

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2008-67701

(P2008-67701A)

(43) 公開日 平成20年3月27日(2008.3.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B O 2 4
C O 7 K 14/47 (2006.01)	C O 7 K 14/47	4 B O 6 4
C O 7 K 16/18 (2006.01)	C O 7 K 16/18	4 B O 6 5
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/00 B	4 C O 8 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 V	4 H O 4 5
審査請求 有 請求項の数 9 O L (全 45 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2007-236021 (P2007-236021)	(71) 出願人	592221528
(22) 出願日	平成19年9月11日(2007.9.11)		バイオジェン・アイデック・エムエイ・インコーポレイテッド
(62) 分割の表示	特願平9-542986の分割		アメリカ合衆国、マサチューセッツ O 2
原出願日	平成9年5月23日(1997.5.23)		1 4 2、ケンブリッジ、ケンブリッジ センター 1 4
(31) 優先権主張番号	60/018, 228	(71) 出願人	592017633
(32) 優先日	平成8年5月24日(1996.5.24)		ザ ジェネラル ホスピタル コーポレイション
(33) 優先権主張国	米国 (US)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ O 2
(31) 優先権主張番号	60/023, 442		1 1 4, ポストン, フルーツ ストリート 5 5
(32) 優先日	平成8年8月23日(1996.8.23)	(74) 代理人	100078282
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 山本 秀策
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 組織再生のモジュレーター

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 損傷されたまたは再生中の組織においてアップレギュレートされるタンパク質、およびこれらのタンパク質をコードするDNA、ならびに治療的組成物を提供すること。

【解決手段】 特定のアミノ酸配列を有するポリペプチドである腎臓損傷分子(KIM)、および該ポリペプチドの由来するアミノ酸配列において1または数個のアミノ酸の欠失、置換および/または付加を有し、かつ該ポリペプチドの活性を有する可溶性改変体。また、それらのポリペプチドをコードする核酸。さらに、該ポリペプチド結合する抗体。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

以下の項目(1)～(3)のいずれか1項に記載のポリペプチドの可溶性改変体を含むポリペプチド：

(1)(a)配列番号3、配列番号5または配列番号7に示す腎臓損傷分子(KIM)に対応するアミノ酸配列；あるいは

(b)該(a)に由来するアミノ酸配列において1または数個のアミノ酸の欠失、置換および/または付加を有し、かつ該(a)のアミノ酸配列の活性を有するアミノ酸配列、

からなるポリペプチドであって、該KIMは、虚血後哺乳動物腎臓組織において選択的に発現される細胞表面タンパク質である、ポリペプチド；

(2)項目(1)のポリペプチドであって、配列番号3、配列番号5または配列番号7の配列を含む、ポリペプチド；

(3)項目(1)のポリペプチドであって、配列番号3、配列番号5または配列番号7からなる、ポリペプチド。

【請求項 2】

請求項1の項目(1)～(3)のいずれか1項に記載のポリペプチドの細胞外ドメインと、免疫グロブリンのFc領域とを含む、融合タンパク質。

【請求項 3】

請求項2に記載の融合タンパク質をコードする核酸。

【請求項 4】

請求項1の項目(3)に記載のポリペプチドに結合する抗体であって、該抗体は、毒素または放射性核種と結合体化されている、抗体。

【請求項 5】

請求項1の項目(3)に記載のポリペプチドに結合する抗体であって、該抗体は、モノクローナル抗体である、抗体。

【請求項 6】

請求項1の項目(3)に記載のポリペプチドに結合する抗体を生成するハイブリドーマ。

【請求項 7】

請求項1の項目(3)に記載のポリペプチドを発現する細胞に対して毒素または放射性核種を標的化するための薬学的組成物の調製のための、請求項4に記載の抗体の使用。

【請求項 8】

請求項4に記載の抗体を含む、請求項1の項目(3)に記載のポリペプチドを発現する細胞または組織を画像化するための組成物。

【請求項 9】

請求項4に記載の抗体を含む、請求項1の項目(3)に記載のポリペプチドを発現する細胞に対して毒素または放射性核種を標的化するための組成物。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】****発明の分野**

本発明は、損傷されたまたは再生中の組織においてアップレギュレートされるタンパク質、およびこれらのタンパク質をコードするDNAに関する。本発明はさらに、治療的組成物、およびこれらのタンパク質を包含する処置方法に関する。

【背景技術】**【0002】****発明の背景**

組織構造の動力学的再形成は、発達の間および損傷後の組織修復の間に生じる。このプロセスを研究するために、本発明者らは、虚血-再灌流傷害により引き起こされる腎臓損傷のモデルに注目した。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 3 】

腎臓は、近位細管上皮に対する損傷を、細胞死、生存近位細管上皮細胞の増殖、露出された基底膜の上のあまり分化していない再生性上皮の形成、および完全に機能性の近位細管上皮細胞を形成する再生性上皮の分化を含む複雑な一連の事象を介して修復し得る (Wallinら、Lab. Invest. 66:474-484, 1992; Witzgallら、Mol. Cell. Biol. 13:1933-1942, 1994; Ichimuraら、Am. J. Physiol. 269:F653-662, 1995; Thadhaniら、N. Engl. J. Med. 334:1448-1460, 1996)。IGF、EGF、およびHGFのような増殖因子は、内皮細胞接着分子ICAM-1と同様に、この修復のプロセスに関連付けられている。しかし、それによって細管上皮細胞が復元される機構はなお理解されていない。

【 0 0 0 4 】

細管上皮の損傷および修復のプロセスに関与する分子を同定するために、本発明者らは、損傷 / 再生腎臓と、正常腎臓との間のmRNA集団における差異を、呈示差異分析 (representational difference analysis) (RDA) を使用して分析した。RDAは、反復するサブトラクションおよび増幅により標的組織または細胞特異的cDNAフラグメントを生じる、サブトラクションのためのPCRに基づく方法である (HubankおよびSchutz, Nucl. Acids Res. 22:5640-5648, 1994)。

【 発明の開示 】

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 5 】

本発明により、例えば、以下が提供される。

(1) 配列番号 1、配列番号 2、配列番号 4 または配列番号 6 に記載のヌクレオチド配列を有する精製および単離された DNA 分子。

(2) 以下から選択される精製および単離された DNA 分子：

a) 配列番号 1 の DNA 分子またはその相補鎖；

b) 配列番号 2 の DNA 分子またはその相補鎖；

c) 配列番号 4 の DNA 分子またはその相補鎖；

d) 配列番号 6 の DNA 分子またはその相補鎖；

e) a)、b)、c) または d) で定義された DNA 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 DNA 分子、またはそれらのフラグメント；

f) 遺伝子コードの縮重がなければ、a)、b)、c)、d) または e) で定義された DNA 分子にハイブリダイズする DNA 分子。

(3) 発現制御配列に作動可能に連結されている、項目 1 または 2 に記載の組換え DNA 分子。

(4) 配列番号 1、配列番号 2、配列番号 4 または配列番号 6 に記載のヌクレオチド配列を有する精製および単離された DNA 分子を含むベクター。

(5) 項目 1、2 または 3 のいずれか 1 項に記載の DNA 分子を含む、生物学的に機能性のプラスミドまたはウイルス DNA ベクター。

(6) 項目 1 に記載の DNA 分子を含むベクターによって安定に形質転換またはトランスフェクトされた原核生物または真核生物宿主細胞。

(7) 項目 1、2 または 3 に記載の DNA 分子によってコードされるポリペプチド産物の産生のためのプロセスであって、該プロセスは、適切な培養条件下で、DNA分子で形質転換またはトランスフェクトされた原核生物または真核生物宿主細胞を、DNA分子の発現を可能にする様式で増殖させること、および該発現のポリペプチド産物を回収することを含む、プロセス。

(8) 項目 7 に記載のプロセスによって産生されたポリペプチド産物。

(9) 配列番号 3、配列番号 5 または配列番号 7 を含むアミノ酸配列を有するタンパク質。

(1 0) 配列番号 1、配列番号 2、配列番号 4 または配列番号 6 の DNA によってコードされる精製および単離されたタンパク質。

(1 1) 他のヒトタンパク質を実質的に含まない、項目 9 または 1 0 に記載のタンパク質

°

(1 2) 配列番号 3、配列番号 5 または配列番号 7 の改変体である、タンパク質。

(1 3) 項目 9、1 0、1 1 または 1 2 に記載のタンパク質の可溶性改変体。

(1 4) 項目 9、1 0、1 1、1 2 または 1 3 に記載のタンパク質を含む、I g G 融合タンパク質。

(1 5) 毒素、造影可能化合物、または放射性核種に融合される、項目 1 3 に記載の可溶性タンパク質。

(1 6) 項目 9、1 0、1 1 または 1 2 に記載のタンパク質に対する特異的モノクローナル抗体。

(1 7) 毒素、造影可能化合物、または放射性核種に結合される、項目 1 6 に記載の抗体

10

°

(1 8) 項目 9、1 0、1 1、1 2 または 1 3 に記載のタンパク質に対する特異的抗体を産生する、ハイブリドーマ細胞株。

(1 9) 項目 1 8 に記載のハイブリドーマによって産生される抗体。

(2 0) 治療有効量の項目 9、1 0、1 1、1 2、1 3、1 4 または 1 5 に記載のタンパク質を含む薬学的組成物であって、薬理学的に受容可能なキャリアをさらに含む、薬学的組成物。

(2 1) 治療有効量の項目 1 6、1 7 または 1 9 に記載の抗体を含む薬学的組成物であって、薬理学的に受容可能なキャリアをさらに含む、薬学的組成物。

(2 2) 腎臓疾患を有する被験体を処置する方法であって、治療有効量の項目 9、1 0、1 1、1 2、1 3、1 4 または 1 5 に記載のタンパク質を該被験体に投与する工程を包含する、方法。

20

(2 3) 腎臓疾患を有する被験体を処置する方法であって、治療有効量の項目 1 6、1 7 または 1 9 に記載の抗体を該被験体に投与する工程を包含する、方法。

(2 4) 腎臓疾患を有する被験体を処置する方法であって、治療有効量の項目 2 0 に記載の薬学的組成物を該被験体に投与する工程を包含する、方法。

(2 5) 被験体における新たな組織の成長を促進する方法であって、治療有効量の項目 9、1 0、1 1、1 2、1 3 または 1 4 に記載のタンパク質を該被験体に投与する工程を包含する、方法。

(2 6) 前記組織が腎臓組織である、項目 2 5 に記載の方法。

30

(2 7) 被験体において損傷された組織の生存を促進する方法であって、治療有効量の項目 9、1 0、1 1、1 2、1 3 または 1 4 に記載のタンパク質を該被験体に投与する工程を包含する、方法。

(2 8) 前記組織が腎臓組織である、項目 2 7 に記載の方法。

(2 9) 腎臓疾患を有する被験体を処置する方法であって、治療有効量の項目 1 6、1 7 または 1 9 に記載の抗体を該被験体に投与する工程を包含する、方法。

(3 0) 腎臓疾患を有する被験体を処置する方法であって、治療有効量の項目 2 1 に記載の薬学的組成物を該被験体に投与する工程を包含する、方法。

(3 1) 被験体における新たな組織の成長を促進する方法であって、治療有効量の項目 1 6、1 7 または 1 9 に記載の抗体を該被験体に投与する工程を包含する、方法。

40

(3 2) 被験体において損傷された組織の生存を促進する方法であって、治療有効量の項目 1 6、1 7 または 1 9 に記載の抗体を該被験体に投与する工程を包含する、方法。

(3 3) 腎臓障害を有する被験体を処置する方法であって、項目 4 または 5 に記載のベクターを該被験体に投与する工程を包含する、方法。

(3 4) 被験体における新たな組織の成長を促進する方法であって、項目 4 または 5 に記載のベクターを該被験体に投与する工程を包含する、方法。

(3 5) 被験体において損傷された組織の生存を促進する方法であって、治療有効量の項目 4 または 5 に記載のベクターを該被験体に投与する工程を包含する、方法。

(3 6) 前記組織が腎臓組織である、項目 3 5 に記載の方法。

(3 7) 造影可能化合物を、配列番号 3、配列番号 5 または配列番号 7 のタンパク質を発

50

現する細胞に標的化するための方法であって、該細胞を、造影可能化合物に融合された項目 16 に記載のモノクローナル抗体と接触させる工程を包含する、方法。

(38) 前記細胞が被験体内にあり、前記モノクローナル抗体が、該被験体に投与される、項目 37 に記載の方法。

(39) 被験体の腎臓細胞の損傷または再生を同定する方法であって、該被験体の腎臓細胞における配列番号 1、配列番号 2、配列番号 4 または配列番号 6 の発現のレベルを、コントロール腎臓細胞における配列番号 1、配列番号 2、配列番号 4 または配列番号 6 の発現のコントロールレベルと比較する工程を包含する、方法。

(40) 細胞における配列番号 1、配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 6 のアップレギュレーションを同定する方法であって、該細胞をアンチセンスプローブと接触させること、および該細胞内の RNA に対するハイブリダイゼーションを測定することを含む、方法。

(41) 被験体における腎臓細胞の損傷または再生を同定する方法であって、該被験体の腎臓細胞、腎臓細胞断片または体液における配列番号 3、配列番号 5 または配列番号 7 の濃度を、コントロール腎臓細胞における配列番号 3、配列番号 5 または配列番号 7 の発現のコントロールレベルと比較する工程を包含する、方法。

(42) 前記体液が、尿または血清である、項目 41 に記載の方法。

(43) 前記腎臓細胞または腎臓細胞断片が、前記被験体の尿沈渣から得られる、項目 41 に記載の方法。

【0006】

発明の要旨

本発明は、一般に、腎臓損傷関連分子 (Kidney Injury-related Molecule) (その各々が以下で「KIM」と呼ばれる) を提供する。これは、腎臓に対する損傷後に腎臓組織においてアップレギュレートされる。本発明の KIM タンパク質およびペプチド、ならびにそれらのアゴニストおよびアンタゴニスト、ならびにそれらの対応物は、種々の治療介入において有用である。

【0007】

本発明は、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 6 に記載されるヌクレオチド配列を有する精製および単離された DNA 分子を提供する。本発明はまた、これらの配列の相補鎖、上記 DNA 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 DNA 分子、および遺伝子コードの縮重がなければ、任意の上記で定義される DNA 分子にハイブリダイズする DNA 分子を包含する。これらの DNA 分子は組換え体であり得、そして発現制御配列に作動可能に連結され得る。

【0008】

本発明はさらに、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 4、もしくは配列番号 6 に記載されるヌクレオチド配列を有する精製および単離された DNA 分子、または上記で定義される他の DNA 分子の 1 つを含むベクターを提供する。このベクターは、生物学的に機能性のプラスミドまたはウイルス DNA ベクターであり得る。本発明の 1 つの実施態様は、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 6 の DNA 分子を含むベクターにより安定に形質転換またはトランスフェクトされた原核生物または真核生物宿主細胞を提供する。本発明の別の実施態様において、上記のような DNA 分子によりコードされる KIM ポリペプチド産物の産生のためのプロセスが提供され；このプロセスは、適切な培養条件下で、DNA 分子で形質転換またはトランスフェクトされた原核生物または真核生物宿主細胞を、DNA 分子の発現を可能にする様式で増殖させること、およびこの発現のポリペプチド産物を回収することを含む。

【0009】

詳細には、実質的に他のヒトタンパク質を含まない精製および単離されたヒト KIM タンパク質は、KIM タンパク質の一次構造コンホメーションおよび生物学的活性の一部または全部を有するポリペプチド産物の産生のためのプロセスと同様に、本発明の範囲内である。本発明の KIM タンパク質は、配列番号 3、配列番号 5、もしくは配列番号 7 を含むアミ

10

20

30

40

50

ノ酸配列を有し得るか；または配列番号 3、配列番号 5、もしくは配列番号 7 の改変体であり得るか；または配列番号 1、配列番号 2、配列番号 4、もしくは配列番号 6 の DNA によりコードされる精製もしくは単離されたタンパク質であり得る。これらのタンパク質は、実質的に他のヒトタンパク質を含まないで提供され得る。本発明はさらに、これらのタンパク質の改変体（例えば、可溶性改変体または融合タンパク質）を包含する。本発明の KIM 融合タンパク質は、免疫グロブリン、毒素、造影可能化合物、または放射性核種を含み得る。

【 0 0 1 0 】

本発明はまた、上記の KIM タンパク質に対する特異的モノクローナル抗体を提供する。抗 KIM 抗体は、毒素、造影可能化合物、または放射性核種と結合され得る。そのような特異的抗体を産生するハイブリドーマ細胞株がさらに教示される。

10

【 0 0 1 1 】

薬学的組成物もまた、本発明の範囲内である。本発明の薬学的組成物は、治療有効量の本発明の KIM タンパク質または抗 KIM 抗体を、薬理学的に受容可能なキャリアとともに含み得る。

【 0 0 1 2 】

腎臓疾患を有するか、または腎臓疾患を発生する危険にある患者の尿、血清、または尿沈渣における KIM の濃度を測定することにより、腎臓損傷の存在または消散の過程を評価することのような診断方法は、本発明の範囲内である。

【 0 0 1 3 】

本発明の処置方法は、患者を、治療有効量の KIM、KIM 改変体、KIM アナログ、KIM 融合タンパク質、KIM アゴニスト、および KIM または KIM リガンドに対する抗体で処置する工程を包含する。本発明の他の治療化合物は、KIM リガンド、抗 KIM 抗体、および KIM リガンドの融合タンパク質を包含する。これらの化合物は、KIM の機能に依存している細胞性応答を刺激するかまたは阻害するかのいずれかの治療方法において有用であり得る。

20

【 0 0 1 4 】

本発明のさらなる方法は、細胞を、KIM リガンドの融合タンパク質および毒素もしくは放射性核種のいずれかと、または毒素もしくは放射性核種に結合された抗 KIM 抗体と接触させることにより、KIM 発現腫瘍細胞の増殖を阻害する。同様に、KIM リガンドを発現する腫瘍細胞の増殖は、細胞を、KIM の融合タンパク質および毒素もしくは放射性核種のいずれかと、または毒素もしくは放射性核種に結合された抗 KIM リガンド抗体と接触させることにより、阻害され得る。

30

【 0 0 1 5 】

本発明はまた、遺伝子治療の方法を包含する。これらは、腎臓障害を有する被験体を処置する方法、被験体における新たな組織の成長を促進する方法、および被験体における損傷された組織の生存を促進する方法を包含し、被験体に、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 6 のヌクレオチド配列を含む DNA を含むベクターを投与する工程を包含する。

【 0 0 1 6 】

本発明の化合物はまた、インビトロまたはインビボのいずれかで組織を画像化するために有用である。そのような方法の 1 つは、造影可能化合物を、配列番号 3、配列番号 5、または配列番号 7 のタンパク質を発現する細胞に標的化する工程を包含し、これは、細胞を、造影可能化合物に融合された、本発明のモノクローナル抗体または上記のようなタンパク質を含む融合タンパク質のいずれかと接触されることを含む。インビボ方法については、細胞は被験体内にあり、そしてタンパク質またはモノクローナル抗体は、被験体に投与される。

40

【 0 0 1 7 】

本発明はまた、被験体の腎臓細胞における配列番号 1、配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 6 のいずれかの発現のレベルを、コントロール腎臓細胞におけるこの配列の発現のコントロールのレベルと比較する工程を包含する、被験体における腎臓細胞の損傷ま

50

たは再生を同定する方法のような、診断方法を包含する。本発明の別の方法は、細胞をアンチセンスプローブと接触させること、および細胞内のRNAに対するハイブリダイゼーションを測定することを含む、細胞における配列番号1、配列番号2、配列番号4、または配列番号6のアップレギュレーションを同定する工程を包含する。

【0018】

本発明の診断方法のさらなる実施態様は、尿、血清、もしくは他の体液における、または尿沈渣、もしくは組織サンプルにおける本発明の分子の存在または濃度を評価する工程を包含する。測定される損傷関連分子は、病理学的プロセスの存在、程度、または過程に相関させられ得る。この相関はまた、治療レジメの効力を評価するために使用され得る。

【発明を実施するための最良の形態】

10

【0019】

発明の詳細な説明

本発明者らは、呈示差異分析(RDA)を使用して、再生中の腎臓と正常腎臓との間のmRNA発現における差異を分析することにより、KIM遺伝子を同定した。RDAは、反復するサブトラクションおよび増幅により標的組織または細胞特異的cDNAフラグメントを生じる、サブトラクションのためのPCRに基づく方法である。虚血後48時間の成体ラット腎臓RNA由来のcDNA呈示は、正常(疑似手術した)成体ラット腎臓由来のサンプルを用いてサブトラクトされる。この手順において、虚血後腎臓サンプルおよび正常腎臓サンプルの両方に共通する配列は除去され、損傷された腎臓組織においてのみ顕著に発現される配列を残す。そのような遺伝子は、腎臓障害のために治療的に有益であり得るか、または損傷プロセスに関与し得るタンパク質をコードする。いくつかのクローンが得られ、配列決定され、そして特徴付けられた。次いで、クローンは、腎臓修復の間のそれらの発現パターン、発達、および組織分布について、ノーザン分析およびRNAインサイチュハイブリダイゼーションにより研究される。

20

【0020】

配列番号

本明細書中で言及されるヌクレオチドおよびアミノ酸配列には、以下の配列番号が与えられている：

配列番号1 - ラット3-2cDNAインサートのヌクレオチド配列

配列番号2 - ラット1-7cDNAインサートのヌクレオチド配列

30

配列番号3 - ラット3-2および1-7cDNAによりコードされるラットKIM-1のアミノ酸配列

配列番号4 - ラット4-7cDNAインサートのヌクレオチド配列

配列番号5 - 4-7cDNAインサートによりコードされるアミノ酸配列

配列番号6 - ヒトcDNAクローンH13-10-85のヌクレオチド配列

配列番号7 - ヒトcDNAクローンH13-10-85によりコードされるアミノ酸配列。

【0021】

用語の定義

本明細書中で「KIM」と同義的に用いられる「KIMタンパク質」は、腎臓に対する損傷後に選択的にアップレギュレートされるmRNAによりコードされるタンパク質である。目的のKIMタンパク質の1つの群は、腎臓組織に対する損傷を生じる任意の傷害後1週間以内の任意の時点で選択的にアップレギュレートされるmRNAによりコードされるタンパク質を含む。そのようなアップレギュレーションが同定され得る時点の例は、傷害後10時間、24時間、48時間、または96時間を含む。傷害の型の例は、虚血性、毒性、または他の型の損傷を生じる傷害を含む。

40

【0022】

「KIMアゴニスト」は、KIMのKIMリガンドとの相互作用により通常引き起こされる細胞性応答を特異的に引き起こし得る分子である。KIMアゴニストは、KIM改変体、またはKIMに対する特異的抗体、またはKIMリガンドの可溶性形態であり得る。

【0023】

「KIMアンタゴニスト」は、KIMリガンドまたはKIMと特異的に会合し得、それによりKIM

50

リガンドへのKIMの結合をブロックするかまたはそうでなければ阻害する分子である。アンタゴニストの結合は、そうでなければKIMリガンドのKIMまたはKIMアゴニストとの連結により引き起こされる細胞性応答をブロックまたは阻害する。KIMアンタゴニストの例は、特定のKIM改変体、KIM融合タンパク質、およびKIMリガンドまたはKIMに対する特異的抗体を含む。

【0024】

「KIMリガンド」は、KIMタンパク質に非共有結合的に、そして特異的に結合する任意の分子である。そのようなリガンドは、任意の形態の（天然、組換え生産、またはそうでなければ合成を含む）、タンパク質、ペプチド、ステロイド、抗体、アミノ酸誘導体、または他の型の分子であり得る。KIMリガンドは、任意の形態（可溶性、膜結合、または免疫グロブリン、脂肪酸、もしくは他の部分との融合構築物の一部）であり得る。KIMリガンドは、インテグリンであり得る。膜結合KIMリガンドは、KIMに結合または会合される場合に、細胞性応答を引き起こすレセプターとして作用し得る。いくつかの相互作用において、KIMは、1つより多いKIMリガンドと会合し得るか、または1つ以上の他の分子もしくは補因子との複合体の一部としてのKIMリガンドと会合し得る。KIMおよびKIMリガンドの両方が細胞膜に結合されている状況において、KIMは、KIMと同じ細胞に結合しているKIMリガンドと会合および反応し得るか、またはそれは第2の細胞に結合しているKIMリガンドと会合および反応し得る。KIM連結が異なる細胞に結合している分子間で生じる場合、2つの細胞は、細胞型もしくは起源、表現型もしくは代謝条件、または所定の刺激に対する細胞性応答（例えば、増殖、分化、もしくはアポトーシス）の型もしくは程度に関して同一であり得るか、または異なり得る。「KIM連結」は、KIMのKIMリガンドとの接触および結合をいう。

【0025】

「配列のアラインメント」によって、一方の関連する部分の配列の、他方の関連する部分の配列との比較を可能にする、1つの配列（ヌクレオチドまたはアミノ酸のいずれか）の、別の配列との位置決めが意味される。この手順の1つの方法の例は、Needlemanら(J. Mol. Biol. 48:443-453, 1970)において示される。この方法は、Alignプログラム(DNAstar, Inc.)のようなコンピュータプログラムにより都合良く実行され得る。当業者に理解されるように、相同なまたは機能的に等価な配列は、保存されたシステイン骨格内のシステイン残基の機能的に等価な配置を含む。これは、これらのシステインの直線的な配置を変えるが、タンパク質の折り畳み構造におけるそれらの関連を実質的に損なわないアミノ酸の挿入または欠失を含む。それゆえ、候補の配列中の内部ギャップおよびアミノ酸挿入は、候補と参照配列との間のアミノ酸配列相同性または同一性のレベルを算出する目的のために無視される。タンパク質の相同性を確立することにおいて頻繁に使用される1つの特徴は、1つのタンパク質と別のタンパク質との間でのシステイン残基の数および位置の類似性である。

【0026】

「アンチセンスDNA」は、転写される染色体DNAの配列をいう。

【0027】

「アンチセンスプローブ」は、目的の核酸部分に対するアンチセンスDNAの少なくとも一部を含むプローブである。

【0028】

「クローニング」によって、ベクター分子中へ特定の遺伝子または他のDNA配列を挿入するためのインビトロ組換え技術の使用が意味される。所望の遺伝子を首尾良くクローン化するために、DNAフラグメントを生成するための、フラグメントをベクター分子に連結するための、混成DNA分子をそれが複製し得る宿主細胞中に導入するための、および受容体宿主細胞の中から標的遺伝子を有するクローンを選択するための方法を用いることが必要である。

【0029】

「cDNA」によって、RNA依存性DNAポリメラーゼ（逆転写酵素）の作用によりRNAテンプレ

10

20

30

40

50

レートから産生される相補性DNAまたはコピーDNAが意味される。従って、「cDNAクローン」は、クローニングベクター中に有される目的のRNA分子に相補的な二重鎖DNA配列を意味する。

【0030】

「cDNAライブラリー」によって、全体の生物または組織（RNAテンプレートの供給源に依存して）中に存在するmRNA分子の提示と一緒に構成するcDNAインサートを含む組換えDNA分子の収集物が意味される。そのようなcDNAライブラリーは、当業者に公知の方法、および例えば、Maniatisら, MolecularCloning:A Laboratory Manual（前出）に記載される方法により調製され得る。一般に、RNAは、最初にそのゲノムから特定の遺伝子をクローン化することが所望される生物の細胞から単離される。本発明の目的にとって、哺乳動物、そして特にヒトの細胞株が好ましい。あるいは、RNAは動物の腫瘍、そして好ましくはヒト腫瘍由来の腫瘍細胞から単離され得る。従って、ライブラリーは、例えば、ヒト副腎腫瘍から調製され得るが、任意の腫瘍が使用され得る。

10

【0031】

本明細書中で使用される用語「DNA多型性」は、二つ以上の異なるヌクレオチド配列が、DNA中の特定の部位に存在し得る状態をいう。

【0032】

「発現ベクター」は、その中に含まれるDNA配列を発現し得る（即ち、コード配列が、それらの発現をもたらし得る他の配列に作動可能に連結されている）ベクターを含む。常にはっきりと述べられるわけではないが、これらの発現ベクターが、エピソームとしてまたは染色体DNAの組込み部分としてのいずれかで宿主生物中で複製されなければならないことが意味される。効率的な発現ベクターの有用であるが必要ではない要素はマーカーコード配列であり、これは、細胞が容易に同定されることを可能にするタンパク質を含む細胞の表現型特性（例えば、テトラサイクリン耐性）を生じるタンパク質をコードする配列である。つまり、「発現ベクター」は機能的な定義を示し、そして特定される含まれるDNAコードの発現をもたらし得る任意のDNA配列が、それが特定される配列に適用されるように、この用語に含まれる。現在、このようなベクターは、しばしばプラスミドの形態であるので、従って、「プラスミド」および「発現ベクター」はしばしば互換的に使用される。しかし、本発明は、等価の機能に作用し、そして時々当該分野で公知になり得る発現ベクターのその他の形態を含むことが意図される。

20

30

【0033】

「機能性誘導体」によって、分子の「フラグメント」、「改変体」、「アナログ」、または「化学的誘導体」が意味される。分子の「フラグメント」（例えば、本発明の任意の抗原）は、分子の任意のポリペプチドサブセットをいうように意味される。そのような分子の「改変体」は、全体の分子またはそのフラグメントのいずれかに実質的に類似する天然に生じる分子をいうように意味される。分子の「アナログ」は、全体の分子またはそのフラグメントのいずれかに実質的に類似の非天然の分子をいうように意味される。

【0034】

用語「遺伝子」はペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を意味する。

【0035】

「均質」によって、ペプチドまたはDNAの配列をいう場合、考慮される組成物中に存在する実質的に全ての分子の一次分子構造（すなわち、アミノ酸配列またはヌクレオチドの配列）が同一であることが意味される。

40

【0036】

「単離された」は、本発明のタンパク質、またはそのようなタンパク質をコードする任意の遺伝子をいい、これは、それぞれ他のタンパク質もしくは遺伝子を、またはそれとともにそれが通常天然において見出され得る他の混入物を本質的に含まず、そしてそれで天然において見出されない形態で存在する。

【0037】

用語「標識」は、例として、限定ではなく、放射性同位元素、酵素、ルミネセンス物質

50

、および色素を含む、検出可能な分子部分をいう。

【0038】

用語「プローブ」は、標的の抗リガンドに選択的に結合し得る既知の性質のリガンドをいう。核酸に適用される場合、用語「プローブ」は、標的鎖に相補的な塩基配列を有する核酸の鎖をいう。

【0039】

「組換え宿主細胞」は、組換えDNA技術を用いて構築されたベクターで形質転換されている細胞をいう。本明細書中で定義されるように、組換え宿主細胞により産生される抗体またはその改変体は、この形質転換によって、非形質転換宿主により産生されるような、より少ない量、またはより一般的には、検出可能な量より少ない量ではない。

10

【0040】

「実質的に純粋な」によって、本発明の任意のタンパク質、または任意のそのようなタンパク質をコードする任意の遺伝子が意味される。それらは、それぞれ、他のタンパク質もしくは遺伝子、または通常それとともにそれが天然において見出され得る他の混入物を本質的に含まず、そしてそれで天然では見出されない形態で存在する。

【0041】

分子は、両方の分子中のアミノ酸の配列が実質的に同一である場合、そして両方の分子が類似の生物学的活性を有する場合、別の分子に「実質的に類似している」といわれる。従って、2つの分子が類似の活性を有するのであれば、たとえ分子の一方が他方において見出されないさらなるアミノ酸残基を含んでも、またはアミノ酸残基の配列が同一でなくても、それらはその用語が本明細書中で用いられるような改変体であると考えられる。本明細書中で用いられる場合、分子は、通常には分子の一部ではないさらなる化学的部分を含む場合、別の分子の「化学的誘導体」といわれる。そのような部分は、分子の可溶性、吸収、生物学的半減期などを改善し得る。あるいは、この部分は分子の毒性を減少させ得るか、分子の任意の所望でない副作用を除去し得るか、または減弱するなどし得る。このような効果を媒介し得る部分は、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences、第16版、Mack Publishing Co., Easton, Penn. (1980)中に開示される。

20

【0042】

「ベクター」によって、その中にDNAのフラグメントが挿入され得るかまたはクローン化され得るプラスミドまたはバクテリオファージに由来するDNA分子が意味される。ベクターは1つ以上の唯一の(unique)制限部位を含み、そしてクローン化された配列が再生されるように規定された宿主またはビヒクル生物体において自律的な複製が可能であり得る。

30

【0043】

本発明の化合物

本発明は、配列番号1、配列番号2、配列番号4、または配列番号6のcDNA、ならびに配列番号1、配列番号2、配列番号4、または配列番号6の配列を含む配列、およびこれらの配列の誘導体を含む。本発明はまた、ベクター、リボソーム、およびこれらの配列またはこれらの配列の誘導体を含む他のキャリアービヒクルを含む。本発明はさらに、配列番号1、配列番号2、配列番号4、または配列番号6から転写されるタンパク質(配列番号3、配列番号5、または配列番号7を含むがこれらの限定されない)ならびにこれらの誘導体および改変体を含む。

40

【0044】

本発明の1つの実施態様は、通常膜結合型タンパク質として合成され、そして損傷後にアップレギュレートされる、KIMタンパク質の可溶性改変体を含む。可溶性改変体は、天然のKIMタンパク質の膜貫通部分または膜内部分の少なくとも一部を欠く。いくつかの例において、可溶性改変体は、天然のKIMタンパク質の膜貫通部分または膜内部分の全体を欠く。可溶性改変体は、天然のKIMタンパク質の膜貫通部分または膜内部分の少なくとも一部を欠くKIMタンパク質の誘導体を含む融合タンパク質を含む。全ての型のKIM融合タンパク質、特に、hisタグ、Igタグ、およびmycタグ形態の分子を組み込むタンパク質が含ま

50

れる。これらのKIM融合体は、治療的に有利である特徴（例えば、Igタグにより与えられる増加した半減期）を有し得る。KIMタンパク質の選択されたドメインの部分を組み込む融合タンパク質もまた含まれる。

【0045】

改変体は、アミノ酸配列で、もしくは配列が関与しない方法で、またはその両方で天然に生じるKIMタンパク質とは異なり得る。アミノ酸配列における改変体は、天然に生じるKIMタンパク質における1つ以上のアミノ酸が異なる天然のアミノ酸、アミノ酸誘導体、または非天然のアミノ酸で置換される場合、生成される。特に好ましい改変体は、天然に生じるKIMタンパク質、または天然に生じるKIMタンパク質の生物学的に活性なフラグメントを含み、その改変体の配列は、代表的には、タンパク質またはペプチドの2次構造および疎水的性質に対して最小限の影響を有する1つ以上の保存的アミノ酸の置換により野生型配列とは異なる。改変体はまた、KIMタンパク質の生物学的活性を無効にしない、1つ以上の非保存的アミノ酸の置換、欠失、または挿入により異なる配列を有し得る。保存的置換は、代表的には、1つのアミノ酸を同様の特性を有する別のアミノ酸への置換（例えば、以下の群内での置換：バリン、グリシン；グリシン、アラニン；バリン、イソロイシン；アスパラギン酸、グルタミン酸；アスパラギン、グルタミン；セリン、トレオニン；リジン、アルギニン；およびフェニルアラニン、チロシン）を含む。非極性（疎水性）アミノ酸は、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、およびメチオニンを含む。極性中性アミノ酸は、グリシン、セリン、トレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン、およびグルタミンを含む。正に荷電した（塩基性）アミノ酸は、アルギニン、リジン、およびヒスチジンを含む。負に荷電した（酸性）アミノ酸は、アスパラギン酸およびグルタミン酸を含む。

10

20

【0046】

他の保存的置換は、以下の表から引用され得、そしてさらに他はDayhoff, the Atlas of Protein Sequence and Structure(1988)に記載される。

表1：保存的アミノ酸置換

【0047】

【表 1 - 1】

アミノ酸	コード	以下のいずれかでの置換
アラニン	A	D-Ala, Gly, β -Ala, L-Cys, D-Cys
アルギニン	R	D-Arg, Lys, ホモ-Arg, D-ホモ-Arg, Met, D-Met, Ile, D-Ile, Orn, D-Orn
アスパラギン	N	D-Asn, Asp, D-Asp, Glu, D-Glu, Gln, D-Gln
アスパラギン酸	D	D-Asp, D-Asn, Asn, Glu, D-Glu, Gln, D-Gln
システイン	C	D-Cys, S-Me-Cys, Met, D-Met, Thr, D-Thr
グルタミン	Q	D-Gln, Asn, D-Asn, Glu, D-Glu, Asp, D-Asp
グルタミン酸	E	D-Glu, D-Asp, Asp, Asn, D-Asn, Gln, D-Gln
グリシン	G	Ala, D-Ala, Pro, D-Pro, β -Ala, Acp
イソロイシン	I	D-Ile, Val, D-Val, Leu, D-Leu, Met, D-Met
ロイシン	L	D-Leu, Val, D-Val, Met, D-Met
リジン	K	D-Lys, Arg, D-Arg, ホモ-Arg, D-ホモ-Arg, Met, D-Met, Ile, D-Ile, Orn, D-Orn
メチオニン	M	D-Met, S-Me-Cys, Ile, D-Ile, Leu, D-Leu, Val, D-Val, Norleu
フェニルアラニン	F	D-Phe, Tyr, D-Thr, L-Dopa, His, D-His, Trp, D-Trp, トランス 3,4 または 5-フェニルプロリン シス 3,4 または 5 フェニルプロリン

10

20

30

【 0 0 4 8 】

【表 1 - 2】

プロリン	P	D-Pro, L-1-チオアソリジン-4-カルボン酸, D-またはL-1-オキサソリジン-4-カルボン酸
セリン	S	D-Ser, Thr, D-Thr, アロ-Thr, Met, D-Met, Met(O), D-Met(O), Val, D-Val
トレオニン	T	D-Thr, Ser, D-Ser, アロ-Thr, Met, D-Met, Met(O), D-Met(O), Val, D-Val
チロシン	Y	D-Tyr, Phe, D-Phe, L-Dopa, His, D-His
バリン	V	D-Val, Leu, D-Leu, Ile, D-Ile, Met, D-Met

本発明内の他の改変体は、ペプチドの安定性を増大する改変を有する改変体である。そのような改変体は、例えば、ペプチド配列内に1つ以上の非ペプチド結合（ペプチド結合を置換する）を含み得る。さらに以下のものが挙げられる：天然に生じるL-アミノ酸以外の残基（（例えば、D-アミノ酸または天然に生じないかもしくはは合成アミノ酸（例えば、βまたはγアミノ酸および環状改変体））を含む改変体。ポリペプチド内へのL-アミノ酸の代わりのD-アミノ酸の取り込みは、プロテアーゼへのその耐性を増加し得る。例えば、米国特許第5,219,990号を参照のこと。

【0049】

一般的に、KIMポリペプチドの機能的特性に変化を誘導すると予想され得る置換は、以下のものである：(i)親水性残基（例えば、セリンまたはトレオニン）は、疎水性残基（例えば、ロイシン、イソロイシン、フェニルアラニン、またはアラニン）により置換される；(ii)システイン残基は、任意の他の残基へ（またはその残基によって）置換される；(iii)正に帯電した側鎖を有する残基（例えば、リジン、アルギニン、またはヒスチジン）は、負に帯電した電荷を有する残基（例えば、グルタミン酸またはアスパラギン酸）へ（またはその残基によって）置換される；または(iv)かさ高い側鎖を有する残基（例えば、フェニルアラニン）は、そのような側鎖を有さない（例えば、グリシン）残基へ（またはその残基によって）置換される。

【0050】

本発明のペプチドもまた、挿入、欠失、および置換のような種々の変化（このような変化が、それらの使用において特定の利点を提供し得る保存的かまたは非保存的かのいずれか）により改変され得る。スプライス改変体は特に本発明に含まれる。

【0051】

他の実施態様において、より保存的でないアミノ酸置換を有する改変体もまた、所望の誘導体を（例えば、電荷、立体構造、および他の生物学的特性における変化を生じることによって）生じ得る。このような置換は、例えば、親水性残基の疎水性残基への置換、システインもしくはプロリンの別の残基への置換、小さな側鎖を有する残基のかさ高い側鎖を有する残基への置換、または正味の正電荷を有する残基の正味の負電荷を有する残基への置換を含む。所定の置換の結果が確信を持って予測され得ない場合、誘導体は、所望の特徴の存在または非存在を決定するために本明細書中に開示される方法に従って容易にアッセイされ得る。

【0052】

本発明の範囲内の改変体は、KIMタンパク質に少なくとも80%の相同性を有するアミノ酸配列を有するタンパク質およびペプチドを含む。より好ましくは、配列相同性は、少なくとも90%、または少なくとも95%である。相同性を決定する目的のために、配列比較の

長さは、一般には、少なくとも8アミノ酸残基であり、通常には、少なくとも20アミノ酸残基である。本発明の化合物の改変体はまた、1)本発明のKIMタンパク質と少なくとも40%相同なアミノ酸配列を有し、そしてまた2)KIM配列(図5中に、ヒトおよびラットのKIM-1について示される)の最適なアラインメントで配置された後、本発明のKIMタンパク質内のシステインと整列したそのシステイン残基の少なくとも80%を有する、任意のタンパク質も含む。

【0053】

まさに、骨格の置換基を置換することが可能であるので、同様の特色により特徴付けられる基を有する骨格に結合される官能基の置換もまた可能である。これらの置換は、まず保存的である(すなわち、置換基は元の基とほぼ同じサイズ、形、疎水性および電荷を有する)。非配列改変は、例えば、インビボまたはインビトロでの天然に生じるKIMタンパク質の一部の化学的誘導体化、ならびにアセチル化、メチル化、リン酸化、カルボキシル化またはグリコシル化における変化を含み得る。

10

【0054】

本発明のタンパク質、またはそのタンパク質のフラグメント(配列番号3、5、または7)に特異的に結合する因子もまた本発明内に含まれる。これらの因子は、リガンドおよび抗体(天然の、ヒトの、ヒト化された、霊長類化された(primatized)、またはキメラのいずれかであろうと、モノクローナル、単鎖、二本鎖、Fabフラグメントなどを含む)を含む。これらのカテゴリーの因子のさらなる説明は、PCT出願95/16709にあり、その明細書は、本明細書中に参考として援用される。

20

【0055】

実験手順

1. 虚血性および正常なラット成体腎臓からのRNAの作製

虚血損傷ラット腎臓を、Witzgallら(J. Clin Invest. 93:2175-2188, 1994)に記載のように作製する。手短には、成体Sprague-Dawleyラットの1つの腎臓からの腎動脈および腎静脈を40分間締め付け、次いで再灌流する。損傷した腎臓を再灌流後24時間および48時間でラットから採取する。偽手術した正常成体Sprague-Dawleyラットからの腎臓もまた採取する。

【0056】

総RNAを、Glisinら(Biochemistry 13:2633, 1974)によるプロトコルに基づいて器官から調製する。手短には、採取した器官を直ちにGNC緩衝液(4Mチオシアン酸グアニジン、0.5%SDS、25mMクエン酸ナトリウム、0.1%Sigma消泡剤)中に入れ、そしてポリトロムを用いて氷上で破壊する。細胞破片を、臨床的遠心分離機における低速遠心で除去し、そして上清液を5.7M CsCl、25mM酢酸ナトリウム、1mM EDTAのクッション上に載せる。RNAを、SW40Tiローターにおいて22Kで15時間、クッションを通してペレット化させる。RNAを滅菌DEPC処理水中に再懸濁し、1/10容量の3M酢酸ナトリウムおよび2.5容量のEtOHで2回沈澱させる。ポリA+RNAを、mRNA精製キット(Pharmacia, カタログ番号27-9258-02)を用いて単離する。

30

【0057】

2. 1-7、3-2、および4-7提示差違分析(RDA)フラグメントを単離するためのRDA方法

二本鎖cDNAを、偽手術した腎臓、および虚血後48時間の腎臓のポリA+RNAから、Gibco BRL「Superscript Choice™ System cDNA Synthesis Kit」、カタログ番号18090を用いて合成する。第1鎖を、オリゴdTでプライムし、そしてSuperscript II™逆転写酵素を用いることにより合成する。第2鎖を、E. coli DNAポリメラーゼIおよびRNase H、続いてT4 DNAポリメラーゼを用いてBRLの推奨する条件を用いて作製する。

40

【0058】

RDA分析を、基本的にHubankおよびSchatz(Nucleic Acid Research 22:5640-48, 1994)により記載されたように実施する。手短には、虚血後48時間の腎臓cDNAを、制限酵素DpnIIで消化し、そしてR-Bgl-12/24オリゴヌクレオチドに連結する(正確な配列については文献を参照のこと)。リンカー連結cDNAのPCR増幅物(Perkin-ElmerTaqポリメラーゼおよ

50

びそれらに対応するPCR緩衝液を用いて実施する)を用いて、最初の提示物を作製する。このPCR産物を、「テスターアンプリコン」と称する。同じ手順を用いて偽手術ラット腎臓cDNAから「ドライバーアンプリコン」を作製する。

【0059】

テスターアンプリコンおよびドライバーアンプリコンのハイブリダイゼーション、それに続く選択的増幅を3回実施して、ディファレンシャル産物1(DP1)、2(DP2)、および3(DP3)を作製する。DP1産物の作製を、HubankおよびSchatz(Nucleic Acid Research 22:5640-48, 1994)により記載されたように実施する。DP2産物およびDP3産物もまた、ドライバー:テスター比がDP2については5,333:1に、そしてDP3については40,000:1または4,000:1に変更される以外は、HubankおよびSchatz(同書)に記載されたように作製する。

10

【0060】

3つのRDA産物を、DP3からクローニングベクターpUC18へクローン化する:40,000:1の比を用いてDP3を作製する場合、RDA産物1-7(252bp)、そして4,000:1の比を用いてDP3を作製する場合、産物RDA3-2(445bp)および4-7(483bp)。DNAフラグメントを、Pharmacia SurecloneTMキット(カタログ番号27-9300-01)を用いてサブクローン化し、PCRフラグメントの末端をKlenow酵素を用いて修復し、そしてpUC18ベクター中へのフラグメントの平滑末端連結を容易にする。

【0061】

3. ノーザン分析

ラット正常成体腎臓(疑似手術)から、虚血損傷後48時間の成体腎臓から、および18日目の胎児腎臓からのポリA+RNA(2.5 µg)を電気泳動し、そしてGeneScreenTMメンブレン(Dupont)にノーザンブロット(Cate, Cell 145:685, 1986)する。10%の硫酸デキストランおよび100 µg/mlのtRNAを含む、PSB緩衝液(50mM Tris 7.5, 1M NaCl, 0.1%ピロリン酸Na, 0.2%PVP, 0.2%Ficoll, 0.2%BSA, 1%SDS)中のハイブリダイゼーションを、3つの異なるプローブ:1-7RDA産物、3-2RDA産物および4-7RDA産物、を用いて65℃で行った。すべての産物は、Pharmaciaの「Readyto GoTM」ランダムプライミングラベリングキット(カタログ番号27-9521-01)を用いて放射能標識する。RDA産物1-7、3-2および4-7は、すべての3つのサンプル中に存在するmRNAにハイブリダイズするが、虚血後48時間の腎臓RNAサンプル中のmRNAに最も強くハイブリダイズする。

20

30

【0062】

成体ラット組織のノーザンブロット分析は、1-7遺伝子が、正常な成体腎臓、精巣、脾臓および肺では、非常に低レベルで発現されることを示す。3-2遺伝子は、肝臓、腎臓、脾臓、および脳で発現される。4-7遺伝子は、脾臓、腎臓、肺、精巣、心臓、脳、肝臓、および骨格筋で発現される。1-7および3-2ブロットにおけるいくつかの組織中の異なるサイズのmRNAの存在は、1-7遺伝子および3-2遺伝子の主要な転写産物が、オルターネートスプライシングおよび/またはポリアデニル化を行い得ることを示す。

【0063】

4. 3-2および4-7cDNAクローンの単離

虚血損傷後48時間の腎臓由来の4 µgのポリA+RNAから、cDNA合成用のBRL Superscript ChoiceTM System、およびStratageneTM、Lambda Zap IIクローニングキット(カタログ番号236201)からの試薬を用い、製造業者により推奨されたプロトコルに従って、cDNAライブラリーを生成する。

40

【0064】

10⁵のクローンを、プローブとして3-2RDA産物(上記のようにランダムプライムラベルされる)を用いてスクリーニングする。8つのポジティブなクローンを選択し、そして4つを第2の分析用にランダムに選択し純粋ファージブランクを得る。三次スクリーニングの後、4つの純粋ファージクローンを単離する。ファージからのクローン化インサートを、StratageneTM、Lambda Zap IIキットに従ったインビボ切除手順により単離する。約2.6kbの最も大きいインサート(cDNAクローン3-2と呼ばれる)を、DNA配列決定に供する。インサー

50

ト(配列番号1)の配列を図1に示す。cDNAクローン3-2(E.coli K-12、SOLR/p3-2#5-1)をATCC No.98061として寄託した。cDNAクローン3-2の配列は、配列番号1のヌクレオチド136~605が挿入を示すことを除いて、クローン1-7cDNA(配列番号2)の配列と同じである。従って、配列番号2は、配列番号1のスプライス改変体を示す。1-7に対するクローン1-7(E.coli K-12、SOLR/p1-7#3-1)をATCC No.98060として寄託した。

【0065】

10⁵のクローンを、プローブとして1-7RDA産物(上記のようにランダムプライム放射ラベルされる)を用いてスクリーニングする。8つのポジティブなクローンを選択し、そして4つを第2の分析用にランダムに選択し純粋ファージブランクを得る。三次スクリーニングの後、4つの純粋ファージクローンを単離する。ファージからのクローン化インサートを、StratageneTM、LambdaZapIIキットに従ったインビボ切除手順により単離する。約2.0 kbの最も大きいインサート(cDNAクローン1-7と呼ばれる)を、DNA配列決定に供する；インサート(配列番号2)の配列を図2に示す。

【0066】

10⁵のクローンを、プローブとして4-7RDA産物(上記のようにランダムプライムラベルし、そして65 でPSB中でハイブリダイズした)を用いてスクリーニングする。8つのポジティブなクローンを選択し、そして4つを第2の分析用にランダムに選択し純粋ファージブランクを得る。二次スクリーニングの後、2つの純粋ファージクローンを単離する。ファージからのクローン化インサートを、StratageneTM、LambdaZapIIキットに従ったインビボ切除手順により単離する。約2.4kbの最も大きいインサート(cDNAクローン4-7と呼ばれる)を、DNA配列決定に供する；インサートの配列、配列番号4の配列を図3に示す。cDNAクローン4-7(E.coli K-12、SOLR/p4-7#1-1)をATCC No.98062として寄託した。

【0067】

5. 1-7、3-2および4-7cDNAクローンの特徴付け

A.) DNA配列およびタンパク質配列：

3-2cDNAの配列(図1；配列番号1)は、307アミノ酸のオープンリーディングフレームを含む(図1；配列番号3)。21アミノ酸のシグナル配列が、VonHeijne分析(Von Heijneら、Nucl. Acid Res.14:14683(1986))から推断され、そして約aa235~257に広がる膜貫通領域は、細胞表面タンパク質である3-2産物を示す。

【0068】

1-7cDNAの配列(図2；配列番号2)は、3-2cDNA(配列番号3)中に含まれるオープンリーディングフレームと同一である、307アミノ酸のオープンリーディングフレームを含む(配列番号3)。4-7cDNAの配列(図3；配列番号4)は、572アミノ酸のオープンリーディングフレームを含む(配列番号5)。膜貫通領域は、約アミノ酸501~521に位置する。

【0069】

B.) 対側のそして虚血後の成体ラット腎臓における1-7、3-2および4-7mRNAのインサイチュ分析：

インサイチュハイブリダイゼーションを、Finchら、Dev. Dynamics203:223~240、1995により記載される方法に従って実施する。要約すれば、虚血および対側の腎臓の両方を、PBS中の4%パラホルムアルデヒドで灌流固定する。腎臓をさらに4 で一晩固定し、そして処理する。パラフィン切片を脱パラフィンおよび再水和し、PBS中の4%パラホルムアルデヒドで固定し、プロテイナーゼKで消化し、再固定し、次いでトリエタノールアミン緩衝液中の無水酢酸でアセチル化する。次いで、切片を脱水し、そして³²P標識リボプローブと55 で一晩ハイブリダイズする。33P標識リボプローブは、pGEM-11ZのBamHI部位中にサブクローン化した3-2RDA産物または1-7RDA産物から生成する。ハイブリダイゼーションの後、切片を高ストリンジェンシー条件下(2×SSC、65 で50%ホルムアミド)で洗浄した。切片を最後に脱水し、オートラジオグラフィ用エマルジョン(NBT-2)コートし、そして少なくとも1週間感光した。銀粒子を展開し、そして切片をトルイジンブルーで対比染色し、そして顕微鏡撮影する。

【0070】

インサイチュハイブリダイゼーションによる1-7および3-2mRNA発現の分析は、これらの遺伝子が、正常腎臓切片中のそれらの発現と比較して、損傷腎臓細胞で大きくアップレギュレートされることを示す。観察される発現は、皮質および外部髄質の再生細胞中にあり、その大部分は、基部細管細胞であるように見える。

【0071】

4-7インサイチュRNA発現パターンの分析はまた、正常成体腎臓と比較して損傷虚血腎臓中でこの遺伝子の豊富な発現を示す。発現の部位は、浸潤細胞であるように見える。

【0072】

6.) ラット3-2cDNAに交差ハイブリダイズするヒトcDNAクローンの単離

図1に示されるクローン3-2のインサートのヌクレオチド546~969を含む³²P標識DNAを生成し、そしてヒト胎児肝臓λgt10cDNAライブラリー(Clontechカタログ#HL5003a)をスクリーニングするために用いる。1×10⁶のブラークを、上記の標準的条件を用い、ただしスクリーニング温度は55℃で2回スクリーニングする。高ストリンジェンシー洗浄のために、フィルターを2×SSC中55℃で洗浄する。50のポジティブファージを同定し、そしてブラーク精製し、そしてDNAを調製する。ファージDNAを、上記と同じプローブを用いてサザン分析に供する。サザンプロットフィルターを、0.5×SSC、55℃で最終洗浄に供する。2つのクローンがポジティブとして同定される。クローンH13-10-85のインサートを配列決定し、そして図3に示される3-2タンパク質に高いレベルの同一性を備えたタンパク質をコードする領域が見出される。

【0073】

ヒト3-2関連タンパク質のヌクレオチド配列(配列番号6)および推定アミノ酸配列(配列番号7)を図4に示す。図5に示される最も適合する分析により示されるように、ヒト3-2関連タンパク質は、ラット3-2タンパク質に対して43.8%同一および59.1%類似である。両者は、IgG、ムチン、膜貫通、および細胞質ドメインを含む。両タンパク質のIgGドメイン内の6つのシステインが保存されている。

【0074】

7) KIM-1 Ig融合タンパク質の産生

KIMの細胞外ドメインおよび免疫グロブリン(Ig)のFc領域の融合タンパク質は、損傷/再生腎臓の分子および細胞生物学の研究用、および治療分子として有用なツールである。ヒトおよびラットKIM-1タンパク質の細胞外ドメインとのKimIg融合タンパク質を産生するために、KIM-1 cDNAの細胞外ドメインのフラグメントを、PCRにより増幅し、そしてCOS細胞における一過性発現のためにBiogen発現ベクターpCA125中にクローン化した。発現ベクターpCA125は、N末端でクローン化した遺伝子およびC末端でヒトIgFc領域由来の構造を有する融合タンパク質を産生する。COS細胞を、プラスミドSJR103または104でトランスフェクトした；

これらのプラスミドは、ヒトIg Fc領域に融合した細胞外ドメインのヒトKIM配列263~1147(配列番号6；SJR103)またはラットKIM配列599~1319(配列番号1；SJR104)を含む融合タンパク質を発現する。細胞を、細胞ファクトリー(Nunc, Naperville, IL)中のDMEM中10%FBS中で増殖させた。感染の2~3日後、培地を回収し、Amicon濃縮器を用いて濃縮し、そしてProtein-A Sepharoseカラムを用いて融合タンパク質を精製した。精製後、融合タンパク質の純度をSDS-PAGEにより評価した。

【0075】

本発明の化合物の診断用途

配列番号3、配列番号5または配列番号7のタンパク質またはそのフラグメントに特異的に結合する本発明の抗KIM抗体は、いくつかの診断方法において有用である。これらの因子(agent)は、X線透視法によりまたは放射線撮影で不透過性の物質のような、検出マーカーで標識され得、そして被験体に投与され、KIMタンパク質を発現する組織の造影を可能にし得る。因子はまた、西洋ワサビペルオキシダーゼのような、組織学切片上のKIMタンパク質ポジティブ細胞の領域の可視化を可能にする免疫細胞化学的染色として用いられ得る基質に結合され得る。特異的抗体は、このように、単独で使用され得、そしてそれ

が結合する部位は、それ自身が検出マーカーに結合する抗免疫グロブリン抗体を用いるサンドイッチアッセイで可視化され得る。

【0076】

KIMタンパク質に特異的な抗体はまた、身体組織および体液サンプル中のKIMの存在またはその濃度を測定するためのイムノアッセイで有用である。このような濃度は、異なる疾患状態と相関し得る。特定の目的の実施態様として、本発明は、患者の尿、血漿または血清中のKIMまたはKIMフラグメントの濃度を測定することにより、腎臓損傷を診断する、または腎臓修復のプロセスを監視する方法を含む。同様に、KIMは、尿沈渣中、特に尿沈渣中の細胞残渣中で測定され得る。腎臓細管細胞の円柱は、腎臓疾患が進行中の患者からの尿沈渣中に存在し得、KIMタンパク質およびmRNAの増加したレベルを含み得る。

10

【0077】

KIMタンパク質に特異的な抗体はまた、ビーズまたはディッシュのような固体支持体に結合され、そして測定のため、精製およびタンパク質またはその特質（翻訳後の改変など）の特徴付けのためのいずれかに、溶液からリガンドを取り除くために用いられ得る。患者のKIMタンパク質のこのような特徴付けは、KIM機能を妨害し、そして異常な患者表現型をとまなう有害な変異体またはプロセッシング欠陥の同定に有用であり得る。これら技法の各々は、免疫学の分野の当業者にはルーチンに行われている。

【0078】

さらなる造影方法は、KIMリガンドを発現する組織、特に腫瘍の診断造影のために、造影可能な部分に融合されたKIMまたはKIMフラグメントを利用する。

20

【0079】

さらなる診断技法は、損傷関連プロセスの指標として、組織中のアップレギュレートされたKIMmRNAの実証に基く。この技法が試験され、そして以下のように、ラットにおける虚血損傷のモデル中で行い得ることが見出された。

【0080】

損傷後、KIM-1タンパク質の量が増加するか否かを測定するために、本発明者らは、各ラットの1つの腎臓の腎臓動脈および静脈を40分クランプで遮断した24時間後および48時間後に、対側および虚血後の腎臓のホモジネートを調べた。腎臓ホモジネートを、KIM-1タンパク質の存在について評価した。ウェスタンブロット分析は、虚血損傷後、2つの異なる抗体により検出される3つのタンパク質を同定し、これらは、虚血損傷に曝されなかった対側の腎臓からのホモジネート中には検出されない。バンドの見かけの分子量は、約40kDa、50kDaおよび70~80kDaである。ウェスタンブロッティングにより検出される、この3つのタンパク質種は、潜在的なNおよびO連結グリコシル化部位があるとして、同一タンパク質のグリコシル化形態を示し得る。これらのタンパク質の各々が、ポリクローナル抗体の2つの異なるセットと反応する事実は、それらがKIM-1と関連し、そして交差反応するバンドではないという考えを支持する。この予測の確認は、それらが共通のCNBr切断フラグメントを共有していたことを示した3つのタンパク質のCNBr部分切断の結果から得られた。KIM-1タンパク質の細胞質ドメインは、任意の主要な翻訳後改変を含むことは予測されないで、KIM-1の細胞質ドメインに対して惹起された抗体で検出された、消化物の2つの最小の産物(4.7kDaおよび7.4kDa)は、それらが同じタンパク質に由来する場合、3つの異なるKIM-1タンパク質バンドについて同じサイズであるべきである。本発明者らは、KIM140kDaおよび70~80kDaタンパク質が、予測されたサイズで移動するフラグメントを生じることを観察した。50kDaタンパク質バンドの消化物もまた、同じC末端特徴バンドペプチドを与えた。

30

40

【0081】

KIM-1配列は、2つの推定のNグリコシル化部位およびOグリコシル化部位がポリペプチド鎖をカバーするムチンドメインを示す。虚血後の腎臓中に検出された3つのKIM-1バンドは、同じコアタンパク質のグリコシル化改変体に対応し得る。PNGアーゼFを用いた脱Nグリコシル化は、すべての3つのバンドの、約3kDaの損失に対応する低分子量へのシフトを生じ、3つのタンパク質のすべてがNグリコシル化されることを示した。Oグリ

50

コシル化の違いは、これら 3 つのバンドのサイズにおける差を説明し得る。

【 0 0 8 2 】

本発明の化合物の治療的使用

本発明の治療方法は、KIM連結に依存する細胞性応答を選択的に促進するまたは阻害することを含む。KIMおよびKIMリガンドが共に膜結合であり、そして異なる細胞により発現される場合、シグナル伝達は、KIM発現細胞、KIMリガンド発現細胞、またはその両方で起こり得る。

【 0 0 8 3 】

KIMリガンド発現細胞中のKIM連結により引き起こされる応答は、細胞を、外因性KIM、KIM融合タンパク質、またはKIMリガンドに対する活性化抗体と、インビトロまたはインビボのいずれかで接触させることにより生成され得る。さらに、そうでなければ内因性KIMにより引き起こされるKIMリガンド発現細胞の応答は、KIMリガンド発現細胞をKIMリガンドアンタゴニスト（例えば、KIMリガンドに結合するアンタゴニスト抗体）と接触させることにより、または内因性KIMを抗KIM抗体もしくは他の、KIMの、KIMリガンドとの有効な連結を妨げるKIM結合分子と接触させることによりブロックされ得る。

10

【 0 0 8 4 】

同様に、KIM発現細胞中のKIM連結により引き起こされる応答は、外因性化合物を用いて促進され得るか、または阻害され得る。例えば、KIM発現細胞中のKIM連結により引き起こされる応答は、細胞を可溶性KIMリガンド、または特定の抗KIM活性化抗体と接触させることにより、生成され得る。さらに、そうでなければ、内因性KIMリガンドとの相互作用により引き起こされるKIM発現細胞の応答は、KIM発現細胞を、KIMに対するアンタゴニスト（例えば、有効な、シグナルを生成するKIM連結を妨げる様式でKIMに結合するブロッキング抗体）と接触させることにより、または内因性KIMリガンドを、抗KIMリガンド抗体もしくは他の、KIMの、KIMリガンドとの有効な連結を妨げるKIMリガンド結合分子と接触させることにより、ブロックされ得る。

20

【 0 0 8 5 】

上記の介入のいずれが特定の治療的使用のために有用であるかは、医学の当業者に明らかであるように、阻害されるべき病理学的プロセスまたは促進されるべき医学的に所望されるプロセスのいずれかの、関連する病因学的機構に依存する。例えば、KIM連結が、所望の細胞性増殖、分化した表現型の維持、種々の傷害により誘導されるアポトーシスに対する耐性、または他の医学的に有利な応答を生じる場合、連結により引き起こされる応答を促進する上記介入の 1 つが使用され得る。代替において、KIM連結が、新形成性増殖、細胞性機能の有害な欠失、アポトーシスに対する感受性、または炎症性事象の促進のような所望でない結果を引き起こす場合、阻害的介入の 1 つが、有用であり得る。

30

【 0 0 8 6 】

以下は、本発明の以前に記載した治療方法の例である。本発明のKIM関連化合物の治療的使用の 1 つは、腎臓疾患を有する被験体の処置、被験体における新たな組織の増殖の促進、または被験体における損傷した組織の生存の促進のためであり、そして治療有効量の本発明のKIMタンパク質、または本発明のタンパク質を含む薬学的組成物を被験体に投与する工程を含む。これらの方法において使用されるタンパク質は、全長KIMタンパク質のフラグメント、可溶性KIMリガンドタンパク質もしくは融合フラグメント、またはKIMアゴニストであり得る。これらの方法はまた、治療有効量の本発明のアゴニスト抗体、または本発明のアゴニスト抗体を含む薬学的組成物を被験体に投与することにより実施され得る。KIMタンパク質は、医学的に所望させる補助的効果を発揮する第 2 の化合物の治療有効量と共に、同時に投与され得る。これらの方法のための目的の組織は任意の組織を含み得るが、好ましい組織は、腎臓組織、肝臓、神経組織、心臓、胃、小腸、脊髄、または肺を含む。本発明の化合物で有益に処置され得る特定の腎臓状態は、急性腎不全、急性腎炎、慢性腎不全、ネフローゼ症候群、腎尿細管欠損症、腎臓移植、毒性損傷、低酸素性損傷、および外傷を含む。腎尿細管欠損症は、多嚢胞性腎疾患、腎髄質嚢胞病、および髄質海綿腎のような、遺伝性または後天性特性のいずれかの欠損症を含む。このリストは限定され

40

50

ず、そして多くの他の腎障害を含み得る（例えば、参考として本明細書中に援用されるHarrison's Principles of Internal Medicine, 第13版, 1994を参照のこと）。この方法の被験体はヒトであり得る。

【0087】

被験体における所望でないKIMリガンド発現組織の増殖を阻害するための治療的介入は、KIMアンタゴニスト（例えば、KIMリガンドに結合するアンタゴニスト抗体）の治療的有効量を被験体に投与する工程を含むか、または、KIMのKIMリガンド発現組織への結合をブロックする抗KIM抗体もしくは他のKIM結合分子の治療有効量を投与することによる。目的の実施態様において、KIMアンタゴニストまたは抗KIM抗体は、増殖のためにKIMタンパク質に依存する腫瘍の増殖を阻害またはブロックするために治療的に使用され得る。

10

【0088】

本発明の他の方法は、細胞を、KIMおよび毒素もしくは放射性核種の融合タンパク質と、または毒素もしくは放射性核種に結合された抗KIMリガンド抗体と接触させることにより、KIMリガンド発現腫瘍細胞を死滅させるか、またはそれらの増殖を阻害することを含む。細胞は被験体内であり得、そしてタンパク質または結合された抗体は被験体に投与される。

【0089】

毒素または放射性核種をKIMを発現している細胞に標的化するための方法もまた本発明の範囲内である。この方法は、細胞を、KIMリガンドおよび毒素または放射性核種を含む融合タンパク質、または毒素もしくは放射性核種に結合された抗KIM抗体と接触させることを含む。別の実施態様は、KIMを発現する腫瘍細胞の増殖を抑制する方法を包含し、この方法は、細胞を、KIMリガンドおよび毒素もしくは放射性核種の融合タンパク質、または毒素もしくは放射性核種に結合された抗KIM抗体と接触させることを含み；細胞は被験体内であり得、そしてタンパク質は被験体に投与される。

20

【0090】

本明細書中で用いられる用語「被験体」は、KIMが投与され得る任意の哺乳動物を意味するとされる。本発明の方法を用いる処置について特に意図される被験体は、ヒト、ならびに非ヒト霊長類、ヒツジ、ウマ、ウシ、ヤギ、ブタ、イヌ、ネコ、ウサギ、モルモット、ハムスター、スナネズミ、ラット、およびマウス、ならびに、これらの宿主に由来するかまたはこれらを起源とする器官、腫瘍、および細胞を含む。

30

【0091】

遺伝子治療における本発明の化合物の使用

本発明のKIM遺伝子は、傷害組織または刺激された増殖が所望される組織へ導入される。このような遺伝子治療は、トランスフェクトされた細胞によるKIMタンパク質の産生を刺激し、KIMタンパク質を発現する細胞の増殖および/または細胞の生存を促進する。

【0092】

遺伝子治療方法の特定の実施態様において、KIMタンパク質をコードする遺伝子は、腎臓標的組織に導入され得る。KIMタンパク質は安定して発現され、そして組織の増殖、分裂、もしくは分化を刺激し、または細胞生存を増強し得る。さらに、KIM遺伝子は、ウイルスまたは非ウイルスベースの戦略のいずれかを使用する、種々の周知の方法を使用して標的細胞に導入され得る。

40

【0093】

非ウイルス方法は、エレクトロポレーション、リボソームを用いる膜融合、DNAコート微粒子銃での高速ボンバードメント、リン酸カルシウム-DNA沈降物とのインキュベーション、DEAEデキストラン媒介トランスフェクション、および単一細胞への直接マイクロインジェクションを含む。例えば、KIM遺伝子は、リン酸カルシウム共沈澱により細胞に導入され得る（Pillicerら、Science、209:1414-1422(1980)）；機械的マイクロインジェクションおよび/または粒子加速（Andersonら、Proc.Natl.Acad.Sci.USA、77:5399-5403(1980)）；リボソームベースのDNA移入（例えば、LIPOFECTIN媒介トランスフェクション - Fegnerら、Proc.Natl.Acad.Sci.,USA、84:471-477,1987;GaoおよびHuang、Biochim.Biophys

50

. Res. Comm., 179:280-285,1991); DEAEデキストラン媒介トランスフェクション; エレクトロポレーション (米国特許第4,956,288号); またはDNAを結合してDNAを優先的に肝細胞に送達させるポリリジンベースの方法 (Wolffら、Science、247:465-468,1990; Curielら、Human Gene Therapy 3:147-154,1992)。

【0094】

標的細胞は、直接的な遺伝子移入により、本発明の遺伝子でトランスフェクトされ得る。例えば、Wolffら、「Direct Gene Transfer Into Mouse Muscle In Vivo」, Science 247:1465-68,1990を参照のこと。多くの場合、ベクター媒介のトランスフェクションが所望される。ベクターへのポリヌクレオチド配列の挿入のための、当該分野で公知の任意の方法が使用され得る。(例えば、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1989) および Ausubelら、Current Protocols in Molecular Biology, J. Wiley & Sons, NY (1992) (これらの両方は、本明細書中に参考として援用される) を参照のこと。) プロモーター活性化は、組織特異的であり得るか、または代謝産物もしくは投与された物質により誘導され得る。このようなプロモーター/エンハンサーは、ネイティブのc-retリガンドタンパク質プロモーター、サイトメガロウイルス前初期プロモーター/エンハンサー (Karasuyamaら、J. Exp. Med., 169:13(1989)); ヒトβアクチンプロモーター (Gunningら、Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 84:4831(1987)); マウス乳房腫瘍ウイルス長末端反復 (MMTVLTR) 中に存在するグルココルチコイド誘導性プロモーター (Klessigら、Mol. Cell. Biol., 4:1354(1984)); モロニー Maus 白血病ウイルスの長末端反復配列 (MuLV LTR) (Weissら、RNA Tumor Viruses, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1985)); SV40初期領域プロモーター (Bernoist および Chambon, Nature, 290:304(1981)); ラウス肉腫ウイルス (RSV) のプロモーター (Yamamotoら、Cell, 22:787(1980)); 単純ヘルペスウイルス (HSV) チミジンキナーゼプロモーター (Wagnerら、Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 78:1441(1981)); アデノウイルスプロモーター (Yamadaら、Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 82:3567(1985)) を含むが、これらに限定されない。

【0095】

KIM遺伝子はまた、現在十分に確立されている遺伝子移入系における使用のための特定のウイルスベクターにより導入され得る。例えば、Madzakら、J. Gen. Virol., 73:1533-36、1992 (パポバウイルスSV40); Berknerら、Curr. Top. Microbiol. Immunol., 158:39-61、1992 (アデノウイルス); Hofmannら、Proc. Natl. Acad. Sci. 92:10099-10103、1995 (バキュロウイルス); Mossら、Curr. Top. Microbiol. Immunol., 158:25-38、1992 (ワクシニアウイルス); Muzyczka, Curr. Top. Microbiol. Immunol., 158:97-123、1992 (アデノ随伴ウイルス); Margulskes, Curr. Top. Microbiol. Immunol., 158:67-93、1992 (単純ヘルペスウイルス (HSV) およびエプスタイン-バーウイルス (EBV)); Miller, Curr. Top. Microbiol. Immunol., 158:1-24、1992 (レトロウイルス); Brandyopadhyayら、Mol. Cell. Biol., 4:749-754、1984 (レトロウイルス); Millerら、Nature, 357:455-450、1992 (レトロウイルス); Anderson, Science, 256:808-813、1992 (レトロウイルス); Current Protocols in Molecular Biology: 9.10-9.14節 (Ausubelら、編)、Greene Publishing Associates, 1989を参照のこと。これらすべては本明細書中で参考として援用する。

【0096】

好ましいベクターはDNAウイルスであり、これは、アデノウイルス (好ましくは、Ad-2またはAd-5に基づくベクター)、バキュロウイルス、ヘルペスウイルス (好ましくは、単純ヘルペスウイルスに基づくベクター)、およびパルボウイルス (好ましくは、「欠損」または非自律性パルボウイルスに基づくベクター、より好ましくは、アデノ随伴ウイルスに基づくベクター、最も好ましくは、AAV-2に基づくベクター) を含む。例えば、Aliら、Gene Therapy 1:367-384,1994; 米国特許第4,797,368号および同第5,399,346号、ならびに以下の議論を参照のこと。

【0097】

例えば、KIM配列を移入するための特定のベクター系の選択は、種々の要素に依存する

。1つの重要な要素は、標的細胞集団の性質である。レトロウイルスベクターは広範に研究されており、そして多数の遺伝子治療適用において使用されているが、それらは、一般に分裂中ではない細胞を感染するためには適していないが、ガン治療において有用であり得る。なぜなら、それらは、複製中の細胞においてそれらの遺伝子を組み込み、そして発現するだけだからである。それらは、エキスピボアプローチに有用であり、そしてこの点で標的細胞ゲノムへのその安定な組み込みによって魅力的である。

【0098】

アデノウイルスは、真核細胞DNAウイルスであり、これは、治療的トランスジーンまたはレポータートランスジーンを種々の細胞型へと効率的に送達するように改変され得る。一般的なアデノウイルスの2型および5型（それぞれ、Ad2およびAd5）は、ヒトにおいて呼吸器疾患を生じ、そして現在デュシェーヌ筋ジストロフィー（DMD）および嚢胞性線維症（CF）の遺伝子治療のために開発されている。Ad2およびAd5の両方は、ヒト悪性腫瘍に関連しないアデノウイルスの亜網に属する。アデノウイルスベクターは、有糸分裂状態に関係なく、極度に高レベルのトランスジーンの実質的にすべての細胞型への送達を提供し得る。高力価（ 10^{13} プラーク形成単位/ml）の組換えウイルスは、293細胞（アデノウイルスでトランスフォームされた、相補性ヒト胚性腎細胞株：ATCC CRL1573）において容易に生成され得、そして認識可能な損失なしに長期間凍結保存され得る。遺伝的アンバランスを補完する治療的トランスジーンをインビボで送達することにおけるこの系の効力は、種々の障害の動物モデルにおいて実証されている。Watanabe、Atherosclerosis、36:261-268（1986）；Tanzawaら、FEBS Letters、118(1)：81-84(1980)；Golastenら、New Engl. J. Med.、309:288-296(1983)；Ishibashiら、J. Clin. Invest.、92:883-893(1993)；およびIshibashiら、J. Clin. Invest.、93:1889-1893(1994)を参照のこと。これらの全ては本明細書中で参考として援用される。実際、嚢胞性線維症膜貫通調節タンパク質（CFTR）のcDNAをコードする組換え複製欠損アデノウイルスは、少なくとも2つのヒトCF臨床試験における使用を承認されている。例えば、Wilson、Nature、365:691-692、1993を参照のこと。遺伝子治療のための組換えアデノウイルスの安全性のさらなる支持は、ヒト集団における生アデノウイルスワクチンの広範な経験である。

【0099】

DMDおよび他の遺伝障害の遺伝子治療のために開発されている第一世代の組換え複製欠損アデノウイルスは、E1aの全体およびE1b領域の一部の欠失を含む。この複製欠損ウイルスは、トランスに作用するE1aタンパク質を提供する機能的なアデノウイルスE1a遺伝子を含む293細胞において増殖される。E1欠失ウイルスは、293細胞（これは、トランスにE1aおよびE1b領域遺伝子産物を提供する）において複製し得、そして感染性ウイルスを生成し得る。得られるウイルスは、多くの細胞型を感染させ得、そして導入された遺伝子を発現し得る（自身のプロモーターを保有している場合）が、細胞が非常に高い感染多重度で感染されない限り、E1領域のDNAを有さない細胞においては複製し得ない。アデノウイルスは、それらが広い宿主範囲を有しているという利点を有し、静止細胞またはニューロンのような最終分化細胞に感染し得、そして本質的に非腫瘍形成性のようなものである。アデノウイルスは、宿主ゲノムへは取り込まれないようである。それらが染色体外で存在するので、挿入変異誘発の危険性は、多大に低減される。Aliら、前出、373。組換えアデノウイルス(rAdV)は、非常に高い力価を生成し、ウイルス粒子は、中程度に安定で、発現レベルは高く、そして広範囲の細胞が感染され得る。これらの天然の宿主細胞は、気道上皮であるので、それらは肺ガンの治療のために有用である。

【0100】

バキュロウイルス媒介移入は、いくつかの利点を有する。バキュロウイルス遺伝子移入は、複製中の細胞および複製中でない細胞において生じ得、そして腎細胞ならびに肝細胞、神経細胞、脾臓、皮膚、および筋肉において生じ得る。バキュロウイルスは、哺乳動物細胞において非複製および非病原性である。ヒトは、感染をブロックし得る、組換えバキュロウイルスに対する既存の抗体を欠く。さらに、バキュロウイルスは、非常に大きなDNA挿入物を取り込み得、そして形質導入し得る。

10

20

30

40

50

【 0 1 0 1 】

アデノ随伴ウイルス (AAV) もまた、体細胞性遺伝子治療のためのベクターとして使用されている。AAVは、単純なゲノム構成 (4~7kb) を有する小さな1本鎖(ss)のDNAウイルスであり、このことは、AAVを、遺伝子操作に理想的な基質としている。2つのオープンリーディングフレームは、一連のrepおよびcapポリペプチドをコードする。Repポリペプチド (rep78、rep68、rep62、およびrep40) は、AAVゲノムの複製、レスキュー、および組み込みに関与する。capタンパク質 (VP1、VP2、およびVP3) は、ビリオンキャプシドを形成する。repおよびcapオープンリーディングフレームの5'および3'末端に隣接して、145bpの逆方向末端反復配列 (ITR) が存在し、その最初の125bpは、Y-およびT-形状の二重鎖構造を形成し得る。AAVベクターの開発のために重要なことに、全体のrepドメインおよびcapドメインが切り出され得、そして治療的またはレポータートランスジーンで置換され得る。B.J.Carter、Handbook of Parvoviruses、P.Tijsser編、CRC Press、155~168頁 (1990) を参照のこと。ITRは、AAVゲノムの複製、レスキュー、パッケージング、および組み込みに必要とされる最小配列を表すことが示されている。

10

【 0 1 0 2 】

アデノ随伴ウイルス (AAV) は、遺伝子治療において重大な可能性を有する。

【 0 1 0 3 】

ウイルス粒子は、非常に安定であり、そして組換えAAV (rAAV) は、ペレット化によるかまたはCsCl勾配バンド形成によりrAAVが精製され得るという点で、「薬物様」の特徴を有する。それらは、熱安定性であり、そして凍結乾燥により粉末にされ得、そして再水化されて完全な活性になり得る。それらのDNAは、宿主染色体に安定に組み込まれるので発現は長期である。それらの宿主域は広範であり、そしてAAVは既知の疾患を発症させず、それゆえ組換えベクターは非毒性である。

20

【 0 1 0 4 】

一旦、標的細胞に導入されると、目的の配列は、従来の方法 (例えば、ベクターの挿入された遺伝子配列に相同/相補的である配列を含むプローブを使用する核酸ハイブリダイゼーション) により同定され得る。別のアプローチにおいて、配列 (単数または複数) は、標的細胞への発現ベクターの導入により生じる「マーカー」遺伝子機能 (例えば、チミジンキナーゼ活性、抗生物質耐性など) の存在または非存在により同定され得る。

30

【 0 1 0 5 】

処方および投与

本発明の化合物は、キャリアビヒクルにおける調製のような、標準的な実施に従って投与される。用語「薬理学的に受容可能なキャリア」は、変異プロトオンコジーンまたは変異腫瘍性タンパク質がそれと結合され、その適用を容易にする、1つ以上の有機または無機成分 (天然または合成) を意味する。適切なキャリアは、滅菌生理食塩水を含むが、薬学的に受容可能であることが既知である他の水性および非水性等張滅菌溶液および滅菌懸濁液は、当業者に公知である。この点において、用語「キャリア」は、リボソームおよびHIV-1 tatタンパク質 (Chenら、Anal. Biochem. 227:168-175, 1995を参照のこと) ならびに任意のプラスミドおよびウイルス性発現ベクターを包含する。

40

【 0 1 0 6 】

本発明の任意の新規なポリペプチドは、薬学的に受容可能な塩の形態において使用され得る。本発明のポリペプチドと塩を形成することが可能な、適切な酸および塩基は、当業者に周知であり、そして無機性および有機性の酸および塩を含む。

【 0 1 0 7 】

本発明の化合物は治療有効量で、被験体に投与され、これは、医学的に所望される結果を生成するまたは特定の処置されている状態に対して影響を及ぼす化合物の量を意味する。本発明の化合物の有効量は、疾患状態、変性状態、または損傷状態の寛解または遅延が可能である。有効量は個体に基づいて決定され得、そして部分的に、被験体の身体的特性、処置されるべき症状、および求められる結果の考慮に基づく。有効量は、このような因子を使用して、そして慣習的実験以下を使用して、当業者により決定され得る。

50

【 0 1 0 8 】

本発明の化合物のためのリボソーム送達システムは、任意の種々の単ラメラ小胞、多重ラメラ小胞、または安定な複ラメラ (plurilamellar) 小胞であり得、そして当業者に周知の方法に従って (例えば、米国特許第5,169,637号、同第4,762,915号、同第5,000,958号、または同第5,185,154号の教示に従って) 調製および投与され得る。さらに、それらのリボソームへの結合を増強するために、本発明の新規なポリペプチド、ならびに他の選択されたポリペプチドをリボタンパク質として発現することが所望され得る。例として、ヒト急性腎不全の、リボソーム被包化KIMタンパク質を用いた処置は、リボソームを使用するこのような処置を必要とする細胞中に、KIMタンパク質を導入することにより、インビボで行われ得る。リボソームはカテーテルを介して腎動脈に送達され得る。組換えKIMタンパク質は、例えば、イムノアフィニティクロマトグラフィーまたは任意の他の便利な方法によりCHO細胞から精製され、次いでリボソームと混合され、そして高い効率でそれらに組み込まれる。被包されたタンパク質は、細胞増殖の刺激に対する任意の効果についてインビトロで試験され得る。

10

【 0 1 0 9 】

本発明の化合物は、医学的に受容可能な任意の様式で投与され得る。これは、注射、非経口的経路 (例えば、静脈内、血管内、動脈内、皮下、筋肉内、腫瘍内、腹腔内、脳室内、硬膜内、またはその他)、ならびに経口、経鼻、経眼、直腸的、もしくは局所的を含み得る。持続放出投与もまた、本発明に具体的に含まれる (例えば、蓄積注射または侵食可能移植体のような手段による)。局所的な腫瘍に供給している1つ以上の動脈 (例えば、腎動脈または血管) に対するカテーテルを介する送達のような手段によるような、局在化送達が特に意図される。

20

【 0 1 1 0 】

上記の発明は、理解の明瞭さの目的で、例証および例によりいくらか詳細に記載されているが、特定の変更および改変が、添付の請求の範囲によってのみ制限されるような本発明の範囲内で実施され得ることは当業者に明らかである。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 1 1 1 】

【 図 1 - 1 】 図 1 は、ラットクローン cDNA3-2 のヌクレオチド配列であり、推定タンパク質リーディングフレームは 615 ~ 1535 である。

30

【 図 1 - 2 】 図 1 は、ラットクローン cDNA3-2 のヌクレオチド配列であり、推定タンパク質リーディングフレームは 615 ~ 1535 である。

【 図 1 - 3 】 図 1 は、ラットクローン cDNA3-2 のヌクレオチド配列であり、推定タンパク質リーディングフレームは 615 ~ 1535 である。

【 図 2 - 1 】 図 2 は、ラットクローン 1-7 の cDNA 配列のリストであり、推定タンパク質リーディングフレームは 145 ~ 1065 である。

【 図 2 - 2 】 図 2 は、ラットクローン 1-7 の cDNA 配列のリストであり、推定タンパク質リーディングフレームは 145 ~ 1065 である。

【 図 3 - 1 】 図 3 は、ラットクローン 4-7 の cDNA 配列のリストであり、推定タンパク質リーディングフレームは 107 ~ 1822 である。

40

【 図 3 - 2 】 図 3 は、ラットクローン 4-7 の cDNA 配列のリストであり、推定タンパク質リーディングフレームは 107 ~ 1822 である。

【 図 3 - 3 】 図 3 は、ラットクローン 4-7 の cDNA 配列のリストであり、推定タンパク質リーディングフレームは 107 ~ 1822 である。

【 図 4 - 1 】 図 4 は、ヒトクローン H13-10-85 の cDNA および推定アミノ酸配列のリストであり、推定タンパク質リーディングフレームは 1 ~ 1002 である。リストの上の行は cDNA 配列であり (配列番号 6)、そして下の行は推定アミノ酸配列である (配列番号 7)。

【 図 4 - 2 】 図 4 は、ヒトクローン H13-10-85 の cDNA および推定アミノ酸配列のリストであり、推定タンパク質リーディングフレームは 1 ~ 1002 である。リストの上の行は cDNA 配列であり (配列番号 6)、そして下の行は推定アミノ酸配列である (配列番号 7)。

50

【図 5】図 5 は、ヒトクロンH13-10-85のヌクレオチド配列のラットクロン3-2のヌクレオチド配列とのBESTFIT比較である。

【 0 1 1 2 】

(配 列 表)

【 0 1 1 3 】

【 数 1 】

配列表

(1) 一般的情報：

(i) 出願人：ミシェル サニコラーナデル
ジョセフ ブイ. ボンベントレ
キャサリン エイ. ヘシオン
タカハル イチムラ
ヘンリー ウエイ
リチャード エル. カテ

10

(ii) 発明の名称：組織再生のモジュレーター

(iii) 配列数：7

20

(iv) 連絡住所：

(A) 名称：バイオジェン, インコーポレイテッド
(B) 番地：ケンブリッジ センター 1 4
(C) 市：ケンブリッジ
(D) 州：マサチューセッツ
(E) 国：アメリカ合衆国
(F) 郵便番号：02142

(v) コンピューター読み出し形態：

(A) 媒体型：フロッピー ディスク
(B) コンピューター：IBM PC 互換用
(C) OS：PC-DOS/MS-DOS
(D) ソフトウェア：パテントイン リリース #1.0, バージョン #1.30

30

(vi) 現在の出願データ：

(A) 出願番号：
(B) 出願日：23-MAY-1997
(C) 分類：

(vii) 先願データ

40

(A) 出願番号：US 60/018,228
(B) 出願日：24-MAY-1996

(viii) 代理人／事務所情報：

(A) 氏名：レヴァイン, レズリー エム.
(B) 登録番号：35,245
(C) 照会／記録番号：A010 PCT CIP

【 0 1 1 4 】

【数 2】

(ix) 電話回線情報：

(A) 電話：(617) 679-2810

(B) テレファックス：(617) 679-2838

(2) 配列番号 1 の情報：

(i) 配列の特徴：

(A) 長さ：2 5 6 6 塩基対

(B) 型：核酸

(C) 鎖の数：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

10

(ii) 配列の種類：cDNA

(ix) 配列の特徴：

(A) 特徴を表す記号：CDS

(B) 存在位置：615..1535

(xi) 配列：配列番号 1：

GCGGCCGCGT CGACGGTGCC TGTGAGTAAA TAGATCAGGG TCTCCTTCAC AGCACATTCT	60	
CCAGGAAGCC GAGCAAACAT TAGTGCTATT TTACCCAGGA GGAAATCTAG GTGTAGAGAG	120	20
CTCTACGGAT CTAAGGTTTG GATCTGTACC CAGTGCTTTT TTAGGTGTCT TTAGACATTT	180	
CTCAGGAAGA TGTAGTCTCT GTCACCATGT GTGGCTGAAT TCTAGCTCAG TCCATCTTAT	240	
TGTGTTTAAG GTAGTTGAAG TTTAGGAACC AACCAGTATG TCTCTGAGCA GAAGAGTACA	300	
GTGTCCATCT TGAGGACAAG CTCATCTTTA CCATTAGAGG GCTGGCCTTG GCTTAGATTG	360	
TACCGAGAAC ATACTCTCTA ATGGCTGCCC TCAGTTTTCT CTGTTTGCTG TCTTATTTGT	420	
GTCATGGCCA GAAGTCATAT GGATGGCTCT ATGTGAGCAA GGACCCAGAT AGAAGAGTGT	480	
ATTTGGGGGA ACAGGTTGCC CTAACAGAGA GTCCTGTGGG ATTCATGCAG TCAGGATGAA	540	30
GACCTGATCA GACAGAGTGT GCTGAGTGCC ACGGCTAACC AGAGTGACTT GTCACTGTCC	600	
TTCAGGTCAA CACC ATG GTT CAA CTT CAA GTC TTC ATT TCA GGC CTC CTG	650	
Met Val Gln Leu Gln Val Phe Ile Ser Gly Leu Leu		
1 5 10		
CTG CTT CTT CCA GGC TCT GTA GAT TCT TAT GAA GTA GTG AAG GGG GTG	698	
Leu Leu Leu Pro Gly Ser Val Asp Ser Tyr Glu Val Val Lys Gly Val		
15 20 25		
GTG GGT CAC CCT GTC ACA ATT CCA TGT ACT TAC TCA ACA CGT GGA GGA	746	
Val Gly His Pro Val Thr Ile Pro Cys Thr Tyr Ser Thr Arg Gly Gly		
30 35 40		40

【 0 1 1 5 】

【数 3】

ATC ACA ACG ACA TGT TGG GGC CGG GGG CAA TGC CCA TAT TCT AGT TGT Ile Thr Thr Thr Cys Trp Gly Arg Gly Gln Cys Pro Tyr Ser Ser Cys 45 50 55 60	794	
CAA AAT ATA CTT ATT TGG ACC AAT GGA TAC CAA GTC ACC TAT CGG AGC Gln Asn Ile Leu Ile Trp Thr Asn Gly Tyr Gln Val Thr Tyr Arg Ser 65 70 75	842	
AGC GGT CGA TAC AAC ATA AAG GGG CGT ATT TCA GAA GGA GAC GTA TCC Ser Gly Arg Tyr Asn Ile Lys Gly Arg Ile Ser Glu Gly Asp Val Ser 80 85 90	890	
TTG ACA ATA GAG AAC TCT GTT GAT AGT GAT AGT GGT CTG TAT TGT TGC Leu Thr Ile Glu Asn Ser Val Asp Ser Asp Ser Gly Leu Tyr Cys Cys 95 100 105	938	10
CGA GTG GAG ATT CCT GGA TGG TTC AAC GAT CAG AAA ATG ACC TTT TCA Arg Val Glu Ile Pro Gly Trp Phe Asn Asp Gln Lys Met Thr Phe Ser 110 115 120	986	
TTG GAA GTT AAA CCA GAA ATT CCC ACA AGT CCT CCA ACA AGA CCC ACA Leu Glu Val Lys Pro Glu Ile Pro Thr Ser Pro Pro Thr Arg Pro Thr 125 130 135 140	1034	
ACT ACA AGA CCC ACA ACC ACA AGG CCC ACA ACT ATT TCA ACA AGA TCC Thr Thr Arg Pro Thr Thr Thr Arg Pro Thr Thr Ile Ser Thr Arg Ser 145 150 155	1082	20
ACA CAT GTA CCA ACA TCA ACC AGA GTC TCC ACC TCT ACT CCA ACA CCA Thr His Val Pro Thr Ser Thr Arg Val Ser Thr Ser Thr Pro Thr Pro 160 165 170	1130	
GAA CAA ACA CAG ACT CAC AAA CCA GAA ATC ACT ACA TTT TAT GCC CAT Glu Gln Thr Gln Thr His Lys Pro Glu Ile Thr Thr Phe Tyr Ala His 175 180 185	1178	
GAG ACA ACT GCT GAG GTG ACA GAA ACT CCA TCA TAT ACT CCT GCA GAC Glu Thr Thr Ala Glu Val Thr Glu Thr Pro Ser Tyr Thr Pro Ala Asp 190 195 200	1226	30
TGG AAT GGC ACT GTG ACA TCC TCA GAG GAG GCC TGG AAT AAT CAC ACT Trp Asn Gly Thr Val Thr Ser Ser Glu Glu Ala Trp Asn Asn His Thr 205 210 215 220	1274	
GTA AGA ATC CCT TTG AGG AAG CCG CAG AGA AAC CCG ACT AAG GGC TTC Val Arg Ile Pro Leu Arg Lys Pro Gln Arg Asn Pro Thr Lys Gly Phe 225 230 235	1322	
TAT GTT GGC ATG TCC GTT GCA GCC CTG CTG CTG CTG CTG CTT GCG AGC Tyr Val Gly Met Ser Val Ala Ala Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ser 240 245 250	1370	
ACC GTG GTT GTC ACC AGG TAC ATC ATT ATA AGA AAG AAG ATG GGC TCT Thr Val Val Val Thr Arg Tyr Ile Ile Ile Arg Lys Lys Met Gly Ser 255 260 265	1418	40

【0 1 1 6】

【数 4】

CTG AGC TTT GTT GCC TTC CAT GTC TCT AAG AGT AGA GCT TTG CAG AAC	1466
Leu Ser Phe Val Ala Phe His Val Ser Lys Ser Arg Ala Leu Gln Asn	
270 275 280	
GCA GCG ATT GTG CAT CCC CGA GCT GAA GAC AAC ATC TAC ATT ATT GAA	1514
Ala Ala Ile Val His Pro Arg Ala Glu Asp Asn Ile Tyr Ile Ile Glu	
285 290 295 300	
GAT AGA TCT CGA GGT GCA GAA TGAGTCCCAG AGGCCTTCTG TGGGGCCTTC	1565
Asp Arg Ser Arg Gly Ala Glu	
305	
TGCCTGGGAT TACAGAGATC GTGACTGATT TCACAGAGTA AAATACCCAT TCCAGCTCCT	1625
GGGAGATTTT GTGTTTTGGT TCTTCCAGCT GCAGTGGAGA GGGTAACCCCT CTACCCTGTA	1685
TATGCAAAAC TCGAGGTAA CATCATCCTA ATTCTTGAT CAGCAACACC TCAGTGTCTC	1745
CACTCACTGC AGCGATTCTC TCAAATGTGA ACATTTTAGA AGTTTGTGTT TCCTTTTGTC	1805
CATGTAATCA TTGGTAATAC AAGAATTTTA TCTTGTTTAT TAAAACCATT AATGAGAGGG	1865
GAATAGGAAT TAAAAGCTGG TGGGAAGGGC CTCCTGAATT TAGAAGCACT TCATGATTGT	1925
GTTTATCTCT TTTATTGTAA TTTGAAATGT TACTTCTATC CTTCCCAAGG GGCAAAATCA	1985
TGGGAGCATG GAGGTTTTAA TTGCCCTCAT AGATAAGTAG AAGAAGAGAG TCTAATGCCA	2045
CCAATAGAGG TGGTTATGCT TTCTCACAGC TCTGGAAATA TGATCATTTA TTATGCAGTT	2105
GATCTTAGGA TGAGGATGGG TTTCTTAGGA GGAGAGGTTA CCATGGTGAG TGGACCAGGC	2165
ACACATCAGG GGAAGAAAAC AATGGATCAA GGGATTGAGT TCATTAGAGC CAATTCCTACT	2225
CCACTTCTGT CTTGATGCTC AGTGTTCCTA AACTCACCCA CTGAGCTCTG AATTAGGTGC	2285
AGGGAGGAGA CGTGCAGAAA CGAAAGAGGA AAGAAAGGAG AGAGAGCAGG ACACAGGCTT	2345
TCTGCTGAGA GAAGTCCTAT TGCAGGTGTG ACAGTGTGTTG GGACTACCAC GGGTTTCCTT	2405
CAGACTTCTA AGTTTCTAAA TCACTATCAT GTGATCATAT TTATTTTAA AATTATTCA	2465
GAAAGACACC ACATTTTCAA TAATAAATCA GTTTGTCACA ATTAATAAAA TATTTTGTTT	2525
GCTAAGAAGT AAAAAAAAAA AAAAAAAGTC GACGCGGCCG C	2566

10

20

30

(2) 配列番号 2 の情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 長さ: 2084 塩基対

(B) 型: 核酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: cDNA

40

【0117】

【数 5】

(ix)配列の特徴：

(A)特徴を表す記号：CDS

(B)存在位置：145..1065

(xi)配列：配列番号 2：

GCGGCCGCGT CGACGGTGCC TGTGAGTAAA TAGATCAGGG TCTCCTTCAC AGCACATTCT	60	
CCAGGAAGCC GAGCAAACAT TAGTGCTATT TTACCCAGGA GGAAATCTAG GTGTAGAGAG	120	
CTCTACGGAT CTAAGGTCAA CACC ATG GTT CAA CTT CAA GTC TTC ATT TCA	171	10
Met Val Gln Leu Gln Val Phe Ile Ser		
1 5		
GGC CTC CTG CTG CTT CTT CCA GGC TCT GTA GAT TCT TAT GAA GTA GTG	219	
Gly Leu Leu Leu Leu Leu Pro Gly Ser Val Asp Ser Tyr Glu Val Val		
10 15 20 25		
AAG GGG GTG GTG GGT CAC CCT GTC ACA ATT CCA TGT ACT TAC TCA ACA	267	
Lys Gly Val Val Gly His Pro Val Thr Ile Pro Cys Thr Tyr Ser Thr		
30 35 40		
CGT GGA GGA ATC ACA ACG ACA TGT TGG GGC CGG GGG CAA TGC CCA TAT	315	20
Arg Gly Gly Ile Thr Thr Thr Cys Trp Gly Arg Gly Gln Cys Pro Tyr		
45 50 55		
TCT AGT TGT CAA AAT ATA CTT ATT TGG ACC AAT GGA TAC CAA GTC ACC	363	
Ser Ser Cys Gln Asn Ile Leu Ile Trp Thr Asn Gly Tyr Gln Val Thr		
60 65 70		
TAT CGG AGC AGC GGT CGA TAC AAC ATA AAG GGG CGT ATT TCA GAA GGA	411	
Tyr Arg Ser Ser Gly Arg Tyr Asn Ile Lys Gly Arg Ile Ser Glu Gly		
75 80 85		
GAC GTA TCC TTG ACA ATA GAG AAC TCT GTT GAT AGT GAT AGT GGT CTG	459	
Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Ser Val Asp Ser Asp Ser Gly Leu		
90 95 100 105		30
TAT TGT TGC CGA GTG GAG ATT CCT GGA TGG TTC AAC GAT CAG AAA ATG	507	
Tyr Cys Cys Arg Val Glu Ile Pro Gly Trp Phe Asn Asp Gln Lys Met		
110 115 120		
ACC TTT TCA TTG GAA GTT AAA CCA GAA ATT CCC ACA AGT CCT CCA ACA	555	
Thr Phe Ser Leu Glu Val Lys Pro Glu Ile Pro Thr Ser Pro Pro Thr		
125 130 135		
AGA CCC ACA ACT ACA AGA CCC ACA ACC ACA AGG CCC ACA ACT ATT TCA	603	
Arg Pro Thr Thr Thr Arg Pro Thr Thr Thr Arg Pro Thr Thr Ile Ser		
140 145 150		
ACA AGA TCC ACA CAT GTA CCA ACA TCA ACC AGA GTC TCC ACC TCT ACT	651	40
Thr Arg Ser Thr His Val Pro Thr Ser Thr Arg Val Ser Thr Ser Thr		
155 160 165		

【 0 1 1 8 】

【数 6】

CCA ACA CCA GAA CAA ACA CAG ACT CAC AAA CCA GAA ATC ACT ACA TTT Pro Thr Pro Glu Gln Thr Gln Thr His Lys Pro Glu Ile Thr Thr Phe 170 175 180 185	699	
TAT GCC CAT GAG ACA ACT GCT GAG GTG ACA GAA ACT CCA TCA TAT ACT Tyr Ala His Glu Thr Thr Ala Glu Val Thr Glu Thr Pro Ser Tyr Thr 190 195 200	747	
CCT GCA GAC TGG AAT GGC ACT GTG ACA TCC TCA GAG GAG GCC TGG AAT Pro Ala Asp Trp Asn Gly Thr Val Thr Ser Ser Glu Glu Ala Trp Asn 205 210 215	795	
AAT CAC ACT GTA AGA ATC CCT TTG AGG AAG CCG CAG AGA AAC CCG ACT Asn His Thr Val Arg Ile Pro Leu Arg Lys Pro Gln Arg Asn Pro Thr 220 225 230	843	
AAG GGC TTC TAT GTT GGC ATG TCC GTT GCA GCC CTG CTG CTG CTG CTG Lys Gly Phe Tyr Val Gly Met Ser Val Ala Ala Leu Leu Leu Leu Leu 235 240 245	891	
CTT GCG AGC ACC GTG GTT GTC ACC AGG TAC ATC ATT ATA AGA AAG AAG Leu Ala Ser Thr Val Val Val Thr Arg Tyr Ile Ile Ile Arg Lys Lys 250 255 260 265	939	
ATG GGC TCT CTG AGC TTT GTT GCC TTC CAT GTC TCT AAG AGT AGA GCT Met Gly Ser Leu Ser Phe Val Ala Phe His Val Ser Lys Ser Arg Ala 270 275 280	987	20
TTG CAG AAC GCA GCG ATT GTG CAT CCC CGA GCT GAA GAC AAC ATC TAC Leu Gln Asn Ala Ala Ile Val His Pro Arg Ala Glu Asp Asn Ile Tyr 285 290 295	1035	
ATT ATT GAA GAT AGA TCT CGA GGT GCA GAA TGAGTCCCAG AGGCCTTCTG Ile Ile Glu Asp Arg Ser Arg Gly Ala Glu 300 305	1085	
TGGGGCCTTC TGCCTGGGAT TACAGAGATC GTGACTGATT TCACAGAGTA AAATACCCAT	1145	
TCCAGCTCCT GGGAGATTTT GTGTTTTGGT TCTTCCAGCT GCAGTGGAGA GGGTAACCCT	1205	30
CTACCCTGTA TATGCAAAAC TCGAGGTTAA CATCATCCTA ATTCTTGTAT CAGCAACACC	1265	
TCAGTGTCTC CACTCACTGC AGCGATTCTC TCAAATGTGA ACATTTTAGA AGTTTGTGTT	1325	
TCCTTTTGTC CATGTAATCA TTGGTAATAC AAGAATTTTA TCTTGTTTAT TAAAACCATT	1385	
AATGAGAGGG GAATAGGAAT TAAAAGCTGG TGGGAAGGGC CTCCTGAATT TAGAAGCACT	1445	
TCATGATTGT GTTATCTCT TTTATTGTAA TTTGAAATGT TACTTCTATC CTTCCCAAGG	1505	
GGCAAAATCA TGGGAGCATG GAGGTTTTAA TTGCCCTCAT AGATAAGTAG AAGAAGAGAG	1565	
TCTAATGCCA CCAATAGAGG TGGTTATGCT TTCTCACAGC TCTGGAAATA TGATCATTTA	1625	40
TTATGCAGTT GATCTTAGGA TGAGGATGGG TTTCTTAGGA GGAGAGGTGA CCATGGTGAG	1685	
TGGACCAGGC ACACATCAGG GGAAGAAAAC AATGGATCAA GGGATTGAGT TCATTAGAGC	1745	

【 0 1 1 9 】

【数 7】

CATTTCCACT CCACTTCTGT CTTGATGCTC AGTGTTCCTA AACTCACCCA CTGAGCTCTG 1805
 AATTAGGTGC AGGGAGGAGA CGTGCAGAAA CGAAAGAGGA AAGAAAGGAG AGAGAGCAGG 1865
 ACACAGGCTT TCTGCTGAGA GAAGTCCTAT TGCAGGTGTG ACAGTGTTTG GGACTIONAC 1925
 GGGTTTCCTT CAGACTTCTA AGTTTCTAAA TCACTATCAT GTGATCATAT TTATTTTAA 1985
 AATTATTTCA GAAAGACACC ACATTTTCAA TAATAATCA GTTGTGCACA ATTAATAAAA 2045
 TATTTTGTTC GCTAAGAAGT AAAAAGTCGA CGCGGCCGC 2084

10

(2)配列番号3の情報:

(i)配列の特徴:

(A)長さ: 307アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号3:

20

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

30

40

【 0 1 2 0 】

【数 8】

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

10

20

(2) 配列番号 4 の情報：

(i) 配列の特徴：

- (A) 長さ：2303 塩基対
 (B) 型：核酸
 (C) 鎖の数：一本鎖
 (D) トポロジー：直鎖状

30

(ii) 配列の種類：cDNA

(ix) 配列の特徴：

- (A) 特徴を表す記号：CDS
 (B) 存在位置：107..1822

(xi) 配列：配列番号 4：

GCGGCCGCGT CGACTCGCAG GAGGCCGGCA CTCTGACTCC TGGTGGATGG GACTAGGGAG 60
 TCAGAGTCAA GCCCTGACTG GCTGAGGGCG GCGCTCCGA GTCAGC ATG GAA AGT 115
 Met Glu Ser
 1
 CTC TGC GGG GTC CTG GTA TTT CTG CTG CTG GCT GCA GGA CTG CCG CTC 163
 Leu Cys Gly Val Leu Val Phe Leu Leu Leu Ala Ala Gly Leu Pro Leu
 5 10 15

40

【 0 1 2 1 】

【数 9】

CAG GCG GCC AAG CGG TTC CGT GAT GTG CTG GGC CAT GAG CAG TAT CCG Gln Ala Ala Lys Arg Phe Arg Asp Val Leu Gly His Glu Gln Tyr Pro 20 25 30 35	211	
GAT CAC ATG AGG GAG AAC AAC CAA TTA CGT GGC TGG TCT TCA GAT GAA Asp His Met Arg Glu Asn Asn Gln Leu Arg Gly Trp Ser Ser Asp Glu 40 45 50	259	
AAT GAA TGG GAT GAA CAG CTG TAT CCA GTG TGG AGG AGG GGA GAG GGC Asn Glu Trp Asp Glu Gln Leu Tyr Pro Val Trp Arg Arg Gly Glu Gly 55 60 65	307	
AGA TGG AAG GAC TCC TGG GAA GGA GGC CGT GTG CAG GCA GCC CTA ACC Arg Trp Lys Asp Ser Trp Glu Gly Gly Arg Val Gln Ala Ala Leu Thr 70 75 80	355	10
AGT GAT TCA CCG GCC TTG GTG GGT TCC AAT ATC ACC TTC GTA GTG AAC Ser Asp Ser Pro Ala Leu Val Gly Ser Asn Ile Thr Phe Val Val Asn 85 90 95	403	
CTG GTG TTC CCC AGA TGC CAG AAG GAA GAT GCC AAC GGC AAT ATC GTC Leu Val Phe Pro Arg Cys Gln Lys Glu Asp Ala Asn Gly Asn Ile Val 100 105 110 115	451	
TAT GAG AGG AAC TGC AGA AGT GAT TTG GAG CTG GCT TCT GAC CCG TAT Tyr Glu Arg Asn Cys Arg Ser Asp Leu Glu Leu Ala Ser Asp Pro Tyr 120 125 130	499	20
GTC TAC AAC TGG ACC ACA GGG GCA GAC GAT GAG GAC TGG GAA GAC AGC Val Tyr Asn Trp Thr Thr Gly Ala Asp Asp Glu Asp Trp Glu Asp Ser 135 140 145	547	
ACC AGC CAA GGC CAG CAC CTC AGG TTC CCC GAC GGG AAG CCC TTC CCT Thr Ser Gln Gly Gln His Leu Arg Phe Pro Asp Gly Lys Pro Phe Pro 150 155 160	595	
CGC CCC CAC GGA CGG AAG AAA TGG AAC TTC GTC TAC GTC TTC CAC ACA Arg Pro His Gly Arg Lys Lys Trp Asn Phe Val Tyr Val Phe His Thr 165 170 175	643	30
CTT GGT CAG TAT TTT CAA AAG CTG GGT CGG TGT TCA GCA CGA GTT TCT Leu Gly Gln Tyr Phe Gln Lys Leu Gly Arg Cys Ser Ala Arg Val Ser 180 185 190 195	691	
ATA AAC ACA GTC AAC TTG ACA GTT GGC CCT CAG GTC ATG GAA GTG ATT Ile Asn Thr Val Asn Leu Thr Val Gly Pro Gln Val Met Glu Val Ile 200 205 210	739	
GTC TTT CGA AGA CAC GGC CGG GCA TAC ATT CCC ATC TCC AAA GTG AAA Val Phe Arg Arg His Gly Arg Ala Tyr Ile Pro Ile Ser Lys Val Lys 215 220 225	787	
GAC GTG TAT GTG ATA ACA GAT CAG ATC CCT ATA TTC GTG ACC ATG TAC Asp Val Tyr Val Ile Thr Asp Gln Ile Pro Ile Phe Val Thr Met Tyr 230 235 240	835	40

【 0 1 2 2 】

【数 1 0】

CAG AAG AAT GAC CGG AAC TCG TCT GAT GAA ACC TTC CTC AGA GAC CTC Gln Lys Asn Asp Arg Asn Ser Ser Asp Glu Thr Phe Leu Arg Asp Leu 245 250 255	883	
CCC ATT TTC TTC GAT GTC CTC ATT CAC GAT CCC AGT CAT TTC CTC AAC Pro Ile Phe Phe Asp Val Leu Ile His Asp Pro Ser His Phe Leu Asn 260 265 270 275	931	
TAC TCT GCC ATT TCC TAC AAG TGG AAC TTT GGG GAC AAC ACT GGC CTG Tyr Ser Ala Ile Ser Tyr Lys Trp Asn Phe Gly Asp Asn Thr Gly Leu 280 285 290	979	
TTT GTC TCC AAC AAT CAC ACT TTG AAT CAC ACG TAT GTG CTC AAT GGA Phe Val Ser Asn Asn His Thr Leu Asn His Thr Tyr Val Leu Asn Gly 295 300 305	1027	
ACC TTC AAC TTT AAC CTC ACC GTG CAA ACT GCA GTG CCG GGA CCA TGC Thr Phe Asn Phe Asn Leu Thr Val Gln Thr Ala Val Pro Gly Pro Cys 310 315 320	1075	
CCC TCA CCC ACA CCT TCG CCT TCT TCT TCG ACT TCT CCT TCG CCT GCA Pro Ser Pro Thr Pro Ser Pro Ser Ser Thr Ser Pro Ser Pro Ala 325 330 335	1123	
TCT TCG CCT TCA CCC ACA TTA TCA ACA CCT AGT CCC TCT TTA ATG CCT Ser Ser Pro Ser Pro Thr Leu Ser Thr Pro Ser Pro Ser Leu Met Pro 340 345 350 355	1171	20
ACT GGC CAC AAA TCC ATG GAG CTG AGT GAC ATT TCC AAT GAA AAC TGC Thr Gly His Lys Ser Met Glu Leu Ser Asp Ile Ser Asn Glu Asn Cys 360 365 370	1219	
CGA ATA AAC AGA TAT GGT TAC TTC AGA GCC ACC ATC ACA ATT GTA GAT Arg Ile Asn Arg Tyr Gly Tyr Phe Arg Ala Thr Ile Thr Ile Val Asp 375 380 385	1267	
GGA ATC CTA GAA GTC AAC ATC ATC CAG GTA GCA GAT GTC CCA ATC CCC Gly Ile Leu Glu Val Asn Ile Ile Gln Val Ala Asp Val Pro Ile Pro 390 395 400	1315	30
ACA CCG CAG CCT GAC AAC TCA CTG ATG GAC TTC ATT GTG ACC TGC AAA Thr Pro Gln Pro Asp Asn Ser Leu Met Asp Phe Ile Val Thr Cys Lys 405 410 415	1363	
GGG GCC ACT CCC ACG GAA GCC TGT ACG ATC ATC TCT GAC CCC ACC TGC Gly Ala Thr Pro Thr Glu Ala Cys Thr Ile Ile Ser Asp Pro Thr Cys 420 425 430 435	1411	
CAG ATC GCC CAG AAC AGG GTG TGC AGC CCG GTG GCT GTG GAT GAG CTG Gln Ile Ala Gln Asn Arg Val Cys Ser Pro Val Ala Val Asp Glu Leu 440 445 450	1459	
TGC CTC CTG TCC GTG AGG AGA GCC TTC AAT GGG TCC GGC ACG TAC TGT Cys Leu Leu Ser Val Arg Arg Ala Phe Asn Gly Ser Gly Thr Tyr Cys 455 460 465	1507	40

【 0 1 2 3】

【数 1 1】

GTG AAT TTC ACT CTG GGA GAC GAT GCA AGC CTG GCC CTC ACC AGC GCC	1555
Val Asn Phe Thr Leu Gly Asp Asp Ala Ser Leu Ala Leu Thr Ser Ala	
470 475 480	
CTG ATC TCT ATC CCT GGC AAA GAC CTA GGC TCC CCT CTG AGA ACA GTG	1603
Leu Ile Ser Ile Pro Gly Lys Asp Leu Gly Ser Pro Leu Arg Thr Val	
485 490 495	
AAT GGT GTC CTG ATC TCC ATT GGC TGC CTG GCC ATG TTT GTC ACC ATG	1651
Asn Gly Val Leu Ile Ser Ile Gly Cys Leu Ala Met Phe Val Thr Met	
500 505 510 515	
GTT ACC ATC TTG CTG TAC AAA AAA CAC AAG ACG TAC AAG CCA ATA GGA	1699
Val Thr Ile Leu Leu Tyr Lys Lys His Lys Thr Tyr Lys Pro Ile Gly	
520 525 530	
AAC TGC ACC AGG AAC GTG GTC AAG GGC AAA GGC CTG AGT GTT TTT CTC	1747
Asn Cys Thr Arg Asn Val Val Lys Gly Lys Gly Leu Ser Val Phe Leu	
535 540 545	
AGC CAT GCA AAA GCC CCG TTC TCC CGA GGA GAC CGG GAG AAG GAT CCA	1795
Ser His Ala Lys Ala Pro Phe Ser Arg Gly Asp Arg Glu Lys Asp Pro	
550 555 560	
CTG CTC CAG GAC AAG CCA TGG ATG CTC TAAGTCTTCA CTCTCACTTC	1842
Leu Leu Gln Asp Lys Pro Trp Met Leu	
565 570	
TGACTGGGAA CCCACTCTTC TGTGCATGTA TGTGAGCTGT GCAGAAGTAC ATGACTGGTA	1902
GCTGTTGTTT TCTACGGATT ATTGTAAAT GTATATCATG GTTTAGGGAG CGTAGTTAAT	1962
TGGCATTTTA GTGAAGGGAT GGGGAAGACAG TATTTCTTCA CATCTGTATT GTGGTTTTTA	2022
TACTGTTAAT AGGGTGGGCA CATTGTGTCT GAAGGGGGAG GGGGAGGTCA CTGCTACTTA	2082
AGGTCCTAGG TTAAGTGGGA GAGGATGCCC CAGGCTCCTT AGATTCTAC ACAAGATGTG	2142
CCTGAACCCA GCTAGTCCTG ACCTAAAGGC CATGCTTCAT CAACTCTATC TCAGCTCATT	2202
GAACATACCT GAGCACCTGA TGGAATTATA ATGGAACCAA GCTTGTTGTA TGGTGTGTGT	2262
GTGTACATAA GATACTCATT AAAAAGACAG TCTATTAAAA A	2303

10

20

30

40

(2) 配列番号 5 の情報：

(i) 配列の特徴：

(A) 長さ：572 アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 配列の種類：タンパク質

(xi) 配列：配列番号 5：

【0 1 2 4】

【数 1 2】

Met Glu Ser Leu Cys Gly Val Leu Val Phe Leu Leu Leu Ala Ala Gly
 1 5 10 15

Leu Pro Leu Gln Ala Ala Lys Arg Phe Arg Asp Val Leu Gly His Glu
 20 25 30

Gln Tyr Pro Asp His Met Arg Glu Asn Asn Gln Leu Arg Gly Trp Ser
 35 40 45

Ser Asp Glu Asn Glu Trp Asp Glu Gln Leu Tyr Pro Val Trp Arg Arg
 50 55 60

Gly Glu Gly Arg Trp Lys Asp Ser Trp Glu Gly Gly Arg Val Gln Ala
 65 70 75 80

Ala Leu Thr Ser Asp Ser Pro Ala Leu Val Gly Ser Asn Ile Thr Phe
 85 90 95

Val Val Asn Leu Val Phe Pro Arg Cys Gln Lys Glu Asp Ala Asn Gly
 100 105 110

Asn Ile Val Tyr Glu Arg Asn Cys Arg Ser Asp Leu Glu Leu Ala Ser
 115 120 125

Asp Pro Tyr Val Tyr Asn Trp Thr Thr Gly Ala Asp Asp Glu Asp Trp
 130 135 140

Glu Asp Ser Thr Ser Gln Gly Gln His Leu Arg Phe Pro Asp Gly Lys
 145 150 155 160

Pro Phe Pro Arg Pro His Gly Arg Lys Lys Trp Asn Phe Val Tyr Val
 165 170 175

Phe His Thr Leu Gly Gln Tyr Phe Gln Lys Leu Gly Arg Cys Ser Ala
 180 185 190

Arg Val Ser Ile Asn Thr Val Asn Leu Thr Val Gly Pro Gln Val Met
 195 200 205

Glu Val Ile Val Phe Arg Arg His Gly Arg Ala Tyr Ile Pro Ile Ser
 210 215 220

Lys Val Lys Asp Val Tyr Val Ile Thr Asp Gln Ile Pro Ile Phe Val
 225 230 235 240

Thr Met Tyr Gln Lys Asn Asp Arg Asn Ser Ser Asp Glu Thr Phe Leu
 245 250 255

Arg Asp Leu Pro Ile Phe Phe Asp Val Leu Ile His Asp Pro Ser His
 260 265 270

Phe Leu Asn Tyr Ser Ala Ile Ser Tyr Lys Trp Asn Phe Gly Asp Asn
 275 280 285

Thr Gly Leu Phe Val Ser Asn Asn His Thr Leu Asn His Thr Tyr Val
 290 295 300

10

20

30

40

【 0 1 2 5】

【数 1 3】

Leu Asn Gly Thr Phe Asn Phe Asn Leu Thr Val Gln Thr Ala Val Pro
 305 310 315 320
 Gly Pro Cys Pro Ser Pro Thr Pro Ser Pro Ser Ser Thr Ser Pro
 325 330 335
 Ser Pro Ala Ser Ser Pro Ser Pro Thr Leu Ser Thr Pro Ser Pro Ser
 340 345 350
 Leu Met Pro Thr Gly His Lys Ser Met Glu Leu Ser Asp Ile Ser Asn
 355 360 365
 Glu Asn Cys Arg Ile Asn Arg Tyr Gly Tyr Phe Arg Ala Thr Ile Thr
 370 375 380
 Ile Val Asp Gly Ile Leu Glu Val Asn Ile Ile Gln Val Ala Asp Val
 385 390 395 400
 Pro Ile Pro Thr Pro Gln Pro Asp Asn Ser Leu Met Asp Phe Ile Val
 405 410 415
 Thr Cys Lys Gly Ala Thr Pro Thr Glu Ala Cys Thr Ile Ile Ser Asp
 420 425 430
 Pro Thr Cys Gln Ile Ala Gln Asn Arg Val Cys Ser Pro Val Ala Val
 435 440 445
 Asp Glu Leu Cys Leu Leu Ser Val Arg Arg Ala Phe Asn Gly Ser Gly
 450 455 460
 Thr Tyr Cys Val Asn Phe Thr Leu Gly Asp Asp Ala Ser Leu Ala Leu
 465 470 475 480
 Thr Ser Ala Leu Ile Ser Ile Pro Gly Lys Asp Leu Gly Ser Pro Leu
 485 490 495
 Arg Thr Val Asn Gly Val Leu Ile Ser Ile Gly Cys Leu Ala Met Phe
 500 505 510
 Val Thr Met Val Thr Ile Leu Leu Tyr Lys Lys His Lys Thr Tyr Lys
 515 520 525
 Pro Ile Gly Asn Cys Thr Arg Asn Val Val Lys Gly Lys Gly Leu Ser
 530 535 540
 Val Phe Leu Ser His Ala Lys Ala Pro Phe Ser Arg Gly Asp Arg Glu
 545 550 555 560
 Lys Asp Pro Leu Leu Gln Asp Lys Pro Trp Met Leu
 565 570

10

20

30

【0 1 2 6】

【数 1 4】

(2)配列番号6の情報:

(i)配列の特徴:

- (A)長さ: 1 7 9 5 塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 一本鎖
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(ix)配列の特徴:

- (A)特徴を表す記号: CDS
- (B)存在位置: 278..1279

(xi)配列: 配列番号6:

10

20

30

40

```

GCGGCCGCGT CGACGAAGCT GGGAAGTCAG GGGCTGTTTC TGTGGGCAGC TTTCCCTGTC      60
CTTTGGAAGG CACAGAGCTC TCAGCTGCAG GGAACAAACA GAGCTCTGAA GCCGTTATAT      120
GTGGTCTTCT CTCATTTCCA GCAGAGCAGG CTCATATGAA TCAACCAACT GGGTGAAAAG      180
ATAAGTTGCA ATCTGAGATT TAAGACTTGA TCAGATACCA TCTGGTGGAG GGTACCAACC      240
AGCCTGTCTG CTCATTTTCC TTCAGGCTGA TCCCATAT ATG CAT CCT CAA GTG GTC      295
                Met His Pro Gln Val Val
                1                5

ATC TTA AGC CTC ATC CTA CAT CTG GCA GAT TCT GTA GCT GGT TCT GTA      343
Ile Leu Ser Leu Ile Leu His Leu Ala Asp Ser Val Ala Gly Ser Val
    10                15                20

AAG GTT GGT GGA GAG GCA GGT CCA TCT GTC ACA CTA CCC TGC CAC TAC      391
Lys Val Gly Gly Glu Ala Gly Pro Ser Val Thr Leu Pro Cys His Tyr
    25                30                35

AGT GGA GCT GTC ACA TCA ATG TGC TGG AAT AGA GGC TCA TGT TCT CTA      439
Ser Gly Ala Val Thr Ser Met Cys Trp Asn Arg Gly Ser Cys Ser Leu
    40                45                50

TTC ACA TGC CAA AAT GGC ATT GTC TGG ACC AAT GGA ACC CAC GTC ACC      487
Phe Thr Cys Gln Asn Gly Ile Val Trp Thr Asn Gly Thr His Val Thr
    55                60                65                70

TAT CGG AAG GAC ACA CGC TAT AAG CTA TTG GGG GAC CTT TCA AGA AGG      535
Tyr Arg Lys Asp Thr Arg Tyr Lys Leu Leu Gly Asp Leu Ser Arg Arg
    75                80                85

GAT GTC TCT TTG ACC ATA GAA AAT ACA GCT GTG TCT GAC AGT GGC GTA      583
Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Thr Ala Val Ser Asp Ser Gly Val
    90                95                100

TAT TGT TGC CGT GTT GAG CAC CGT GGG TGG TTC AAT GAC ATG AAA ATC      631
Tyr Cys Cys Arg Val Glu His Arg Gly Trp Phe Asn Asp Met Lys Ile
    105                110                115

```

【 0 1 2 7 】

【数 1 5】

ACC GTA TCA TTG GAG ATT GTG CCA CCC AAG GTC ACG ACT ACT CCA ATT Thr Val Ser Leu Glu Ile Val Pro Pro Lys Val Thr Thr Thr Pro Ile 120 125 130	679	
GTC ACA ACT GTT CCA ACC GTC ACG ACT GTT CGA ACG AGC ACC ACT GTT Val Thr Thr Val Pro Thr Val Thr Thr Val Arg Thr Ser Thr Thr Val 135 140 145 150	727	
CCA ACG ACA ACG ACT GTT CCA ACG ACA ACT GTT CCA ACA ACA ATG AGC Pro Thr Thr Thr Thr Val Pro Thr Thr Thr Val Pro Thr Thr Met Ser 155 160 165	775	
ATT CCA ACG ACA ACG ACT GTT CCG ACG ACA ATG ACT GTT TCA ACG ACA Ile Pro Thr Thr Thr Val Pro Thr Thr Met Thr Val Ser Thr Thr 170 175 180	823	10
ACG AGC GTT CCA ACG ACA ACG AGC ATT CCA ACA ACA ACA AGT GTT CCA Thr Ser Val Pro Thr Thr Thr Ser Ile Pro Thr Thr Thr Ser Val Pro 185 190 195	871	
GTG ACA ACA ACG GTC TCA ACC TTT GTT CCT CCA ATG CCT TTG CCC AGG Val Thr Thr Thr Val Ser Thr Phe Val Pro Pro Met Pro Leu Pro Arg 200 205 210	919	
CAG AAC CAT GAA CCA GTA GCC ACT TCA CCA TCT TCA CCT CAG CCA GCA Gln Asn His Glu Pro Val Ala Thr Ser Pro Ser Ser Pro Gln Pro Ala 215 220 225 230	967	20
GAA ACC CAC CCT ACG ACA CTG CAG GGA GCA ATA AGG AGA GAA CCC ACC Glu Thr His Pro Thr Thr Leu Gln Gly Ala Ile Arg Arg Glu Pro Thr 235 240 245	1015	
AGC TCA CCA TTG TAC TCT TAC ACA ACA GAT GGG AAT GAC ACC GTG ACA Ser Ser Pro Leu Tyr Ser Tyr Thr Thr Asp Gly Asn Asp Thr Val Thr 250 255 260	1063	
GAG TCT TCA GAT GGC CTT TGG AAT AAC AAT CAA ACT CAA CTG TTC CTA Glu Ser Ser Asp Gly Leu Trp Asn Asn Asn Gln Thr Gln Leu Phe Leu 265 270 275	1111	30
GAA CAT AGT CTA CTG ACG GCC AAT ACC ACT AAA GGA ATC TAT GCT GGA Glu His Ser Leu Leu Thr Ala Asn Thr Thr Lys Gly Ile Tyr Ala Gly 280 285 290	1159	
GTC TGT ATT TCT GTC TTG GTG CTT CTT GCT CTT TTG GGT GTC ATC ATT Val Cys Ile Ser Val Leu Val Leu Leu Ala Leu Leu Gly Val Ile Ile 295 300 305 310	1207	
GCC AAA AAG TAT TTC TTC AAA AAG GAG GTT CAA CAA CTA AGA CCC CAT Ala Lys Lys Tyr Phe Phe Lys Lys Glu Val Gln Gln Leu Arg Pro His 315 320 325	1255	
AAA TCC TGT ATA CAT CAA AGA GAA TAGTCCCTGG AACATAGCA AATGAAC TTC Lys Ser Cys Ile His Gln Arg Glu 330	1309	40

【0 1 2 8】

【数 1 6】

TATCTTGGCC ATCACAGCTG TCCAGAAGAG GGAATCTGT CTTAAAAACC AGCAAATCCA 1369
 ACGTGAGACT TCATTGGAA GCATTGTATG ATTATCTCTT GTTCTATGT TATACTTCCA 1429
 AATGTTGCAT TTCCTATGTT TTCCAAAGGT TTCAAATCGT GGGTTTTTAT TTCCTCCGTG 1489
 GGGAAACAAA GTGAGTCTAA CTCACAGGTT TAGCTGTTTT CTCATAACTC TGGAAATGTG 1549
 ATGCATTAAG TACTGGATCT CTGAATTGGG GTAGCTGTTT TACCAGTTAA AGAGCCTACA 1609
 ATAGTATGGA ACACATAGAC ACCAGGGGAA GAAAATCATT TGCCAGGTGA TTAAACATAT 1669
 TTATGCAATT TTTTTTTTTT TTTTGAGAT GGAGCTTTC TCTTGTTGCC CAGGCTGGAG 1729
 TGCATGGTG AAATCTCGGC TCACTGTAAC CTCCACCTTC CGGGTCAAG CAATTCTCCC 1789
 GTCGAC 1795

10

(2) 配列番号 7 の情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 長さ: 334 アミノ酸

(B) 型: アミノ酸

(D) トポロジー: 直鎖状

20

(ii) 配列の種類: タンパク質

(xi) 配列: 配列番号 7:

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

30

40

【0 1 2 9】

【数 1 7】

Val Thr Thr Thr Pro Ile Val Thr Thr Val Pro Thr Val Thr Thr Val
 130 135 140
 Arg Thr Ser Thr Thr Val Pro Thr Thr Thr Thr Val Pro Thr Thr Thr
 145 150 155 160
 Val Pro Thr Thr Met Ser Ile Pro Thr Thr Thr Thr Val Pro Thr Thr
 165 170 175
 Met Thr Val Ser Thr Thr Thr Ser Val Pro Thr Thr Thr Ser Ile Pro
 180 185 190
 Thr Thr Thr Ser Val Pro Val Thr Thr Thr Val Ser Thr Phe Val Pro
 195 200 205
 Pro Met Pro Leu Pro Arg Gln Asn His Glu Pro Val Ala Thr Ser Pro
 210 215 220
 Ser Ser Pro Gln Pro Ala Glu Thr His Pro Thr Thr Leu Gln Gly Ala
 225 230 235 240
 Ile Arg Arg Glu Pro Thr Ser Ser Pro Leu Tyr Ser Tyr Thr Thr Asp
 245 250 255
 Gly Asn Asp Thr Val Thr Glu Ser Ser Asp Gly Leu Trp Asn Asn Asn
 260 265 270
 Gln Thr Gln Leu Phe Leu Glu His Ser Leu Leu Thr Ala Asn Thr Thr
 275 280 285
 Lys Gly Ile Tyr Ala Gly Val Cys Ile Ser Val Leu Val Leu Leu Ala
 290 295 300
 Leu Leu Gly Val Ile Ile Ala Lys Lys Tyr Phe Phe Lys Lys Glu Val
 305 310 315 320
 Gln Gln Leu Arg Pro His Lys Ser Cys Ile His Gln Arg Glu
 325 330

10

20

【図 1 - 1】

```

1  GCGGCCGCGTCGACGGTGCTGTGAGTAAATAGATCAGGGTCTCCTTCAC  50
51 AGCACATCTCTCCAGGAAGCCGAGCAAAATAGTGCTATTTTACCCAGGA  100
101 GGAATCTAGTGTAGAGAGCTCTACGGATCTAAGGTTGGATCTGTACC  150
151 CAGTGCTTTTGTAGTGTCTTTAGACATTTCTCAGGAAGATGTAGTCTCT  200
201 GTCACCATGTGTGGCTGAATCTAGCTCAGTCCATCTTATGTGTTAAG  250
251 GTAGTTGAAGTTTAGGAACCAACAGTATGTCTCTGAGCAGAAGAGTACA  300
301 GTGTCCATCTTGAGGACAAGCTCATCTTTACCATTAGAGGGCTGGCCTTG  350
351 GCTTAGATTCTACCCAGAACATATCTCTAATGGCTGCCCTCAGTTTTCT  400
401 CTGTTTGCTCTCTTATTGTGTGTCATGGCCAGAGTCATATGGATGGCTCT  450
451 ATGTGAGCAAGGACCCAGATAGAAAGATGTATTTGGGGAAACAGGTTGCC  500
501 CTAACAGAGAGTCTGTGGGATTCATGCAAGTCAGGATGAAGACCTGATCA  550
551 GACAGAGTGTGTGAGTCCACGGCTAACAGAGTGACTTGTCACTGTCC  600
601 TTCAGSTCAACCCATGGTTCAACTTCAAGTCTTCAATTCAGGCTCCTG  650
    M V Q L Q V F I S G L L
651 CTGCTTCTTCCAGGCTCTGTAGATTCTTATGAAGTAGTGAAGGGGTTGGT  700
    L L L P G S V D S Y E V V K G V V
701 GGGTCAACCTGTGACAAATCCATGTACTTACTCAACAGTGGAGGAATCA  750
    G H P V T I P C T Y S T R G G I T
751 CAACGACATGTTGGGGCCGGGGCAATGCCATATTTCTAGTTGTCAAAAT  800
    T T C W G R G Q C P Y S S C Q N
801 ATACTTATTTGGACCAATGGATACCAAGTACCTATCGGAGCAGCGGTG  850
    I L I W T N G Y Q V T Y R S S G R
851 ATACAACATAAAGGGGCGTATTTAGAAGGAGACGTATCCTTGACAATAG  900
    Y N I K G R I S E G D V S L T I E
901 AGAAGTCTGTGTATAGTGTATGTGTGTATGTTGCGGAGTGGAGATT  950
    N S V D S D S G L Y C C R V E I
951 CCTGGATGGTTCAACGATCAGAAAATGACCTTTTCATTGGAAGTTAAAC  1000
    F G W F N D Q K M T F S L E V K P
1001 AGAAATCCCAAGTCTCTCAACAAGACCCACAATACAAGACCCACAA  1050
    E I P T S P P T R P T T T T R P T T
1051 CCACAAGGCCACAACTATTTCAACAAGATCCACACATGTACCAACATCA  1100
    T R P T T I S T R S T H V P T S

```

FIG. 1a

【図 1 - 2】

```

1101 ACCAGAGTCTCCACCTCTACTCCAACACCAGAACAAACAGACTCACAA  1150
    T R V S T S T P T P E Q T Q T H K
1151 ACCAGAAATCACTACATTTTATGCCCATGAGACAACTGCTCAGGTGACAG  1200
    P E I T T F Y A H E T T A E V T E
1201 AAACCTCCATCATATACTCCTGCAGACTGGAATGGCACTGTGACATCCTCA  1250
    T P S Y T P A D W N G T V T S S
1251 GAGGAGGCTTGAATAATCACACTGTAAAGATCCCTTTGAGGAAGCCGCA  1300
    E E A W N N H T V R I P L R K P Q
1301 GAGAAACCCGACTAAGGCTTCTATGTGTGGCATGTCCGTGCGCCCTGC  1350
    R N P T K G F Y V G M S V A A L L
1351 TGCTGCTGCTGCTTGCAGCACCCTGGTGTGTCACAGGTACATCATATA  1400
    L L L L A S T V V V T R Y I I I
1401 AGAAGAAGATGGGCTCTCTGAGCTTTGTGCTCTTCCATGTCTCTAAGAG  1450
    R K K M G S L S F V A F H V S K S
1451 TAGAGCTTTGCAGAACGAGCGATTGTGTCATCCCGAGCTGAAGACAACA  1500
    R A L Q N A A I V H F R A E D N I
1501 TCTACATTATTGAAGATAGATCTCGAGGTGCAGAAATGAGTCCGAGAGCC  1550
    Y I I E D R S R G A E
1551 TTCTGTGGGGCTTCTGCTGGGATACAGAGATCGTGACTGATTTCACA  1600
1601 GAGTAAATACCCATTCAGCTCCTGGGAGATTGTGTTTGGTTCTCTC  1650
1651 CAGCTGCAGTGGAGAGGGTAACCTCTACCTCTGATATGCAAACTCGAG  1700
1701 GTTAACATCACTAATTTCTGTATCAGCAACACCTCAGTGTCTCCACTC  1750
1751 ACTGCAGCGATTCTCTCAAATGTGAACATTTTGAAGTTTGTGTTTCCCT  1800
1801 TTGTCCATGTATCATTTGGTAATACAAGAAATTTATCTGTTTATTAATA  1850
1851 CCATTAAATGAGAGGGGAATAGAAATTAAGAAGTGTGGGAAGGGCTCCT  1900
1901 GAATTAGAAAGCACTTCATGATTGTGTTTATCTCTTTTATTAATTTGA  1950
1951 AATGTTACTTCTATCCTTCCCAAGGGGCAAAATCATGGGAGCATGGAGGT  2000
2001 TTTAATTGCCCTCATAGATAAGTAGAAGAGAGAGTCTAATGCCACCAAT  2050
2051 AGAGGTGGTTATGCTTTCTCAGAGCTCTGGAATATGATCATTTATTATG  2100
2101 CAGTTGATCTTAGGATGAGGATGGGTTCTTAGGAGGAGAGGTTACCATG  2150
2151 GTGAGTGGACAGGCACACATCAGGGGAAGAAACAATGGATCAAGGGAT  2200
2201 TGAGTTCAATAGAGCATTTTCCACTCCACTCTGCTGTGATGCTCAGTGT  2250
2251 TCCTAAACTCACCCACTGAGCTCTGAATTAGGTGCAGGGAGGAGACGTGC  2300

```

FIG. 1b

【図 1 - 3】

```

2301 AGAAAAGAAAGAGGAAAGAAAGGAGAGAGAGCAGGACACAGGCTTCTGC  2350
2351 TGAGAGAAAGTCTTATTTGAGGTTGACAGTGTGTTGGGACTACCAAGGTT  2400
2401 TCCTTCAGACTCTAAGTTTCTAAATCACTATCATGTGATCATATTTATT  2450
2451 TTTAAATTTATTTAGAAAGACACACATTTTCAATAATAATCAGTTTG  2500
2501 TCACAATTAATAAATATTTTGTGTTGCTAAGTAAGTAAAAAAGAAAAA  2550
2551 AAGTCGACGCGCCGC  2566

```

FIG. 1c

【図 2 - 1】

```

1  GCGGCCGCGTCGACGGTGCTGTGAGTAAATAGATCAGGGTCTCCTTCAC  50
51 AGCACATCTCTCCAGGAAGCCGAGCAAAATAGTGCTATTTTACCCAGGA  100
101 GGAATCTAGTGTAGAGAGCTCTACGGATCTAAGGTTCAACACCATGTT  150
    M V
151 CAACCTCAAGTCTTCAATTTAGGCTCTCTGCTCTCTTCCAGGCTCTGT  200
    Q L Q V F I S G L L L L L P G S V
201 AGATTCTTATGAAGTAGTGAAGGGGCTGGTGGGTCAACCTGTCAATTC  250
    D S Y E V V K G V V G H P V T I P
251 CATGTACTTACTCAACACGTGGAGGAATCACAACGACATGTTGGGCGCG  300
    C T Y S T R G G I T T T C W G R
301 GGGCAATGCCATATTTCTAGTTGTCAAAATATACTTATTTGGACCAATGG  350
    G Q C P Y S S C Q N I L I W T N G
351 ATACCAAGTCACTATCGGAGCAGCGGTGATACAACATAAAGGGGCGTA  400
    Y Q V T Y R S S G R Y N I K G R I
401 TTTAGAGAGGAGCTATCCTTGACATAGAGACTCTGTTGATAGTGAT  450
    S E G D V S L T I E N S V D S D
451 AGTGGTCTGTATTGTTGCGAGTGGAGATCTCTGGATGGTTCAACGATCA  500
    S G L Y C C R V E I P G W F N D Q
501 GAAATGACCTTTTTCATTGGAAGTTAAACAGAAATTTCCCAAGTCTCT  550
    K M T F S L E V K P E I P T S P P
551 CAACAAGACCCCACTACAAGACCCCAACCAAGGCCCACTATTT  600
    T R P T T T R P T T T R P T T I
601 TCAACAAGATCCACATGTACCAACATCAACAGAGTCTCCACCTCTAC  650
    S T R S T H V P T S T R V S T S T
651 TCCAACACAGAACAAACACAGACTCACAACAGAAATCACTACATTTT  700
    P T P E Q T Q T H K P E I T T F Y
701 ATGCCCATGAGCAACTGCTGAGTGACAGAACTCATCATATACTCTCT  750
    A H E T T A E V T E T P S Y T P
751 GCAGACTGGAATGGCACTGTGACATCTCAGAGGAGGCTGGAATAATCA  800
    A D W N G T V T S S E E A W N N H
801 CACTGTAAGAAATCCCTTTGAGGAAGCCGAGAGAAACCCGACTAAGGGT  850
    T V R I P L R K F Q R N P T K G F
851 TCTATGTTGGCATGTCCGTTGAGCCCTGCTGCTGCTGCTGCTGCGAGC  900
    Y V G M S V A A L L L L L A S
901 ACCGTGGTTGTCAACAGGTACATCATTATAGAAGAAAGATGGCTCTCT  950
    T V V V T R Y I I I R K K M G S L

```

FIG. 2a

【 図 2 - 2 】

951 GAGCTTTGTGCTTCCATGTCTCTAAGAGTAGAGCTTTGCAGAACGCAG 1000
S F V A F H V S K S R A L Q N A A
1001 CGATTGTGCATCCCGAGCTGAAGACAACATCTACATTATTGAAGATAGA 1050
I V H P R A E D N I Y I I E D R
1051 TCTCGAGGTGCAGAAATGAGTCCAGAGGCCCTTCTGTGGGCTTCTGCCT 1100
S R G A E
1101 GGGATTACAGAGATCGTACTGATTTACAGAGTAAATACCCATTCCAG 1150
1151 CTCCTGGGAGATTTTGTGTTTGTGTTCTTCAGCTGAGTGGAGAGGGA 1200
1201 ACCCTCTACCTGTATATGCAAACTCGAGGTTAACATCATCTAATTCT 1250
1251 TGTATCAGCAACACCTCAGTGTCTCCACTCACTGCAGCGATTCTCTCAA 1300
1301 TGTGAACATTTTAGAAGTTTGTGTTTCCCTTTTGTCCATGTAATCATTGGT 1350
1351 AATACAGAATTTTATCTTTTATTAAACCATTAATGAGAGGGGAATA 1400
1401 GGAATTAAAGCTGGTGGGAAGGCCCTCTGAATTTAGAAGCACTTCATG 1450
1451 ATTGTGTTTATCTCTTTTATGTAAATTTGAAATGTTACTTCTATCCTTCC 1500
1501 CAAGGGGCAAAATCATGGGAGCATGGAGGTTTAAATTGCCCTCATAGATA 1550
1551 AGTAGAAGAAGAGAGTCTAATGCCCAATAGAGGTGGTTATGCTTTCTC 1600
1601 ACAGCTCTGGAATATGATCATTATTATGTCAGTTGATCTTAGGATGAGG 1650
1651 ATGGGTTTCTTAGGAGGAGAGGTTACCATGTGGTGGAGCAGGCACACA 1700
1701 TCAGGGGAGAAAACAATGGATCAAGGATTTAGATTCATTAGAGCCATTT 1750
1751 CCACCTCCACTTCTGTCTGTGATGCTCAGTGTTCCTAACTCACCACCTGAG 1800
1801 CTCTGAATTTAGGTGAGGAGGAGAGCTGCAGAAACGAAAGGAGAAAGA 1850
1851 AGGAGAGAGAGCAGGACACAGGCTTTCTGCTGAGAGAAGTCTATTGCAG 1900
1901 GTGTGACAGTGTTTGGGACTACACGGGTTTCCCTCAGACTTCTAAGTTT 1950
1951 CTAAATCACTATCATGTGATCATATTTATTTTAAATTTATTCAGAAG 2000
2001 ACACCACATTTTCAATAAATAACAGTTTGTGCACAATTAATAAATATTT 2050
2051 TGTTTGCTAAGAAGTAAAGTGCAGCGCGCCG 2084

FIG. 2b

【 図 3 - 1 】

1 GCGGCCGCGTTCGACTCGCAGGAGGCCGCACTCTGACTCTGGTGGATGG 50
51 GACTAGGGAGTCAGAGTCAAGCCCTGACTGGCTGAGGGCGGCGCTCCGA 100
101 GTCAGCATGGAAGTCTCTGCGGGTCTCTGATTTCTGCTGCTGGCTGC 150
M E S L C G V L V F L L L A A
151 AGGACTGCCGCTCCAGGGCGGCAAGCGGTTCCGTGATGTGCTGGGCCATG 200
G L P L Q A A K R F R D V L G H E
201 AGCAGTATCCGGATCACATGAGGAGACAACCAATTACGTGGCTGGTCT 250
Q Y P D H M R E N N Q L R G W S
251 TCAGATGAAAATGAATGGGATGAACAGCTGTATCCAGTGTGGAGGAGGG 300
S D E N E W D E Q L Y P V W R R G
301 AGAGGGCAGATGGAAGGACTCCTGGGAAGGAGGCCGTGTGACAGGAGCCC 350
E G R W K D S W E G G R V Q A A L
351 TAACCACTGATTCACCGGCTTGGTGGGTTCCAATATCACTTCTGATAGT 400
T S D S P A L V G S N I T F V V
401 AACCTGGTGTTCCTCCAGATGCCAGAAGGAAGTGCACGGCAATATCGT 450
N L V F P R C Q K E D A N G N I V
451 CTATGAGAGGAATGCAGAGTGTATTTGGAGCTGGCTTCTGACCCGTATG 500
Y E R N C R S D L E L A S D P Y V
501 TCTACAACCTGGACACAGGGGAGAGATGAGGACTGGGAAGACAGCACC 550
Y N W T T G A D D E D W E D S T
551 AGCCAGGCGCAGCACTCAGGTTCCCGAGCGGAGGCCCTTCCCTCGCCC 600
S Q G Q H L R F P D G K F P F R P
601 CCACGGACGGAAGAAATGGAATCTGCTGAGTCTTCCACACACTTGGTC 650
H G R K K W N F V Y V F H T L G Q
651 AGTATTTTCAAAAGCTGGTGGTGTTCAGCAGAGTTTCTATAAACACA 700
Y F Q K L G R C S A R V S I N T
701 GTCACCTTGACAGTTGGCCCTCAGGTCATGGAAGTGTGTCTTTCGAAG 750
V N L T V G P Q V M E V I V F R R
751 ACACGGCCGGCAGTACATTCCTCTCCTCAAGTGAAGACGCTGATGTGA 800
H G R A Y I P I S K V K D V Y V I
801 TAACAGATCAGATCCCTATATTCGTGACCATGTACAGAGAAGTACCCGG 850
T D Q I P I F V T M Y Q K N D R
851 AACTCGTCTGATGAACCTTCTCAGAGACTCCCATTTTCTTCGATGT 900
N S S D E T F L R D L P I F F D V
901 CCTCATTCAGATCCAGTCACTTCTCACTACTCTGCACTTCTCTACA 950
L I H D P S H F L N Y S A I S Y K

FIG. 3a

【 図 3 - 2 】

951 AGTGGAACTTTGGGACAACACTGGCCGTTTGTCTCAACAATCACACT 1000
W N F G D N T G L F V S N N H T
1001 TTGAATCAGACGATGTGCTCAATGGAACCTTCAACTTTAACTCACCGT 1050
L N H T Y V L N G T F N F N L T V
1051 GCAAACTGCAAGTCCCGGACGATGCCCTCACCCACACCTTGCCTTCTT 1100
Q T A V P G P C P S P T P S P S S
1101 CTTGCACTTCTCCTTCCGCTGATCTTGCCTTCACCCACATATCAACA 1150
S T S P S P A S S P S P T L S T
1151 CCTAGTCCCTCTTTAATGCTTACGACCAATCCATGGAGCTGAGTGA 1200
P S P S L M P T G H K S M E L S D
1201 CATTCCCAATGAAAAGTCCGAATAAAGAGATATGGTTACTTCAGAGCCA 1250
I S N E N C R I N R Y G Y F R A T
1251 CCATCACAAATGTAGATGGAATCTAGAAGTCAACATCATCCAGGTAGCA 1300
I T I V D G I L E V N I I Q V A
1301 GATGTCCTCAATCCCAACCGCAGCCTGACAACTCACTGATGGACTTCAT 1350
D V P I F T P Q P D N S L M D F
1351 TGTGACCTGCAAGGGGCACTCCACGGAAGCCTGTACGATCATCTCTG 1400
V T C K G A T P T E A C T I I S D
1401 ACCCACTGCCAGATCGCCAGAACAGGCTGTGCAGCCGGTGGCTGTG 1450
P T C Q I A Q N R V C S P V A V
1451 GATGAGCTGTGCTCCTGCTGAGGAGCCCTCAATGGGTCCGACAC 1500
D E L C L L S V R R A F N G S G T
1501 GTACTGTGTGAATTTCACTCTGGGAGAGGATGAAGCCTGGCCCTCACCA 1550
Y C V N F T L G D D A S L A L T S
1551 GCGCCCTGATCTCTATCCCTGGCAAGACCTAGGCTCCCTCTGAGAACA 1600
A L I S I P G K D L G S P L R T
1601 GTGAATGGTGTCTGATCTCCATTGGCTGCGCTGGCCATGTTTGTCAACAT 1650
V N G V L I S I G C L A M P V T M
1651 GGTACCATCTTGTCTGTAACAAAACACAAGAGCTACAAGCCAATAGGAA 1700
V T I L L Y K K H K T Y K P I G N
1701 ACTGCACCAAGGAACGTGGTCAAGGGCAAGGCCCTGAGTGTCTTCTCAGC 1750
C T R N V V K G K G L S V F L S
1751 CATGCAAGGCCCTTCTCCCGAGGAGACCGGAGAGGATCCACTGTCT 1800
H A K A P F S R G D R E K D P L L
1801 CCAGGACAAGCATGGATGCTTAAGTCTTCACTCTCACTTCTGACTGGG 1850
Q D K P W M L
1851 AACCCACTCTTCTGTGATGTATGTGAGCTGTGAGAAGTACATGACTGG 1900

FIG. 3b

【 図 3 - 3 】

1901 TAGCTGTTGTTTCTACGGATTATGTAAATGTATATCATGGTTTAGGG 1950
1951 AGCGTAGTTAATTGGCATTTTAGTGAAGGGATGGGAAGCAGTATTTCIT 2000
2001 CACATCTGTATTGTGTTTATATCTGTTAATAGGGTGGGCACATTGTGT 2050
2051 CTGAAGGGGAGGGGAGGTCTGCTACTTAAAGTCTAGGTTAACTGG 2100
2101 GAGAGGATGCCCCAGGCTCCTTAGATTCTCACACAAGATGTGCTGAACC 2150
2151 CAGCTAGTCTGACCTAAGGCCATGCTTCATCACTCTATCTCAGCTCA 2200
2201 TTGAACATACCTGAGCACCTGATGGAATTAATAGGAACCAAGCTTGTG 2250
2251 TATGGTGTGTGTGTACATAAGATACTCATTAAGAGACAGCTCTATTAA 2300
2301 AAA 2303

FIG. 3c

【 図 4 - 1 】

```

1  ATGCATCCTCAAGTGGTCATCTTAAGCCTCATCCTACATCTGGCAGATTC  50
   M H P Q V V I L S L I L H L A D S
51  TGTAGCTGGTTCTGTAAAGGTTGGTGGAGAGCGAGTCCATCTGTACAC  100
   V A G S V K V G G E A G P S V T L
101 TACCTGCCACTACAGTGGAGCTGTGCATCAATGTGCTGGAATAGAGGC  150
   P C H Y S G A V T S M C W N R G
151 TCATGTTCTCTATTACATGCCAAATGGCATTGTCTGGACCAATGGAAC  200
   S C S L F T C Q N G I V W T N G T
201 CCACGTCACTATCGGAAGGACACACGCTATAAGCTATTGGGGACCTTT  250
   H V T Y R K D T R Y K L L G D L S
251 CAAGAAGGGATGCTCTCTTTGACCATAGAAAATACAGCTGTCTGACAGT  300
   R R D V S L T I E N T A V S D S
301 GCGGTATATTGTTGCGGTGTGAGCACCGTGGTGGTTCAATGACATGAA  350
   G V Y C C R V E H R G W F N D M K
351 AATCACCGTATCATTTGGAGATTGTGCCACCCAAGTACGACTACTCCAA  400
   I T V S L E I V P P K V T T T P I
401 TTGTCACAACGTGTTCCAACCGTCACGACTGTTTCAACGAGCACCAGTGT  450
   V T T V P T V T T V R T S T T V
451 CCAACGACAACGACTGTTTCCAACGACAACGTGTTCCAACAACAATGAGCAT  500
   P T T T T V P T T T V P T T M S I
501 TCCAACGACAACGACTGTTTCCGACGACAATGACTGTTTCAACGACAACGA  550
   P T T T T V P T T M T V S T T T S
551 GCGTTCCAACGACAACGAGCATTTCCAACAACAACGAGTGTCCAGTGACA  600
   V P T T T S I P T T T S V P V T
601 ACAACGGTCTCTACCTTTGTTCTCCATGCTTGGCCAGGCGAGAACCA  650
   T T V S T F V P P M P L P R Q N H
651 TGAACCACTAGCCACTTCACCATCTTCACTCAGCCAGCAGAAACCCACC  700
   E P V A T S P S P Q P A E T H P
701 CTACGACACTGCAGGGAGCAATAAGGAGAGAACCCACGAGTCAACATTG  750
   T T L Q G A I R R E P T S S P L
751 TACTCTTACACAACAGATGGGAATGACACCGTGACAGAGTCTTCAGATGG  800
   Y S Y T T D G N D T V T E S S D G
801 CCTTTGGAATAACAATCAAACTCACTGTCTCTAGAACATAGTCTACTGA  850
   L W N N N Q T Q L F L E H S L L T
851 CGGCCAATACCACTAAAGGAATCTATGCTGGAGTCTGTATTTCTGCTTGG  900
   A N T T K G I Y A G V C I S V L

```

FIG. 4a

【 図 4 - 2 】

```

901 GTGCTTCTTGGCTCTTTTGGGTGTGCATCATTTGCCAAAAAGTATTTCTTCAA  950
   V L L A L L G V I I A K K Y F F K
951 AAAGGAGGTTCAACAACTAAGACCCCATAAATCTGTATACATCAAAGAG  1000
   K E V Q Q L R P H K S C I H Q R E
1001 AA 1002

```

FIG. 4b

【 図 5 】

```

1  MHPQVILSLILHLADSVAGSVKVGGEAGPSVTLPCCHYS..GAVTSMCWN  48
   : : | | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : |
2  VQLQVFISGLLLLLPGSVDSYEVVKGVVGHPTIPICTYSTRCGITTTCWG  51
   : : | | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : |
49  RGSCSLFTCONGIWINGTHVTYRKDTRYKLLGDLRRDVSILTIENTAVS  98
   | | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : |
52  RGQCPYSSCONILIWTNGYQVITYRSSGRYNIKGRISEGDSVSLTIENSVD  101
   : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : |
99  DSGVYCCRVEHGRWFNDMKITVSLEIVPPKVTTTPIVTTVPTVTVTRTST  148
   | | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : |
102  DSGLYCCRVEIPGWFDQKMTFSLEVKP.....EIPTSP  135
   : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : |
149  TVPTTTTVPTTIVPTTMSIPTTTTVPTTMTVSTTTVPITTSIPTTTTSP  198
   . . : | | : | | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : |
136  PTRPTTTTPTTTRPTTIS.....TRSTHVPTSTRVSTSTPTPEQTQTHKP  180
   : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : |
199  VTTTVSTFVPPMPLPRQNHEPVATSPSSPQPAETHPTTLQGAIRREPTSS  248
   : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : |
181  EITTFYA.....HETTAEVTETP.....  198
   : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : |
249  PLYSYTTDGNDTVIESSDGLWNNNQTLFLEHSLLTANTTKGIYAGVCIIS  298
   | | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : |
199  ...SYTPADWNGTIVTSSEEAWNNHTVRIPLRKP..QRNPTKGFYVGMMSVA  243
   : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : |
299  VLVLLALLGVIIAKKY..FFKKEVQQLR.....PHKSCIHQRE  334
   : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : |
244  ALLLLLLASTVVVTVRIIRKKMGSLSFVAFHVSKSRALQNAAIHVHRA  292
   : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : |

```

FIG. 5

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 13/12 (2006.01)		A 6 1 P 13/12	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)		C 1 2 P 21/08	

(74)代理人 100062409

弁理士 安村 高明

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(72)発明者 ミシェル サニコラ - ナデル

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 8 9 0 , ウィンチェスター , メイプル ロード 4

(72)発明者 ジョセフ ブイ . ボンベントレ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 7 7 8 , ウェイランド , ポストン ポスト ロード
1 0 1

(72)発明者 キャサリン エイ . ヘシオン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 0 4 3 , ヒングハム , オティス ヒル ロード 3
5

(72)発明者 市村 隆治

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 8 , ケンブリッジ , ブラッドバリー ストリー
ト 3 2

(72)発明者 ヘンリー ウェイ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2 , ニュートン , ファーウェル ストリート
6 2

(72)発明者 リチャード エル . カテ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 9 3 , ウェストン , アロウヘッド ロード 6 4

F ターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA53 BA80 CA02 CA07 HA01 HA15

4B064 AG27 AG31 CA19 CC24 DA01 DA13

4B065 AA90 AB02 CA25 CA44 CA46

4C085 AA14 CC23

4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA41 CA44 DA50 DA76 DA86 EA26

EA54 FA74

专利名称(译)	组织再生调节剂		
公开(公告)号	JP2008067701A	公开(公告)日	2008-03-27
申请号	JP2007236021	申请日	2007-09-11
[标]申请(专利权)人(译)	总医院集团		
申请(专利权)人(译)	Biogen Idec公司 , Emuei公司 总医院集团		
[标]发明人	ミシェルサニコラナデル ジョセフブイボンベントレ キャサリンエイヘシオン 市村隆治 ヘンリーウェイ リチャードエルカテ		
发明人	ミシェル サニコラ-ナデル ジョセフ ブイ. ボンベントレ キャサリン エイ. ヘシオン 市村 隆治 ヘンリー ウェイ リチャード エル. カテ		
IPC分类号	C12N15/09 C07K14/47 C07K16/18 C12N5/10 A61K39/395 A61P13/12 C12P21/08 G01N33/53 A61K31/711 A61K38/00 A61K38/16 A61K48/00 A61K49/00 A61K51/00 C07K14/705 C07K16/28 C12N1/21 C12N5/12 C12N15/00 C12N15/12 C12N15/62 C12P21/02 C12Q1/68 G01N33/50		
CPC分类号	A61K38/00 A61K47/6849 A61K48/00 A61K51/1027 A61P13/12 C07K14/47 C07K14/705 C07K16/2803 C07K2319/00 C07K2319/30 G01N33/5082		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K14/47 C07K16/18 C12N5/00.B A61K39/395.V A61P13/12 C12P21/08 C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N5/00.102 C12N5/12		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA53 4B024/BA80 4B024/CA02 4B024/CA07 4B024/HA01 4B024/HA15 4B064/AG27 4B064/AG31 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA90 4B065/AB02 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C085/AA14 4C085/CC23 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA41 4H045/CA44 4H045/DA50 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA26 4H045/EA54 4H045/FA74		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	60/018228 1996-05-24 US 60/023442 1996-08-23 US		
其他公开文献	JP4316640B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供在受损或再生组织中上调的蛋白质，编码这些蛋白质的DNA以及治疗组合物。 肾损伤分子 (KIM) ，它是一种具有特定氨基酸序列的多肽，在衍生多肽的氨基酸序列中具有一个或多个氨基酸缺失，取代和/或添加，具有多肽活性的可溶性变体。 同样，编码那些多肽的核酸。 此外，与多肽结合的抗体。 [选择图]无

Int.Cl.		F I		テーマコード (参
C 1 2 N 15/09 (2006.01)		C 1 2 N 15/00	Z N A A	4 B O 2 4
C O 7 K 14/47 (2006.01)		C O 7 K 14/47		4 B O 6 4
C O 7 K 16/18 (2006.01)		C O 7 K 16/18		4 B O 6 5
C 1 2 N 5/10 (2006.01)		C 1 2 N 5/00	B	4 C O 8 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)		A 6 1 K 39/395	V	4 H O 4 5
審査請求 有 請求項の数 9 O L (全 45 頁) 最終				

出願番号	特願2007-236021 (P2007-236021)	(71) 出願人	592221528
出願日	平成19年9月11日 (2007. 9. 11)		バイオジェン・アイデック・エムコ
分割の表示	特願平9-542986の分割		ンコーボレイテッド
原出願日	平成9年5月23日 (1997. 5. 23)		アメリカ合衆国、マサチューセッ
優先権主張番号	60/018, 228		1 4 2、ケンブリッジ、ケンブリッ
優先日	平成8年5月24日 (1996. 5. 24)		ンター 1 4
優先権主張国	米国 (US)	(71) 出願人	592017633
優先権主張番号	60/023, 442		ザ ジェネラル ホスピタル コー
優先日	平成8年8月23日 (1996. 8. 23)		ション
優先権主張国	米国 (US)		アメリカ合衆国、マサチューセッ
			1 1 4, ボストン, フルーツ
			ート 5 5
		(74) 代理人	100078282
			弁理士 山本 秀策