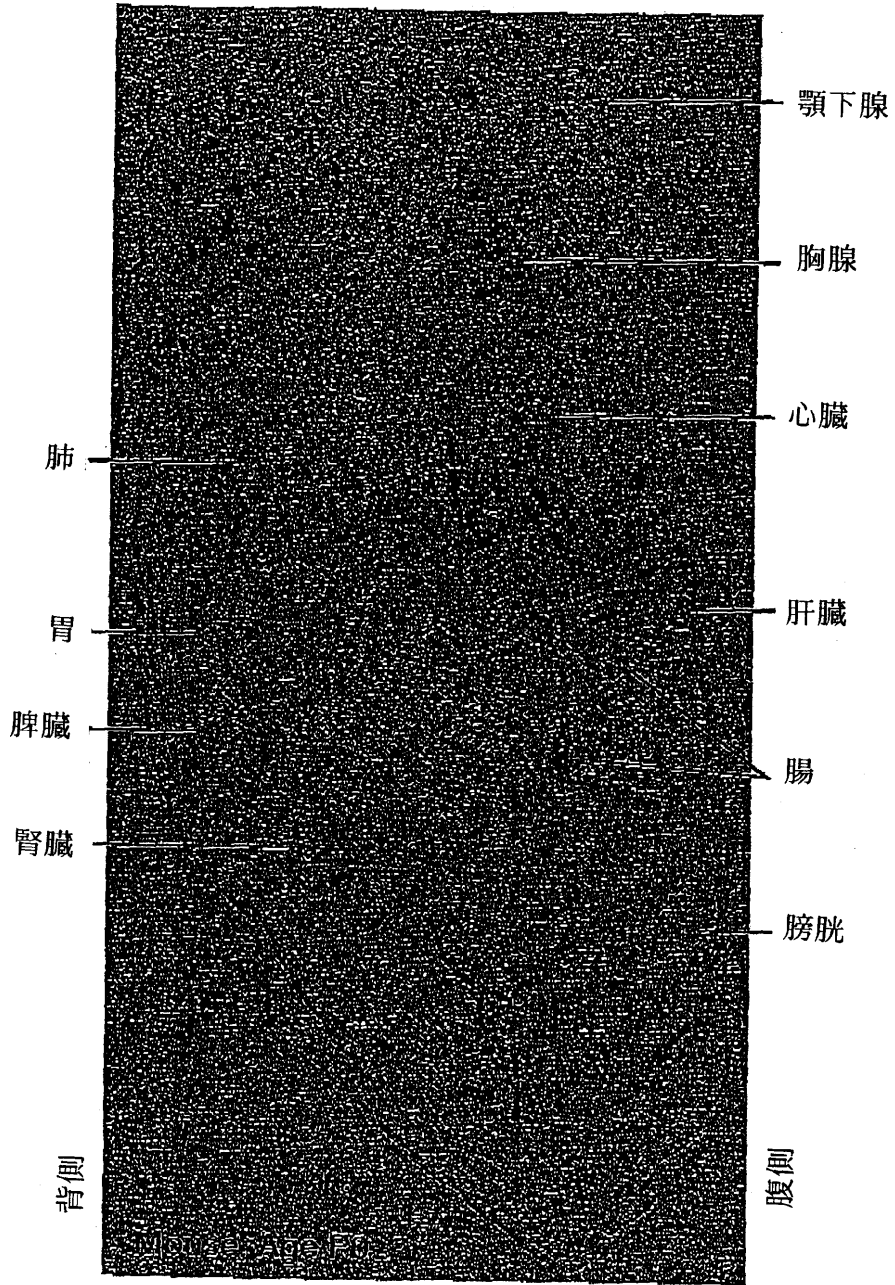
【図12】



【圖13】

mMrgB1

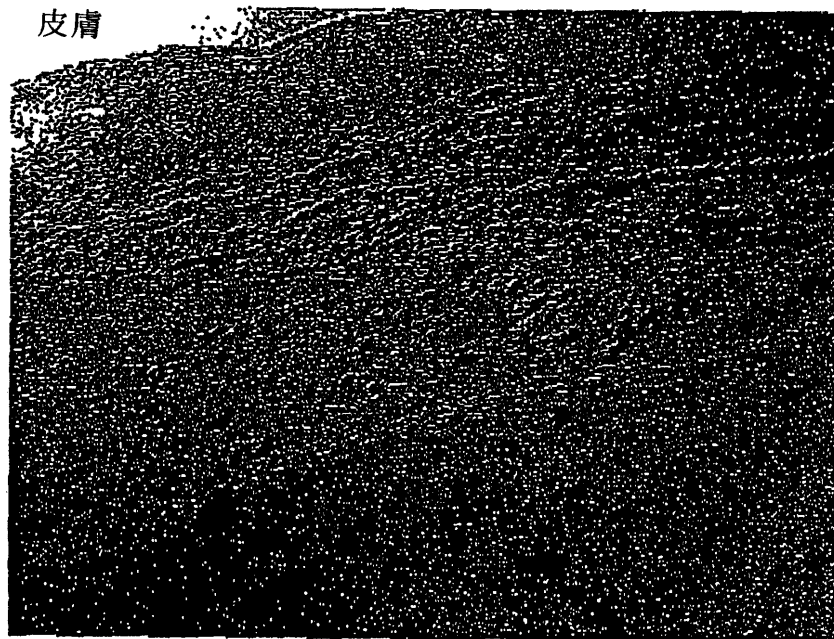
前方 / 頭



後方 / 尾

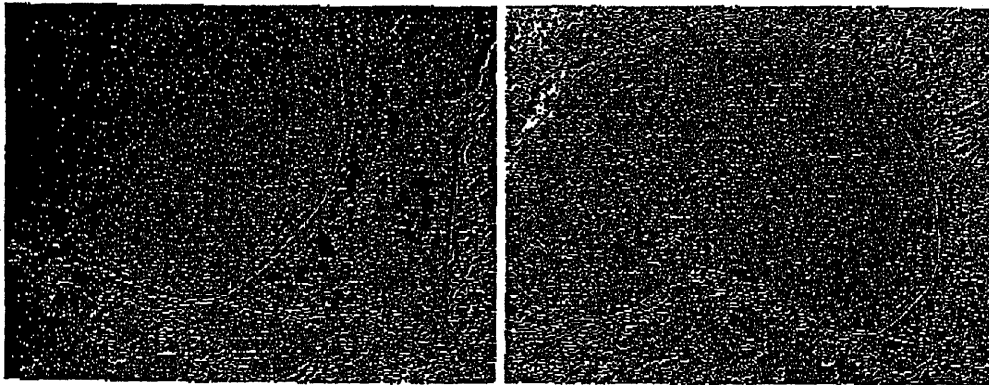
【図14】

mMrgB1



【図15】

成体後根神経節中でのmMrgD



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		Inventor's National Application No PCT/US 01/14519
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7	C12N15/12 C12N5/10	C07K14/705 G01N33/68
	C12N15/62 C07K16/28	C12N15/10 A61P25/04
C12Q1/68		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C12N C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2000 023676 A (ASAHI CHEM IND CO LTD) 25 January 2000 (2000-01-25) Sequence 8, page 19-20 encodes mrgA8 ---	3,5,6, 24,38-86
X	WO 99 32519 A (ASTRA PHARMA INC) 1 July 1999 (1999-07-01) Sequence 8, 9 ---	3,5,6,24
A	MA QIUFU ET AL: "NEUROGENIN1 and NEUROGENIN2 control two distinct waves of neurogenesis in developing dorsal root ganglia." GENES & DEVELOPMENT, vol. 13, no. 13, 1 July 1999 (1999-07-01), pages 1717-1728, XP002181516 ISSN: 0890-9369 cited in the application ---	
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents:		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 5 November 2001		Date of mailing of the international search report 15.02.2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5018 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Aslund, J

5

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/US 01/14519

C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MARCHESE A ET AL: "Novel GPCRs and their endogenous ligands: expanding the boundaries of physiology and pharmacology" TRENDS IN PHARMACOLOGICAL SCIENCES, ELSEVIER TRENDS JOURNAL, CAMBRIDGE, GB, vol. 20, no. 9, 1 September 1999 (1999-09-01), pages 370-375, XP004178194 ISSN: 0165-6147 ---	
A	KRESS M ET AL: "Capsaicin, protons and heat: new excitement about nociceptors" TRENDS IN PHARMACOLOGICAL SCIENCES, ELSEVIER TRENDS JOURNAL, CAMBRIDGE, GB, vol. 20, no. 3, 1 March 1999 (1999-03-01), pages 112-118, XP004165931 ISSN: 0165-6147 -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 01/14519**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 85,86 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international Search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1, 3, 5-16, 18-20, 24, 26-31, 38-86

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

Invention 1: Claims 1, 3, 5-16, 18-20, 24, 26-31, 38-86

Sequence Id no 1, 2 (MrgA1)

Inventions 2-52: Claims 1, 3, 5-16, 18-20, 24, 26-31, 38-86

As for subject 1 but concerning sequence Ids:

4,6,8,10,12,16,18,21,23,25,27,31,33,35,37,39,41,43,45,47,49,51,53,55,57,59,61,63,65,67,69,71,73,75,77,79,81,83,85,87,89,91,93,95,97,99,101,103,105,107,109

Invention 53: 2,4-15, 17, 21-23, 25, 32-39

As for subject 1 but concerning Drg-12 polypeptides of sequence Id: 14,19,29

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 01/14519

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
JP 2000023676 A	25-01-2000	NONE	
WO 9932519 A	01-07-1999	AU 1990499 A BR 9814335 A CN 1284966 T EP 1051434 A1 JP 2001526064 T NO 20003221 A PL 341524 A1 WO 9932519 A1 SK 8752000 A3 TR 200001861 T2	12-07-1999 10-10-2000 21-02-2001 15-11-2000 18-12-2001 10-08-2000 23-04-2001 01-07-1999 18-01-2001 21-11-2000

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)
A 6 1 P 25/02	1 0 1	A 6 1 P 29/00	4 C 0 8 4
25/04		43/00	1 1 1 4 C 0 8 5
29/00		C 0 7 K 14/47	4 H 0 4 5
43/00	1 1 1	16/18	
C 0 7 K 14/47		19/00	
16/18		C 1 2 N 1/19	
19/00		1/21	
C 1 2 N 1/19		C 1 2 P 21/02	C
1/21		C 1 2 Q 1/02	
5/10		G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 P 21/02		33/50	Z
C 1 2 Q 1/02		33/53	D
G 0 1 N 33/15			N
33/50		33/543	5 0 1 A
33/53		C 1 2 P 21/08	
		C 1 2 N 15/00	Z N A A
		5/00	B
	5 0 1	A 6 1 K 37/02	
// C 1 2 P 21/08			

(31)優先権主張番号 0 9 / 7 0 4 , 7 0 7

(32)優先日 平成12年11月3日(2000 . 11 . 3)

(33)優先権主張国 米国 (U S)

(31)優先権主張番号 6 0 / 2 8 5 , 4 9 3

(32)優先日 平成13年4月19日(2001 . 4 . 19)

(33)優先権主張国 米国 (U S)

(81)指定国 E P (A T , B E , C H , C Y , D E , D K , E S , F I , F R , G B , G R , I E , I T , L U , M C , N L , P T , S E , T R) , O A (B F , B J , C F , C G , C I , C M , G A , G N , G W , M L , M R , N E , S N , T D , T G) , A P (G H , G M , K E , L S , M W , M Z , S D , S L , S Z , T Z , U G , Z W) , E A (A M , A Z , B Y , K G , K Z , M D , R U , T J , T M) , A E , A G , A L , A M , A T , A U , A Z , B A , B B , B G , B R , B Y , B Z , C A , C H , C N , C R , C U , C Z , D E , D K , D M , D Z , E E , E S , F I , G B , G D , G E , G H , G M , H R , H U , I D , I L , I N , I S , J P , K E , K G , K P , K R , K Z , L C , L K , L R , L S , L T , L U , L V , M A , M D , M G , M K , M N , M W , M X , M Z , N O , N Z , P L , P T , R O , R U , S D , S E , S G , S I , S K , S L , T J , T M , T R , T T , T Z , U A , U G , U S , U Z , V N , Y U , Z A , Z W

(72)発明者 ドン, シンジョン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 91106
 パサデナ ナンバー314 サウス メン
 ター アベニュー 140

- (72)発明者 ジルカ, マーク
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 91106
 パサデナ スチューベン 1156
- (72)発明者 ハン, サン - キョウ
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 91006
 アルカディア ナンバービー ダイヤモ
 ンド ストリート 157
- (72)発明者 シモン, メルビン
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 91108
 サン マリノ オールド ミル ロード
 1075

F ターム(参考) 2G045 AA29 AA34 AA35 BB46 BB50
 CB01 DA13 DA36 FA29 FB02
 FB03 FB07 FB12 GC15 GC22
 4B024 AA01 AA11 BA05 BA43 BA63
 CA04 DA02 DA06 DA12 EA04
 GA11 HA01 HA12 HA15
 4B063 QA18 QQ20 QR60 QR77 QR80
 QS24 QS28 QS36 QX01 QX07
 4B064 AG01 AG20 AG27 CA02 CA06
 CA10 CA19 CA20 CC24 DA01
 DA13
 4B065 AA26X AA72X AA90X AA91X
 AA91Y AB01 AC14 BA02
 CA24 CA44 CA46
 4C084 AA02 AA03 AA07 AA17 BA01
 BA02 BA44 CA53 CA59 MA13
 MA17 MA22 MA23 MA24 MA28
 MA32 MA35 MA36 MA37 MA41
 MA43 MA52 MA56 MA57 MA59
 MA60 MA63 MA66 NA14 ZA082
 ZA212 ZB112 ZC412
 4C085 AA13 AA14 AA15 AA16 BB11
 BB41 BB43 CC02 DD63 DD88
 EE01 GG02 GG03 GG04 GG06
 GG08
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10
 BA41 CA40 DA33 DA50 DA76
 DA86 EA21 EA50 FA72 FA74

专利名称(译)	疼痛信号分子		
公开(公告)号	JP2003533188A	公开(公告)日	2003-11-11
申请号	JP2001580979	申请日	2001-05-04
[标]申请(专利权)人(译)	加州理工学院		
申请(专利权)人(译)	加州理工学院		
[标]发明人	アンダーソンデイビッドジェイ ドンシンジョン ジルカマーク ハンサンキョウ シモンメルビン		
发明人	アンダーソン,デイビッド ジェイ. ドン,シンジョン ジルカ,マーク ハン,サン-キョウ シモン,メルビン		
IPC分类号	G01N33/50 A61K38/00 A61K39/395 A61K45/00 A61P25/02 A61P25/04 A61P29/00 A61P43/00 C07K14/47 C07K14/705 C07K16/18 C07K19/00 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1/02 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/543		
CPC分类号	A61K38/00 A61P25/02 A61P25/04 A61P29/00 C07K14/70571		
FI分类号	A61K39/395.D A61K39/395.N A61K45/00 A61P25/02.101 A61P25/04 A61P29/00 A61P43/00.111 C07K14/47 C07K16/18 C07K19/00 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/02 G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.N G01N33/543.501.A C12P21/08 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.B A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA29 2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/BB46 2G045/BB50 2G045/CB01 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/FA29 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB07 2G045/FB12 2G045/GC15 2G045/GC22 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA05 4B024/BA43 4B024/BA63 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/DA12 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA01 4B024/HA12 4B024/HA15 4B063/QA18 4B063/QQ20 4B063/QR60 4B063/QR77 4B063/QR80 4B063/QS24 4B063/QS28 4B063/QS36 4B063/QX01 4B063/QX07 4B064/AG01 4B064/AG20 4B064/AG27 4B064/CA02 4B064/CA06 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA26X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AA91X 4B065/AA91Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084/AA07 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA02 4C084/BA44 4C084/CA53 4C084/CA59 4C084/MA13 4C084/MA17 4C084/MA22 4C084/MA23 4C084/MA24 4C084/MA28 4C084/MA32 4C084/MA35 4C084/MA36 4C084/MA37 4C084/MA41 4C084/MA43 4C084/MA52 4C084/MA56 4C084/MA57 4C084/MA59 4C084/MA60 4C084/MA63 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZA082 4C084/ZA212 4C084/ZB112 4C084/ZC412 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA15 4C085/AA16 4C085/BB11 4C085/BB41 4C085/BB43 4C085/CC02 4C085/DD63 4C085/DD88 4C085/EE01 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG06 4C085/GG08 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA33 4H045/DA50 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA21 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74		
优先权	60/202027 2000-05-04 US 60/222344 2000-08-01 US 09/704707 2000-11-03 US 60/285493 2001-04-19 US		

摘要(译)

本发明一般涉及在正常动物中表达但在缺乏神经生成素-1的动物中不表达的新基因。 本发明特别涉及在背根神经节中表达的新的G蛋白偶联受体家族和两个跨膜区段蛋白的新颖家族，以及在伤害性感觉神经元中特异性表达的基因。 关于怎么办。

