

(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 - 530112

(P2003 - 530112A)

(43)公表日 平成15年10月14日(2003.10.14)

(51) Int. Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	C 0 7 K 16/40	2 G 0 4 5
C 0 7 K 16/40		19/00	4 B 0 2 4
19/00		C 1 2 N 1/15	4 B 0 5 0
C 1 2 N 1/15		1/19	4 B 0 6 3
1/19		1/21	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求(全 49数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 575194(P2001 - 575194)

(86)(22)出願日 平成13年4月6日(2001.4.6)

(85)翻訳文提出日 平成14年10月8日(2002.10.8)

(86)国際出願番号 PCT/EP01/03966

(87)国際公開番号 W001/077340

(87)国際公開日 平成13年10月18日(2001.10.18)

(31)優先権主張番号 00107143.0

(32)優先日 平成12年4月10日(2000.4.10)

(33)優先権主張国 欧州特許庁(EP)

(71)出願人 メルク パテント ゲゼルシャフト ミツト
ベシュレンクテル ハフトング
MERCK PATENT GESELLSCHAFT MIT BESCHR
AENKTER HAFTUNG
ドイツ連邦共和国 デー - 64293 ダルムシュ
ッタット フランクフルター シュトラ
ーセ 250

(72)発明者 デュエッケル、 クラウス
ドイツ連邦共和国 64291 ダルムシュ
ッタット エッテステルシュトラ
ーセ 5

(74)代理人 弁理士 金田 暢之 (外2名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 二重特異性ホスファターゼDUSP - 10の同定

(57)【要約】

DUSP10のポリペプチドおよびポリヌクレオチド、
ならびにかかるポリペプチドを組換え技術によって製造
するための方法が開示される。また、診断アッセイにお
いて、DUSP10のポリペプチドおよびポリヌクレオ
チドを用いるための方法も開示される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 (a) 配列番号1の配列を含むポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド、

(b) 配列番号2のポリペプチド配列に対して少なくとも95%の同一性を有するポリペプチド配列を含むポリペプチド、

(c) 配列番号2のポリペプチド配列に対して少なくとも95%の同一性を有するポリペプチド、

(d) 配列番号2のポリペプチド配列、および

(e) (a) ~ (d) に記載のかかるポリペプチドのフラグメントおよび変異体からなる群から選択されるポリペプチド。

【請求項2】 配列番号2のポリペプチド配列を含む、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項3】 配列番号2のポリペプチド配列である、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項4】 (a) 配列番号1のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも95%の同一性を有するポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、

(b) 配列番号1のポリヌクレオチドに対して少なくとも95%の同一性を有するポリヌクレオチド、

(c) 配列番号2のポリペプチド配列に対して少なくとも95%の同一性を有するポリペプチド配列をコードするポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、

(d) 配列番号2のポリペプチド配列に対して少なくとも95%の同一性を有するポリペプチド配列をコードするポリヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチド、

(e) 配列番号1の配列または少なくとも15塩基長を有するそのフラグメントを有する標識されたプローブを用いた厳格なハイブリダイゼーション条件下でライブラリーをスクリーニングすることにより得られる少なくとも100塩基長の塩基配列を有するポリヌクレオチド、

(f)(a)～(e)のポリヌクレオチドのRNA等価体であるポリヌクレオチド、

(g)(a)～(f)のいずれかの前記ポリヌクレオチドに対して相補的なポリヌクレオチド配列、および

(h)(a)～(g)のいずれかのポリヌクレオチドの変異体またはフラグメントであるか、あるいは前記のポリヌクレオチドに対してその全長にわたって相補的であるポリヌクレオチド

からなる群から選択されるポリヌクレオチド。

【請求項5】 (a)配列番号1のポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチド、

(b)配列番号1のポリヌクレオチド、

(c)配列番号2のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、および

(d)配列番号2のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドからなる群から選択される、請求項4に記載のポリヌクレオチド。

【請求項6】 該発現ベクターが適合性宿主細胞に存在する際、請求項1～3のいずれかに記載のポリペプチドを産生し得るポリヌクレオチドを含む発現システム。

【請求項7】 請求項1～3のいずれかに記載のポリペプチドを発現する、請求項6に記載される発現ベクターを含む組換え宿主細胞またはその膜。

【請求項8】 請求項1～3のいずれかに記載のポリペプチドを製造する方法であって、請求項7に記載の宿主細胞を前記ポリペプチドの産生に十分な条件下で培養して、該ポリペプチドを該培養培地から回収する工程を含む方法。

【請求項9】 免疫グロブリンのFc領域と請求項1～3のいずれかに記載のポリペプチドとからなる融合タンパク質。

【請求項10】 請求項1～3のいずれかに記載のポリペプチドに対して免疫特異的な抗体。

【請求項11】 請求項1～3のいずれかに記載のポリペプチドの機能または濃度を刺激または阻害する化合物を同定するためのスクリーニング方法であっ

て、

(a) 該ポリペプチド(または該ポリペプチドを発現する細胞もしくは膜)またはその融合タンパク質に対する候補化合物の結合を、該候補化合物に直接的または間接的に結合している標識によって定量的または定性的に測定または検出すること、

(b) 該ポリペプチド(または該ポリペプチドを発現する細胞もしくは膜)あるいはその融合タンパク質に対する候補化合物の結合の競合を、標識された競合剤の存在下で測定すること、

(c) 該ポリペプチドの活性化または阻害により発生するシグナルを該候補化合物がもたらすか否かを、該ポリペプチドを発現する細胞または細胞膜に適切な検出システムを使用して試験すること、

(d) 候補化合物を、請求項1～3のいずれかに記載のポリペプチドを含有する溶液と混合して混合物を作製し、該混合物中の該ポリペプチドの活性を測定し、そして、何らの候補化合物を含有しない対照混合物に対して、該混合物の活性を比較すること、または

(e) 細胞中における前記ポリペプチドをコードするmRNAまたは前記ポリペプチドの産生に対する候補化合物の作用を、例えばELISAアッセイを使用して検出すること、

からなる群から選択される方法と、

(f) 生物工学的または化学的な標準的な技術に従って前記化合物を製造すること、
を含む方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****(発明の分野)**

本発明は、以降、時に「二重特異性ホスファターゼ(「dual specificity phosphatase」(DUSP10))と称する、新たに同定されたポリペプチド、およびかかるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、診断ならびに、治療において潜在的に有用なアゴニスト、アンタゴニストとなり得る化合物の同定におけるそれらの使用、ならびにかかるポリペプチドおよびポリヌクレオチドの製造に関する。

【0002】**(発明の背景)**

創薬プロセスは現在、「機能ゲノム科学」、すなわちハイ・スループットのゲノムまたは遺伝子に基づく生物学を取り込むことで、根本的な革新を経験しつつある。この方法は、治療の標的として遺伝子および遺伝子産物を同定する手段として、急速に、「ポジショナル・クローニング」に基づく従来の方法に取って代わりつつある。表現型、すなわち、生物学的機能または遺伝子的疾患を同定し、その後、その遺伝子地図の位置に基づいて、その原因となる遺伝子の探知がなされる。

【0003】

機能ゲノム科学は、ハイ・スループットなDNA配列決定技術、および現在利用可能な多くの分子生物学データベースから、潜在的な重要性を有する遺伝子配列を同定するためのバイオインフォマティクスの様々なツールに大きく依存している。創薬の標的として、さらなる遺伝子およびその関連するポリペプチド/タンパク質を同定し、その特定を行うことが引き続き求められている。

【0004】**(発明の概要)**

本発明は、二重特異性ホスファターゼ-10(DUSP10)、特にDUSP10ポリペプチドおよびDUSP10ポリヌクレオチド、組換え体、およびそれらの製造方法に関する。かかるポリペプチドおよびポリヌクレオチドは、ガン

以下に限定されないが、白血病、結腸ガン、肺ガン、前立腺ガンを含む、腫瘍細胞の転移、心血管形成、てんかん、卒中、ニューロン変性症候群、アルツハイマー病、鬱病、精神分裂病、心筋症、喘息、免疫障害、自己免疫疾患、炎症プロセス、以下に限定されないが、関節炎および腸疾患、I型糖尿病を含む、骨粗鬆症、糖尿病および糖尿病関連疾患（これらに限定されない）を含むある種の疾患（以降、「本発明の疾患」と称する）を治療する方法に関連して注目されている。さらなる態様において、本発明は、本発明により提供される材料を用いてアゴニストおよびアンタゴニスト（例えば阻害剤）を同定する方法、ならびに同定された化合物を用いて、DUSP10の不均衡に関連する症状を治療するための方法に関する。さらにさらなる態様において、本発明は、DUSP10の不適切な活性および濃度に付随する疾患を検出する診断アッセイに関する。

【0005】

（発明の説明）

第1の形態において、本発明はDUSP10ポリペプチドに関する。かかるポリペプチドには下記が含まれる：

（a）配列番号：1の配列を含んでなるポリヌクレオチドによってコードされる単離されたポリペプチド；

（b）配列番号：2のポリペプチド配列に対して、少なくとも95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有するポリペプチド配列を含んでなる単離されたポリペプチド；

（c）配列番号：2のポリペプチド配列を含んでなる単離されたポリペプチド；

（d）配列番号：2のポリペプチド配列に対して、少なくとも95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有する単離されたポリペプチド；

（e）配列番号：2のポリペプチド配列；ならびに

（f）配列番号：2のポリペプチド配列と比較して、0.95、0.96、0.97、0.98または0.99の同一性指標を有するポリペプチド配列を有するか、または含んでなる単離されたポリペプチド；

（g）（a）～（f）に記載のかかるポリペプチドのフラグメントおよび変異

体。

【0006】

本発明のポリペプチドは、二重特異性ホスファターゼファミリーのポリペプチドのメンバーであると考えられる。増殖因子、サイトカインおよび様々な細胞外ストレス刺激により、細胞質ゾルの様々なシグナル伝達経路が活性化される。このようなシグナル伝達経路は、非常に多くの場合、マイトジェン因子により活性化されるプロテインキナーゼ(MAPK)のファミリーのメンバーに集中している。このファミリーは、MAPK/ERK、SAPK/JNKおよびp38の3つの主要なサブクラスから構成される(Marshall, C. J., Curr. Opin. Genet. Dev. 4: 82~9, 1994; Karin, M., Ann. N. Y. Acad. Sci. 851: 139~46, 1998; Kyriakis, J. M. 他、Bioessays, 18: 567~77, 1996; Ip, Y. T. 他、Curr. Opin. Cell Biol. 10: 205~19, 1998)。MAPK/ERKサブクラスのキナーゼは、通常、増殖因子またはホルボールエステルによって活性化されるが、SAPK/JNKキナーゼおよびp38キナーゼは炎症性サイトカインまたはUV照射もしくは浸透圧ストレスのような細胞外ストレス刺激によって活性化される(Marshall, C. J., Cell, 80: 179~185, 1995; Treisman, R., Curr. Opin. Cell Biol. 8: 205~215, 1996)。活性化されたとき、MAPキナーゼは、次に、核だけでなく、膜/細胞質ゾル画分に局在化し得る様々な標的タンパク質をリン酸化する。シグナル感知細胞の応答能に依存して、細胞増殖、新生物形質転換(例えば繊維芽細胞の形質転換)、分化(例えばPC12細胞)、DNA修復から、細胞レベルでのアポトーシスの誘導、ならびに例えば、全身レベルでの血小板凝集および免疫系調節作用にまで及ぶ広範囲の細胞内および細胞外の様々な応答がMAPKのリン酸化によって調節されることが確認されている(Saklatvala, J. 他、J. Biol. Chem. 271: 6586~6589, 1996; Verheij, M. 他、Nature, 380: 75~79, 1996; Potapova, O. 他、J. Biol. Chem. 272: 14041~14044, 1997;

Porter A.C. 他、Oncogene、17:1343~1352、1998; Cross, J.V. 他、J. Biol. Chem. 274:31150~31154、1999; Cannons, J.L. 他、J. Immunol. 163:2990~2998、1999)。

【0007】

MAPK/ERK、SAPK/JNKおよびp38のサブクラスメンバーの活性は、キナーゼのサブドメインVIIの活性化ループにそれぞれ存在するTEYモチーフ、TPYモチーフおよびTGYモチーフにおけるトレオニン残基およびチロシン残基の両方でのリン酸化/脱リン酸化によって調節されている。リン酸化/脱リン酸化は、選択的な二重特異性キナーゼ(Dhnanasekaran, N. 他、Oncogene、17:1447~55、1998)および二重特異性ホスファターゼ(DUSP)(Keyse, S.M., Semin. Cell. Dev. Biol. 9:143~145、1998; Camps, M. 他、FASEB J. 14:6~16、2000)によって媒介される。少なくとも9個の異なるDUSPが存在することにより、MAPKシグナル伝達経路を調節する複雑なネットワークが関係している。興味深いことに、これらのDUSPは、基質特異性が異なるだけでなく、細胞レベル以下での異なる細胞局在化を示している。従って、所与の細胞においていくつかのMAPKイソ型を不活性化することは、様々なDUSPの同時発現を必要とする。

【0008】

これらとともに、本発明者らは、ヒトおよびマウスのそれぞれ、DUSP hVH5およびNTTP1に対して非常に高い相同性を有する新規ヒト二重特異性ホスファターゼ、DUSP-10の配列を開示する(Martelli, K.J. 他、J. Neurochem. 65:1823~1833、1995; Theodosiou, A.M. 他、Hum. Mol. Genet. 5:675~684、1996)。hVH5/NTTP1と比較した場合、DUSP-10は、タンパク質配列の類似したドメイン構成および全体的な長さを示す。DUSP-10タンパク質配列のN末端はCH2(cdc25相同性)ドメインであり、その後実際に触媒活性なホスファターゼドメイン、およびこれまでのところ機能が知

られていない長いC末端領域が続く。このCH2ドメインは、これまでに知られている二重特異性ホスファターゼのほとんどに存在しており、基質の認識および結合に関与していると考えられている (Keyes, S. M. および Ginsburg, M., Trends Biochem. 18: 377~378, 1993; Kwak, S. P. 他, J. Biol. Chem. 269: 3596~3604, 1994; Muda, M. 他, J. Biol. Chem. 273: 9323~9329, 1998)。

【0009】

DUSP-10は第12染色体(D12S99-D12S358)に存在する。この領域には、乳ガン(Spirin, K. S. 他, Cancer Res. 56: 2400~2404, 1996)、急性リンパ性白血病(Takeuchi, S. 他, Blood, 87: 3368~3374, 1996)または非小細胞肺癌(Takeuchi, S. 他, Cancer Res. 56: 738~740, 1996)のような様々なガン形態の病因に関与し得るこれまで知られていない新規な腫瘍抑制因子遺伝子が含まれると主張されている。興味深いことに、その発現配列タグ(AI424957)は、DUSP-10遺伝子の予想外のゲノム異常形態を表し(下記の「実施例」参照)、そして慢性リンパ球性白血病患者からのB細胞から作製されたcDNAライブラリーに由来している。このことは、DUSP-10がこの新規な腫瘍抑制因子遺伝子を表し得ることを示している。

【0010】

MAPKシグナル伝達が関与する生物学的プロセスの主な範囲が示されると、二重特異性ホスファターゼ活性の調節因子はこれらのシグナル伝達プロセスに対して非常に大きな影響を及ぼすことができる。

【0011】

該DUSP10の生物学的性質を、以降、「DUSP10の生物学的活性」または「DUSP10活性」と称する。好ましくは、本発明のポリペプチドは、少なくとも1つのDUSP10の生物学的活性を示す。

【0012】

本発明のポリペプチドには、全ての対立遺伝子形およびスプライス変異体を含む上記ポリペプチドの変異体もまた含まれる。かかるポリペプチドは、挿入、欠失、ならびに保存的または非保存的であってもよい置換、あるいはそれらの任意の組合せによって、基準ポリペプチドから変異している。特に好ましい変異体は、いくつかの、例えば、50～30、30～20、20～10、10～5、5～3、3～2、2～1または1個のアミノ酸が、任意の組合せで挿入、置換または欠失されているものである。

【0013】

本発明のポリペプチドの好ましいフラグメントには、配列番号2のアミノ酸配列に由来する、少なくとも30、50または100個の連続したアミノ酸を有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチド、あるいは配列番号2のアミノ酸配列から、少なくとも30、50または100個の連続したアミノ酸が、末端から除去または欠失しているアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドが含まれる。好ましいフラグメントは、DUSP10の生物学的活性をもたらす生物学的に活性なフラグメントであり、類似する活性または改善された活性を有するか、あるいは望ましくない活性が低下したものも含まれる。また、動物、特にヒトにおいて抗原性または免疫原性である、それらのフラグメントも好ましい。

【0014】

本発明のポリペプチドのフラグメントは、対応する完全長型ポリペプチドをペプチド合成によって製造するために用いることができ、従って、これらの変異体は、本発明の完全長型ポリペプチドを製造するための中間体として用いることができる。本発明のポリペプチドは、「成熟型」タンパク質の形態であってもよく、あるいは前駆体または融合タンパク質などのより大きなタンパク質の一部であってもよい。分泌またはリーダー配列、プロ配列、精製に役立つ配列、例えば、反復するヒスチジン残基、あるいは組換え生産の間の安定性に利する付加配列が含まれる、付加的なアミノ酸配列を含むことは、しばしば有益である。

【0015】

本発明のポリペプチドは、何れかの好適な方法、例えば、天然に存在する提供源から発現システム（下記参照）を含む遺伝子操作された宿主細胞からの単離、

または、例えば、自動化されたペプチド合成機を使用した化学合成によって、あるいはかかる方法の組合せによって調製することができる。かかるポリペプチドを調製するための手段は、当該分野では十分に理解されている。

【0016】

さらなる態様において、本発明はDUSP10ポリヌクレオチドに関する。かかるポリヌクレオチドには下記が含まれる：

(a) 配列番号：1のポリヌクレオチド配列に対して、少なくとも95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有するポリヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド；

(b) 配列番号：1のポリヌクレオチドを含んでなるポリヌクレオチド；

(c) 配列番号：1のポリヌクレオチドに対して、少なくとも95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有するポリヌクレオチド；

(d) 配列番号：1のポリヌクレオチド；

(e) 配列番号：2のポリペプチド配列に対して、少なくとも95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有するポリペプチド配列をコードするポリヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド；

(f) 配列番号：2のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド；

(g) 配列番号：2のポリペプチド配列に対して、少なくとも95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有するポリペプチド配列をコードするポリヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチド；

(h) 配列番号：2のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；

(i) 配列番号：1のポリヌクレオチド配列と比較して、0.95、0.96、0.97、0.98または0.99の同一性指標を有するポリヌクレオチド配列を有するか、または含んでなるポリヌクレオチド；

(j) 配列番号：2のポリペプチド配列と比較して、0.95、0.96、0.97、0.98または0.99の同一性指標を有するポリペプチド配列をコードするポリヌクレオチド配列を有するか、または含んでなるポリヌクレオチド；
ならびに

上記のポリヌクレオチドのフラグメントおよび変異体である、あるいは上記のポリヌクレオチドに対してその全長にわたって相補的であるポリヌクレオチド。

【0017】

本発明のポリヌクレオチドの好ましいフラグメントには、配列番号1の配列に由来する、少なくとも15、30、50または100個の連続した塩基を有する塩基配列を含むポリヌクレオチド、あるいは配列番号1の配列から、少なくとも30、50または100個の連続した塩基が末端から削除または欠失している配列を含む単離されたポリヌクレオチドが含まれる。

【0018】

本発明のポリヌクレオチドの好ましい変異体には、スプライス変異体、対立遺伝子変異体、および1つまたは複数の単一塩基多型(SNP)を有するポリヌクレオチドを含む多型体が含まれる。

【0019】

本発明のポリヌクレオチドには、配列番号2のアミノ酸配列を含み、かついくつかの、例えば、50~30、30~20、20~10、10~5、5~3、3~2、2~1または1個のアミノ酸残基が、任意の組合せで置換、欠失または付加されているポリペプチド変異体をコードするポリヌクレオチドも含まれる。

【0020】

さらなる態様において、本発明は、本発明のDNA配列のRNA転写物であるポリヌクレオチドを提供する。従って、下記のRNAポリヌクレオチドが提供される：

- (a) 配列番号2のポリペプチドをコードするDNA配列のRNA転写物を含むRNAポリヌクレオチド、
- (b) 配列番号2のポリペプチドをコードするDNA配列のRNA転写物であるRNAポリヌクレオチド、
- (c) 配列番号1のDNA配列のRNA転写物を含むRNAポリヌクレオチド、
あるいは
- (d) 配列番号1のDNA配列のRNA転写物であるRNAポリヌクレオチド、
ならびにそれらに対して相補的であるRNAポリヌクレオチド。

【0021】

配列番号1のポリヌクレオチド配列は、HSU27193 (Martell, K. J. 他、J. Neurochem. 65 (4)、1823~1833 (1995))との相同性を示す。配列番号1のポリヌクレオチド配列は、配列番号2のポリペプチドをコードするcDNA配列である。配列番号2のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列は、配列番号1の配列をコードするポリペプチドと同一であってもよく、あるいは遺伝暗号の縮退(縮重性)の結果によって、同じく配列番号2のポリペプチドをコードする、配列番号1以外の配列であってもよい。配列番号2のポリペプチドは、DUS8 HUMAN (Martell, K. J. 他、J. Neurochem. 65 (4)、1823~1833 (1995))との相同性および/または構造的類似性を有する二重特異性ホスファターゼファミリーの他のタンパク質との関連性を有する。

【0022】

本発明の好ましいポリペプチドおよびポリヌクレオチドは、特に、それらの相同的なポリペプチドおよびポリヌクレオチドと類似する生物学的な機能/性質を有することが期待される。さらに、本発明の好ましいポリペプチドおよびポリヌクレオチドは少なくとも1つのDUSP10活性を有する。

【0023】

本発明のポリヌクレオチドは、ヒトの血液、脳、結腸、胆嚢、生殖細胞、心臓、腎臓、肝臓、肺、副甲状腺、胎盤、前立腺、脾臓、胃、胸腺および子宮の細胞におけるmRNAに由来するcDNAライブラリーから標準的なクローニング技術およびスクリーニング技術を使用して得ることができる(例えば、Sambrook他、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、N.Y. (1989)参照)。本発明のポリヌクレオチドはまた、ゲノムDNAライブラリーなどの天然の供給源から得ることができ、あるいは、周知の市販の手法を使用して合成することもできる。

【0024】

本発明のポリヌクレオチドを本発明のポリペプチドを組換え製造に使用する際には、該ポリヌクレオチドは成熟型ポリペプチドのコード配列、それ自体、あるいはリーダーまたは分泌配列、プレ-もしくはプロ-またはプレプロ-タンパク質配列、あるいは、他の融合ペプチド部分をコードするコード配列などの、他のコード配列と読み枠を合わせた成熟型ポリペプチドのコード配列を含むことができる。例えば、融合ポリペプチドの精製を容易にする、マーカ配列がコードされていてもよい。本発明のこの態様のいくつかの好ましい実施形態において、該マーカ配列は、pQEベクター(Qiagen, Inc.)において提供され、そしてGentz他、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、(1989)86:821~824に記載されている、ヘキサ・ヒスチジン・ペプチド、あるいはHAタグである。該ポリヌクレオチドはまた、転写される非翻訳配列、スプライシングならびにポリアデニレーション・シグナル、リボソーム結合部位、ならびにmRNAを安定化させる配列などの非コードの5'および3'配列を含んでもよい。

【0025】

配列番号1のポリヌクレオチド配列に対して同一であるか、または十分な同一性を有するポリヌクレオチドは、cDNAおよびゲノムDNAに対するハイブリダイゼーション・プローブとして、あるいは核酸増幅反応(例えば、PCR)用のプライマーとして利用することができる。かかるプローブおよびプライマーは、本発明のポリペプチドをコードする完全長型cDNAおよびゲノム・クローンを単離するために、ならびに、配列番号1に対して高い配列類似性、典型的には少なくとも95%の同一性を有する他の遺伝子(ヒト供給源に由来するパラログならびにヒト以外の種に由来するオルソログおよびパラログをコードする遺伝子を含む)のcDNAクローンおよびゲノム・クローンを単離するために使用してもよい。好ましいプローブおよびプライマーは、一般には、少なくとも15塩基、好ましくは少なくとも30塩基含み、そして少なくとも100塩基ではなくとも、少なくとも50塩基を有してもよい。特に好ましいプローブは30~50塩基を有するであろう。特に好ましいプライマーは20~25塩基を有するであろう。

【0026】

ヒト以外の種に由来するホモログをも含む、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、配列番号1の配列またはそのフラグメントを有する、好ましくは少なくとも15塩基の標識されたプローブを用いて、厳格なハイブリダイゼーション条件下で、ライブラリーをスクリーニングする過程；および前記ポリヌクレオチド配列を含有する完全長型cDNAクローンおよびゲノム・クローンを単離する過程を含む工程によって得ることができる。かかるハイブリダイゼーション技術は当業者には周知である。好ましい厳格なハイブリダイゼーション条件は、50%ホルムアミド、5×SSC(150mMのNaCl、15mMのクエン酸三ナトリウム)、50mMのリン酸ナトリウム(pH7.6)、5×デンハルト溶液、10%のデキストラン硫酸および20マイクログラム/mlの変性させた切断サケ精子DNAを含む溶液において42℃で一晩インキュベーションし、その後、0.1×SSCにおいて約65℃でフィルターを洗浄することが含まれる。従って、本発明はまた、配列番号1の配列、またはそのフラグメントを有する、好ましくは少なくとも15塩基の標識されたプローブを用いて、厳格なハイブリダイゼーション条件下で、ライブラリーをスクリーニングすることによって得られる、単離されたポリヌクレオチド、好ましくは少なくとも100塩基の塩基配列を有する単離されたポリヌクレオチドも含む。

【0027】

当業者は、多くの場合において、該ポリペプチドをコードする領域は、5'末端に至るまで完全には伸長していない点で、単離されたcDNA配列が不完全であることもあることを理解している。これは、第1鎖cDNA合成の際に、mRNAテンプレートのDNAコピーを完成させることができない、逆転写酵素、すなわち、本来、低い「プロセシング能」(ポリメリゼーション反応の間、テンプレートに結合した状態を維持する酵素の能力の指標)を有する酵素の結果である。

【0028】

完全長型cDNAを得るために、あるいは短いcDNAを伸長させるために利用でき、かつ当業者に周知の方法がいくつかある。例えば、cDNA端の迅速な

増幅(RACE)方法に基づく方法がある(例えば、Frohman他、Proc. Nat. Acad. Sci. USA、85、8998~9002、1988参照)。例えば、Marathon(商標)法(Clontech Laboratories Inc.)で例示されるこの技術の最近の改良は、より長いcDNAの探索を著しく単純化している。Marathon(商標)技術では、選択された組織から抽出されたmRNAとその両端に連結された「アダプター」配列とからcDNAが調整される。その後、遺伝子特異的なおよびアダプター特異的なオリゴヌクレオチドプライマーの組合せを使用して、cDNAの「失われている」5'端を増幅するために、核酸増幅(PCR)を実施する。その後、「ネスティッド(入れこ型)」プライマー、すなわち、増幅産物の内部にアニーリングするように設計されたプライマー(典型的には、アダプター配列においてさらに3'側にアニーリングするアダプター特異的プライマー、および既知の遺伝子配列においてさらに5'側にアニーリングする遺伝子特異的プライマー)を使用してPCR反応を繰り返す。その後、この反応の生成物をDNA配列決定によって分析することができ、また、完全な配列を得るために既存のcDNAに該生成物を直接結合させる、あるいは、5'プライマーの設計のために新しい配列情報を使用して、別途に完全長PCRを行うことの何れかによって、完全長型のcDNAを構築することができる。

【0029】

本発明の組換えポリペプチドは、発現システムを含む遺伝子操作された宿主細胞から、当該分野で周知の方法によって調製することができる。従って、さらなる形態において、本発明は、本発明のポリヌクレオチドの1つまたは複数を含む発現システムと、かかる発現システムで遺伝子操作されている宿主細胞と、ならびに、組換え技術による本発明のポリペプチドの製造とに関する。本発明のDNA構築物に由来するRNAを用いてかかるタンパク質を製造するために、無細胞翻訳システムを用いることもできる。

【0030】

組換え製造のために、宿主細胞は、本発明のポリヌクレオチドに対する発現システムまたはその一部を取り込むように、遺伝子操作することができる。ポリヌ

クレオチドは、Davis他、Basic Methods in Molecular Biology (1986) および Sambrook 他 (同上) などの多くの標準的な実験室マニュアルに記載される方法によって宿主細胞に導入することができる。ポリヌクレオチドを宿主細胞に導入する好ましい方法には、例えば、リン酸カルシウム・トランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介トランスフェクション、トランスベクション、マイクロインジェクション、カチオン性脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、トランスダクション、スクレイプ負荷、バリスティック導入または感染が含まれる。

【0031】

適切な宿主の代表的な例には、ストレプトコッカス属、スタフィロコッカス属、大腸菌、ストレプトミセス属および枯草菌細胞などの細菌細胞；酵母細胞やアスペルギルス属細胞などの菌類細胞；ショウジョウバエ (*Drosophila*) S2細胞や *Spodoptera Sf9* 細胞などの昆虫細胞；CHO、COS、HeLa、C127、3T3、BHK、HEK293ならびにBowesメラノーマ細胞などの動物細胞；ならびに植物細胞が含まれる。

【0032】

非常に多様な発現システムを使用することができ、例えば、染色体、エピソームおよびウイルスに由来するシステム、例えば、細菌プラスミド、バクテリオファージ、トランスポゾン、酵母エピソーム、挿入エレメント、酵母染色体エレメント、バキュロウイルス、パポバウイルス (SV40など)、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、偽狂犬病ウイルスやレトロウイルスなどのウイルスに由来するベクター、ならびに、コスミドおよびファージミドなどの、プラスミドおよびバクテリオファージの遺伝子エレメントに由来するベクターなどのそれらの組合せに由来するベクターを使用することができる。該発現システムは、発現を生じさせるとともに、発現を調節するための制御領域を含有してもよい。一般に、宿主内において、ポリペプチドを産生させるためのポリヌクレオチドを維持、増殖、または発現させることが可能である、システムまたはベクターはいずれも使用することができる。適切なポリヌクレオチド配列は、例えば、Sambrook 他 (前述) に示されているものなどの、周知で慣用の手法の何

れかによって発現システムに挿入することができる。適切な分泌シグナルを、小胞体の内腔、細胞周辺腔または細胞外環境への翻訳タンパク質の分泌を可能にするために、所望するポリペプチドに組み込むことができる。これらのシグナルは、該ポリペプチドに対して内因性であってもよくあるいは異種のシグナルであってもよい。

【0033】

スクリーニング・アッセイにおいて使用するために、本発明のポリペプチドを発現させる際には、該ポリペプチドは細胞の表面で産生させることが一般には好ましい。この場合、スクリーニング・アッセイにおいて使用するに先立ち、細胞を集菌してもよい。該ポリペプチドが培地中に分泌される場合には、該ポリペプチドの回収および精製を行うため、培地を回収することができる。細胞内で産生される場合には、ポリペプチドを回収する前に、細胞を予め溶解しなければならない。

【0034】

本発明のポリペプチドは、硫酸アンモニウムまたはエタノール沈殿、酸抽出、アニオンまたはカチオン交換クロマトグラフィ、ホスホセルロース・クロマトグラフィ、疎水性相互作用クロマトグラフィ、アフィニティー・クロマトグラフィ、ヒドロキシルアパタイト・クロマトグラフィおよびレクチン・クロマトグラフィを含む、周知の方法によって組換え細胞培養物から回収および精製することができる。最も好ましくは、ハイ・パフォーマンス・液体クロマトグラフィが精製のために用いられる。該ポリペプチドが、細胞内合成、単離および/または精製の間に変性する際には、周知のタンパク質のリフォールディング方法を、活性な立体配座を再生させるために使用することができる。

【0035】

本発明のポリヌクレオチドは、関連する遺伝子における変異を検出することによって診断試薬として使用することができる。cDNA配列またはゲノム配列において、配列番号1のポリヌクレオチドにより特定され、また、機能不全に関連している、変異体型遺伝子の検出は、その遺伝子の過少発現、過剰発現あるいは変更された空間的または時間的な発現に起因する、疾患または疾患に対する感受

性の診断も付加、あるいは確定させることができる診断ツールを提供する。遺伝子に変異を有する個体を、当該分野で周知な様々な技術によって、DNAレベルで検出することができる。

【0036】

診断に供する核酸は、対象の細胞、例えば、血液、尿、唾液、組織生検または剖検資料などから得ることできる。ゲノムDNAを検出のために直接使用することができ、あるいは分析に先立ってPCR、好ましくはRT-PCR、または他の増幅技術を使用して酵素的に増幅してもよい。RNAまたはcDNAもまた、同様な手順で使用することができる。欠失および挿入は、正常な遺伝子型と比較して、増幅産物のサイズにおける変化によって検出することができる。点変異は、増幅されたDNAを標識されたDUSP10の塩基配列に対して、ハイブリダイゼーションさせることによって同定することができる。完全に一致する配列は、RNase消化によって、あるいは融解温度の差によってミスマッチした二重鎖から区別することができる。DNA配列の違いはまた、変性剤の存在下または非存在下での、ゲルにおけるDNAフラグメントの電気泳動移動度の変化によって、あるいは、直接的なDNA配列決定によって検出してもよい(例えば、Myers他、Science、(1985)230:1242参照)。特定の位置における配列の変化もまた、RNaseならびにS1保護などの、ヌクレアーゼ保護アッセイ、あるいは化学的な切断方法によって明らかにすることができる(Cotton他、Proc.Natl.Acad.Sci.USA、(1985)85:4397~4401参照)。

【0037】

DUSP10ポリヌクレオチド配列またはそのフラグメントを含むオリゴヌクレオチド・プローブのアレイを、例えば、遺伝子変異の効率的なスクリーニングを行うために構築することができる。かかるアレイは、好ましくは高密度のアレイまたは格子状である。アレイ化技術は、周知であり、一般的な適用性を有し、また、遺伝子発現、遺伝子連鎖および遺伝子変動性を含む分子遺伝学における様々な問題を検討するために使用することができ、例えば、M.Chee他、Science、274、610~613(1996)およびそれに引用されている

他の参考文献を参照する。

【0038】

異常に低下または増大しているポリペプチドまたはmRNAの発現レベルの検出もまた、本発明の疾患に対する被験体の感受性を診断または決定するために使用することができる。低下または増大した発現は、例えば、核酸増幅、例えば、PCR、RT-PCR、RNase保護、ノーザン・ブロットおよび他のハイブリダイゼーション法などの、当該分野で周知の、ポリヌクレオチドの定量方法いずれかを使用して、RNAレベルで測定することができる。宿主に由来するサンプルにおける、本発明のポリペプチドなどのタンパク質のレベルを決定するために使用され得るアッセイ手法は当業者には周知である。かかるアッセイ方法には、放射免疫アッセイ、競合的結合アッセイ、ウエスタン・ブロット分析およびELISAアッセイが含まれる。

【0039】

したがって、別の態様において、本発明は、下記を含む診断キットに関する：

- (a) 本発明のポリヌクレオチド、好ましくは、配列番号1のヌクレオチド配列またはそのフラグメントもしくはRNA転写物；
- (b) (a)のヌクレオチド配列に対して相補的なヌクレオチド配列、
- (c) 本発明のポリペプチド、好ましくは、配列番号2のポリペプチドまたはそのフラグメント、あるいは
- (d) 本発明のポリペプチド、好ましくは、配列番号2のポリペプチドに対する抗体。

【0040】

かかるキットの何れにおいても、(a)、(b)、(c)または(d)は実質的な成分を構成することができることは理解される。かかるキットは、疾患または疾患に対する感受性、中でも特に本発明の疾患を診断する際に有用である。

【0041】

本発明のポリヌクレオチド配列は、染色体局在化研究に有益である。該配列は、個々のヒト染色体上の特定位置に対して特異的に標的化されており、そしてハイブリダイゼーションすることができる。本発明に従って関連する配列を染色体

にマッピングすることは、それらの配列を遺伝子関連疾患と関連させる際の重要な最初の過程である。一度、配列が正確な染色体位置にマッピングされると、染色体上における該配列の物理的な位置を、遺伝地図データと関連させることができる。かかるデータは、例えば、V. McKusickの「ヒトにおけるメンデル遺伝」において見出される（これはJohns Hopkins大学Welch Medical Libraryからオンラインで入手可能である）。同じ染色体領域にマッピングされている、遺伝子と疾患との関係が、その後、連鎖解析（物理的に隣り合う遺伝子の同時遺伝）によって同定される。ゲノム配列（遺伝子フラグメントなど）に関する、正確なヒト染色体局在化は、放射ハイブリッド（RH）マッピングを使用して決定することができる（Walter, M., Spillet, D., Thomas, P., Weissenbach, J. およびGoodfellow, P. (1994)、ゲノム全体の放射ハイブリッドマップを構築するための方法、Nature Genetics、7、22～28）。多数のRHパネルをResearch Genetics (Huntsville, AL, 米国) から得ることができる。例えば、GeneBridge 4 RHパネル (Hum Mol Genet、1996、Mar; 5(3) : 339～46、ヒトゲノムの放射ハイブリッドマップ。Gyapay G., Schmitt K., Fizames C., Jones H., Vega-Czarny N., Spillet D., Muselet D., Prud'Homme JF, Dib C., Auffray C., Morissette J., Weissenbach, J., Goodfellow, PN)。このパネルを使用して遺伝子の染色体上の位置を決定するためには、RH DNA上の関心のある遺伝子から設計されたプライマーを使用して、93回のPCRが行われる。これらのDNAのそれぞれは、ハムスターのバックグラウンド（ヒト/ハムスターのハイブリッド細胞株）中に維持されたランダムなヒト・ゲノム・フラグメントを含んでいる。このようなPCRは、目的とする遺伝子のPCR産物の存在または非存在を示す、93のスコアをもたらす。これらのスコアは、既知の位置のゲノム配列に由来するPCR産物を使用して作製されたスコアと比較される。この比較は、<http://www.genome.wi.mit>

.edu/において行われる。本発明の遺伝子はヒトの第20番染色体(D20S99-D20S358)にマッピングされる。

【0042】

本発明のポリヌクレオチド配列はまた、組織発現の研究に対する有益なツールである。かかる研究では、それらをコードするmRNAを検出することによって、コードされたポリペプチドの組織内の発現パターンに関する指標を与える、本発明のポリヌクレオチドの発現パターンの決定を可能とする。使用される技術は、当該分野では周知であり、また、cDNAマイクロアレイ・ハイブリダイゼーション(Schena他、Science、270、467~470、1995およびShalon他、Genome Res、6、639~645、1996)などの、格子上に配列されたクローンに対するインサイチュー(in situ)・ハイブリダイゼーション技術、ならびにPCRなどの塩基増幅技術を含む。好ましい方法では、Perkin Elmerから入手可能なTAQMAN(商標)法を使用する。これらの研究による結果は、生物におけるポリペプチドの正常な機能の指標を提供する。さらに、mRNAの正常な発現パターンと、同じ遺伝子の別の形態(例えば、潜在的または調節的な変異をコードするポリペプチドにおける変化を有するもの)によってコードされるmRNAの発現パターンとの比較研究により、本発明のポリペプチドの役割、または疾患におけるその不適切な発現の役割に対する有益な見識を提供することができる。かかる不適切な発現は、時間的、空間的または単に量的な性質のものであってもよい。

【0043】

本発明のポリペプチドは、血液、脳、結腸、胆嚢、生殖細胞、心臓、腎臓、肝臓、肺、副甲状腺、胎盤、前立腺、脾臓、胃、胸腺および子宮において発現している。

【0044】

本発明のさらなる態様は抗体に関する。本発明のポリペプチドまたはそのフラグメント、あるいはそれらを発現している細胞は、本発明のポリペプチドに対して免疫特異的である抗体を産生させるための免疫原として使用することができる。用語「免疫特異的」は、抗体が、先行技術における他の関連するポリペプチド

に対するその親和性よりも、本発明のポリペプチドに対して、実質的に大きい親和性を有することを意味する。

【0045】

本発明のポリペプチドに対して生成される抗体は、慣用的なプロトコルを使用して、該ポリペプチドまたはエピトープ保持したフラグメント、あるいは細胞を動物、好ましくは非ヒト動物に投与することによって得ることができる。モノクローナル抗体を調製する場合、継代的な細胞株培養物によって産生される抗体を提供する技術はいずれも使用することができる。例には、ハイブリドーマ技術（Kohler, G. および Milstein, C., Nature (1975)、256:495~497）、トリオーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術（Kozbor 他、Immunology Today (1983)、4:72）、およびEBVハイブリドーマ技術（Cole 他、Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy、77~96、Alan R. Liss, Inc., 1985）が含まれる。

【0046】

米国特許第4,946,778号に記載されているものなどの、一本鎖抗体を製造するための技術もまた、本発明のポリペプチドに対する一本鎖抗体を製造する上で応用することができる。また、トランスジェニック・マウスあるいは他の哺乳動物を含む他の生物を使用してヒト化抗体を発現させることができる。

【0047】

上記の抗体は、該ポリペプチドを発現するクローンを単離または同定するために、あるいはアフィニティー・クロマトグラフィによって該ポリペプチドを精製するために使用してもよい。本発明のポリペプチドに対する抗体は、また、特に本発明の疾患を治療するために用いることができる。

【0048】

本発明のポリペプチドおよびポリヌクレオチドはまた、ワクチンとして使用することができる。従って、さらなる形態において、本発明は、その疾患が個体において既に慢性化しているか否かに関わらず、前記動物を疾患から保護するために、抗体および/またはT細胞免疫応答（例えば、サイトカイン産生T細胞また

は細胞傷害性T細胞を含む)を生じさせるのに適する、本発明のポリペプチドを哺乳動物に接種することを含んでなる、哺乳動物における免疫学的応答を誘導するための方法に関する。哺乳動物における免疫学的応答はまた、本発明にかかる疾患から前記動物を保護するための抗体を産生するような、かかる免疫学的応答を誘導するために、*in vivo*で、該ポリヌクレオチドの発現を支配し、かつ該ポリペプチドをコードしているベクターによって、本発明のポリペプチドを送達することを含んでなる方法によって誘導してもよい。該ベクターを投与する1つの方法は、粒子またはそれ以外のものの上へのコーティング物として、所望する細胞中へのそれを促進することによる。かかる核酸ベクターは、DNA、RNA、修飾型核酸またはDNA/RNAハイブリッドを含むことができる。用途によって、ワクチン、ポリペプチドまたは核酸ベクターは、通常、ワクチン配合物(組成物)として提供される。該配合物はさらに適合するキャリアを含むことができる。ポリペプチドは胃において分解されることもあるため、それは好ましくは非経口的に投与される(例えば、皮下、筋肉内、静脈内、あるいは皮内注射)。非経口投与に好適な配合物には、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、ならびに配合物を接種者の血液と等張性にする溶質を含んでもよい、水性および非水性の無菌注射液;ならびに懸濁剤または増粘剤を含んでもよい、水性および非水性の無菌懸濁剤が含まれる。該配合物は、単位用量または多回用量容器、例えば、密封されたアンプルならびにバイアルに入れて提供することができ、また、使用直前に無菌の液体キャリアを添加するだけでよい、凍結乾燥状態で保存することができる。該ワクチン配合物はまた、水中油型システムや当該分野で既知のその他のシステムなどの、配合物の免疫原性を増強するためのアジュバント・システムを含むことができる。投与量は、該ワクチンの比活性に依存し、型どおりの実験によって容易に決定することができる。

【0049】

本発明のポリペプチドは、1つまたはそれ以上の疾患状態、特に、既に記載された本発明の疾患に関連する、1つまたはそれ以上の生物学的機能を有する。従って、該ポリペプチドの機能または濃度を刺激または阻害する化合物を同定することは有用である。従って、さらなる態様において、本発明は、該ポリペプチド

の機能または濃度を刺激または阻害する化合物を同定するために化合物をスクリーニングする方法を提供する。かかる方法は、上に記載されるような本発明のそのような疾患に対する治療および予防目的のために用いることができるアゴニストまたはアンタゴニストが同定される。化合物は、様々な供給源、例えば、細胞、無細胞調製物、化学ライブラリー、化学化合物のコレクション、および天然産物の混合物から同定することができる。そのようにして同定される、かかるアゴニストまたはアンタゴニストは、場合によっては、ポリペプチド自体の、天然または修飾された基質、リガンド、受容体、酵素など；その構造的または機能的な模倣体（Coligan他、Current Protocols in Immunology、1(2)：5章(1991)参照)あるいは小分子であってもよい。

【0050】

該スクリーニング方法は、候補化合物に直接的または間接的に結合している標識によって、該ポリペプチドあるいは該ポリペプチドまたはその融合タンパク質を表出している細胞または膜に対する候補化合物の結合を単に測定することでもよい。あるいは、該スクリーニング方法は、標識された競合剤（例えば、アゴニストまたはアンタゴニスト）に対して、候補化合物のポリペプチドに対する競合的な結合の（定性的または定量的に）測定または検出を含んでもよい。さらに、これらのスクリーニング方法では、該ポリペプチドを表出している細胞に適する検出システムを使用して、候補化合物がポリペプチドの活性化または阻害によって誘起されるシグナルをもたらすか否かを調べることもよい。活性化の阻害剤は、一般には既知のアゴニストの存在下でアッセイされ、そして候補化合物が存在による、アゴニストによる活性化に対する作用を観測する。さらに、該スクリーニング方法は、候補化合物を、本発明のポリペプチドを含有する溶液と混合して、混合体を形成させる工程、混合物におけるDUSP10活性を測定する工程、および混合物のDUSP10活性を、候補化合物を含有しないコントロール混合物と比較する工程を単に含み得る。

【0051】

本発明のポリペプチドは、従来の低い容量のスクリーニング方法、そしてまた

、ハイ・スループットなスクリーニング (HTS) 形態においても使用することができる。かかるHTS形態には、十分に確立された、96 -、また、最近には384 - ウェル・マイクロ・タイター (microtiter) ・プレートの使用のみでなく、Schullek他、Anal Biochem.、246、20 ~ 29 (1997) に記載される、ナノウェル法などの開発途上の方法もまた含まれる。

【0052】

既に記載したような、Fc部分およびDUSP10ポリペプチドから作製される融合タンパク質などの融合タンパク質もまた、本発明のポリペプチドに対するアンタゴニストを同定するための、ハイ・スループットなスクリーニング・アッセイのために使用することができる (D. Bennett他、J Mol Recognition、8:52~58 (1995); K. Johanson他、J Biol Chem、270 (16):9459~9471 (1995) 参照)。

【0053】

スクリーニング技術

本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチド、および該ポリペプチドに対する抗体はまた、細胞内におけるmRNAおよびポリペプチドの産生に対する、添加された化合物の影響を検出するためのスクリーニング方法を形成するために使用することができる。例えば、当該分野で公知の標準的な方法によって、モノクローナルおよびポリクローナル抗体を使用して、ポリペプチドの分泌または細胞結合している濃度を測定するために、ELISAアッセイを構築することができる。これは、適当に操作された細胞または組織からのポリペプチドの産生を阻害または増強することができる薬剤 (また、それぞれアンタゴニストまたはアゴニストとも呼ばれる) を発見するために使用することができる。

【0054】

本発明のポリペプチドは、当該分野で公知の標準的な受容体結合手法を通して、存在する場合には、膜結合型または可溶性の受容体を同定するために使用することができる。これらには、これらに限定されないものの、ポリペプチドを放射

性同位体（例えば、 ^{125}I ）で標識、化学修飾（例えば、ビオチン化）、あるいは検出または精製に好適なペプチド配列と融合して、そして推定される受容体の供給源（細胞、細胞膜、細胞上清、組織抽出物、体液）とインキュベーションする、リガンド結合およびクロスリンク・アッセイリガンドが含まれる。他の方法には、表面プラズモン共鳴および分光測定法などの生物物理学的技術が含まれる。これらのスクリーニング方法はまた、存在する場合には、ポリペプチドのその受容体に対する結合と競合する該ポリペプチドのアゴニストおよびアンタゴニストを同定するために使用することができる。かかるアッセイを行うための標準的な方法は、当該分野では十分に理解されている。

【0055】

本発明のポリペプチドのアンタゴニストの例には、抗体、あるいは、ある場合には、該ポリペプチド自体のリガンド、基質、受容体、酵素などに密接に関連するオリゴヌクレオチドまたはタンパク質、場合により、例えば、該リガンド、基質、受容体、酵素などのフラグメント；あるいは本発明のポリペプチドに結合するものの、応答を誘発せず、その結果、ポリペプチドの活性が妨げられる、小分子が含まれる。

【0056】

スクリーニング方法はまた、トランスジェニック技術およびDUSP10遺伝子の使用を含んでもよい。トランスジェニック動物を構築する手法は十分に確立されている。例えば、受精した卵母細胞の雄性前核へのマイクロインジェクション、移植前または移植後の胚へのレトロウイルス移入、エレクトロポレーションなどによって、遺伝子操作された胚性幹細胞の宿主胚盤胞への注入を通して、DUSP10遺伝子を導入することができる。特に有用なトランスジェニック動物は、その動物のゲノム内において、動物の遺伝子がヒトの等価体によって置き換えられている、所謂「ノック・イン」動物である。ノック・イン・トランスジェニック動物は、創薬プロセスにおいて、化合物はヒトの標的に対して特異的であるという、標的の妥当性検証用に有用である。他の有用なトランスジェニック動物は、内因性DNA配列によってコードされている、本発明のポリペプチドに対する動物オルソログの発現が細胞内で部分的または完全に無効とされている、所

謂「ノック・アウト」動物である。遺伝子のノック・アウトは、技術の限界の結果として、特異的な細胞または組織を対象とする、特定の細胞または組織においてのみ起きていてもよく、あるいは、動物内の全て、または実質的に全ての細胞において生じてもよい。トランスジェニック動物の手法はまた、導入された遺伝子が、本発明のポリペプチドを大量に供するために発現させられる動物全体の発現 - クローニング・システムを提供する。

【0057】

上記に記載された方法において使用されるスクリーニングキットは、本発明のさらなる態様をなす。そのようなスクリーニング・キットは下記のものを含む：

- (a) 本発明のポリペプチド、
- (b) 本発明のポリペプチドを発現している組換え細胞、
- (c) 本発明のポリペプチドを発現している細胞膜、または
- (d) 本発明のポリペプチドに対する抗体、

好ましくは配列番号2のポリペプチドである。

【0058】

かかるキットの何れの中においても、(a)、(b)、(c)または(d)は実質的な構成要素を構成することが理解される。

【0059】

(用語集)

下記の定義は、本明細書中で既に頻繁に使用されているいくつかの用語の理解を容易にするために提供される。

【0060】

本明細書中に用いられる「抗体」は、ポリクローナルおよびモノクローナル抗体、キメラ、一本鎖、ならびにヒト化抗体、同様にFabフラグメントをも包含し、Fabまたは他の免疫グロブリンの発現ライブラリー生成物を包含する。

【0061】

「単離(された)」は、その天然の状態から「ヒトの手によって」変化していること、すなわち、自然界に存在する場合、その本来の環境から変化、または移動されているか、あるいはその両方であることを意味する。例えば、生きた生物

中に天然に存在するポリヌクレオチドまたはポリペプチドは「単離」されていないが、その天然状態の共存物質から分離された同じポリヌクレオチドまたはポリペプチドは、この用語の本明細書中での用法に従うと「単離」されている。さらに、形質転換、遺伝子操作、または何らかの他の組換え方法によって生物に導入されているポリヌクレオチドまたはポリペプチドは、その生物が生存または非生存のいずれでも、前記生物中に依然として存在している場合でさえ、「単離」されている。

【0062】

「ポリヌクレオチド」は、一般には、非改変型または改変型のRNAまたはDNAであってもよい、任意のポリリボヌクレオチド(RNA)またはポリデオキシリボヌクレオチド(DNA)をいう。「ポリヌクレオチド」には限定されないものの、一本鎖および二本鎖のDNA、一本鎖と二本鎖の領域の混合物であるDNA、一本鎖および二本鎖のRNA、ならびに一本鎖と二本鎖領域の混合であるRNA、一本鎖、または、より典型的には二本鎖の、または一本鎖と二本鎖の領域の混合であってもよい、DNAおよびRNAを含むハイブリッド分子が含まれる。さらに、「ポリヌクレオチド」は、RNAまたはDNA、あるいはRNAとDNAとの両方を含む三重鎖領域をもいう。用語「ポリヌクレオチド」はまた、1つまたは複数の修飾された塩基を含有するDNAまたはRNA、および安定性または他の理由のために修飾された骨格を有するDNAまたはRNAを含む。「修飾(された)」塩基には、例えば、トリチル化された塩基、ならびにイノシンなどの非通常型の塩基が含まれる。様々な修飾をDNAおよびRNAに対して行うことができる。従って、「ポリヌクレオチド」は、ウイルスおよび細胞に特徴的なDNAおよびRNAの化学的形態と同様に、自然界に典型的に見出されるような、ポリヌクレオチドの化学的、酵素的または代謝的に修飾された形態、をも包含する。「ポリヌクレオチド」はまた、オリゴヌクレオチドとしばしば呼ばれる比較的短いポリヌクレオチドをも包含する。

【0063】

「ポリペプチド」は、ペプチド結合または修飾されたペプチド結合(すなわち、ペプチド等配電子体)によって互いに連結された2つ以上のアミノ酸を含むポ

リペプチドのいずれをもいう。「ポリペプチド」は、ペプチド、オリゴペプチドまたはオリゴマーと広く呼ばれる短い鎖、ならびに一般にはタンパク質と呼ばれるそれよりも長い鎖の両方をいう。ポリペプチドは、遺伝子によってコードされる20個のアミノ酸とは異なるアミノ酸を含有することができる。「ポリペプチド」は、翻訳後プロセッシングなどの天然のプロセス、あるいは当該分野で周知の化学的な修飾方法のいずれかによって、修飾がされたアミノ酸配列を含む。かかる修飾は、基本的な教本、およびより詳細な専門書、ならびに数多くの研究文献中に、広く記載されている。修飾は、ペプチド骨格、アミノ酸側鎖およびアミノ末端またはカルボキシル末端を含む、ポリペプチド内のいずれの位置に存在させることができる。同じタイプの修飾が、所与ポリペプチド内のいくつかの部位に同じ程度または異なる程度で存在してもよいことが理解される。また、所与ポリペプチドは多くのタイプの修飾を含有することができる。ポリペプチドは、ユビキチン化の結果として分枝状であってもよく、また、分枝を有する、または有していない、環状であってもよい。環状、分枝状および分枝した環状ポリペプチドは、翻訳後の天然のプロセスに起因しても、あるいは合成的方法によって作製されてもよい。修飾には、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、ビオチン化、フラビンの共有結合、ヘム成分の共有結合、ヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質または脂質誘導体の共有結合、ホスホチジルイノシトールの共有結合、クロス・リンク形成、環化、ジスルフィド結合の形成、脱メチル化、共有結合架橋の形成、システインの形成、ピログルタミン酸の形成、ホルミル化、 γ -カルボキシル化、グリコシル化、GPIアンカーの形成、ヒドロキシル化、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク質分解的プロセッシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化、硫酸化、アルギニル化などのアミノ酸のタンパク質へのトランスファー・RNA媒介付加、ならびユビキチン化が含まれる(例えば、Proteins - Structure and Molecular Properties、第2版、T. E. Creighton、W. H. Freeman and Company、New York、1993; World, F.、翻訳後のタンパク質修飾: 全体像および展望、1~12、Post-translational Covalen

t Modification of Proteins、B.C. Johnson 編、Academic Press、New York、1983; Seifter 他、「タンパク質修飾および非タンパク質補助因子の分析」、Meth Enzymol、182、626~646、1990; Rattan 他、「タンパク質合成：翻訳後修飾およびエイジング」、Ann NY Acad Sci、663、48~62、1992 参照)。

【0064】

ポリペプチド配列の「フラグメント」は、基準の配列よりも短いものの、基準ポリペプチドと同じ生物学的な機能または活性を本質的に保持しているポリペプチド配列をいう。ポリヌクレオチド配列の「フラグメント」は、配列番号1の基準配列よりも短いポリヌクレオチド配列をいう。

【0065】

「変異体」は、基準となるポリヌクレオチドまたはポリペプチドとは異なるものの、その本質的な性質を保持しているポリヌクレオチドまたはポリペプチドをいう。ポリヌクレオチドの典型的な変異体は、基準となるポリヌクレオチドに対して、塩基配列に相違がある。変異体の塩基配列における差異は、基準ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのアミノ酸配列を変化させても、させなくてもよい。ヌクレオチドの変化は、下に説明するように、基準配列によってコードされるポリペプチドにおけるアミノ酸の置換、付加、欠失、融合および末端の短縮化を引き起こしてもよい。ポリペプチドの典型的な変異体は、基準となるポリペプチドに対して、アミノ酸配列に相違がある。一般に、改変は、基準ポリペプチドおよび変異体の配列が全体的には非常に類似し、そして多くの領域において同一であるように制限される。変異体ならびに基準となるポリペプチドは、アミノ酸配列において、1つまたは複数の置換、挿入、欠失の任意の組合せによって相違してもよい。置換または挿入されるアミノ酸残基は、遺伝子コードによってコードされるアミノ酸残基であっても、なくてもよい。典型的な保存的置換には、Gly、Ala; Val、Ile、Leu; Asp、Glu; Asn、Gln; Ser、Thr; Lys、Arg; ならびに Phe および Tyr が含まれる。ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの変異体は、対立遺伝子などの天

然に存在するものであってもよく、あるいは天然に存在することが知られていない変異体であってもよい。ポリヌクレオチドおよびポリペプチドの天然に存在しない変異体は、変異誘発技術によって、あるいは直接合成によって作製することができる。また、1つまたは複数の翻訳後の修飾、例えば、グリコシル化、リン酸化、メチル化、ADPリボシル化などを有するポリペプチドもまた変異体として含まれる。実施形態には、N末端アミノ酸のメチル化、セリンおよびトレオニンのリン酸化、ならびにC末端グリシンの修飾が含まれる。

【0066】

「対立遺伝子」は、ゲノム内の所与遺伝子座に存在する遺伝子の2つまたはそれ以上の選択的な形態の1つをいう。

【0067】

「多型」は、集団内のゲノムにおける所与の位置での塩基配列（関連する場合にはコードされるポリペプチド配列）の変動をいう。

【0068】

「単一塩基多型」(SNP)は、集団内においてゲノム内の1つの塩基位置における塩基変動の発生をいう。SNPは、遺伝子内またはゲノムの遺伝子間領域内で起こってもよい。SNPは、対立遺伝子特異的増幅(ASA)を使用してアッセイすることができる。該プロセスには少なくとも3つのプライマーが必要である。共通プライマーが、アッセイされる多型に対して、逆方向に相補となるように使用される。共通プライマーは、多型な塩基から50bpから1500bpの間で隔たったものとできる。それ以外の2つ(またはそれ以上)のプライマーは、最後の3'塩基が、多型を構成する2つ(またはそれ以上)の対立遺伝子の1つと一致するように変化している点を除いて互いに同一である。そして、2つ(またはそれ以上)のPCR反応がサンプルDNAについて行われる。このとき、それぞれのPCRには共通プライマーおよび1つの対立遺伝子特異的プライマーが使用される。

【0069】

本明細書中で使用されている「スプライス変異体」は、同じゲノムDNA配列から一旦転写され、ただし、選択的RNAスプライシングを受けている、RNA

分子から作製されたcDNA分子をいう。択一的なRNAスプライシングは、一般にはイントロンを除くために一次RNA転写物がスプライシングを受ける際に生じ、それぞれ、異なるアミノ酸配列をコードしてもよい、2つ以上のmRNA分子が生じる。スプライス変異体の用語はまた、上記のcDNA分子によってコードされるタンパク質をも示す。

【0070】

「同一性」は、その配列を比較することによって決定される、2つ以上のポリペプチド配列または2つ以上のポリヌクレオチド配列の間における相互関係を反映する。一般に、同一性は、対比がなされている配列の長さによって2つのポリヌクレオチド配列または2つのポリペプチド配列のそれぞれの塩基毎またはアミノ酸毎の厳密な一致をいう。

【0071】

「%同一性」 - 正確な一致が存在しない配列については、「%同一性」を決定することができる。一般に、対比すべき2つの配列を、配列間で最大の相関が得られるようにアラインメントされる。これには、アラインメントの程度を高めるために、「ギャップ」をいずれか一方の配列または両方の配列に挿入することが含まれ得る。%同一性は、比較されている配列のそれぞれの全長によって決定することができる（いわゆる全体的なアラインメント）：これは同じ長さまたは非常に類似する長さの配列の場合には特に好適である；あるいは、より短い限定された長さによって決定することができる（いわゆる局所的アラインメント）：これは不揃いな長さの配列の場合にはより好適である。

【0072】

「類似性」は、2つのポリペプチド配列の間における関係に対するより精巧なさらなる尺度である。一般に、「類似性」は、残基毎に基づき、（同一性に関して、同様に）比較されている配列それぞれからの、相互に対をなす残基間における正確な一致だけでなく、正確な一致が存在しない場合にも、進化的な基準に基づいて、1つの残基は、他方に対する適当な置換であるかどうかをも考慮する、2つのポリペプチド鎖のアミノ酸間での比較を意味する。この蓋然性は、付随した「スコア」を有し、2つの配列の「%類似性」は、それに基づき決定するこ

とができる。

【0073】

2つ以上の配列の同一性および類似性を比較するための方法は、当該分野では周知となっている。従って、例えば、ウイスコンシン配列分析パッケージ(バージョン9.1; Devereux J. 他、Nucleic Acids Res. 12、387~395、1984; Genetics Computer Group (Madison, Wisconsin, 米国) から入手可能)において利用可能なプログラム、例えば、BESTFIT およびGAP プログラムを使用して、2つのポリヌクレオチド間の%同一性ならびに2つのポリペプチド配列間の%同一性および%類似性を決定することができる。BESTFITでは、SmithおよびWatermanの「局所的相同性」アルゴリズム(J Mol Biol、147、195~197、1981、Advances in Applied Mathematics、2、482~489、1981)が使用され、2つの配列間における類似性の最も良い単一領域が見出される。BESTFITは、長さが類似していない2つのポリヌクレオチド配列または2つのポリペプチド配列の比較に対してより適している。該プログラムは、より短い方の配列は、より長いものの一部を表すことが仮定されている。一方、GAPは、NeddlemanおよびWunschのアルゴリズム(J Mol Biol、48、443~453、1970)に従って、「最大の類似性」を見出しつつ、2つの配列をアラインメントする。GAPは、ほぼ同じ長さであり、またアラインメントが長さ全体にわたって期待される配列を比較することに対してより適している。好ましくは、比較されるものを、最適にアラインメントするための、各プログラムにおいて使用される「ギャップ加重」および「長さ加重」のパラメーターは、それぞれ、ポリヌクレオチド配列に対しては、50および3であり、ポリペプチド配列に対しては、12および4である。好ましくは、比較されている2つの配列を最適にアラインメントした上で、%同一性および類似性を決定する。

【0074】

配列間の同一性および/または類似性を決定するための他のプログラムもまた

当該分野では知られている：例えば、BLASTファミリーのプログラム(Altschul SF他、J Mol Biol、215、403~410、1990；Altschul SF他、Nucleic Acids Res.、25：389~3402、1997；これはNational Center for Biotechnology Information(NCBI)(Bethesda、Maryland、米国)から入手可能であり、www.ncbi.nlm.nih.govにおけるNCBIのホームページからアクセス可能である)、およびFASTA(Pearson WR、Methods in Enzymology、183、63~99、1990；Pearson WRおよびLipman DJ、Proc.Nat.Acad.Sci.USA、85、2444~2448、1988；これはウイコンシン配列分析パッケージの一部として入手可能である)。

【0075】

好ましくは、BLOSUM62アミノ酸置換行列(Henikoff SおよびHenikoff JG、Proc.Nat.Acad.Sci.USA、89、10915~10919、1992)が、比較前にヌクレオチド配列がアミノ酸配列に最初に翻訳される場合を含むポリペプチド配列比較において使用される。

【0076】

好ましくは、プログラムBESTFITが、基準とするポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列に関して、検討するポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列の%同一性を決定するために使用され、前に記載したように、検討と基準とする配列とは、最適にアラインメントされ、そしてプログラムのパラメーターは暫定の値に設定されている。

【0077】

「同一性指標」は、候補配列(ポリヌクレオチドまたはポリペプチド)と基準の配列とを比較するために使用することができる配列関連性の尺度である。すなわち、例えば、基準とするポリヌクレオチド配列と比較して、例えば0.95の同一性指標を有する候補ポリヌクレオチド配列は、該候補ポリヌクレオチド配列

は、基準の配列の各100塩基あたり平均して5個までの相違を含んでもよい点を除いて基準配列と同一である。かかる相違は、少なくとも1つの塩基欠失、トランジションおよびトランスバージョンを含む置換、または挿入からなる群から選択される。これらの相違は、基準ポリヌクレオチド配列の5'または3'末端部位に、あるいはこれらの末端部位の間の任意の位置で、基準配列内の塩基間に個々に、あるいは基準配列内に1つまたは複数の連続した群で点在して起こってもよい。すなわち、基準ポリヌクレオチド配列と比較したときに0.95の同一性指標を有するポリヌクレオチド配列を得るためには、既に記載のように基準配列内の塩基100個毎に平均して5個までが、任意の組合せで欠失、置換または挿入されていてもよい。同じことは、同一性指標の他の値、例えば0.96、0.97、0.98および0.99についても必要に応じて変更して適用される。

【0078】

同様に、ポリペプチドの場合、基準ポリペプチド配列と比較したときに、例えば、0.95の同一性指標を有する候補ポリペプチド配列は、基準配列の各100アミノ酸あたり平均して5個までの違いを該ポリペプチド配列が含んでもよいことを除いて基準配列と同一である。かかる違いは、少なくとも1つのアミノ酸の欠失、保存的ならびに非保存的置換を含む置換、または挿入からなる群から選択される。これらの相違は、基準ポリペプチド配列のアミノ末端部位もしくはカルボキシ末端部位に、あるいはこれら末端部位間の任意の位置に、基準配列内のアミノ酸間に個々に、あるいは基準配列内において1つまたは複数の連続した群で点在して存在し得る。すなわち、基準ポリペプチド配列と比較した際、0.95の同一性指標を有するポリペプチド配列を得るためには、既に記載したように、基準配列内においてアミノ酸の100個毎に平均して5個まで、任意の組合せで欠失、置換または挿入がなされてもよい。同じことが、同一性指標の他の値、例えば、0.96、0.97、0.98および0.99についても必要に応じて変更して適用される。

【0079】

塩基またはアミノ酸の相違数と同一性指標との関係は下記の式で表すことができる：

$$n_a \cdot x_a - (x_a \cdot I)$$

式中、

n_a は塩基またはアミノ酸の相違数であり、

x_a は配列番号1または配列番号2における塩基またはアミノ酸のそれぞれの総数であり、

I は同一性指標であり、

\cdot は乗算演算子に対する記号であり、

その際、 x_a と I との非整数の積は、最も近い整数に切り捨てられ、その後、その値が x_a から引かれる。

【0080】

「ホモログ」は、基準配列に対して高度の配列関連性を有するポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列を示すために、当該分野で使用されている一般的な用語である。かかる関連性は、既に定義されているように、2つの配列間の同一性および/または類似性の程度を決定することによって定量化することもできる。この総称的な用語には、「オルソログ」および「パラログ」の用語が含まれる。「オルソログ」は、別の種中における、該ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの機能的等価体であるポリヌクレオチドまたはポリペプチドをいう。「パラログ」は、機能的に類似している同じ種におけるポリヌクレオチドまたはポリペプチドをいう。

【0081】

「融合タンパク質」は、2つの、関連しない、融合された遺伝子またはそのフラグメントによってコードされるタンパク質をいう。その例が、米国特許第5541087号、米国特許第5726044号に開示されている。Fc-DUSP10の場合、融合タンパク質の一部として免疫グロブリンのFc領域を使用することは、治療に用いる際のかかる融合タンパク質の薬物動態学的性質を改善するために、そして二量体のDUSP10を生成させるために、Fc-DUSP10またはDUSP10の断片の機能的発現を行う上で好都合である。Fc-DUSP10のDNA構築物は、5'から3'の方向に、分泌カセット、すなわち、哺乳動物細胞からの細胞外への輸送を引き起こすシグナル配列、融合パートナーと

して免疫グロブリンのFc領域フラグメントをコードするDNA、およびDUSP10をコードするDNAまたはそのフラグメントを含む。ある用途では、融合タンパク質の残部には手を触れることなく、機能的なFc側を変異させ、その固有的な機能的性質（補体結合、Fc受容体結合）を変える、あるいは発現後にFc部分を完全に除くことを可能とすることが望ましい。

【0082】

特許および特許出願に限らず、これらを含む、本明細書中で引用されている刊行物および参考文献の全ては、十分に述べているように、個々の刊行物または参考文献を、参照して組み込むために、明示的かつ個別的に示唆されているように、その全部を、参照することで、本明細書中に組み込まれる。本出願が優先権を主張する特許出願はいずれも、先に刊行物および参考文献に関して記載したと同様に、その全部を、参照することで、本明細書中に組み込まれる。

【0083】

（さらなる実施例）

EST AI424957（配列番号3参照）とDUSP-10との間の部分的な配列同一性をより詳細に調べた。この特定のEST配列は、慢性リンパ球性白血病患者に由来するB細胞から作製されたcDNAライブラリーから得られた。DUSP-10（位置205～421）とAI424957（位置205～421）との間での一致は完全であったが、その領域の外側ではこの相同性が突然なくなっており、そこではEST配列はもはや相同性を示していなかったことが明らかにされ得る。このことは、予想外のゲノム異常がDUSP-10遺伝子内にまさに存在すること、そしてホスファターゼタンパク質の機能に加えて、この遺伝子の再編成に関連した他の機能的局面が存在することを示している。CLLにおける遺伝子の再編成は、これが診断的重要性を有し、そして新規な腫瘍抑制因子遺伝子としてのDUSP-10の関連性をまさに示すので、知ろうとする臨床医にとっては価値があると考えられる。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Merck Patent GmbH
 5
 <120> New dual specificity phosphatase
 <130> DUSP10KDWS
 10 <140>
 <141>
 <160> 2
 15 <170> PatentIn Ver. 2.1
 <210> 1
 <211> 3059
 <212> DNA
 20 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> CDS
 <222> (127)..(2121)
 25
 <400> 1
 cagtcaccac cagcctgacc tcatacactt ttagtacaat ggagtggctg agcctttgag 60
 cacaccacca ttacatcacc gtggcaaatt aaagaaggag gtgggaaaag aggacttatt 120
 30 gttgtc atg gcc cat gag atg att gga act caa att gtt act gag agg 168
 Met Ala His Glu Met Ile Gly Thr Gln Ile Val Thr Glu Arg
 1 5 10
 35 ttg gtg gct ctg ctg gaa agt gga acg gaa aaa gtg ctg cta att gat 216
 Leu Val Ala Leu Leu Glu Ser Gly Thr Glu Lys Val Leu Leu Ile Asp
 15 20 25 30
 40 agc cgg cca ttt gtg gaa tac aat aca tcc cac att ttg gaa gcc att 264
 Ser Arg Pro Phe Val Glu Tyr Asn Thr Ser His Ile Leu Glu Ala Ile
 35 40 45
 45 aat atc aac tgc tcc aag ctt atg aag cga agg ttg caa cag gac aaa 312
 Asn Ile Asn Cys Ser Lys Leu Met Lys Arg Arg Leu Gln Gln Asp Lys
 50 55 60
 50 gtg tta att aca gag ctc atc cag cat tca gcg aaa cat aag gtt gac 360
 Val Leu Ile Thr Glu Leu Ile Gln His Ser Ala Lys His Lys Val Asp
 65 70 75
 55 att gat tgc agt cag aag gtt gta gtt tac gat caa agc tcc caa gat 408
 Ile Asp Cys Ser Gln Lys Val Val Val Tyr Asp Gln Ser Ser Gln Asp
 80 85 90
 60 gtt gcc tct ctc tct tca gac tgt ttt ctc act gta ctt ctg ggt aaa 456
 Val Ala Ser Leu Ser Ser Asp Cys Phe Leu Thr Val Leu Leu Gly Lys
 95 100 105 110
 65 ctg gag aag agc ttc aac tct gtt cac ctg ctt gca ggt ggg ttt gct 504

	Leu	Glu	Lys	Ser	Phe	Asn	Ser	Val	His	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Phe	Ala	
					115					120					125		
5	gag	ttc	tct	cgt	tgt	ttc	cct	ggc	ctc	tgt	gaa	gga	aaa	tcc	act	cta	552
	Glu	Phe	Ser	Arg	Cys	Phe	Pro	Gly	Leu	Cys	Glu	Gly	Lys	Ser	Thr	Leu	
				130				135					140				
10	gtc	cct	acc	tgc	att	tct	cag	cct	tgc	tta	cct	ggt	gcc	aac	att	ggg	600
	Val	Pro	Thr	Cys	Ile	Ser	Gln	Pro	Cys	Leu	Pro	Val	Ala	Asn	Ile	Gly	
			145				150						155				
15	cca	acc	cga	att	ctt	ccc	aat	ctt	tat	ctt	ggc	tgc	cag	cga	gat	gtc	648
	Pro	Thr	Arg	Ile	Leu	Pro	Asn	Leu	Tyr	Leu	Gly	Cys	Gln	Arg	Asp	Val	
			160				165					170					
20	ctc	aac	aag	gag	ctg	atg	cag	cag	aat	ggg	att	ggt	tat	gtg	tta	aat	696
	Leu	Asn	Lys	Glu	Leu	Met	Gln	Gln	Asn	Gly	Ile	Gly	Tyr	Val	Leu	Asn	
						180				185						190	
25	gcc	agc	aat	acc	tgt	cca	aag	cct	gac	ttt	atc	ccc	gag	tct	cat	ttc	744
	Ala	Ser	Asn	Thr	Cys	Pro	Lys	Pro	Asp	Phe	Ile	Pro	Glu	Ser	His	Phe	
					195					200					205		
30	ctg	cgt	gtg	cct	gtg	aat	gac	agc	ttt	tgt	gag	aaa	att	ttg	ccg	tgg	792
	Leu	Arg	Val	Pro	Val	Asn	Asp	Ser	Phe	Cys	Glu	Lys	Ile	Leu	Pro	Trp	
				210					215					220			
35	ttg	gac	aaa	tca	gta	gat	ttc	att	gag	aaa	gca	aaa	gcc	tcc	aat	gga	840
	Leu	Asp	Lys	Ser	Val	Asp	Phe	Ile	Glu	Lys	Ala	Lys	Ala	Ser	Asn	Gly	
			225					230					235				
40	tgt	ggt	cta	gtg	cac	tgt	tta	gct	ggg	atc	tcc	cgc	tcc	gcc	acc	atc	888
	Cys	Val	Leu	Val	His	Cys	Leu	Ala	Gly	Ile	Ser	Arg	Ser	Ala	Thr	Ile	
			240				245					250					
45	gct	atc	gcc	tac	atc	atg	aag	agg	atg	gac	atg	tct	tta	gat	gaa	gct	936
	Ala	Ile	Ala	Tyr	Ile	Met	Lys	Arg	Met	Asp	Met	Ser	Leu	Asp	Glu	Ala	
						260				265					270		
50	tac	aga	ttt	gtg	aaa	gaa	aaa	aga	cct	act	ata	tct	cca	aac	ttc	aat	984
	Tyr	Arg	Phe	Val	Lys	Glu	Lys	Arg	Pro	Thr	Ile	Ser	Pro	Asn	Phe	Asn	
					275					280					285		
55	ttt	ctg	ggc	caa	ctc	ctg	gac	tat	gag	aag	aag	att	aag	aac	cag	act	1032
	Phe	Leu	Gly	Gln	Leu	Leu	Asp	Tyr	Glu	Lys	Lys	Ile	Lys	Asn	Gln	Thr	
				290				295						300			
60	gga	gca	tca	ggg	cca	aag	agc	aaa	ctc	aag	ctg	ctg	cac	ctg	gag	aag	1080
	Gly	Ala	Ser	Gly	Pro	Lys	Ser	Lys	Leu	Lys	Leu	Leu	His	Leu	Glu	Lys	
				305				310					315				
65	cca	aat	gaa	cct	gtc	cct	gct	gtc	tca	gag	ggt	gga	cag	aaa	agc	gag	1128
	Pro	Asn	Glu	Pro	Val	Pro	Ala	Val	Ser	Glu	Gly	Gly	Gln	Lys	Ser	Glu	
				320			325					330					
70	acg	ccc	ctc	agt	cca	ccc	tgt	gcc	gac	tct	gct	acc	tca	gag	gca	gca	1176
	Thr	Pro	Leu	Ser	Pro	Pro	Cys	Ala	Asp	Ser	Ala	Thr	Ser	Glu	Ala	Ala	
						340					345					350	
75	gga	caa	agg	ccc	gtg	cat	ccc	gcc	agc	gtg	ccc	agc	gtg	ccc	agc	gtg	1224
	Gly	Gln	Arg	Pro	Val	His	Pro	Ala	Ser	Val	Pro	Ser	Val	Pro	Ser	Val	

	355	360	365	
5	cag ccg tcg ctg tta gag gac agc ccg ctg gta cag gcg ctc agt ggg Gln Pro Ser Leu Leu Glu Asp Ser Pro Leu Val Gln Ala Leu Ser Gly 370 375 380			1272
10	ctg cac ctg tcc gca gac agg ctg gaa gac agc aat aag ctc aag cgt Leu His Leu Ser Ala Asp Arg Leu Glu Asp Ser Asn Lys Leu Lys Arg 385 390 395			1320
15	tcc ttc tct ctg gat atc aaa tca gtt tca tat tca gcc agc atg gca Ser Phe Ser Leu Asp Ile Lys Ser Val Ser Tyr Ser Ala Ser Met Ala 400 405 410			1368
20	gca tcc tta cat ggc ttc tcc tca tca gaa gat gct ttg gaa tac tac Ala Ser Leu His Gly Phe Ser Ser Ser Glu Asp Ala Leu Glu Tyr Tyr 415 420 425 430			1416
25	aaa cct tcc act act ctg gat ggg acc aac aag cta tgc cag ttc tcc Lys Pro Ser Thr Thr Leu Asp Gly Thr Asn Lys Leu Cys Gln Phe Ser 435 440 445			1464
30	cct gtt cag gaa cta tcg gag cag act ccc gaa acc agt cct gat aag Pro Val Gln Glu Leu Ser Glu Gln Thr Pro Glu Thr Ser Pro Asp Lys 450 455 460			1512
35	gag gaa gcc agc atc ccc aag aag ctg cag acc gcc agg cct tca gac Glu Glu Ala Ser Ile Pro Lys Lys Leu Gln Thr Ala Arg Pro Ser Asp 465 470 475			1560
40	agc cag agc aag cga ttg cat tcg gtc aga acc agc agc agt ggc acc Ser Gln Ser Lys Arg Leu His Ser Val Arg Thr Ser Ser Ser Gly Thr 480 485 490			1608
45	gcc cag agg tcc ctt tta tct cca ctg cat cga agt ggg agc gtg gag Ala Gln Arg Ser Leu Leu Ser Pro Leu His Arg Ser Gly Ser Val Glu 495 500 505 510			1656
50	gac aat tac cac acc agc ttc ctt ttc ggc ctt tcc acc agc cag cag Asp Asn Tyr His Thr Ser Phe Leu Phe Gly Leu Ser Thr Ser Gln Gln 515 520 525			1704
55	cac ctc acg aag tct gct ggc ctg ggc ctt aag ggc tgg cac tcg gat His Leu Thr Lys Ser Ala Gly Leu Gly Leu Lys Gly Trp His Ser Asp 530 535 540			1752
60	atc ttg gcc ccc cag acc tct acc cct tcc ctg acc agc agc tgg tat Ile Leu Ala Pro Gln Thr Ser Thr Pro Ser Leu Thr Ser Ser Trp Tyr 545 550 555			1800
65	ttt gcc aca gag tcc tca cac ttc tac tct gcc tca gcc atc tac gga Phe Ala Thr Glu Ser Ser His Phe Tyr Ser Ala Ser Ala Ile Tyr Gly 560 565 570			1848
70	ggc agt gcc agt tac tct gcc tac agc tgc agc cag ctg ccc act tgc Gly Ser Ala Ser Tyr Ser Ala Tyr Ser Cys Ser Gln Leu Pro Thr Cys 575 580 585 590			1896
75	gga gac caa gtc tat tct gtg cgc agg cgg cag aag cca agt gac aga Gly Asp Gln Val Tyr Ser Val Arg Arg Arg Gln Lys Pro Ser Asp Arg 595 600 605			1944

```

gct gac tcg cgg cgg agc tgg cat gaa gag agc ccc ttt gaa aag cag 1992
Ala Asp Ser Arg Arg Ser Trp His Glu Glu Ser Pro Phe Glu Lys Gln
        610                615                620
5
ttt aaa cgc aga agc tgc caa atg gaa ttt gga gag agc atc atg tca 2040
Phe Lys Arg Arg Ser Cys Gln Met Glu Phe Gly Glu Ser Ile Met Ser
        625                630                635
10 gag aac agg tca cgg gaa gag ctg ggg aaa gtg ggc agt cag tct agc 2088
Glu Asn Arg Ser Arg Glu Glu Leu Gly Lys Val Gly Ser Gln Ser Ser
        640                645                650
15 ttt tcg gcc agc atg gaa atc att gag gtc tcc tgagaagaaa gacacttggtg 2141
Phe Ser Gly Ser Met Glu Ile Ile Glu Val Ser
        655                660                665

acttctatag acaatttttt tttcttggtc acaaaaaaat tccctgtaaa tctgaaatat 2201
20 atatatgtac atacatatat atttttggaa aatggagcta tgggtgtaaaa gcaacagggtg 2261
gatcaaccca gttgttactc tottaacatc tgcatttgag agatcagcta atacttctct 2321
caacaaaaat ggaagggcag atgctagaat cccccctaga cggaggaaaa ccattttatt 2381
25 cagtgaatta cacatcctct tgttcttaaa aaagcaagtg tctttggtgt tggaggacaa 2441
aatcccctac cattttcagc ttgtgctact aagagatctc aaatattagt ctttgtccgg 2501
30 acccttccat agtacacctt agcgtgaga ctgagccagc ttgggggtca ggtaggtaga 2561
ccctgttagg gacagagcct agtggtaaat ccaagagaaa tgatcctatc caaagctgat 2621
tcacaaaccc acgctcacct gacagccgag ggacacgagc atcactctgc tggacggacc 2681
35 attaggggoc ttgccaaggt ctacctaga gcaaacccag tacctcagac aggaaagtgc 2741
gggctttgac cactaccata tctggtagcc cattttctag gcattgtgaa taggtaggta 2801
40 gctagtcaca cttttcagac caattcaaac tgtctatgca caaaattccc gtgggcctag 2861
atggagataa ttttttttct ttctcagctt tatgaagaga agggaaactg tctaggattc 2921
agctgaacca ccaggaacct ggcaacatca cgatttaagc taaggttggg aggctaacga 2981
45 gtctacctcc ctctttgtaa atcaaagaat tgtttaaaat gggattgtca atcctttaa 3041
taaagatgaa cttggttt 3059

50
<210> 2
<211> 665
<212> PRT
<213> Homo sapiens
55
<400> 2
Met Ala His Glu Met Ile Gly Thr Gln Ile Val Thr Glu Arg Leu Val
 1          5          10          15
60 Ala Leu Leu Glu Ser Gly Thr Glu Lys Val Leu Leu Ile Asp Ser Arg
        20          25          30

```

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

Arg Pro Val His Pro Ala Ser Val Pro Ser Val Pro Ser Val Gln Pro
 355 360 365
 5 Ser Leu Leu Glu Asp Ser Pro Leu Val Gln Ala Leu Ser Gly Leu His
 370 375 380
 Leu Ser Ala Asp Arg Leu Glu Asp Ser Asn Lys Leu Lys Arg Ser Phe
 385 390 395 400
 10 Ser Leu Asp Ile Lys Ser Val Ser Tyr Ser Ala Ser Met Ala Ala Ser
 405 410 415
 Leu His Gly Phe Ser Ser Ser Glu Asp Ala Leu Glu Tyr Tyr Lys Pro
 420 425 430
 15 Ser Thr Thr Leu Asp Gly Thr Asn Lys Leu Cys Gln Phe Ser Pro Val
 435 440 445
 Gln Glu Leu Ser Glu Gln Thr Pro Glu Thr Ser Pro Asp Lys Glu Glu
 450 455 460
 20 Ala Ser Ile Pro Lys Lys Leu Gln Thr Ala Arg Pro Ser Asp Ser Gln
 465 470 475 480
 25 Ser Lys Arg Leu His Ser Val Arg Thr Ser Ser Ser Gly Thr Ala Gln
 485 490 495
 Arg Ser Leu Leu Ser Pro Leu His Arg Ser Gly Ser Val Glu Asp Asn
 500 505 510
 30 Tyr His Thr Ser Phe Leu Phe Gly Leu Ser Thr Ser Gln Gln His Leu
 515 520 525
 Thr Lys Ser Ala Gly Leu Gly Leu Lys Gly Trp His Ser Asp Ile Leu
 530 535 540
 35 Ala Pro Gln Thr Ser Thr Pro Ser Leu Thr Ser Ser Trp Tyr Phe Ala
 545 550 555 560
 40 Thr Glu Ser Ser His Phe Tyr Ser Ala Ser Ala Ile Tyr Gly Gly Ser
 565 570 575
 Ala Ser Tyr Ser Ala Tyr Ser Cys Ser Gln Leu Pro Thr Cys Gly Asp
 580 585 590
 45 Gln Val Tyr Ser Val Arg Arg Arg Gln Lys Pro Ser Asp Arg Ala Asp
 595 600 605
 50 Ser Arg Arg Ser Trp His Glu Glu Ser Pro Phe Glu Lys Gln Phe Lys
 610 615 620
 Arg Arg Ser Cys Gln Met Glu Phe Gly Glu Ser Ile Met Ser Glu Asn
 625 630 635 640
 55 Arg Ser Arg Glu Glu Leu Gly Lys Val Gly Ser Gln Ser Ser Phe Ser
 645 650 655
 Gly Ser Met Glu Ile Ile Glu Val Ser
 660 665
 60

```
<210> 3
<211> 246
<212> DNA
<213> Homo sapiens
5 <400> 3
  ctgctaattg atagccggcc atttgtggaa tacaatacat cccacatttt ggaagccatt 60
  aatatcaact gtcceaagct tatgaagcga aggttgcaac aggacaaagt gttaattaca 120
10 gagctcatcc agcattcagc gaaacataag gttgacattg attgcagtca gaaggttgta 180
  gtttaagatc aaagctccca agatggttgc tctctcttca gcatgtaatt ggggaaaccc 240
  tcgttt                                     246
15
```

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International Application No PCT/EP 01/03966
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7	C12N15/55 C12Q1/42	C12N15/62 G01N33/53
	C12N9/16	C07K16/40 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 C12Q G01N		
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		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE EMBL 'Online! Entry/Acc.no. AC007619, 24 May 1999 (1999-05-24) MUNZY, D.M. ET AL.: "Homo sapiens 12p BAC RP11-253I19 (Roswell Park Cancer Institute Human BAC" XP002176719 nt. 101430-103560.</p> <p>---</p>	4
X	<p>DATABASE EMBL 'Online! Entry/Acc.no. AI659120, 11 May 1999 (1999-05-11) STRAUSBERG, R.: "tu08d11.x1 NCI_CGAP_Pr28 Homo sapiens cDNA clone IMAGE:2250453 3', mRNA sequence." XP002176720 the whole document</p> <p>---</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	4
<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:		
<p>*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>*E* earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>*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)</p> <p>*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>		<p>*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</p> <p>*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</p> <p>*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.</p> <p>*Z* document member of the same patent family</p>
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
5 September 2001		19/09/2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epe nl Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Smalt, R

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 01/03966

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	NAGASE T, KIKUNO R, HATTORI A, KONDO Y, OKUMURA K, OHARA O.: "Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XIX. The complete" DNA RESEARCH, vol. 7, no. 6, 31 December 2000 (2000-12-31), pages 347-55, XP001016382 see KIAA1700 ---	1, 2, 4, 6-8
P, X	DATABASE EMBL 'Online! Entry/Acc.no. AB052156, 5 April 2001 (2001-04-05) MASUDA, K. ET AL.: "Homo sapiens MKP-7 mRNA for MAPK phosphatase-7, complete cds." XP002176721 the whole document ---	1-8
P, X	WO 01 20004 A (INCYTE GENOMICS INC ;AZIMZAI YALDA (US); YUE HENRY (US); BANDMAN O) 22 March 2001 (2001-03-22) see seq.ID's 4 and 15 ---	1, 4, 6-11
E	WO 01 46394 A (PLOWMAN GREGORY D ;HILL RONALD J (US); SUGEN INC (US); WHYTE DAVID) 28 June 2001 (2001-06-28) claims, seq.ID's 2 and 14 (SGP002) page 123 -----	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP 01/03966

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0120004 A	22-03-2001	AU 7829700 A	17-04-2001
WO 0146394 A	28-06-2001	WO 0155356 A	02-08-2001

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-ト' (参考)	
C 1 2 N	1/21	C 1 2 N	9/16	B 4 H 0 4 5
	5/10	C 1 2 Q	1/02	
	9/16		1/42	
C 1 2 Q	1/02		1/68	A
	1/42	G 0 1 N	33/15	Z
	1/68		33/50	Z
G 0 1 N	33/15	C 1 2 N	15/00	Z N A A
	33/50		5/00	A
(71)出願人	Frankfurter Str. 250, D - 64293 Darmstadt, Fed eral Republic of Ge rmany			
(72)発明者	デュエッケル、 クラウス ドイツ連邦共和国 64291 ダルムシュタ ット エッテステルシュトラッセ 5			
Fターム(参考)	2G045 AA40 BA13 BB03 BB20 CB01 CB21 DA12 DA13 DA14 DA36 DA37 FB03 FB04 FB06 4B024 AA01 AA11 BA11 CA02 CA07 CA09 CA12 CA20 DA01 DA02 DA05 DA11 DA12 GA11 HA11 HA13 HA14 4B050 CC01 CC03 CC05 DD11 EE01 LL01 LL03 LL05 4B063 QA01 QA05 QA13 QA18 QQ21 QQ33 QQ41 QQ43 QQ53 QQ61 QQ89 QR08 QR13 QR32 QR35 QR40 QR42 QR48 QR56 QR62 QR77 QR80 QS16 QS25 QS33 QS34 QS36 QX01 QX02 QX10 4B065 AA01X AA58X AA72X AA87X AA93Y AB01 AC14 BA02 CA31 CA44 CA46 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA75 DA89 EA20 EA50 FA71 FA74			

专利名称(译)	鉴定双特异性磷酸酶DUSP-10		
公开(公告)号	JP2003530112A	公开(公告)日	2003-10-14
申请号	JP2001575194	申请日	2001-04-06
申请(专利权)人(译)	默克专利GESELLSCHAFT手套Beshurenkuteru Hafutongu		
[标]发明人	デュエツケルクラウス		
发明人	デュエツケル、クラウス		
IPC分类号	G01N33/50 C07K16/40 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N9/16 C12N15/09 C12N15/55 C12N15/62 C12Q1/02 C12Q1/42 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53		
CPC分类号	C12N9/16 C07K2319/00		
FI分类号	C07K16/40 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N9/16.B C12Q1/02 C12Q1/42 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/BA13 2G045/BB03 2G045/BB20 2G045/CB01 2G045/CB21 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/DA37 2G045/FB03 2G045/FB04 2G045/FB06 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA11 4B024/CA02 4B024/CA07 4B024/CA09 4B024/CA12 4B024/CA20 4B024/DA01 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA11 4B024/DA12 4B024/GA11 4B024/HA11 4B024/HA13 4B024/HA14 4B050/CC01 4B050/CC03 4B050/CC05 4B050/DD11 4B050/EE01 4B050/LL01 4B050/LL03 4B050/LL05 4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QA13 4B063/QA18 4B063/QQ21 4B063/QQ33 4B063/QQ41 4B063/QQ43 4B063/QQ53 4B063/QQ61 4B063/QQ89 4B063/QR08 4B063/QR13 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR40 4B063/QR42 4B063/QR48 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QR77 4B063/QR80 4B063/QS16 4B063/QS25 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX01 4B063/QX02 4B063/QX10 4B065/AA01X 4B065/AA58X 4B065/AA72X 4B065/AA87X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA31 4B065/CA44 4B065/CA46 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA89 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA71 4H045/FA74		
优先权	2000107143 2000-04-10 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

公开了DUSP10多肽和多核苷酸，以及通过重组技术生产这种多肽的方法。还公开了在诊断测定中使用DUSP10多肽和多核苷酸的方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International	Publication No.
IPC 7 ¹ C12N15/55 C12N15/62 C12N9/16 C07K16/40 C12Q1/68		PCT/EP	01/03966
According to International Patent Classifications (IPC) or to both national classification and IPC:			
B. FIELDS SEARCHED			
IPC 7 ¹ C12N C07K C12Q G01N			
Examination searches were made wherever documentation to the extent that such documents are included in the fields searched			
Electronic searches were conducted using the international search system of WIPO class and, where practical, search terms used:			
EPO-Internal			
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passage	Relevant to claim no.	
X	DATABASE EMBL 'Online' Entry/Accession: AC007619 24 May 1999 (1999-05-24) NUDZY, D. H., ET AL.; Homo sapiens 12p BAC RP11-23119 (Roswell Park Cancer Institute RPO2176719 nt_01430-10350.	4	
X	DATABASE EMBL 'Online' Entry/Accession: A169120 11 May 1999 (1999-05-11) STAUSSERS, R.; "TUG8011 x1 NCI_C6AP_P12R Homo sapiens cDNA clone IMAGE:2250453 3' mRNA sequence." RPO2176720 the whole document	4	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are cited in the communication of this CI			
<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex			
1 Documents cited in this report which are relevant to the prior art in the field of the invention are indicated by an asterisk (*) *2* Documents cited in this report which are relevant to the prior art in the field of the invention are indicated by a cross (X) *3* Documents cited in this report which are relevant to the prior art in the field of the invention are indicated by a square (□) *4* Documents cited in this report which are relevant to the prior art in the field of the invention are indicated by a triangle (△) *5* Documents cited in this report which are relevant to the prior art in the field of the invention are indicated by a diamond (◇) *6* Documents cited in this report which are relevant to the prior art in the field of the invention are indicated by a circle (○) *7* Documents cited in this report which are relevant to the prior art in the field of the invention are indicated by a square with a diagonal line (▧) *8* Documents cited in this report which are relevant to the prior art in the field of the invention are indicated by a square with a horizontal line (▨) *9* Documents cited in this report which are relevant to the prior art in the field of the invention are indicated by a square with a vertical line (▩) *10* Documents cited in this report which are relevant to the prior art in the field of the invention are indicated by a square with a diagonal line (▪)			
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report	
5 September 2001		19/09/2001	
Name and mailing address of the ISA, International Searching Authority		Authorised officer	
The Patent Office, 2001 2001 Fax: 44-121-752-3016		Small, S	