(19)日本国特許庁（ＪＰ）　(12) **公表特許公報**（Ａ）　(11)特許出願公表番号

特表2002－543840
(P2002－543840A)

(43)公表日 平成14年12月24日(2002.12.24)

(51)Int.Cl[7]	識別記号	ＦＩ	テーマコード（参考）
C 12 N 15/09	ZNA	A 01 K 67/027	2G045
A 01 K 67/027		A 61 K 45/00	4B024
A 61 K 38/00		A 61 P 1/00	4B063
45/00		15/00	4B064
A 61 P 1/00		25/00	4B065

審査請求　未請求　予備審査請求（全150数）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2000－618455(P2000－618455)

(86)(22)出願日　平成12年5月19日(2000.5.19)
(85)翻訳文提出日　平成13年11月19日(2001.11.19)
(86)国際出願番号　PCT/US00/13975
(87)国際公開番号　WO00/70049
(87)国際公開日　平成12年11月23日(2000.11.23)
(31)優先権主張番号　60/134,949
(32)優先日　平成11年5月19日(1999.5.19)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/144,270
(32)優先日　平成11年7月15日(1999.7.15)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　インサイト・ゲノミックス・インコーポレイテッド
アメリカ合衆国カリフォルニア州94304・パロアルト・ポータードライブ　3160
(72)発明者　タング、ワイ・トム
アメリカ合衆国カリフォルニア州95118・サンノゼ・ランウィックコート　4230
(72)発明者　ユエ、ヘンリー
アメリカ合衆国カリフォルニア州94087・サニーベイル・ルイスアベニュー　826
(74)代理人　弁理士　大島　陽一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　細胞外シグナル伝達分子

(57)【要約】
本発明は、ヒト細胞外シグナル伝達分子（EXCS）と、EXCSを同定及びコードするポリヌクレオチドとを提供する。本発明はまた、発現ベクター及び宿主細胞、抗体、アゴニスト、アンタゴニストを提供する。更に、本発明は、EXCSの発現に関連する疾患の診断方法、治療方法及び予防方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項１】　単離されたポリペプチドであって、

ａ）SEQ ID NO:1乃至SEQ ID NO:26（SEQ ID NO:1－26）からなる一群から選択されたアミノ酸配列と、

ｂ）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列と少なくとも９０％の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列と、

ｃ）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片と、

ｄ）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片とで構成される一群から選択されたアミノ酸配列を含むことを特徴とする単離されたポリペプチド。

【請求項２】　SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択された請求項１の単離されたポリペプチド。

【請求項３】　請求項１のポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチド。

【請求項４】　SEQ ID NO:27－52からなる一群から選択された請求項３の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項５】　請求項３のポリヌクレオチドに機能的に結合されたプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチド。

【請求項６】　請求項５の組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞。

【請求項７】　請求項５の組換えポリヌクレオチドを含む遺伝子組換え生物。

【請求項８】　請求項１のポリペプチドを作製する方法であって、

ａ）前記ポリペプチドの発現に好適な条件の下で、請求項１のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに機能的に結合されたプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞を培養するステップと、

ｂ）そのように発現したポリペプチドを回収するステップとを含むことを特徴とする請求項１のポリペプチドの作製方法。

【請求項９】　　請求項１のポリペプチドに特異的に結合する単離された抗体。

【請求項１０】　　単離されたポリヌクレオチドであって、

ａ）SEQ ID NO:27－52からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と、

ｂ）SEQ ID NO:27－52からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と少なくとも９０％の配列同一性を有する自然発生のポリヌクレオチド配列と、

ｃ）前記ａ）に相補的なポリヌクレオチド配列と、

ｄ）前記ｂ）に相補的なポリヌクレオチド配列と、

ｅ）前記ａ）－ｄ）のRNA等価物とで構成される一群から選択されたポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド。

【請求項１１】　　請求項１０のポリヌクレオチドの少なくとも６０個の連続するヌクレオチドを含む単離されたポリヌクレオチド。

【請求項１２】　　請求項１０のポリヌクレオチド配列を有するサンプル内の標的ポリヌクレオチドを検出する方法であって、

ａ）前記サンプル内の前記標的ポリヌクレオチドと相補的な配列を含む少なくとも１６個の連続するヌクレオチドを含むプローブと前記サンプルとをハイブリダイズするステップであって、前記プローブと前記標的ポリヌクレオチドとによってハイブリダイゼーション複合体が形成される条件の下で、前記プローブが前記標的ポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズする、該ステップと、

ｂ）前記ハイブリダイゼーション複合体の存在の有無を検出し、存在する場合には随意選択でその収量を測定するステップとを含むことを特徴とする標的ポリヌクレオチドの検出方法。

【請求項１３】　　前記プローブが少なくとも３０個の連続するヌクレオチドを含むことを特徴とする請求項１２に記載の方法。

【請求項１４】　　前記プローブが少なくとも６０個の連続するヌクレオチドを含むことを特徴とする請求項１２に記載の方法。

【請求項１５】　　有効量の請求項１のポリペプチド及び医薬的に容認できる賦形剤を含む医薬品組成物。

【請求項１６】　　機能的EXCS（細胞外シグナル伝達分子である精製された

ポリペプチド）の発現の低下に関連する疾患やその症状の治療方法であって、請求項１５の医薬品組成物をそのような治療が必要な患者に投与することを含むことを特徴とする治療方法。

【請求項１７】　請求項１のポリペプチドのアゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、

ａ）請求項１のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、

ｂ）前記サンプルのアゴニスト活性を検出するステップとを含むことを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項１８】　請求項１７のスクリーニング方法によって同定されたアゴニスト化合物及び医薬的に容認できる賦形剤を含む医薬品組成物。

【請求項１９】　機能的EXCSの発現の低下に関連する疾患やその症状の治療方法であって、請求項１８の医薬品組成物をそのような治療が必要な患者に投与することを含むことを特徴とする治療方法。

【請求項２０】　請求項１のポリペプチドのアンタゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、

ａ）請求項１のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、

ｂ）前記サンプルのアンタゴニスト活性を検出するステップとを含むことを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項２１】　請求項２０のスクリーニング方法によって同定されたアンタゴニスト化合物及び医薬的に容認できる賦形剤を含む医薬品組成物。

【請求項２２】　機能的EXCSの過剰な発現に関連する疾患やその症状の治療方法であって、請求項２１の医薬品組成物をそのような治療が必要な患者に投与することを含むことを特徴とする治療方法。

【請求項２３】　請求項４の配列を含む標的ポリヌクレオチドの発現量を効果的に変化させる化合物をスクリーニングする方法であって、

ａ）前記標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、

ｂ）前記標的ポリヌクレオチドの発現の変化を検出するステップとを含むことを特徴とするスクリーニング方法。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

（発明の技術分野）

本発明は、細胞外シグナル伝達分子の核酸配列及びアミノ酸配列、並びにこれらの配列を用いた感染症及び胃腸疾患、神経の疾患、生殖障害、自己免疫／炎症異常、癌を含む細胞増殖異常の診断及び治療、予防に関連する。

【０００２】

（発明の背景）

タンパク質の輸送及び分泌は必須の細胞機能である。タンパク質の輸送は、輸送される或いは分泌されるタンパク質のアミノ末端に位置するシグナルペプチドによって仲介される。このシグナルペプチドは、約１０～１２個の疎水性のアミノ酸からなり、新生タンパク質をリボソームから小胞体(ER)などの膜で囲まれたある区画にターゲッティングする。ERに輸送されたタンパク質は、分泌経路を進むか、またはERやゴルジ装置、リソソームなどの任意の分泌細胞小器官に留まる。分泌経路を進むタンパク質は、細胞外の空間に分泌されるか、或いは細胞膜に留まる。分泌されたタンパク質は、分泌経路を進む間の翻訳後プロセシングによって活性化される不活性の前駆体として合成される場合が多い。このような翻訳後プロセシングには、グリコシル化及びタンパク分解、シグナルペプチターゼによるシグナルペプチドの除去が含まれる。タンパク質の輸送中に起こり得る別のプロセシングには、新生タンパク質のシャペロン依存性のフォールディング及びアンフォールディング、このタンパク質と受容体若しくは細孔複合体との相互作用が含まれる。アミノ末端シグナルペプチドを有する分泌タンパク質の例には、受容体及び細胞外マトリックス分子、サイトカイン、ホルモン、成長及び分化因子、ニューロペプチド、血管媒介物質（vasomediator）、イオンチャネル、トランスポーター／ポンプ、プロテアーゼが含まれる。免疫細胞シグナル伝達に中心的な役割を演じるサイトカインの構造及び機能の詳細について記載されている（Alberts, B. 他 (1994) Molecular Biology of The Cell, Garland Publishing, New York, NY, pp. 557-560, 582-592.を参照）。

【０００３】

細胞内伝達は、多細胞生物の成長及び生存のため、特に、内分泌系及び神経系、免疫系にとって重要である。更に、細胞内伝達は、細胞増殖及び細胞分化、形態形成が空間的及び一時的に、正確かつ協調的に制御される組織の形成及び器官形成などの発生プロセスにとって極めて重要である。細胞は、ホルモン及び成長因子、ニューロペプチド、サイトカインなど様々なタイプのシグナル伝達分子の分泌及び取り込みによって互いに伝達しあう。

【０００４】

ホルモン

ホルモンは、胚形成から成人に至るまでの基本的な生理学的プロセスを協調的に制御するシグナル伝達分子である。これらのプロセスには、代謝及び呼吸、生殖、排泄、胎児組織分化及び器官形成、成長及び発達、恒常性、ストレス反応が含まれる。ホルモン分泌と神経系は、密接に関連し相互依存している。ホルモンは、主に視床下部及び脳下垂体、甲状腺、副甲状腺、脾臓、副腎、卵巣、精巣の内分泌腺によって分泌される。

【０００５】

ホルモンの血液への分泌は厳重に制御される。ホルモンは、拍動的かつ周期的に昼間に分泌される場合が多い。ホルモンの分泌は、血液化学における摂動、上流で作用する別のホルモン、並びに神経インパルスや負のフィードバックループによって制御される。血液のホルモンの濃度は、常に監視され、最適な安定したレベルに維持するべく調節される。ホルモンは分泌された後、特異的な受容体を発現する標的細胞にのみ作用する。

【０００６】

内分泌系の殆どの異常は、ホルモンの分泌不全若しくは過分泌の何れかによって起こる。分泌不全は、起始ホルモン腺の損傷若しくはその他の異常によって起こる場合が多い。過分泌は、ホルモン分泌細胞に由来する腫瘍の増殖から起こる場合が多い。不適当なホルモンレベルは、調節性フィードバックループ若しくはホルモン前駆体のプロセシングにおける異常によって起こり得る。内分泌異常はまた、標的細胞がホルモンに応答出来ない場合に起こり得る。

【０００７】

ホルモンは、ポリペプチド及びステロイド、エイコサノイド、アミンに生化学的に分類することができる。インスリンや成長因子などの様々なホルモンを含むポリペプチドは大きさや機能が様々で、細胞内でプロセシングされて成熟した活性型になる不活性な前駆体として合成される場合が多い。エピネフリンやドーパミンを含むアミンは、神経内分泌シグナル伝達において作用するアミノ酸誘導体である。コレステロール由来ホルモンであるエストロゲン及びテストステロンを含むステロイドは、性発達及び生殖に作用する。プロスタグランジン及びプロスタサイクリンをエイコサノイドは、様々なプロセスに作用する脂肪酸誘導体である。大抵のポリペプチド及びある種のアミンは、分泌されると数秒以内で容易にタンパク分解される血液に溶解する。ステロイド及び脂質は、不溶性であるため、キャリアタンパク質によって血液に輸送しなければならない。主にポリペプチドホルモンについて以下に記載する。

【０００８】

視床下部及び脳下垂体から分泌されるホルモンは、神経シグナルに応答して別の内分泌腺からのホルモン分泌を協調的に制御することで、内分泌機能において極めて重要な役割を果たす。視床下部ホルモンには、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン,及び性腺刺激ホルモン放出ホルモン、ソマトスタチン、成長ホルモン放出因子、副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン、サブスタンスＰドーパミン、プロラクチン放出ホルモンが含まれる。これらのホルモンは、下垂体の前葉からのホルモン分泌を直接調節する。下垂体前葉から分泌されるホルモンには、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、メラニン細胞刺激ホルモン、成長ホルモンやプロラクチンなどのソマトトロピンホルモン、甲状腺刺激ホルモンや卵胞刺激ホルモン(ESH)及び黄体形成ホルモン(LH)などの糖蛋白ホルモン、β‐リポトロピン、β-エンドルフィンが含まれる。これらのホルモンは、甲状腺及び脾臓、副腎から分泌されるホルモンを調節し、生殖器に直接作用して排卵及び精子形成を刺激する。下垂体後葉は、抗利尿ホルモン(ADH、バソプレシン)及びオキシトシンの合成し分泌する。

【０００９】

視床下部及び脳下垂体の障害は、原発脳腫瘍による病変、腺腫、妊娠に関連し

た梗塞、下垂体切除、動脈瘤、血管奇形、血栓、感染症、免疫学的疾患、頭部外傷による合併症によって起こる場合が多い。このような障害は、他の内分泌腺に深刻な影響を及ぼす。下垂体機能低下に関連する疾患には、性腺機能低下症、シーハン症候群、尿崩症、カルマン病、ハンド‐シュラー‐クリスチャン病、レトラ‐シヴェ病、サルコイドーシス、エンプティセラ症候群、小人症が含まれる。垂体機能亢進に関連する疾患には、良性の腺腫によって引き起こされる場合が多い先端巨大症、巨人症、ADH分泌異常症候群(SIADH)が含まれる。

【００１０】

甲状腺及び副甲状腺から分泌されるホルモンはそれぞれ、代謝率及び血清カルシウムレベルを主に調節する。甲状腺ホルモンには、カルシトニン及びソマトスタチン、甲状腺ホルモンが含まれる。副甲状腺は副甲状腺ホルモンを分泌する。甲状腺機能低下に関連する疾患には、甲状腺腫、粘液水腫、細菌感染に関連する急性甲状腺炎、ウイルス感染に関連する亜急性甲状腺炎、自己免疫性甲状腺炎（橋本病）、クレチン病が含まれる。甲状腺機能亢進に関連する疾患には、甲状腺中毒症及びそのウイルス型、グレーブス病、前脛骨粘液水腫、中毒性多結節性甲状腺腫、甲状腺癌、Plummner病が含まれる。副甲状腺機能亢進に関連する疾患には、骨吸収及び副甲状腺過形成につながるConn病（急性の高カルシウム血症）が含まれる。

【００１１】

脾臓から分泌されたホルモンは、炭水化物及び脂肪、タンパク代謝の率を調節して血糖値を制御する。脾臓ホルモンには、インスリン及びグルカゴン、アミリン、γアミノ酸、ガストリン、ソマトスタチン、脾臓ポリペプチドが含まれる。脾臓機能障害に関連する主な疾患は、インスリンの不十分な活性によって起こる糖尿病である。糖尿病は主に、I型糖尿病（インスリン依存性若年型糖尿病）若しくはII型糖尿病（非インスリン依存性成人型糖尿病）に分類される。インスリン置換治療による両方のタイプの糖尿病の治療は周知の通りである。糖尿病は、低血糖症（インスリンショック）及び昏睡、糖尿病性ケトアシドーシス、乳酸性アシドーシスなどの急性合併症や、眼及び腎臓、皮膚、骨、関節、心血管系、神経系などの障害につながる慢性の合併症や、感染症に対する抵抗性の低下につな

がる場合がある。

【００１２】

ホルモン作用に関連した解剖学及び生理学、疾患についてはMcCance, K. L. and Huether. S. B. (1994) Pathophysiology: The Biological Basis for Disease in Adults and Children. Mosby-Year Book. Inc.. St. Louis, MO: Greenspan, F. S. and Baxter, J. D. (1994) Basic and Clinical Endocrinology, Appleton and Lange. East Norwalk. CT.に記載されている。

【００１３】

成長因子

成長因子は、細胞内伝達を仲介する分泌タンパク質である。血液を長距離に渡って移動するホルモンとは異なり、大抵の成長因子は主に、近接する細胞に作用する局所メディエーターである。大抵の成長因子は、成長因子を分泌経路に導く疎水性のN末端シグナルペプチド配列を含む。大抵の成長因子はまた、分泌経路中で翻訳後修飾を受ける。これらの修飾には、タンパク分解及びグリコシル化、リン酸化、分子内ジスルフィド結合の形成が含まれる。成長因子は分泌された後、隣接する標的細胞の表面上の受容体に特異的に結合し、結合した受容体が細胞内シグナル伝達経路を開始させる。これらのシグナル伝達経路は、標的細胞における特定の細胞応答を誘発する。これらの応答には、遺伝子発現の調節や、細胞分裂及び細胞分化、細胞運動性の刺激や阻害が含まれ得る。

【００１４】

成長因子は、少なくとも２つの幅広い重複するクラスに分類される。最も広いクラスには、その効果が様々である巨大ポリペプチド成長因子が含まれる。これらの因子には表皮成長因子 (EGF)、線維芽細胞成長因子(FGF)及び形質転換成長因子β(TGF-β)、インスリン様成長因子(IGF)、神経成長因子(NGF)、血小板由来成長因子(PDGF)が含まれ、それぞれが様々な関連因子のファミリーの特徴を示す。NGFを除く巨大ポリペプチド成長因子は、様々なタイプの細胞上の分裂促進因子として作用し、創傷治癒、骨の形成及び再形成、細胞外マトリックスの形成、上皮組織や表皮組織、及び結合組織の増殖を刺激する。TGF-β及びEGF、FGFのファミリーメンバーは、胚組織の分化における誘導シグナルとして作用する。NGF

は特に、神経栄養因子として作用し、神経の成長及び分化を促進する。

【００１５】

EGFは、幾つかの上皮組織または細胞株の増殖を刺激する因子である。この分裂促進効果に加えて、EGFはある組織において分裂促進効果以外の作用をする。EGFは、例えば胃において、壁細胞によって分泌される胃酸を阻害する（Massague. J. and Pandiella, A. (1993) Annu. Rev. Biochem. 62:515-541）。EGFは巨大前駆体として産生され、EGFの細胞膜への局在化を助けると考えられるN末端シグナルペプチド配列を含む。EGFは、カルシウム結合EGF様ドメインシグネチャ配列の３つの反復を含む。このシグネチャ配列（signature sequence）はアミノ酸４０個の長さであり、保存された６個のシステイン残基と、このシグネチャ配列のN末端近位のカルシウム結合部位とを含む。カルシウム結合EGF様ドメインシグネチャ配列を含む幾つかのタンパク質が、成長及び増殖に関与する。この例には、軟骨や骨の形成を誘導する骨形成蛋白１と、黄色ショウジョウバエ上皮発達タンパク質であるcrumbsと、神経の成長及び分化に関与するNotch及びその幾つかの相同体と、トランスフォーミング成長因子β-1結合タンパク質が含まれる（Expasy PROSITE document PDOC00913; Soler. C. and Carpenter, G., in Nicola. N.A. (1994) The Cytokine Facts Book, Oxford University Press. Oxford, UK, pp 193-197）。

【００１６】

成長因子の別のクラスには、標的特異性が狭い造血成長因子が含まれる。これらの因子は、Bリンパ球及びTリンパ球、赤血球、血小板、好酸球、好塩基球、好中球、マクロファージ、及びそれらの幹細胞前駆体の増殖及び分化を刺激する。これらの因子には、コロニー刺激因子（G-CSF、M-CSF、GM-CSF及びCSF1-3）、エリスロポエチン及びサイトカインが含まれる。サイトカインは免疫系の細胞から分泌される特殊な造血因子であり、以下に詳細を述べる。

【００１７】

成長因子は、in vitroでの細胞の腫瘍性転化及びin vivoでの腫瘍進行に極めて重要な役割を果たす。巨大ポリペプチド成長因子が過剰に発現されると、培養細胞の増殖及び形質転換が促される。in vivoでの腫瘍細胞によるこれら成長因

子の不適切な発現は、腫瘍血管新生及び腫瘍の発生を助け得る。造血成長因子の不適切な活性によって、貧血及び白血病、リンパ腫が引き起こされ得る。更に、成長因子は、プロトオンコジーンの潜在的なガン誘導産物であるオンコプロテインに構造的に及び機能的に関連する。あるEGF及びPDGFのファミリーメンバーは、それら自体がオンコプロテインに相同であり、EGF及びNGF、FGFのファミリーのあるメンバーに対する受容体が、プロトオンコジーンによってコードされる。成長因子はまた、プロトオンコジーン及びオンコサプレッサ遺伝子の双方の転写調節に影響を及ぼす(Pimentel, E. (1994) Handbook of Growth Factors, CRC Press, Ann Arbor, MI; McKay, I. and Leigh. I., eds. (1993) Growth Factors: A Practical Approach, Oxford University Press, New York, NY; Habenicht, A., ed. (1990) Growth Factors, Differentiation Factors, and Cytokines, Springer-Verlag, New York, NY.)。

【００１８】

更に、巨大ポリペプチド成長因子の中には、発生中の胚における始原肺葉の誘導に極めて重要な役割を果たすものもある。この誘導によって最終的には、成人の体全体の骨格となる胚の中胚葉、外胚葉及び内胚葉が形成される。この誘導プロセスの破壊は、胚発生にとって致命的である。

【００１９】

小ペプチド因子－ニューロペプチド及び血管媒介物質

ニューロペプチド及び血管媒介物質（vasomediator）（NP/VM）は、通常は２０個以下のアミノ酸からなる小ペプチド因子のファミリーを構成する。これらの因子は通常、血管狭窄／血管拡張の神経的興奮及び阻害、筋収縮、及び脳や他の内分泌組織からのホルモン分泌において作用する。このファミリーには、ボンベシン及びニューロペプチドY、ニューロテンシン、ニューロメディンN、メラノコルチン、オピオイド、ガラニン、ソマトスタチン、タキキニン、平滑筋の刺激に関与するウロテンシンII及び関連ペプチド、バソプレッシン、血管作用性小腸ペプチドなどのニューロペプチド及びニューロプチドホルモンや、アンジオテンシン及び補体、カルシトニン、エンドセリン、ホルミルメチオニルペプチド、グルカゴン、コレシストキニン、ガストリンなどの循環系仲介シグナル伝達分子、及

び上記したペプチドホルモンの多くが含まれる。NP/VMは、シグナルを直接伝達し、その他の神経伝達物質及びホルモンの活性や放出を調節し、シグナル伝達カスケードの触媒酵素として作用する。NP/VMの効果の範囲は、極短時間から長時間までと範囲が広い（Martin, C. R.他(1985) Endocrine Physiology, Oxford University Press. New York. NY. pp. 57-62.を参照）。

【００２０】

FMRFアミド様ニューロペプチドは、特に脳及び脊髄、胃腸管に見られるペプチドのあるクラスである。FMRFアミド関連ペプチドは、モルフィン受容体と相互作用する（Raffa, R.B. (1991) NIDA Res. Monogr. 105:243-249）。

【００２１】

ボンベシンは食欲及びストレス反応に関与するニューロペプチドである。ボンベシン様ペプチドは、ストレス及び食事の摂取の双方に応答して、小脳（扁桃）の核中央から放出される（Merali, Z.他(1998) J. Neurosci. 18:4758-4766）。ボンベシンは、食事の摂取量を減らし、遅い波が出現する睡眠の時間を長くし、血中の糖及びグルカゴンの両方の濃度を増大させる（Even, P.C.他(1991) Physiol. Behav. 49:439-442）。

【００２２】

サイトカイン

サイトカインは、免疫系及び炎症反応を調節するシグナル伝達分子のファミリーを構成する。サイトカインは通常、外傷や感染に応答して白血球から分泌される。サイトカインは、Bリンパ球及びTリンパ球、単球、マクロファージ、顆粒球などの免疫液の細胞に主に作用する成長及び分化因子として機能する。他のシグナル伝達分子と同様に、サイトカインは細胞膜受容体と特異的に結合して、遺伝子の発現パターンを変化させる細胞内シグナル伝達経路を開始させる。従って、炎症や免疫系の疾患の治療においてサイトカインを利用できる可能性が極めて高い。

【００２３】

サイトカインの構造及び機能は、in vitroで詳細に研究された。大抵のサイトカインは、約３０キロダルトン以下の小ポリペプチドである。５０を超えるサイ

トカインが、ヒト及び齧歯類から同定された。サイトカインのサブファミリーには、インターフェロン(IFN-α及びβ、IFN-γ)及びインターロイキン（IL1-IL13）、腫瘍壊死因子（TNF-α及びβ）、ケモカインが含まれる。多くのサイトカインは組換えDNA技術を用いて作製され、それぞれのサイトカインの機能がin vitroで決定された。これらの機能には、白血球の増殖及び分化、運動性の調節が含まれる。

【００２４】

個々のサイトカインのin vitroでの作用は、in vivoでのサイトカインの全ての作用を反映するとは限らない。in vivoでは、サイトカインは単独で発現されるのではなく、生物が刺激を受けた時に多数の他のサイトカインと共に発現される。これらのサイトカインが一緒になって、特定の刺激に対して好適に免疫反応を集合的に調節する。従って、サイトカインの生理学的な作用は、それ自身の刺激と、相乗的及び拮抗的関係を示し得る同時発現したサイトカイン間の複合的な相互作用ネットワークによって決定される。

【００２５】

近年、慢性的な炎症に関連する線維形成の調節において役割を果たす可能性のあるユニークなサイトカインが見出された。このサイトカインfibrosinは、GenBankデータベースのどのタンパク質とも相同性を有しない。ヒトfibrosinの推定アミノ酸配列から構成される３６個のアミノ酸の合成ペプチドが、nM以下の濃度で線維芽細胞の成長を刺激する。組織線維症は、慢性の炎症を伴う重度の合併症である。いくつかの線維芽形成サイトカインが共同して作用し、線維芽細胞の成長及び線維症に関係する細胞外マトリックス成分を刺激する（Prakash, S.及びP.W. Robbins (1998) DNA Cell Bio. 17:879-884）。

【００２６】

インターロイキン１０（IL-10）は詳細に研究されたサイトカインの１つである。ヒトIL-10は、あるTリンパ球及びBリンパ球、マクロファージによって産生された１８キロダルトンの分泌タンパク質である。ヒト及びマウス、ウイルスIL-10に保存された４つのシステイン残基が、IL-10タンパク質に存在する。これらのシステイン残基のうち２つは、分子内のジスルフィド結合の形成に関与する。

IL-10は、T細胞によるサイトカインの産生、並びにマクロファージによるサイトカインの合成を阻害し、胸腺細胞、T細胞、B細胞、巨核球、及びその他の造血細胞を刺激する（Nicola. N.A. (1994) Guidebook to Cytokines and Their Receptors Oxford University Press, New York, NY, pp. 84-85）。

【００２７】

様々なサイトカインのファミリーメンバー間の相同性が低いため、既知のメンバーと新規に発見されたサイトカインとの関係を確立することが困難である。ファミリー間の相同性は２５％以下であり得、保存されたアミノ酸は小さなドメインや反復の中にクラスター化されている可能性がある。ファミリー間に類似性が存在するように見えても、構造の情報を調べるとそうでない場合が多い。保存されたジスルフィド架橋は、保存された或いは類似したタンパク質の構造及び／または折り畳みを強く示唆する。例えば、様々な試料からのIL-10分子は、構造を決定する分子内における接触に関与する４つの保存されたシステインを共に有する（Callard, R.及びA. Gearing. (1994) In The Cytokine Factsbook. Academic Press, San Diego CA. p. 18）。

【００２８】

ケモカインは、３０以上のメンバーを有するサイトカインサブファミリーを構成する（Wells. T. N. C.及びPeitsch. M. C. (1997) J. Leukoc. Biol. 61:545-550.を参照）。ケモカインは、単球及びマクロファージを炎症部位に動員する走化性タンパク質として初めに同定された。近年の研究結果は、ケモカインが造血及びHIV-1の感染に主要な役割を果たしていることを示唆する。ケモカインは、分子量が約６～１５キロダルトンの範囲の小タンパク質である。ケモカインは更に、重要なシステイン残基の個数及びその位置に基づいてC、CC、CXC及びCX_3Cに分類される。例えば、それぞれのCCケモカインは、２つの連続するシステインと下流側の２４残基及び１６残基の間隔を於いた２つの別のシステインとから構成される保存されたモチーフを含む（ExPASy PROSITE データベース、文献 P500472及びPDOC00434）。これら４つのシステイン残基の存在及び間隔は高度に保存されているが、それらの間に位置する残基は多様性に富む。しかしながら、連続するシステイン残基の下流側の約１５残基離れた位置にある保存されたチロシン

は走化性の活性に重要であると思われる。CCケモカインをコードする大抵のヒトの遺伝子は、第１７染色体上にクラスター化されているが、その他の部位にマップされるCCケモカイン遺伝子も２、３存在する。その他のケモカインには、lymphotactin（Cケモカイン)、マクロファージ走化及び活性化因子(MCAF/MCP-1; CCケモカイン)、血小板因子4及びIL-8（CXCケモカイン)、fractalkine及びneurotractin（CX_3C ケモカイン)が含まれる（Luster, A. D. (1998) N. Engl. J. Med. 338:436-445.を参照）。

【００２９】

新規の各細胞外シグナル伝達分子及びそれらをコードするポリヌクレオチドの発見により、感染症及び胃腸疾患、神経の疾患、生殖障害、自己免疫／炎症異常、癌を含む細胞増殖異常の診断及び治療、予防に有用な新規の組成物を提供することで当分野のニーズに答えることができる。

【００３０】

（発明の要約）

本発明は、総称して「EXCS」、個別にはそれぞれ「EXCS-1」及び「EXCS-2」、「EXCS-3」、「EXCS-4」、「EXCS-5」、「EXCS-6」、「EXCS-7」、「EXCS-8」、「EXCS-9」、「EXCS-10」、「EXCS-11」、「EXCS-12」、「EXCS-13」、「EXCS-14」、「EXCS-15」、「EXCS-16」、「EXCS-17」、「EXCS-18」、「EXCS-19」、「EXCS-20」、「EXCS-21」、「EXCS-22」、「EXCS-23」、「EXCS-24」、「EXCS-25」、「EXCS-26」と呼ぶ細胞外シグナル伝達分子である精製されたポリペプチドを提供する。本発明の一実施態様では、a）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列と９０％以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含む単離されたポリペプチドを提供する。別法では、SEQ ID NO:1－26のアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドを提供する。

【００３１】

更に本発明は、a）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列

、b）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列と９０％以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片むポリペプチドをコードする単離されたポリヌクレオチドを提供する。別法では、このポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:27－52からなる一群から選択される。

【００３２】

更に、本発明は、a）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列と９０％以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと機能的に結合されたプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドを提供する。別法では、本発明は、この組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞を提供する。更なる別法では、本発明は、この組換えポリヌクレオチドを含む遺伝子組換え生物を提供する。

【００３３】

また、本発明は、a）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列と９０％以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチドの製造方法を提供する。この方法は、a）このポリペプチドの発現に好適な条件の下で、このポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと機能的に結合されたプロモーター配列を含む組換えポリヌクレオチドで形質転換された細胞を培養するステップと、b）このように発現したポリペプチドを回収するステップとを含む。

【００３４】

更に、本発明は、a）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配

列、b）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列と９０％以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチドに特異的に結合する単離された抗体を提供する。

【００３５】

更に、本発明は、a）SEQ ID NO:27－52からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列、b）SEQ ID NO:27－52からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と９０％以上の配列同一性を有する自然発生のポリヌクレオチド配列、c）前記a）に相補的なポリヌクレオチド配列、またはd）前記b）に相補的なポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドを提供する。別法では、このポリヌクレオチドは、少なくとも６０個の連続するヌクレオチドを含む。

【００３６】

更に、本発明は、a）SEQ ID NO:27－52からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列、b）SEQ ID NO:27－52からなる一群から選択されたポリヌクレオチドと９０％以上の配列同一性を有する自然発生のポリヌクレオチド配列、c）前記a）に相補的なポリヌクレオチド配列、またはd）前記b）に相補的なポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド配列を有するサンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出する方法を提供する。この方法は、a）前記サンプル内の標的ポリヌクレオチドと相補的な配列を含む少なくとも１６個の連続するヌクレオチドを含むプローブと前記サンプルをハイブリダイズさせるステップであって、前記プローブと前記標的ポリヌクレオチドとでハイブリダイゼーション複合体が形成される条件の下、前記プローブが前記標的ポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズする、該ステップと、b）前記ハイブリダイゼーション複合体の存在の有無を検出し、存在する場合には随意選択でその量を測定するステップとを含む。別法では、前記プローブは、少なくとも３０個の連続するヌクレオチドを含む。更なる別法では、前記プローブは、少なくとも６０個の連続するヌクレオチドを含む。

【００３７】

更に、本発明は、a）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列と９０％以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチド有効量と好適な医薬用賦形剤とを含む医薬品組成物を提供する。更に、本発明は、患者にこの医薬品組成物を投与することを含む、機能的EXCSの発現の低下に関連した疾患やその症状の治療方法を提供する。

【００３８】

更に、本発明は、a）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列と９０％以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片を含むポリペプチドのアゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法を提供する。この方法は、a）前記ポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、b）前記サンプルのアゴニスト活性を検出するステップとを含む。別法では、本発明は、前記方法によって同定されたアゴニスト化合物と好適な医薬用賦形剤とを含む医薬品組成物を提供する。更なる別法では、本発明は、この医薬品組成物の患者への投与を含む、機能的EXCSの発現の低下に関連した疾患やその症状の治療方法を提供する。

【００３９】

更に、本発明は、a）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列、b）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列と９０％以上の配列同一性を有する自然発生のアミノ酸配列、c）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の生物学的に活性な断片、またはd）SEQ ID NO:1－26からなる一群から選択されたアミノ酸配列の免疫原性断片含むポリペプチドのアンタゴニストとして効果的な化合物をスクリーニングする方法を提供する。この方法は、a）前記ポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップ

と、b）前記サンプルのアンタゴニスト活性を検出するステップとを含む。別法では、本発明は、前記方法によって同定されたアンタゴニスト化合物と好適な医薬用賦形剤とを含む医薬品組成物を提供する。更なる別法では、本発明は、この医薬品組成物の患者への投与を含む、機能的EXCSの過剰な発現に関連した疾患やその症状の治療方法を提供する。

【００４０】

更に本発明は、SEQ ID NO:27－52からなる一群から選択された配列を含む標的ポリヌクレオチドの発現を変えるのに効果的な化合物をスクリーニングする方法であって、a）前記標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝露するステップと、b）前記標的ポリヌクレオチドの発現の変化を検出するステップとを含む、該スクリーニング方法を提供する。

【００４１】

（本発明の記載について）

本発明のタンパク質及び核酸配列、方法について説明する前に、本発明は、ここに開示した特定の装置及び材料、方法に限定されず、その実施形態を変更できることを理解されたい。また、ここで用いられる用語は、特定の実施例のみを説明する目的で用いられたものであり、後述の請求の範囲によってのみ限定され、本発明の範囲を限定することを意図したものではないということも理解されたい。

【００４２】

本明細書及び請求の範囲において単数形を表す「或る」、「その（この等）」は、文脈で明確に示していない場合は複数形を含むことに注意されたい。従って、例えば「或る宿主細胞」は複数の宿主細胞を含み、その「抗体」は複数の抗体は含まれ、当業者には周知の等価物なども含まれる。

【００４３】

本明細書で用いた全ての科学技術用語は、別の方法で定義されていない限り、本発明の属する技術分野の一般的な技術者が普通に解釈する意味と同じである。本明細書で記述したものと類似、或いは同等の全ての装置及び材料、方法は本発明の実施及びテストに使用できるが、好適な装置及び材料、方法をここに記す。

本明細書に記載の全ての文献は、本発明に関連して使用する可能性のある文献に記載された細胞系、プロトコル、試薬、ベクターを記述し開示するために引用した。従来の発明を引用したからと言って、本発明の新規性が損なわれると解釈されるものではない。

【００４４】

（定義）

用語「EXCS」は、天然、合成、半合成或いは組換え体など全ての種（特にウシ、ヒツジ、ブタ、マウス、ウマ及びヒトを含む哺乳動物）から得られる実質的に精製されたEXCSのアミノ酸配列を指す。

【００４５】

用語「アゴニスト」は、EXCSの生物学的活性を強化したり、模倣する分子を指す。このアゴニストは、EXCSに直接相互作用するか、或いはEXCSが関与する生物学的経路の成分と作用して、EXCSの活性を調節するタンパク質、核酸、糖質、小分子、任意の他の化合物や組成物を含み得る。

【００４６】

用語「アレル変異配列」は、EXCSをコードする遺伝子の別の形を指す。アレル変異配列は、核酸配列における少なくとも１つの変異によって生じ、変異mRNA若しくは変異ポリペプチドになり、これらの構造や機能は変わる場合もあれば変わらない場合もある。ある遺伝子は、自然発生型のアレル変異配列が存在しないもの、１つ或いは多数存在するものがある。一般にアレル変異配列を生じる変異は、ヌクレオチドの自然な欠失、付加、或いは置換による。これらの各変異は、単独或いは他の変異と同時に起こり、所定の配列内で一回或いはそれ以上生じる。

【００４７】

EXCSをコードする「変異」核酸配列は、様々なヌクレオチドの欠失、挿入、或いは置換が起こっても、EXCSと同じポリペプチド或いはEXCSの機能特性の少なくとも１つを備えるポリペプチドを指す。この定義には、EXCSをコードするポリヌクレオチド配列の正常な染色体の遺伝子座ではない位置でのアレル変異配列との不適当或いは予期しないハイブリダイゼーション、並びにEXCSをコードするポリヌクレオチドの特定のオリゴヌクレオチドプローブを用いて容易に検出可能な或

いは検出困難な多形性を含む。コードされたタンパク質も変異され得り、サイレント変化を生じEXCSと機能的に等価となるアミノ酸残基の欠失、挿入、或いは置換を含み得る。意図的なアミノ酸置換は、生物学的或いは免疫学的にEXCSの活性が保持される範囲で、残基の極性、電荷、溶解度、疎水性、親水性、及び／または両親媒性についての類似性に基づいて成され得る。例えば、負に荷電したアミノ酸にはアスパラギン酸及びグルタミン酸が含まれ、正に荷電したアミノ酸にはリシン及びアルギニンが含まれ得る。類似の親水性の値をもち極性非荷電側鎖を有するアミノ酸には、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニンが含まれ得る。類似の親水性の値をもち非荷電側鎖を有するアミノ酸には、ロイシン、イソロイシン、バリン、グリシン、アラニン、フェニルアラニン及びチロシンが含まれ得る。

【００４８】

用語「アミノ酸」及び「アミノ酸配列」は、オリゴペプチド、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質配列、或いはそれらの任意の断片を指し、天然の分子及び合成分子を含む。「アミノ酸配列」が自然発生のタンパク質分子である場合、「アミノ酸配列」及び類似の用語は、アミノ酸配列を、記載したタンパク質分子に関連する完全で元のままのアミノ酸配列に限定するものではない。

【００４９】

用語「増幅」は、核酸配列の複製物を作製することに関連する。一般に増幅は、この技術分野で周知のポリメラーゼ連鎖反応（PCR）技術によって行われる。

【００５０】

用語「アンタゴニスト」は、EXCSの生物学的活性を阻害或いは減弱する分子である。アンタゴニストは、EXCSに直接相互作用するか、或いはEXCSが関与する生物学的経路の成分と作用して、EXCSの活性を調節する抗体、核酸、糖質、小分子、任意の他の化合物や組成物などのタンパク質を含み得る。

【００５１】

用語「抗体」は、抗原決定基と結合可能なFab及び$F(ab')_2$、及びそれらの断片、Fv断片などの無傷の分子を指す。EXCSポリペプチドと結合する抗体は、抗体を免疫する小ペプチドを含む無傷の分子またはその断片を用いて産生可能である。

動物（例えば、マウス、ラット、若しくはウサギ）を免疫化するのに使用されるポリペプチド或いはオリゴペプチドは、RNAの翻訳から、或いは化学的に合成可能であり、必要に応じて担体タンパク質と結合させることも可能である。ペプチドと化学的に結合した一般に用いられる担体は、ウシ血清アルブミン、チログロブリン、及びキーホールリンペットヘモニアン（KLH）を含む。次ぎに、この結合したペプチドを用いて動物を免疫化する。

【００５２】

用語「抗原決定基」は、特定の抗体と接触する分子の領域（即ちエピトープ）を指す。タンパク質或いはタンパク質の断片が、宿主動物を免疫化するのに用いられるとき、このタンパク質の種々の領域は、抗原決定基（タンパク質上の特定の領域或いは三次元構造体）に特異的に結合する抗体の産生を誘発し得る。抗原決定基は、抗体と結合するために無傷の抗原（即ち、免疫応答を引き出すために用いられる免疫原）と競合し得る。

【００５３】

本明細書において「アンチセンス」は、特定の核酸配列のセンス鎖と塩基対を形成し得る任意の組成物を指す。アンチセンス成分には、DNAと、RNAと、ペプチド核酸（PNA）と、ホスホロチオネートやメチルホスホネート、ベンジルホスホネート（benzylphosphonate）などの変更された背骨連結（backbone linkage）を有するオリゴヌクレオチドと、2'-メトキシエチル糖または2'-メトキシエトキシ糖などの変更された糖を有するオリゴヌクレオチドと、5-メチルシトシンまたは2'-deoxyuracil、7-deaza-2'-deoxyguanosineなどの変更された塩基を有するオリゴヌクレオチドを含み得る。アンチセンス分子は、化学合成や転写を含む任意の方法で作り出すことができる。相補的アンチセンス分子は、一度細胞に導入されると、細胞によって作られた自然発生の核酸配列と塩基対となって二重鎖を形成し、転写や翻訳を阻害する。「負」または「マイナス」という表現はアンチセンス鎖であり、「正」または「プラス」という表現はセンス鎖である。

【００５４】

用語「生物学的に活性」は、自然発生分子の構造的、調節的、或いは生化学的な機能を有するタンパク質を指す。同様に、用語「免疫学的に活性」は、天然或

いは組換え体のEXCS、合成のEXCSまたはそれらの任意のオリゴペプチドが、適当な動物或いは細胞の特定の免疫応答を誘発して特定の抗体と結合する能力を指す。

【００５５】

用語「相補的」及び「相補性」は、ポリヌクレオチド同士が自然に結合して塩基対を形成することを指す。例えば、配列「５'Ａ－Ｇ－Ｔ３'」が相補的な配列「３'Ｔ－Ｃ－Ａ５'」と結合する。２つの一本鎖分子間の相補性は、幾つかの核酸のみが結合する部分的な場合、或いは一本鎖間に完全な相補性が存在して完全な相補性となる場合もあり得る。核酸鎖間の相補性の程度は、核酸鎖間のハイブリダイゼーションの効率及び強度に大きな影響を与える。このことは、核酸鎖間の結合に左右される増幅反応、並びにペプチド核酸（PNA）分子の設計若しくは使用において特に重要である。

【００５６】

「所定のポリヌクレオチド配列を含む組成物」または「所定のアミノ酸配列を含む組成物」は広い意味で、所定のヌクレオチド配列若しくはアミノ酸配列を含む任意の組成物を指す。この組成物は、乾燥した製剤或いは水溶液を含み得る。EXCS若しくはEXCSの断片をコードするポリヌクレオチド配列を含む組成物は、ハイブリダイゼーションプローブとして使用され得る。このプローブは、凍結乾燥状態で保存可能であり、糖質などの安定化剤と結合させることが可能である。ハイブリダイゼーションにおいて、プローブは、塩（例えば、NaCl）及び界面活性剤（例えば、SDS：ドデシル硫酸ナトリウム）、その他の物質（例えば、デンハート液、乾燥ミルク、サケ精子DNAなど）を含む水溶液に展開され得る。

【００５７】

「コンセンサス配列」は、不要な塩基を分離するためにシークエンシングされた核酸配列であって、XL-PCR™（Perkin Elmer, Norwalk, CT）を用いて５'及び／または３'の方向に伸長されてシークエンシングされた核酸配列、或いはGELVIEW 断片構築システム（GCG, Madison, WI）などのフラグメントの構築のためのコンピュータプログラムを用いて１つ或いはそれ以上のインサイト社クローン、及び場合によっては、１つ以上のパブリックのドメインESTの重複によって構築

された核酸配列を指す。伸長及び重複の両方によって構築されるコンセンサス配列もある。

【００５８】

用語「保存的なアミノ酸置換」は、元のタンパク質の特性を殆ど変えない置換を指す。即ち、置換によってそのタンパク質の構造や機能が大きくは変わらず、そのタンパク質の構造、特にその機能が保存される。以下に、あるタンパク質の元のアミノ酸が別のアミノ酸に置換される保存的なアミノ酸置換を示す。

元の残基	保存的な置換
Ala	Gly, Set
Arg	His, Lys
Asn	Asp, Gln, His
Asp	Asn, Glu
Cys	Ala, Ser
Gln	Asn, Glu, His
Glu	Asp, Gln, His
Gly	Ala
His	Asn, Arg, Gln, Glu
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu
Met	Leu, Ile
Phe	His, Met, Leu, Trp, Tyr
Ser	Cys, Thr
Thr	Ser, Val
Trp	Phe, Tyr
Tyr	His, Phe, Trp
Val	Ile. Leu, Thr

一般に、保存されたアミノ酸置換の場合は、a）置換された領域のポリペプチドの骨格構造、例えば、βシートやαヘリックス高次構造、b）置換された部位

の分子の電荷または疎水性、及び／または、c）側鎖の大半が維持される。

【００５９】

用語「欠失」は、１個以上のアミノ酸残基が欠如するアミノ酸配列の変化、或いは１個以上のヌクレオチドが欠如する核酸配列の変化を指す。

【００６０】

用語「誘導体」は、化学修飾されたポリヌクレオチドまたはポリペプチドを指す。ポリヌクレオチド配列の化学修飾には、例えば、アルキル基、アシル基、ヒドロキシル基、或いはアミノ基による水素の置換がある。誘導体ポリヌクレオチドは、自然分子（未修飾の分子）の生物学的或いは免疫学的機能の少なくとも１つを維持するポリペプチドをコードする。誘導体ポリペプチドとは、もとのポリペプチドの生物学的機能、或いは免疫学的機能の少なくとも１つを維持する、グリコシル化、ポリエチレングリコール化、或いは任意の同様のプロセスによって修飾されたポリペプチドのことである。

【００６１】

用語「断片」は、EXCSまたはEXCSをコードするポリヌクレオチドの固有の部分であって、その親配列（parent sequence）と同一であるがその配列より長さが短いものを指す。「断片」の最大の長さは、親配列から１つのヌクレオチド／アミノ酸残基を差し引いた長さである。例えば、ある断片は、５～１０００個の連続するヌクレオチド或いはアミノ酸残基を含む。プローブ、プライマー、抗原、治療用分子、またはその他の目的に用いる断片は、少なくとも５、１０、１５、１６、２０、２５、３０、４０、５０、６０、７５、１００、１５０、２５０若しくは５００個の連続するヌクレオチド或いはアミノ酸残基の長さである。断片は、優先的に分子の特定の領域から選択される場合もある。例えば、ポリペプチド断片は、所定の配列に示された最初の２５０若しくは５００のアミノ酸（或いは、ポリペプチドの最初の２５％または５０％）から選択された連続するアミノ酸の所定の長さを含み得る。これらの長さは一例であり、配列表及び表、図面を含む明細書に記載の任意の長さが、本発明の実施例に含まれ得る。

【００６２】

SEQ ID NO:27－52のある断片は、例えば、同じゲノム内の他の配列とは異なる

、SEQ ID NO:27－52を明確に同定する固有のポリヌクレオチド配列の領域を含む。SEQ ID NO:27－52のある断片は、例えば、ハイブリダイゼーションや増幅技術、またはSEQ ID NO:27－52を関連ポリヌクレオチド配列から区別する類似の方法に有用である。ある断片と一致するSEQ ID NO:27－52の正確な断片の長さや領域は、その断片の目的に基づいて当分野で一般的な技術によって日常的に測定できる。

【００６３】

SEQ ID NO:1－26のある断片は、SEQ ID NO:27－52のある断片によってコードされる。SEQ ID NO:1－26のある断片は、特異的にSEQ ID NO:1－26を同定する固有のアミノ酸配列の領域を含む。例えば、SEQ ID NO:1－26のある断片は、特異的にSEQ ID NO:1－26を認識する抗体の作製用の免疫原性ペプチドとして有用である。ある断片と一致するSEQ ID NO:1－26の正確な断片の長さや領域は、その断片の目的に基づいて当分野で一般的な技術によって日常的に測定できる。

【００６４】

用語「類似性」は相補性の程度を表す。これには、部分的類似性と完全な類似性とがある。用語「同一性」を「類似性」とも言える。同一の配列と標的の核酸とのハイブリダイゼーションが少なくとも部分的に阻止される部分的に相補的な配列は、「実質的に類似」と呼ばれる。完全に相補的な配列と標的の配列とのハイブリダイゼーションの阻止は、緩いストリンジェントな条件の下、ハイブリダイゼーションアッセイ（サザンブロッティング或いはノーザンブロッティング法、溶液ハイブリダイゼーション等）を用いて検査される。実質的に類似の配列或いはハイブリダイゼーションプローブは、緩いストリンジェントな条件の下、完全に類似（同一）の配列と標的の配列との結合に対して競合して抑制する。これは、緩いストリンジェントな条件の下では非特異的な結合が許容されるということではなく、緩いストリンジェントな条件では、２つの配列の互いへの結合が特異的（即ち、選択的）に相互作用しなけらばならい。部分的な相補性ともいえない（例えば、３０％未満の類似性或いは同一性）第２の標的配列を用いて、非特異的結合が存在しないことの検査が可能である。非特異的結合が存在しない場合は、実質的に類似配列或いはプローブが第２の非相補的標的配列とハイブリダイ

ズしない。

【００６５】

ポリヌクレオチド配列についての用語「パーセントの同一性」又は「%の同一性」とは、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされる、２つ以上のポリヌクレオチド配列間の一致する残基の百分率のことである。このようなアルゴリズムは、標準化され再現できる方法で、２つの配列間のアラインメントを最適化するべく、配列にギャップを挿入して、より意味をもつ２つの配列間の比較を行うことができる。

【００６６】

ポリヌクレオチド配列間の同一性のパーセントは、MEGALIGN version 3.12e配列アラインメントプログラムに組込まれるCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトパラメータを用いて決定可能である。このプログラムはLASERGENEソフトウェアパッケージの一部であり、分子生物学分析プログラム一式（DNASTAR, Madison WI）である。このCLUSTAL Vは、Higgins, D.G. 及び P.M. Sharp (1989) CABIOS 5:151-153、Higgins, D.G. 他 (1992) CABIOS 8:189-191に記載されている。ポリヌクレオチド配列の対のアライメントの場合、デフォルトパラメーターは、Ktuple=2、gap penalty=5、window=4、「diagonals saved」=4と設定する。「重み付けされた」残基重み付け表が、デフォルトとして選択された。同一性のパーセントは、アラインメントされたポリヌクレオチド配列の対の「類似性のパーセント」としてCLUSTAL Vによって報告される。

【００６７】

別法では、一般に用いられ、無料で入手可能な配列比較アルゴリズム一式が、NCBI、Bethesda、MD、及びインターネット（http://WWW.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/）などから入手できるNational Center for Biotechnology Information (NCBI) Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Altschul, S.F. 他 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410)によって得られる。このBLASTソフトウェア一式には、既知のポリヌクレオチド配列と様々なデータベースの別のポリヌクレオチド配列とのアラインメントに用いられる「blastn」を含む、様々な配列分析プログラムが含まれる。「BLAST 2 Sequences」と呼ばれるツールが入手可能であり、２

つのヌクレオチド配列の対を直接比較するために用いられる。「BLAST 2 Sequences」は、http://WWW.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/b12.htmlにアクセスして、対話形式で利用ができる。「BLAST 2 Sequences」ツールは、blastn 及び blastp（以下に記載）の両方に用いることができる。BLASTプログラムは、一般的には、デフォルトを設定するギャップ及び他のパラメーターと共に用いられる。例えば、２つのヌクレオチド配列を比較する場合、ある者は、デフォルトパラメータに設定された「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12 (April-21-2000)でblastnを使用するであろう。そのようなデフォルトパラメータは、例えば、以下のようにする。

Matrix: BLOSUM62

Reward for match: 1

Penalty for mismatch: -2

Open Gap: 5 及び Extension Gap: 2 penalties

Gap x drop-off: 50

Expect: 10

Word Size: 11

Filter: on

同一性のパーセントは、例えば、特定の配列番号で決められた、所定の配列の全長に対して測定してもよいし、それより短い長さに対して、例えば、ある大きな所定の配列から得られた断片、例えば、連続する少なくとも、２０または３０、４０、５０、７０、１００、２００のヌクレオチドの断片の長さに対して測定してもよい。このような長さは単なる例であり、配列表及び表、図面を含む明細書に記載の配列の任意の長さの断片を用いて、同一性のパーセントが測定される長さを示すことができる。

【００６８】

高い同一性を示さない核酸配列でも、遺伝子コードの縮重によって類似のアミノ酸配列をコードし得る。縮重を利用して核酸配列を変え、それぞれが実質的に同じタンパク質をコードする様々な核酸配列を作製できることを理解されたい。

【００６９】

ポリペプチド配列に用いられる用語「パーセントの同一性」又は「%の同一性」とは、標準化されたアルゴリズムを用いてアラインメントされる２つ以上のポリペプチド配列間の一致する残基の百分率のことである。ポリペプチド配列アラインメントの方法は周知である。アラインメント方法の中には、保存的なアミノ酸置換を考慮したものもある。詳細に上述したこのような保存的な置換は、一般に、置換部位の電荷や疎水性が保存され、ポリペプチドの構造（従って機能も）が保存される。

【００７０】

ポリペプチド配列間の同一性のパーセントは、MEGALIGN バージョン3.12e配列アラインメントプログラム（上記）に組込まれるCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトパラメータを用いて決定可能である。CLUSTAL Vを用いる対方式のポリペプチド配列のアライメントの場合、デフォルトパラメーターは、Ktuple=1、gap penalty=3、window=5、及び「diagonals saved」=5と設定する。PAM250マトリクスが、デフォルトの残基重み付け表として選択される。ポリヌクレオチドアラインメントと同様に、アラインメントされたポリペプチド配列の対の同一性のパーセントは、「類似性のパーセント」としてCLUSTAL Vによって報告される。

【００７１】

別法では、NCBI BLASTソフトウェア一式が用いられる。例えば、２つのポリペプチド配列を対で比較をする場合、ある者は、デフォルトパラメータで設定された「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12 (April-21-2000)でblastpを使用するであろう。そのようなデフォルトパラメータは、例えば、以下のようにする。

Matrix: BLOSUM62

Open Gap: 11 及び Extension Gap: 1 penalties

Gap x drop-off: 50

Expect: 10

Word Size: 3

Filter: on

同一性のパーセントは、例えば、特定の配列番号で決められた、所定のポリペ

プチド配列の全長に対して測定してもよいし、それより短い長さに対して、例えば、ある大きな所定のポリペプチド配列から得られた断片、例えば、連続する少なくとも１５、２０または３０、４０、５０、７０、１５０の残基の断片の長さに対して測定してもよい。このような長さは単なる例であり、配列表及び表、図面を含む明細書に記載の配列の任意の長さの断片を用いて、同一性のパーセントが測定される長さを示すことができる。

【００７２】

「ヒト人工染色体（HAC）」は、約６kb（キロベース）～１０MbのサイズのDNA配列を含み得り、安定した有糸分裂染色体の分離及び維持に必要な全ての要素を含む直鎖状の小染色体である。

【００７３】

用語「ヒト化抗体」は、もとの結合能力を保持しつつよりヒトの抗体に似せるために、非抗原結合領域のアミノ酸配列が変えられた抗体分子を指す。

【００７４】

「ハイブリダイゼーション」とは、所定のハイブリダイゼーション条件の下で、ある一本鎖ポリヌクレオチドがある相補的な一本鎖と塩基対を形成するアニーリングのプロセスである。特異的なハイブリダイゼーションとは、２つの核酸配列が高い同一性を有することを意味する。アニーリングが許容される条件の下で、特異的なハイブリダイゼーション複合体が形成され、洗浄過程の後もハイブリダイズしたままである。洗浄過程は、ハイブリダイゼーションプロセスの厳密性即ちストリンジェント（stringency）の決定において特に重要であり、よりストリンジェントな条件では、非特異的な結合、即ち完全には一致しない核酸鎖間の対の結合が減少する。核酸配列間のアニーリングが許容される条件は、当業者によって日常的に決定され、ハイブリダイゼーションの間は一定であるが、洗浄過程は、目的のストリンジェントにするためにその最中に条件の変更が可能であり、ハイブリダイゼーション特異性が得られる。アニーリングが許容される条件は、例えば、温度が６８℃で、約６×SSC、約１％（w/v）のSDS、並びに約１００μｇ／ｍｌのせん断して変性したサケ精子DNAが含まれる。

【００７５】

一般に、ハイブリダイゼーションのストリンジェントは、洗浄過程を行う際の温度によっても左右される。この洗浄温度は通常、所定のイオン強度とｐＨにおける特定の配列の熱融点（Tm）より約５～２０℃低く選択される。このTmは、（所定のイオン強度とｐＨの下）標的の配列の５０％が完全に一致するプローブとハイブリダイズする温度である。Tmを計算する式及び核酸のハイブリダイゼーションの条件は、周知であり、Sambrook，J．他による，1989，Molecular Cloning：A Laboratory Manual，第2版の1-3巻，Cold Spring Harbor Press，Plainview NY；特に2巻の9章に記載されている。

【００７６】

本発明のポリヌクレオチド間の高いストリンジェントなハイブリダイゼーションでは、約０．２x SSC及び約１％のSDSの存在の下、約６８℃で１時間の洗浄過程を含む。別法では、６５℃、６０℃、５５℃、４２℃の温度で行う。SSCの濃度は、約０．１％のSDSが存在の下、約０．１～2x SSCの範囲である。通常は、遮断剤を用いて非特異的なハイブリダイゼーションを阻止する。このような遮断剤には、例えば、約１００～２００μｇ／ｍｌの変性したサケ精子DNAが含まれる。約３５～５０％v/vの濃度のホルムアミドなどの有機溶剤が、例えば、RNAとDNAのハイブリダイゼーションなどの特定の場合に用いることができる。これらの洗浄条件の有用な改変は、当業者には周知である。特に高いストリンジェントな条件でのハイブリダイゼーションは、ヌクレオチド間の進化における類似性を示唆し得る。このような類似性は、それらのヌクレオチド及びコードされたポリペプチドが類似の役割を果たしていることを強く示唆する。

【００７７】

用語「ハイブリダイゼーション複合体」は、相補的な塩基間の水素結合によって、形成された２つの核酸配列の複合体を指す。ハイブリダイゼーション複合体は溶液中（例えば、C_0tまたはR_0t分析）で形成されるか、或いは溶液中の１つの核酸配列と固体の支持物（例えば、紙、膜、フィルター、チップ、ピン、或いはスライドガラス、または細胞及びその核酸を固定する任意の適当な基板）に固定されたもう一つの核酸配列とで形成され得る。

【００７８】

用語「挿入」或いは「付加」は、１個以上のアミノ酸残基或いはヌクレオチドがそれぞれ追加されるアミノ酸配列或いは核酸配列の変化を指す。

【００７９】

「免疫応答」は、炎症性疾患及び外傷、免疫異常、感染症、遺伝病などに関連する症状を指す。これらの症状は、細胞系及び全身防衛系に影響を及ぼすサイトカイン及びケモカイン、別の情報伝達分子などの様々な因子の発現という特徴をもつ。

【００８０】

用語「マイクロアレイ」は、基板上に配列されたそれぞれ異なったポリヌクレオチドの配列を指す。

【００８１】

マイクロアレイの文脈に用いられる用語「要素」或いは「アレイ要素」は、基板の表面に配列されたハイブリダイズ可能なポリヌクレオチドを指す。

【００８２】

用語「変調」は、EXCSの活性の変化を指す。例えば、変調によって、EXCSのタンパク質活性、或いは結合特性、またはその他の生物学的特性、機能的特性或いは免疫学的特性の変化が起こる。

【００８３】

用語「核酸」及び「核酸配列」は、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、或いはそれらの断片を指す。また、一本鎖若しくは二本鎖であって、センス鎖或いはアンチセンス鎖であるゲノム起源若しくは合成起源のDNA或いはRNA、ペプチド核酸（PNA）、任意のＤＮＡ様物質、及びＲＮＡ様物質を指す。

【００８４】

「機能的に結合した」は、第１の核酸配列と第２の核酸配列が機能的な関係にある状態を指す。例えば、プロモーターがコード配列の転写または発現に影響を与える場合、そのプロモーターはそのコード配列に機能的に結合している。一般に、機能的に結合したDNA配列は、同じ読み枠内で２つのタンパク質をコードする領域が結合する必要がある場合は、非常に近接或いは連続する。

【００８５】

「ペプチド核酸（PNA）」は、末端がリシンで終わるアミノ酸残基のペプチド骨格に結合した、少なくとも約５ヌクレオチドの長さのオリゴヌクレオチドを含む、アンチセンス分子又は抗遺伝子剤を指す。この末端のリシンにより、この組成物が溶解性となる。PNAは、相補的な一本鎖DNAやRNAに優先的に結合して転写物の伸長を止め、ポリエチレングリコール化して細胞における寿命を延ばし得る。

【００８６】

「プローブ」とは、同一配列或いはアレル核酸配列、関連する核酸配列の検出に用いる、EXCSやそれらの相補配列、またはそれらの断片をコードする核酸配列のことである。プローブは、検出可能な標識またはレポーター分子が結合され単離されたオリゴヌクレオチドやポリヌクレオチドである。典型的な標識には、放射性アイソトープ及びリガンド、化学発光試薬、酵素がある。「プライマー」とは、相補的な塩基対を形成して標的のポリヌクレオチドにアニーリング可能な、通常はDNAオリゴヌクレオチドである短い核酸である。プライマーがポリヌクレオチドにアニーリングした後、あるDNAポリメラーゼ酵素によって、標的のDNA一本鎖に沿って伸長される。プライマーの組は、例えば、PCR法における核酸配列の増幅（及び同定）に用いることができる。

【００８７】

本発明に用いられるプローブ及びプライマーは、既知の配列の少なくとも１５の連続するヌクレオチドを含む。特異性を高めるために、より長いプローブ及びプライマーが用いることも可能である。例えば、開示した核酸配列の連続する少なくとも２０または２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１５０のヌクレオチドを含む。プローブ及びプライマーは、上記した例より相当長いものも用いることができ、本明細書の表及び図面、配列表に示された任意の長さのヌクレオチドも用いることができることを理解されたい。

【００８８】

プローブ及びプライマーの準備及び使用方法については、例えば、Sambrook, J.他による、1989年、名称「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」、第2

版の1-3巻(Cold Spring Harbor Press, Plainview NY)、またはAusubel, F.M. 他による、1987年、名称「Current Protocols in Molecular Biology」(Greene Pubi. Assoc. & Wiley-Intersciences, New York NY)、並びに Innis他による、1990年、名称「PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications」(Academic Press, San Diego CA.)を参照されたい。PCR用のプライマーの組は、例えば、Primer (Version 0.5, 1991, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge MA)などのそのような目的のためのコンピュータプログラムを用いて、ある既知の配列から引き出すことができる。

【００８９】

プライマーとして用いるオリゴヌクレオチドは、当分野で周知のプライマー選択用のコンピュータプログラムで選択される。例えば、OLIGO 4.06ソフトウェアは、それぞれが最大１００ヌクレオチドまでのPCR用のプライマーの対の選択、及び３２，０００塩基までの入力ポリヌクレオチド配列から最大５，０００ヌクレオチドまでの大きなポリヌクレオチド及びオリゴヌクレオチドの分析に有用である。類似のプライマー選択用プログラムには、能力を拡大する追加の機能が含まれている。例えば、PrimOUプライマー選択プログラム（Genome Center at University of Texas South West Medical Center, Dallas TXより入手可能）は、メガベース配列から特定のプライマーを選択できるため、ゲノムワイドスコープ（genome-wide scope）におけるプライマーの設計に有用である。Primer3プライマー選択プログラム（Whitehead Institute/MIT Center for Genome Research, Cambridge MA1より入手可能）によって、ユーザーは、プライマー結合部位として避けたい配列を指定できる「非プライミングライブラリ（mispriming libaray）」を入力できる。また、Primer3は、特にマイクロアレイのオリゴヌクレオチドの選択に有用である（後の方の２つのプライマー選択プログラムのソースコードは、それぞれのソースから得ることができ、ユーザーのニーズを満たすように変更することもできる）。PrimerGenプログラム（UK Human Genome Mapping Project Resource Centre, Cambridge UK より入手可能）は、多数の配列アラインメントに基づいてプライマーを設計するため、アラインメントされた核酸配列の最も保存された領域或いは最も保存されていない領域のどちらかとハイブリダイ

ズするプライマーを選択することができる。従って、このプログラムは、固有及び保存されたオリゴヌクレオチドやポリヌクレオチドの断片の同定に有用である。上記した任意の選択方法で同定されたオリゴヌクレオチドやポリヌクレオチドの断片は、例えば、PCR法やシークエンシングプライマー、マイクロアレイ要素、或いはサンプルの核酸の完全或いは部分的に相補的なポリヌクレオチドを同定する特定のプローブなどの、ハイブリダイゼーション技術に有用である。オリゴヌクレオチドの選択方法は、上記した方法に制限されるものではない。

【００９０】

本明細書における「組換え核酸」は天然の配列ではなく、２つ以上の配列の離れたセグメントを人工的に組み合わせた配列である。この人工の組み合せは、化学合成によって作られる場合も多いが、前出のSambrook に記載されたような遺伝子工学の技術を用いて核酸の離れたセグメントを人工的に操作する方がより一般的である。この「組換え核酸」には、単に核酸の一部の追加または置換、欠失によって変更された核酸も含む。組換え核酸は、あるプロモーター配列に機能的に結合した核酸配列を含む場合もある。このような組換え核酸は、例えば、ある細胞を形質転換するのに用いられるベクターの一部であり得る。

【００９１】

別法では、このような組換え核酸は、この組換え核酸を発現する哺乳動物のワクチン接種に用いると、その哺乳動物の防衛的な免疫応答を誘発する、ワクシニアウイルスに基づいたウイルスベクターの一部であり得る。

【００９２】

本明細書において、DNA配列に対する「RNA等価物」とは、基準となるDNA配列と同じ直鎖の核酸配列から構成されるが、窒素性塩基のチミンがウラシルに置換され、糖鎖の背骨がデオキシリボースではなくリボースからなる。

【００９３】

用語「サンプル」は、その最も広い意味で用いられている。EXCSをコードする核酸若しくはその断片、EXCS自体を含むと推定されるサンプルには、体液と、細胞からの抽出物や細胞から単離された染色体や細胞内小器官、膜と、細胞と、溶液中に存在する又は基板に固定されたゲノムDNA、RNA、cDNAと、組織又は組織プ

リント等も含まれ得る。

【００９４】

用語「特異的結合」及び「特異的に結合する」は、タンパク質若しくはペプチドと、アゴニスト、抗体、アンタゴニスト、小分子、若しくは任意の天然若しくは合成の結合組成物との間の相互作用を指す。この相互作用は、結合する分子によって認識される、例えば、抗原決定基つまりエピトープなどのタンパク質の特定の構造の存在によって左右される。例えば、抗体がエピトープ「Ａ」に対して特異的である場合、結合していない標識した「Ａ」及び抗体を含む反応液に、エピトープＡを含むポリペプチド或いは結合していない無標識の「Ａ」が存在すると、抗体と結合する標識Ａの量が減少する。

【００９５】

用語「実質的に精製された」は、自然の環境から取り除かれてから、単離或いは分離された核酸配列或いはアミノ酸配列であって、自然に結合している組成物が少なくとも約６０％以上除去されたものであり、好ましくは約７５％以上の除去、最も好ましいくは９０％以上除去されたものを指す。

【００９６】

「置換」とは、一つ以上のアミノ酸またはヌクレオチドをそれぞれ別のアミノ酸またはヌクレオチドに置き換えることである。

【００９７】

用語「基板」は、任意の好適な固体或いは半固体の支持物を指し、膜及びフィルター、チップ、スライド、ウエハ、ファイバー、磁気または非磁気ビード、ゲル、チューブ、プレート、ポリマー、微小粒子、毛細管が含まれる。この基板には、壁または塹壕、ピン、チャンネル、細孔などの様々な表面形態があり、そこにポリヌクレオチドやポリペプチドが結合する。

【００９８】

「形質転換」とは、外来DNAが入り込み受容体細胞を変化させるプロセスのことである。形質転換は、当分野で周知の種々の方法により、自然或いは人工の条件の下で起こり得り、原核宿主細胞若しくは真核宿主細胞の中に外来核酸配列を挿入する任意の周知の方法によって行うことができる。この形質転換の方法は、

形質転換される宿主細胞のタイプによって選択される。この方法には、ウイルス感染、電気穿孔法（エレクトロポレーション）、リポフェクション、及び微粒子照射が含まれるが、これらに限定されるものではない。「形質転換された」細胞には、導入されたDNAが自律的に複製するプラスミドとして或いは宿主染色体の一部として複製可能である安定的に形質転換された細胞が含まれる。さらに、限られた時間に一時的に導入DNA若しくは導入RNAを発現する細胞も含まれる。

【００９９】

本明細書における「遺伝子組換え生物」とは、当分野で周知の遺伝子組換え技術などを用いて、人間が生物の１つ以上の細胞に異種の核酸を導入した任意の生物であり、動物及び植物を含むが、それらに限定されるものではない。微量注入や組換えウイルスに感染させるなどの慎重な遺伝子操作によって、細胞の前駆体に直接或いは間接的に異種核酸を細胞に導入する。「遺伝子操作」とは、典型的な交雑育種やin vitroでの受精ではなく、組換えDNA分子を導入することである。本発明に従った遺伝子組換え生物には、細菌及びラン藻類、菌類、植物、動物が含まれる。本発明の単離されたDNAは、当分野で周知の、例えば、感染、形質移入、形質転換、トランス接合（transconjugation）などの方法によって、宿主に導入することができる。本発明のDNAをそのような生物に導入する技術は周知であり、前出のSambrook他（1989）に記載されている。

【０１００】

特定の核酸配列の「変異配列」とは、デフォルトパラメーター設定の「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9 (May-07-1999)を用いるblastnによって、ある核酸配列のある長さに対する該特定の核酸配列の同一性が、少なくとも４０％と決定された核酸配列のことである。このような核酸の対は、ある長さにおいて、例えば、少なくとも５０％または６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、或いはそれ以上の同一性を示し得る。ある変異配列は、例えば、「アレル」変異配列（上述）または「スプライス」変異配列、「種」変異配列、「多型」変異配列と表すことができる。スプライス変異配列は基準分子と同一性が極めて高い可能性があるが、mRNAプロセッシング中のエキソンの択一的スプライシングによってポリヌクレオチドの数が多くなったり、少なくなったりする

。対応するポリペプチドは、基準分子に存在する追加の機能ドメインを有したり、基準分子に存在するドメインが欠落したりし得る。種変異配列は、種によって異なるポリヌクレオチド配列である。得られるポリペプチドは、互いに高いアミノ酸同一性を有する。多型変異配列は、所定の種と種における特定の遺伝子のポリヌクレオチド配列が異なる。多型変異配列はまた、ポリヌクレオチド配列の１つのヌクレオチドが異なる「１ヌクレオチド多型」（SNP）も含み得る。SNPの存在は、例えば、或る集団（population）、病態、病態の特徴を表し得る。

【０１０１】

特定のポリペプチド配列の「変異体」とは、デフォルトパラメーター設定の「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9 (May-07-1999)を用いるblastpによって、ある核酸配列のある長さに対する該特定のポリペプチド配列の同一性が、少なくとも４０％と決定されたポリペプチド配列のことである。このようなポリペプチドの対は、ある長さにおいて、例えば、少なくとも５０％または６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、或いはそれ以上の同一性を示し得る。

【０１０２】

（発明）

本発明は、新規のヒト細胞外シグナル伝達分子（EXCS）及びEXCSをコードするポリヌクレオチドの発見に基づいた、感染症及び胃腸疾患、神経の疾患、生殖障害、自己免疫／炎症異常、癌を含む細胞増殖異常の診断、治療、及び予防におけるそれらの組成物の使用に関する。

【０１０３】

表１は、EXCSをコードする完全長のヌクレオチド配列の構築に用いたインサイト社クローンを示す。列１及び列２はそれぞれ、ポリペプチド配列及びヌクレオチド配列の配列番号（SEQ ID NO）を示す。列３は、各EXCSをコードする核酸が同定されたIncyteクローンのクローンIDを示し、列４は、それらのクローンが単離されたcDNAライブラリを示す。列５は、Incyteクローン及びそれらに対応するcDNAライブラリを示す。cDNAライブラリが示されていないインサイト社クローンは、プールされたcDNAライブラリに由来する。Genbank配列識別子も、列５の該

当箇所に記載する。列５に示されているインサイト社クローン及びGenbank配列識別子は、各EXMADのコンセンサスヌクレオチド配列の構築に用いられ、ハイブリダイゼーション技術における断片として有用である。

【０１０４】

表２の各列は、本発明の各ポリペプチドの様々な特性を示す。列１は配列番号（SEQ ID NO）、列２は各ポリペプチドにおけるアミノ酸残基の数、列３は潜在的なリン酸化部位、列４は潜在的なグリコシル化部位、列５はシグネチャ（signature）配列及びモチーフを有するアミノ酸残基、列６は、BLAST分析によって同定された相同配列、及び相当する引用を示す。また、引用することを持って本明細書のの一部とする。列７は、分析方法、場合によってはその分析方法が適用できる検索可能なデータベースを示す。列７の分析方法は、配列相同性及びタンパク質モチーフによって各ポリペプチドを特長つけるために用いられた。ポリペプチド配列SEQ ID NO:1－10のそれぞれに存在する１或いは複数のシステイン残基に注目されたい。

【０１０５】

図１Ａ及び図１Ｂは、保存されたアミノ酸残基はボックスで囲んだ、EXCS-18(SEQ ID NO:18)及びインターロイキン10 (GI 511295；SEQ ID NO:53)、IL-10 前駆体(GI 1841298；SEQ ID NO:54)、ヒトインターロイキン10前駆体 (GI 106805；SEQ ID NO:55)との間のアミノ酸配列のアラインメントを示す。このアラインメントは、タンパク質の全体の長さが１７８～１７９残基の範囲である４つ全てのタンパク質を示し、SEQ ID NO:18が、タンパク質の長さにおいてGI 511295及びGI 1841298、GI 106805と構造的類似性を有することを示している。SEQ ID NO:18が、GI 511295及びGI 1841298、GI 106805のC20及びC40、C89、C132の位置に見られる６個の高度に保存されたシステイン残基の内４個を共有することも注目に値する。更に、これらのシステイン残基（C40及びC89、C132）の３個は、IL-10分子内の分子内ジスルフィド架橋形成に直接関与することから、SEQ ID NO:18とGI 511295及びGI 1841298、GI 106805との相同性及び潜在的な２次構造類似性を示唆している。幾つかの塩基及び酸基、特に106位及び113位の構造に関連するプロリン残基を含む多数の保存されたアミノ酸残基から、SEQ ID NO:18とGI 511

295及びGI 1841298、GI 106805との別の相同性が明らかである。

【０１０６】

表３の列は、EXCSをコードするヌクレオチド配列に関連した組織特異性及び疾患、異常症、症状を示している。表３の列１は、ヌクレオチドの配列番号（SEQ ID NO）を示している。列２は、列１のヌクレオチド配列の断片を示している。これらの断片は、例えば、SEQ ID NO:27－52を同定し、SEQ ID NO:27－52と関連するポリヌクレオチド配列とを区別する、ハイブリダイゼーション若しくは増幅の技術において有用である。これらの断片によってコードされるポリペプチドは、例えば、免疫原性ペプチドとして有用である。列３は、EXCSを発現する組織名、及びEXCSを発現する全組織におけるその割合を示す。列４は、EXCSを発現する組織に関連する疾患若しくは異常症、症状、並びにEXCSを発現する全組織におけるそれらの割合を示す。列５は、各cDNAライブラリのサブクローニングに用いたベクターを示す。注目すべきは、SEQ ID NO:30の発現である。この配列は、前立腺組織から単離されたRNAを用いてそれぞれ別に作製された６個のcDNAライブラリで検出された。従って、例えば、組織のタイプを調べるため及びまた前立腺疾患の診断のための前立腺特異的マーカーとして有用である。SEQ ID NO:43は、特異的に島細胞及び島細胞腫においてのみ発現する。注目すべきは、SEQ ID NO:45が、造血／免疫組織においてのみ発現することである。列５は、それぞれのcDNAライブラリのサブクローニングに用いたベクターを示す。

【０１０７】

SEQ ID NO:47は、第２染色体の77.1～84.0センチモルガンの範囲にマップされる。この範囲には、DNA合成の刺激に関連する遺伝子も含まれている。

【０１０８】

表４の各列は、EXCSをコードするcDNAのクローンが単離されたcDNAライブラリの作製に用いられた組織についての説明である。列１は、ヌクレオチドのSEQ ID NOを示し、列２はそれらのクローンが単離されたcDNAライブラリを示し、列３は列２のcDNAライブラリに関連する組織の由来及び詳細を示す。

【０１０９】

本発明はまた、EXCSの変異体も含む。好適なEXCSの変異体は、EXCSの機能的或

いは構造的特徴の少なくともどちらか一方を有し、かつEXCSアミノ酸配列に対して少なくとも約８０％のアミノ酸配列同一性、或いは少なくとも約９０％のアミノ酸配列同一性、更には少なくとも約９５％のアミノ酸配列同一性を有する。

【０１１０】

本発明はまた、EXCSをコードするポリヌクレオチドを提供する。特定の実施例において、本発明は、EXCSをコードするSEQ ID NO:27－52からなる一群から選択された配列を含むポリヌクレオチド配列を提供する。配列表に示したSEQ ID NO:27－52のポリヌクレオチド配列は、窒素系塩基のチミンがウラシルに置換され、糖鎖の背骨がデオキシリボースではなくリボースからなるRNA配列等価物を含む。

【０１１１】

本発明はまた、EXCSをコードするポリヌクレオチド配列の変異配列を含む。詳細には、このようなポリヌクレオチド配列の変異配列は、EXCSをコードするポリヌクレオチド配列と少なくとも７０％のポリヌクレオチド配列同一性、或いは少なくとも８５％のポリヌクレオチド配列同一性、更には少なくとも９５％ものポリヌクレオチド配列同一性を有する。本発明の特定の実施形態は、SEQ ID NO:27－52からなる一群から選択された核酸配列と少なくとも７０％のポリヌクレオチド配列同一性、或いは少なくとも８５％のポリヌクレオチド配列同一性、更には少なくとも９５％ものポリヌクレオチド配列同一性を有するSEQ ID NO:27－52からなる一群から選択された配列を含むポリヌクレオチド配列の変異配列を提供する。上記したポリヌクレオチド変異配列は何れも、EXCSの機能的或いは構造的特徴の少なくとも１つを有するアミノ酸配列をコードする。

【０１１２】

遺伝暗号の縮重により作り出され得るEXCSをコードする種々のポリヌクレオチド配列には、既知の自然発生する任意の遺伝子のポリヌクレオチド配列と最小の類似性しか有しないものも含まれることを、当業者は理解するであろう。したがって本発明には、可能なコドン選択に基づいた組み合わせの選択によって作り出され得る可能なポリヌクレオチド配列の変異の全てが含まれ得る。これらの組み合わせは、自然発生のEXCSのポリヌクレオチド配列に適用される標準的なトリプ

レット遺伝暗号を基に作られ、全ての変異が明確に開示されていると考慮する。

【０１１３】

EXCSをコードするヌクレオチド配列及びその変異配列は一般に、好適に選択されたストリンジェントな条件の下で、自然発生のEXCSのヌクレオチド配列とハイブリダイズ可能であるが、非自然発生のコドンを含めるなどの実質的に異なった使い方のコドンを有するEXCS或いはその誘導体をコードするヌクレオチド配列を作ることは有利となり得る。特定のコドンが宿主によって利用される頻度に基づいてコドンを選択して、ペプチドの発現が特定の真核細胞又は原核宿主に発生する割合を高めることが可能である。コードされたアミノ酸配列を変えないで、EXCS及びその誘導体をコードするヌクレオチド配列を実質的に変更する別の理由は、自然発生の配列から作られる転写物より例えば長い半減期など好ましい特性を備えるRNA転写物を作ることにある。

【０１１４】

本発明はまた、EXCS及びその誘導体をコードするDNA配列又はそれらの断片を完全に合成化学によって作り出すことも含む。作製後にこの合成配列を、当分野で良く知られた試薬を用いて、種々の入手可能な発現ベクター及び細胞系の何れの中にも挿入可能である。更に、合成化学を用いて、EXCSまたはその任意の断片をコードする配列の中に突然変異を導入することも可能である。

【０１１５】

更に本発明には、種々のストリンジェント条件の下で、請求項に記載されたポリヌクレオチド配列、特に、SEQ ID NO:27－52及びそれらの断片とハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド配列が含まれる(例えば、Wahl, G.M.及びS.L. Berger (1987) Methods Enzymol. 152:399-407; and Kimmel. A.R. (1987) Methods Enzymol. 152:507-511.を参照)。アニーリング及び洗浄条件を含むハイブリダイゼーションの条件は、「定義」に記載されている。

【０１１６】

当分野で周知のDNAのシークエンシング方法を用いて、本発明の何れの実施例も実行可能である。この方法には、例えばDNAポリメラーゼIのクレノウ断片、SEQUENASE（US Biochemical, Cleveland OH）、Taqポリメラーゼ（Perkin Elmer）

、熱安定性T7ポリメラーゼ（Amersham, Pharmacia Biotech Piscataway NJ）、或いはELONGASE増幅システム(Life Technologies, Gaithersburg MD)にみられるような校正エキソヌクレアーゼとポリメラーゼとの組み合わせなどの酵素が用いられる。好ましくは、MICROLAB2200液体転移システム（Hamilton, Reno, NV）、PTC200 Thermal Cycler200（MJ Research, Watertown MA）及びABI CATALYST 800 (Perkin-Elmer) などの装置を用いて配列の準備を自動化する。次に、ABI 373或いは377 DNAシークエンシングシステム(Perkin-Elmer)、MEGABACE 1000 DNAシークエンシングシステム(Molecular Dynamics. Sunnyvale CA)または当分野で周知の他の方法を用いてシークエンシングを行う。得られた配列を当分野で周知の様々なアルゴリズムを用いて分析する(例えば、Ausubel, F.M. (1997) Short Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York NY, unit 7.7; Meyers, R.A. (1995) Molecular Biology and Biotechnology, Wiley VCH, New York NY, pp. 856-853.を参照)。

【０１１７】

当分野で周知のPCR法をベースにした種々の方法で、部分的なヌクレオチド配列を利用して、EXCSをコードする核酸配列を伸長し、プロモーターや調節要素などの上流にある配列を検出する。例えば制限部位PCR法を利用する１つの方法では、一般的なプライマー及びネスト化プライマーを用いてクローニングベクター内のゲノムDNAから未知の配列を増幅する（例えば、Sarkar, G. (1993) PCR Methods Applic 2:318-322を参照）。逆PCR法を用いる別法では、広範な方向に伸長して環状化した鋳型から未知の配列を増幅するプライマーを用いる。この鋳型は、既知のゲノム遺伝子座及びその周辺の配列を含む制限断片に由来する（例えば、Triglia, T.等（1988）Nucleic Acids Res 16:8186を参照）。キャプチャPCR法を用いる第３の方法は、ヒト及び酵母菌人工染色体DNAの既知の配列に隣接するDNA断片のPCR増幅を含む（例えば、Lagerstrom, M.他（1991）PCR Methods Applic 1:111-119を参照）。この方法では、多数の制限酵素による消化及びライゲーションを用いて、PCRを行う前に未知の配列の領域の中に組換え二本鎖配列を挿入することが可能である。また、当分野で周知の別の方法を用いて未知の配列を得ることも可能である。(例えば、Parker, J.D. 他 (1991)Nucleic Acids Res

. 19:3055-3060を参照)。更に、PCR、ネスト化プライマー、PROMOTERFINDERライブラリ（Clontech, Palo Alto CA）を用いれば、ゲノムDNA内の歩行が可能である。この方法ではライブラリをスクリーニングする必要がなく、イントロン／エキソン接合部を探すのに有用である。全てのPCR法をベースにした方法では、プライマーは、市販のOLIGO 4.06 Primer Analysis software（National Biosciences, Plymouth MN）或いは別の好適なプログラムなどを用いて、長さが２２～３０ヌクレオチド、ＧＣ含有率が５０％以上、約６８℃～７２℃の温度で鋳型に対してアニーリングするよう設計される。

【０１１８】

完全長のcDNAをスクリーニングする場合は、大きなcDNAを含むようにサイズが選択されたライブラリを用いるのが好ましい。更に、オリゴd(T)ライブラリが完全な長さのcDNAを産生できない場合は、遺伝子の５'領域を有する配列を含むものが多いランダムに初回抗原刺激を受けたライブラリが有用である。ゲノムライブラリは、５'非転写調節領域への配列の伸長に有用であろう。

【０１１９】

市販のキャピラリー電気泳動システムを用いて、シークエンシングまたはPCR産物のヌクレオチド配列のサイズの分析、または確認が可能である。詳しくは、キャピラリーシークエンシングには、電気泳動による分離のための流動性ポリマー、及び４つの異なったヌクレオチドに特異的なレーザーで活性化される蛍光色素、放出された波長の検出に利用するCCDカメラを使用することが可能である。出力／光強度は、適切なソフトウエア（例えば、GENOTYPER及びSEQUENCE NAVIGATOR、Perkin-Elmer）を用いて電気信号に変換され、サンプルのローディングからコンピュータ分析までのプロセス及び電子データ表示がコンピュータ制御可能である。キャピラリー電気泳動法は、特定のサンプルに少量しか存在しない場合もあるDNAの小片のシークエンシングに特に適している。

【０１２０】

本発明の別の実施例では、EXCSをコードするポリヌクレオチド配列またはその断片を組換えDNA分子にクローニングして、適切な宿主細胞内にEXCS、その断片または機能的等価物を発現させることが可能である。遺伝暗号固有の縮重により

、実質的に同じ或いは機能的に等価のアミノ酸配列をコードする別のDNA配列が作られ得り、これらの配列をEXCSのクローン化及び発現に利用可能である。

【０１２１】

種々の目的でEXCSをコードする配列を変えるために、当分野で一般的に知られている方法を用いて、本発明のヌクレオチド配列を組換えることができる。この目的には、遺伝子産物のクローン化、プロセッシング及び／または発現の調節が含まれるが、これらに限定されるものではない。ランダムな断片によるDNAの混合や遺伝子断片と合成オリゴヌクレオチドのPCR再組み立てを用いて、ヌクレオチド配列の組換えが可能である。例えば、オリゴヌクレオチド媒介性定方向突然変異誘発を利用して、新しい制限部位を生成する突然変異の導入、グリコシル化パターンの変更、コドン優先の変更、スプライスバリアントの作製等が可能である。

【０１２２】

本発明のヌクレオチドを、MOLECULARBREEDING (Maxygen Inc., Santa Clara CA; 米国特許第5,837,458号; Chang, C.-C. 他 (1999) Nat. Biotechnol. 17:793-797; Christians, F.C. 他 (1999) Nat. Biotechnol. 17:259-264; Crameri, A. 他 (1996) Nat. Biotechnol. 14:315-319)などのDNAシャフリング技術を用いてシャフリングして、EXCSの生物学的または酵素的な活性、或いは他の分子や化合物と結合する能力などのEXCSの生物学的特性を変更或いは改良することができる。DNAシャフリングは、PCR法による遺伝子断片の組換えで遺伝子変異体のライブラリを作製するプロセスである。次に、このライブラリを、目的の特性を有する遺伝子変異体を同定するために選択或いはスクリーニングする。これらの好ましい変異体をプールし、DNAシャフリング及び選択／スクリーニングを繰り返す。従って、人工的な育種及び急速な分子の進化によって多様な遺伝子が作られる。例えば、ランダムな位置に変異がある１つの遺伝子の断片を、目的の特性が最適化するまで、組換え及びスクリーニング、シャフリングを実施することもできる。別法では、所定の遺伝子の断片を、同じ或いは異なった種の同じ遺伝子ファミリーの相同な遺伝子の断片で組換え、それによってプロトコルに従った調節可能な方法で、多数の自然発生遺伝子の遺伝子多様性を最大にすることができる。

【０１２３】

別の実施例によれば、EXCSをコードする配列は、当分野で周知の化学的方法を用いて、全体或いは一部が合成可能である（例えば、Caruthers. M.H.等（1980）Nucl. Acids Res. Symp. Ser 7:215-223; 及びHorn, T.他（1980）Nucl. Acids Res. Symp. Ser.225-232を参照）。別法として、化学的方法を用いてEXCS自体またはその断片を合成することが可能である。例えば、ペプチド合成は種々の固相技術を用いて実行可能である（例えば、Roberge, J.Y.等(1995) Science 269:202-204を参照）。また、合成の自動化は例えばABI 431Aペプチドシンセサイザ（Perkin Elmer）を用いて達成し得る。更にEXCSのアミノ酸配列または任意のその一部は、直接的な合成の際の変更、及び／または化学的方法を用いた他のタンパク質または任意のその一部からの配列との組み合わせにより、変異体ポリペプチドを作ることが可能である。

【０１２４】

このペプチドは、分離用高速液体クロマトグラフィー(例えば、Chiez, R.M. 及び F.Z. Regnier (1990)Methods Enzymol. 182:392-421を参照)を用いて実質的に精製可能である。合成されたペプチドの組成は、アミノ酸分析或いはシークエンシングにより確認することができる(例えば、Creighton. T. (1983) Proteins, Structures and Molecular Properties, WH Freeman, New York, NYを参照)。

【０１２５】

生物学的に活性なEXCSを発現させるために、EXCSをコードするヌクレオチド配列またはその誘導体を好適な発現ベクターに挿入する。この発現ベクターは、好適な宿主に挿入されたコーディング配列の転写及び翻訳の調節に必要な要素を含む。これらの要素には、ベクター及びEXCSをコードするポリヌクレオチド配列におけるエンハンサー、構成型及び発現誘導型のプロモーター、５'及び３'の非翻訳領域などの調節配列が含まれる。このような要素は、その長さ及び特異性が様々である。特定の開始シグナルによって、EXCSをコードする配列のより効果的な翻訳を達成することが可能である。このようなシグナルには、ＡＴＧ開始コドン及びコザック配列などの近傍の配列が含まれる。EXCSをコードする配列及びその

開始コドン、上流の調節配列が好適な発現ベクターに挿入された場合は、更なる転写調節シグナルや翻訳調節シグナルは必要なくなるであろう。しかしながら、コーディング配列或いはその断片のみが挿入された場合は、インフレームのＡＴＧ開始コドンを含む外来性の翻訳調節シグナルが発現ベクターに含まれなければならない。外来性の翻訳要素及び開始コドンは、自然及び合成の様々なものから得ることが可能である。用いられる特定の宿主細胞系に好適なエンハンサーを含めることで発現の効率を高めることが可能である。(例えば、Scharf, D. 他 (1994) Results Probl. Cell Differ. 201－18-162.を参照)。

【０１２６】

当業者に周知の方法を用いて、EXCSをコードする配列、好適な転写及び翻訳調節要素を含む発現ベクターを作製することが可能である。これらの方法には、in vitro組換えDNA技術、合成技術、及びin vivo遺伝子組換え技術が含まれる。(例えば、 Sambrook, J. 他. (1989) Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Plainview NY, 4章及び8章, 及び16-17章; 及び Ausubel, F.M. 他. (1995) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York NY, ch. 9章及び13章1－4章を参照)。

【０１２７】

種々の発現ベクター／宿主系を利用して、EXCSをコードする配列の保持及び発現が可能である。これらには、限定するものではないが、組換えバクテリオファージ、プラスミド、またはコスミドDNA発現ベクターで形質転換された細菌などの微生物や、酵母菌発現ベクターで形質転換された酵母菌や、ウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）に感染した昆虫細胞系や、ウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス、CaMV；タバコモザイクウイルス、TMV）または細菌発現ベクター（例えば、TiまたはpBR３２２プラスミド）で形質転換された植物細胞系や、動物細胞系などが含まれる。本発明は使用される宿主細胞によって限定されるものではない。

【０１２８】

細菌系では、多数のクローニングベクター及び発現ベクターが、EXCSをコードするポリヌクレオチド配列の使用目的に応じて選択可能である。例えば、EXCSを

コードするポリヌクレオチド配列の日常的なクローニング、サブクローニング、増殖には、PBLUESCRIPT(Stratagene, La Jolla CA)またはpSPORT１プラスミド(GIBCO BRL)などの多機能の大腸菌ベクターを用いることができる。ベクターの多数のクローニング部位にEXCSをコードする配列をライゲーションするとlacZ遺伝子が破壊され、組換え分子を含む形質転換された細菌の同定のための比色スクリーニング法が可能となる。更に、これらのベクターを用いて、クローニングされた配列のin vitroでの転写、ジデオキシンスクリーニング、ヘルパーファージによる一本鎖の救出、入れ子状態の欠失を作り出すことが可能である。(例えば、Van Heeke, G.及びS.M. Schuster (1989) J. Biol. Chem. 264:5503-5509.を参照)。例えば、抗体の産生のためなどに多量のEXCSが必要な場合は、EXCSの発現をハイレベルで誘導するベクターが使用できる。例えば、強力に発現を誘発するT5またはT7バクテリオファージプロモーターを含むベクターを使用できる。

【０１２９】

EXCSの発現に酵母の発現系の使用が可能である。α因子やアルコールオキシダーゼやPGHプロモーターなどの構成型或いは誘導型のプロモーターを含む多種のベクターが、酵母菌サッカロミセスーセレビジエまたはPichia pastorisに使用可能である。更に、このようなベクターは、発現したタンパク質の分泌か細胞内への保持のどちらかを誘導し、安定した増殖のために宿主ゲノムの中に外来配列を組み込む。(例えば、上記のAusubel.; 及びBitter, G.A. 他 (1987) Methods Enzymol.153:51-794: Scorer. C. A. 他 (1994) Bio/Technology 121－181-184.を参照)

植物系もEXCSの発現に使用可能である。EXCSをコードする配列の転写は、例えば、CaMV由来の35S及び19Sプロモーターなどのウイルスプロモーターが単独で、或いはTMV（Takamatsu, N.等（1987）EMBO J 6:307-311）由来のオメガリーダー配列と組み合わせて促進される。これらの作製物は、直接のDNA形質転換或いは病原体を介したトランスフェクションによって、植物細胞の中に導入可能である。（例えば、The McGraw Hill Yearbook of Science and Technology（1992）Mc Graw Hill NY, pp.191-196を参照）。

【０１３０】

哺乳動物細胞では、多種のウイルスベースの発現系が利用され得る。アデノウイルスが発現ベクターとして用いられる場合、後発プロモーター及び３連リーダー配列からなるアデノウイルス転写物／翻訳複合体にEXCSをコードする配列を結合し得る。ウイルスのゲノムの非必須のＥ１またはＥ３領域への挿入により、感染した宿主細胞にEXCSを発現する生ウイルスを得ることが可能である（Logan，J.及びShenk，T.（1984）Proc．Natl．Acad．Sci．81:3655-3659を参照）。さらに、ラウス肉腫ウイルス（RSV）エンハンサーなどの転写エンハンサーを用いて、哺乳動物宿主細胞における発現を増大させることが可能である。タンパク質を高レベルで発現させるために、SV40またはEBVを基にしたベクターを用いることが可能である。

【０１３１】

ヒト人工染色体（HAC）を用いて、プラスミドで発現しそれに含まれているものより大きなDNAの断片を供給可能である。治療のために約６kb～１０MbのHACsを作製し、従来の輸送方法（リポソーム、ポリカチオンアミノポリマー、またはベシクル）で供給する。(例えば、Harrington．J.J．他（1997）Nat Genet.15:345-355.を参照)。

【０１３２】

哺乳動物系の組換えタンパク質の長期にわたる産生のためには、株化細胞におけるEXCSの安定した発現が望ましい。例えば、発現ベクターを用いて、EXCSをコードする配列を株化細胞に形質転換することが可能である。このような発現ベクターは、ウイルス起源の複製及び／または内在性の発現要素や、同じ或いは別のベクターの上の選択マーカー遺伝子を含む。ベクターの導入の後、細胞を選択培地に移す前に、強化培地で約１～２日の間増殖させる。選択マーカーの目的は選択的な媒介物に対する抵抗性を与えるとともに、その存在により導入された配列をうまく発現する細胞の増殖及び回収が可能となる。安定的に形質転換された細胞の耐性クローンは、その細胞型に好適な組織培養技術を用いて増殖可能である。

【０１３３】

任意の数の選択系を用いて、形質転換された細胞系を回収することが可能であ

る。選択系には、以下のものに限定はしないが、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子及びアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ遺伝子が含まれ、それぞれtk⁻又はapr⁻細胞において使用される。(例えば、Wigler, M. 他 (1977) Cell 11:223-232; 及びLowy, I. 他(1980) Cell 22:817-823を参照)。また代謝拮抗物質、抗生物質或いは除草剤への耐性を選択のベースとして用いることができる。例えばdhfrはメトトレキセートに対する耐性を与え、neoはアミノグリコシッドネオマイシン及びG-418に対する耐性を与え、als或いはpatはクロルスルフロン（cEXCSsulfuron）、ホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ（phosphinotricin acetyltransferase）に対する耐性を与える(例えば、Wigler, M. 他. (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. 77:3567-3570; Colbere-Garapin, F. 他(1981) J. Mol. Biol. 150:1-14を参照)。さらに選択に利用できる遺伝子、例えば、代謝のために細胞が必要なものを変えるtrpB及びhisDが文献に記載されている（例えば、Hartman, S.C.及びR.C. Mulligan（1988）Proc. Natl. Acad. Sci. 85:8047-51を参照）。アニトシアニン、緑色蛍光タンパク質（GFP；Clontech）、βグルクロニダーゼ及びその基質GUS, ルシフェラーゼ及びその基質ルシフェリンなどの可視マーカーが用いられる。緑色蛍光タンパク質（GFP）(Clontech, Palo Alto, CA)も使用できる。これらのマーカーを用いて、トランスフォーマントを特定するだけでなく、特定のベクター系に起因する一過性或いは安定したタンパク質発現を定量することが可能である（例えば、Rhodes, C.A.他（1995）Methods Mol. Biol. 55:121-131を参照）。

【０１３４】

マーカー遺伝子の発現の存在／不在によって目的の遺伝子の存在が示されても、その遺伝子の存在及び発現の確認が必要な場合もある。例えば、EXCSをコードする配列がマーカー遺伝子配列の中に挿入された場合、EXCSをコードする配列を含む形質転換された細胞は、マーカー遺伝子機能の欠落により特定可能である。または、１つのプロモーターの制御下でマーカー遺伝子がEXCSをコードする配列と一列に配置することも可能である。誘導または選択に応答したマーカー遺伝子の発現は、通常タンデム遺伝子の発現も示す。

【０１３５】

一般に、EXCSをコードする核酸配列を含み、EXCSを発現する宿主細胞は、当業者に周知の種々の方法を用いて特定することが可能である。これらの方法には、DNA－DNA或いはDNA－RNAハイブリダイゼーションや、PCR法、核酸或いはタンパク質の検出及び／または数量化のための膜系、溶液ベース、或いはチップベースの技術を含むタンパク質生物学的試験法または免疫学的アッセイが含まれるが、これらに限定されるものではない。

【０１３６】

特異的なポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体のどちらかを用いるEXCSの発現の検出及び計測のための免疫学的な方法は、当分野で周知である。このような技法には、酵素に結合したイムノソルベントアッセイ（ELISA）、ラジオイムノアッセイ（RIA）、蛍光標示式細胞分取器（FACS）などがある。EXCS上の２つの非干渉エピトープに反応するモノクローナル抗体を用いた、２部位のモノクローナルベースイムノアッセイ（two-site, monoclonal-based immunoassay）が好ましいが、競合の結合アッセイも用いることもできる。これらのアッセイ及びその他のアッセイは、当分野では十分に知られている。(例えば、 Hampton. R. 他.(1990) Serological Methods, a Laboratory Manual. APS Press. St Paul. MN, Sect. IV; Coligan, J. E. 他Current Protocols in Immunology, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience, New York. NY; 及びPound, J.D. (1990) Immunochemical Protocols, Humans Press, Totowa NJ)。

【０１３７】

種々の標識技術及び結合技術が当業者には周知であり、様々な核酸アッセイおよびアミノ酸アッセイに用いられ得る。EXCSをコードするポリヌクレオチドに関連する配列を検出するための、標識されたハイブリダイゼーションプローブ或いはPCRプローブを生成する方法には、オリゴ標識化、ニックトランスレーション、末端標識化、または標識されたヌクレオチドを用いるPCR増幅が含まれる。別法として、EXCSをコードする配列、またはその任意の断片をmRNAプローブを生成するためのベクターにクローニングすることも可能である。当分野では周知であり市販されているこのようなベクターを、T7, T3, またはSP6などの好適なRNAポリメラーゼ及び標識されたヌクレオチドの追加によって、in vitroでのRNAプロ

ーブの合成に用いることができる。これらの方法は、例えば、Amersham Pharmacia Biotech及びPromega（Madison WI）、U.S. Biochemical Corp（Cleveland OH）が市販する種々のキットを用いて行うことができる。容易な検出のために用い得る好適なレポーター分子或いは標識には、基質、コファクター、インヒビター、磁気粒子、及び放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、色素産生剤などが含まれる。

【０１３８】

EXCSをコードするヌクレオチド配列で形質転換された宿主細胞は、細胞培地でのこのタンパク質の発現及び回収に好適な条件の下で培養される。形質転換された細胞から産生されたタンパク質が分泌されるか細胞内に留まるかは、使用されるその配列及び／またはそのベクターによる。EXCSをコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクターは、原核細胞膜及び真核細胞膜を透過するEXCSの分泌を誘導するシグナル配列を含むように設計できることは、当業者には理解されよう。

【０１３９】

更に、挿入した配列の発現調節能力または発現したタンパク質を所望の形にプロセシングする能力によって宿主細胞株が選択される。このようなポリペプチドの修飾には、アセチル化、カルボキシル化、グリコシル化、リン酸化、脂質化（lipidation）、及びアシル化が含まれるが、これらに限定されるものではない。タンパク質の「prepro」または「pro」形を切断する翻訳後のプロセシングを利用して、標的タンパク質、折りたたみ及び／または活性を特定することが可能である。翻訳後の活性のための特定の細胞装置及び特徴のある機構をもつ種種の宿主細胞（例えば、CHO、HeLa、MDCK、MEK293、WI38）がAmerican Type Culture Collection（ATCC; Bethesda, MD）より入手可能であり、外来のタンパク質の正しい修飾及びプロセシングを確実にするために選択される。

【０１４０】

本発明の別の実施例では、EXCSをコードする自然或いは変更された、または組換えの核酸配列を上記した任意の宿主系の融合タンパク質の翻訳となる異種配列に結合させる。例えば、市販の抗体によって認識できる異種部分を含むキメラEXCSタンパク質が、EXCSの活性のインヒビターに対するペプチドライブラリのスク

リーニングを促進し得る。また、異種タンパク質部分及び異種ペプチド部分が、市販の親和性基質を用いて融合タンパク質の精製を促進し得る。このような部分には、グルタチオンＳトランスフェラーゼ（GST）、マルトース結合タンパク質（MBP）、チオレドキシン（Trx）、カルモジュリン結合ペプチド（CBP）、6－His、FLAG、c－mc、赤血球凝集素（HA）が含まれるが、これらに限定されるものではない。GST及びMBP、Trx、CBP、6－Hisによって、固定されたグルタチオン、マルトース、フェニルアルシン酸化物（phenylarsine oxide）、カルモジュリン、金属キレート樹脂のそれぞれで同族の融合タンパク質の精製が可能となる。FLAG、c－mc、及び赤血球凝集素（HA）によって、これらのエピトープ標識を特異的に認識する市販のモノクローナル抗体及びポリクローナル抗体を用いた融合タンパク質の免疫親和性の精製ができる。また、EXCSをコードする配列と異種タンパク質配列との間にあるタンパク質分解切断部位を融合タンパク質が含むように遺伝子操作すると、EXCSが精製の後に異種部分から切断され得る。融合タンパク質の発現と精製の方法は、Ausubel. (1995、前出 ch 10).に記載されている。市販されている様々なキットを用いて、融合タンパク質の発現及び精製を促進できる。

【０１４１】

本発明の別の実施例では、TNTウサギ網状赤血球可溶化液またはコムギ胚芽抽出系(Promega)を用いてin vitroで放射能標識したEXCSの合成が可能である。これらの系は、T7またはT3、SP6プロモーターと機能的に結合したタンパク質をコードする配列の転写と翻訳をつなげる。翻訳は、例えば、^{35}Ｓメチオニンである放射能標識されたアミノ酸前駆体の存在の下で起こる。

【０１４２】

EXCSの断片は、組換え生成物だけでなく固相技術を用いて直接的なペプチド合成によって作製され得る(例えば、前出のCreighton, pp. 55-60.を参照)。タンパク質の合成は、手動或いは自動で行われ得る。自動合成は、例えばABI 431Aペプチドシンセサイザ（Perkin Elmer）を用いて行うことが可能である。EXCSの種々の断片は別々に合成して、次ぎに結合させて完全長分子を作製する。

【０１４３】

（治療）

EXCSのある領域と細胞外シグナル伝達分子のある領域との間に、例えば配列及びモチーフの文脈における化学的及び構造的類似性が存在する。更に、EXCSの発現は、生殖、心血管、神経、癌、造血／免疫の組織に密接に関連する。従って、EXCSは、感染症及び胃腸疾患、神経の疾患、生殖障害、自己免疫／炎症異常、癌を含む細胞増殖異常においてある役割を果たすと考えられる。EXCSの発現若しくは活性の増大に関連する疾患の治療においては、EXCSの発現または活性を低下させることが望ましい。また、EXCSの発現または活性の低下に関連する疾患の治療においては、EXCSの発現または活性を増大させることが望ましい。

【０１４４】

従って、一実施例において、EXCSの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、患者にEXCSまたはその断片や誘導体を投与することが可能である。限定するものではないが、このような疾患の中には感染症が含まれ、その中には、プラスモディウムまたはマラリアを引き起こす体内寄生性アメーバ及びレーシュマニア、トリパノソーマ属、トキソプラズマ、ニューモシスチス・カリニ、ジアルジア属などの腸内原生動物、トリコモナス、旋毛虫などの組織線形動物、回虫属などの腸内線形動物、リンパのフィラリア性線形動物、住血吸虫及び条虫（サナダムシ）などの線形動物に分類される寄生虫による感染症と、アデノウイルス及びアレナウイルス、ブンヤウイルス、カリチウイルス、コロナウイルス、フィロウイルス、ヘパドナウイルス、ヘルペスウイルス、フラビウイルス、オルソミクソウイルス、パルボウイルス、パポーバウイルス、パラミキソウイルス、ピコルナウイルス、ポックスウイルス、レオウイルス、レトロウイルス、ラブドウイルス、トガウイルスに分類されるウイルス病原体による感染と、肺炎球菌及びブドウ球菌、連鎖球菌、桿菌、コリネバクテリウム、クロストリジウム属、髄膜炎菌、淋菌、リステリア、モラクセラ属、キンゲラ、ヘモフィルス属、レジオネラ、ボルデテラ、グラム陰性腸内細菌（赤痢菌属及びサルモネラ、カンピロバクターを含む）、シュードモナス、ビブリオ属、ブルセラ、フランシセラ、エルシニア、バルトネラ、norcardium、アクチノミセス、ミコバクテリア、スピロヘターレス、リケッチア、クラミジア、マイコプラズマに分類される細菌

病原体による感染症と、コウジカビ及びブラストマイセス、皮膚糸状菌、クリプトコッカス、コクシジオイデス、malasezzia、ヒストプラスマ、及び真菌症を引き起こすその他の真菌病原体に分類される真菌病原体による感染症とが含まれ、また、胃腸疾患も含まれ、その中には、嚥下障害、消化性食道炎、食道痙攣、食道狭窄、食道癌、消化不良、消化障害、胃炎、胃癌、食欲不振、悪心、嘔吐、胃不全麻痺、洞または幽門の浮腫、腹部アンギナ、胸焼け、胃腸炎、イレウス、腸管感染、消化性潰瘍、胆石症、胆嚢炎、胆汁うっ滞、膵臓炎、膵臓癌、胆道疾患、肝炎、高ビリルビン血症、硬変症、肝臓の受動性うっ血、ヘパトーム、感染性大腸炎、潰瘍性大腸炎、潰瘍性直腸炎、クローン病、ホイップル病、マロリー－ヴァイス症候群、結腸癌、結腸閉塞、過敏性腸症候群、短小腸症候群、下痢、便秘、胃腸出血、及び後天性免疫不全症候群（AIDS）腸症、黄疸、肝性脳症、肝腎症候群、肝炎、肝脂肪症、血色素症、ウィルソン病、α-1-アンチトリプシン欠損症、ライ症候群、原発性硬化性胆管炎、肝梗塞、門脈循環閉塞及び血栓、小葉中心壊死、肝臓紫斑病、肝静脈血栓、肝静脈閉塞症、子癇前症、子癇、妊娠性急性肝脂肪、妊娠性肝臓内胆汁うっ滞と、結節性再生及び腺腫、癌腫を含む肝癌とが含まれ、また、また、神経の疾患が含まれ、その中には、癲癇、虚血性脳血管障害、脳卒中、大脳新生物、アルツハイマー病、ピック病、ハンチントン病、痴呆、パーキソン病及びその他の錐体外路障害、筋萎縮性側策硬化及びその他の運動ニューロン障害、進行性神経性筋萎縮症、色素性網膜炎、遺伝性運動失調、多発性硬化症及び他の脱髄疾患、細菌性及びウイルス性髄膜炎、脳膿瘍、硬膜下蓄膿症、硬膜外膿瘍、化膿性頭蓋内血栓性静脈炎、脊髄炎及び神経根炎、ウイルス性中枢神経系疾患と、クールー及びクロイツフェルト－ヤコブ病、ゲルストマン症候群、Gerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含むプリオン病と、致死性家族性不眠症、神経系性栄養病及び代謝病、神経線維腫症、結節硬化症、小脳網膜血管芽腫（cerebelloretinal hemangioblastomatosis）、脳３叉神経血管症候群、中枢神経系性精神薄弱及び他の発生障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経系障害、末梢神経疾患、皮膚筋炎及び多発性筋炎と、遺伝性、代謝性、内分泌性、及び中毒性ミオパシーと、重症筋無力症、周期性四肢麻痺と、気分性及び不安性の障害、分裂病性疾患を含む精神病と、季節性障害（SAD）と、静座不能、

健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、錐体外路性終末欠陥症候群、ジストニー、分裂病性精神障害、帯状疱疹後神経痛、及びトゥーレット病と、進行性核上麻痺、皮質基部変性（corticobasal degeneration）及び家族性の前頭側頭性健忘症とが含まれ、また生殖障害が含まれ、その中には、プロラクチン産生異常と、卵管病、排卵異常、及び子宮内膜症、発情期異常、月経周期異常、多嚢胞卵巣症候群、卵巣過剰刺激症候群、子宮内膜癌及び卵巣癌、子宮筋腫、自己免疫異常、異所性妊娠、及び奇形発生を含む不妊症と、乳癌、線維嚢胞性乳腺症、及び乳漏症と、精子形成異常、生理学上の精子異常、精巣癌、前立腺癌、良性の前立腺過形成、前立腺炎、ペーロニー病、インポテンス、男性乳房癌及び女性化乳房とが含まれ、また、また、自己自己免疫／炎症異常も含まれ、その中には炎症及び日光性角化症、後天性免疫不全症候群（AIDS）及び副腎機能不全、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強直性脊椎炎、アミロイド症、貧血、喘息、アテローム性動脈硬化症、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫性多腺性内分泌カンジダ性外胚葉ジストロフィ（APECED）、気管支炎、滑液包炎、硬変、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー性皮膚炎、皮膚筋炎、糖尿病、肺気腫、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、赤芽球症、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、発作性夜間血色素尿症、肝炎、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、混合型結合織病（MCTD）、骨髄線維症、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋又は心膜炎症、骨関節炎、骨粗しょう症、膵炎、真性多血症、多発性筋炎、乾癬、ライター症候群、リウマチ様関節炎、強皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性エリテマトーデス、全身性硬化症、原発性血小板血症、血小板減少症、潰瘍性大腸炎、ウェルナー症候群、癌合併症、血液透析、体外循環、ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、蠕虫感染症、外傷と、リンパ腫及び白血病、骨髄腫を含む造血性の癌が含まれ、また、細胞増殖異常が含まれ、その中には日光性角化症及びアテローム性動脈硬化、滑液包炎、硬変、肝炎、混合型結合組織病（MCTD）、骨髄線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症、並びに腺癌及び白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、及び奇形癌、具

体的には、副腎、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房、頚部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺含まれる。

【０１４５】

別の実施例では、限定するものではないが上に列記した疾患を含むEXCSの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、EXCSまたはその断片や誘導体を発現し得るベクターを患者に投与することも可能である。

【０１４６】

更に別の実施例では、限定するものではないが上に列記した疾患を含むEXCSの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、実質的に精製されたEXCSを含む医薬品組成物を好適な医薬用担体と共に患者に投与することも可能である。

【０１４７】

更に別の実施例では、限定するものではないが上に列記した疾患を含むEXCSの発現または活性の低下に関連した疾患の治療または予防のために、EXCSの活性を調節するアゴニストを患者に投与することも可能である。

【０１４８】

更なる実施例では、EXCSの発現または活性の増大に関連した疾患の治療または予防のために、患者にEXCSのアンタゴニストを投与することが可能である。限定するものではないが、このような疾患の例には、上記した感染症及び胃腸疾患、神経の疾患、生殖障害、自己免疫／炎症異常、癌を含む細胞増殖異常が含まれる。一実施態様では、EXCSと特異的に結合する抗体が直接アンタゴニストとして、或いはEXCSを発現する細胞または組織に薬剤を運ぶターゲッティング或いは運搬機構として間接的に用いられ得る。

【０１４９】

別の実施例では、限定するものではないが上に列記した疾患を含むEXCSの発現または活性の増大に関連した疾患の治療または予防のために、EXCSをコードするポリヌクレオチドの相補配列を発現するベクターを患者に投与することも可能である。

【０１５０】

別の実施例では、本発明の任意のタンパク質、アンタゴニスト、抗体、アゴニスト、相補的な配列、ベクターを別の好適な治療薬と組み合わせて投与することもできる。当業者は、従来の医薬原理にしたがって併用療法で用いる好適な治療薬を選択可能である。治療薬との組み合わせにより、上に列記した種々の疾患の治療または予防に相乗効果をもたらし得る。この方法を用いて少ない量の各薬剤で医薬効果をあげることが可能であり、広範囲な副作用の可能性を低減し得る。

【０１５１】

EXCSのアンタゴニストは、当分野で一般的な方法を用いて製造することが可能である。詳しくは、精製されたEXCSを用いて抗体を作ったり、治療薬のライブラリをスクリーニングしてEXCSと特異的に結合するものを同定が可能である。EXCSの抗体も、当分野で一般的な方法を用いて製造することが可能である。このような抗体には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖、Fabフラグメント、及びFab発現ライブラリによって作られたフラグメントが含まれる。但し、これらに限定されるものではない。治療用には、中和抗体（即ち、二量体の形成を阻害するもの）が特に好ましい。

【０１５２】

抗体の産生のためには、ヤギ、ウサギ、ラット、マウス、ヒト及びその他のものを含む種々の宿主が、EXCSまたは任意の断片、または免疫原性の特性を備えるそのオリゴペプチドの注入によって免疫化され得る。宿主の種に応じて、種々のアジュバントを用いて免疫応答を高めることもできる。このようなアジュバントにはフロイントアジュバント、水酸化アルミニウムなどのミネラルゲルアジュバント、リゾレシチン、プルロニックポリオル、ポリアニオン、ペプチド、油性乳剤、キーホールリンペットヘモシニアン、及びジニトロフェノールなどの界面活性剤が含まれるが、これらに限定されるものではない。ヒトに用いられるアジュバントの中では、BCG（bacilli Calmette-Guerin）及びCorynebacterium parvumが特に好ましい。

【０１５３】

EXCSに対する抗体を誘発するために用いられるオリゴペプチド、ペプチド、または断片は、少なくとも約５個のアミノ酸からなり、一般的には約１０個以上の

アミノ酸からなるものが好ましい。これらのオリゴペプチド或いはペプチド、またはそれらの断片は、天然のタンパク質のアミノ酸配列の一部と同一であることが望ましく、小さな自然発生の分子の全アミノ酸配列も含む。EXCSアミノ酸の短いストレッチは、KLHなどの別のタンパク質の配列と融合し、キメラ分子に対する抗体が産生され得る。

【０１５４】

EXCSに対するモノクローナル抗体は、培地内の連続した細胞株によって、抗体分子を産生する任意の技術を用いて作製することが可能である。これらの技術には、ハイブリドーマ技術、ヒトＢ細胞ハイブリドーマ技術、及びEBV－ハイブリドーマ技術が含まれるが、これらに限定されるものではない（例えば、Kohler, G. 等. (1975) Nature 256:495-497; Kozbor, D. 等. (1985) .J. Immunol. Methods 81－8-42; Cote, R.J. 等. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. 80:2026-2030; Cole, S.P. 等. (1984) Mol. Cell Biol. 62:109-120を参照）。

【０１５５】

更に、「キメラ抗体」作製のために発達したヒト抗体遺伝子にマウス抗体遺伝子をスプライシングするなどの技術が、好適な抗原特異性及び生物学的活性を備える分子を得るために用いられる（例えば、Morrison, S.L.他. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. 81－4851－4855; Neuberger, M.S.他. (1984) Nature 312:604-608; Takeda, S.等. (1985) Nature 314:452,454を参照）。別法では、当分野で周知の方法を用いて、一本鎖抗体の産生のための記載された技術を適用して、EXCS特異性一本鎖抗体を生成する。関連する特異性を備えるが別のイディオタイプの組成の抗体は、ランダムな組み合わせの免疫グロブリンライブラリから鎖混合によって生成することもできる（例えば、Burton D.R. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. 88:11120-3を参照）。

【０１５６】

抗体は、リンパ球集団の中のin vivo産生を誘発することによって、または免疫グロブリンライブラリのスクリーニング又は文献に示されているような、高度に特異的な結合試薬のパネルをスクリーニングすることによって、産生することもできる（例えば、Orlandi, R. 他. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. 86: 3833

-3837; Winter, G. 他. (1991) Nature 349:293-299を参照）。

【０１５７】

EXCSに対する特異的な結合部位を含む抗体も産生することができる。例えば、このような断片には、抗体分子のペプシン消化によって生成されるF（ab'）に断片と、F（ab'）に断片のジスルフィド架橋を減じることによって生成されるFab断片が含まれるが、これらに限定されるものではない。別法では、Fab発現ライブラリを作製することによって、所望の特異性とモノクローナルFab断片の迅速且つ容易な同定が可能となる（例えば、Huse, W.D. 等. (1989) Science 254:1275-1281を参照）。

【０１５８】

種々のイムノアッセイを用いてスクリーニングし、所望の特異性を有する抗体を同定する。隔離された特異性を有するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体の何れかを用いる競合的な結合、または免疫放射線活性のための数々のプロトコルが、当分野では周知である。通常このようなイムノアッセイには、EXCSとその特異性抗体との間の複合体調整の計測が含まれる。二つの非干渉性EXCSエピトープに対して反応性のモノクローナル抗体を用いる、２部位モノクローナルベースのイムノアッセイが一般に利用されるが、競合的結合アッセイも利用することができる(Pound、前出)。

【０１５９】

ラジオイムノアッセイ技術と共にScatchard分析などの様々な方法を用いて、EXCSに対する抗体の親和性を評価する。親和性を結合定数Kaで表すが、このKaは、平衡状態の下でEXCS抗体複合体のモル濃度を遊離抗体と遊離抗原のモル濃度で除して得られる値である。多数のEXCSエピトープに対して親和性が不均一なポリクローナル抗体医薬のＫａは、EXCSに対する抗体の平均親和性または結合活性を表す。特定のEXCSエピトープに単一特異的なモノクローナル抗体医薬のＫａは、親和性の真の測定値を表す。Ka値が10^{9}～10^{12}Ｌ／ｍｏｌの高親和性抗体医薬は、EXCS抗体複合体が激しい操作に耐えなければならないイムノアッセイに用いるのが好ましい。Ka値が10^{6}～10^{7}Ｌ／ｍｏｌの低親和性抗体医薬は、EXCSが抗体から最終的に活性化状態で解離する必要がある免疫精製（immunopuri

fication）及び類似の処理に用いるのが好ましい。(Catty, D. (1988) Antibodies, Volume I: A Practical Approach. IRL Press, Washington, DC; Liddell, J. E. and Cryer, A. (1991) A Practical Guide to Monoclonal Antibodies, John Wiley & Sons, New York NY)。

【０１６０】

ある下流での適用におけるこのような医薬品の品質及び適性を調べるために、ポリクローナル抗体医薬の抗体価及び結合活性を更に評価する。例えば、少なくとも１～２ｍｇ／ｍｌの特異的な抗体、好ましくは５～１０ｍｇ／ｍｌの特異的な抗体を含むポリクローナル抗体医薬は一般に、EXCS抗体複合体を沈殿させなければならない処理に用いられる。様々な適用例における抗体の特異性及び抗体価、結合活性、抗体の品質や使用法の指針は一般に入手可能である。(例えば、Catty, 前出, 及びColigan 他、前出を参照)。

【０１６１】

本発明の別の実施例では、EXCSをコードするポリヌクレオチド、またはその任意の断片または相補配列が、治療目的で使用することができる。ある実施形態では、EXCSをコードするポリヌクレオチドの相補配列がmRNAの転写を阻止するのに好適である場合、これを使用することができる。特に細胞は、EXCSをコードするポリヌクレオチドと相補的な配列で形質転換することもできる。したがって、相補的分子または断片は、EXCSの活性の調節、または遺伝子機能の調節のために使用することができる。このような技術は当分野では周知であり、センスまたはアンチセンスオリゴヌクレオチドまたは大きな断片が、EXCSをコードする配列の制御領域から、またはコード領域に沿ったさまざまな位置から設計可能である。

【０１６２】

レトロウイルス、アデノウイルス、ヘルペス又はワクシニア、又は様々な細菌性プラスミド由来の発現ベクターを用いて、ヌクレオチド配列を標的の器官、組織又は細胞集団に運ぶこともできる。当業者に周知の方法を用いてEXCSをコードポリヌクレオチドと相補的な核酸配列を発現するベクターを作製することができる(例えば、前出のSambrook 他、及び前出のAusubel 他によるものを参照)。

【０１６３】

EXCSをコードする遺伝子は、EXCSをコードするポリヌクレオチド又はその断片を高いレベルで発現する発現ベクターで、細胞又は組織を形質転換することによって止めることができる。このような作製物を用いて翻訳できないセンス又はアンチセンス配列を細胞の中に導入することができる。DNAの中に組み入れられない場合でも、このようなベクターは内在性のヌクレアーゼによって機能が損なわれるまでmRNA分子を転写し続ける。非複製ベクターでも一過性の発現を一ヶ月以上に亘って続け、好適な複製要素がベクター系の一部である場合はさらに長く持続し得る。

【０１６４】

上記した通り、遺伝子の発現は、EXCSをコードする遺伝子の制御５’または調節領域に対する相補的な配列またはアンチセンス分子（DNA或いはRNA、PNA）を設計することによって調節することができる。例えば開始部位から約－１０から約＋１０までの転写開始部位に由来するオリゴヌクレオチドを用いることが可能である。同様に、「三重らせん」と塩基対合法を用いて阻止することができる。三重らせん構造は、二重らせんがポリメラーゼ、転写因子、または調節分子の結合のために十分に広がるのを阻止するため有用である。三重式DNAを用いる最近の治療の進歩は文献に記載されている（例えば、Gee, J.E. 等. (1994) In: Huber, B.E. 及び B.I. Carr, Molecular and ImmunologiEXCSproaches, Futura Publishing Co., Mt. Kisco, NYを参照）。相補的な配列またはアンチセンス分子もまた、転写物がリボソームに結合するのを阻止することによってmRNAの翻訳を阻止するように設計できる。

【０１６５】

酵素性RNA分子であるリボザイムは、RNAの特異的切断を触媒するために用いることができる。リボザイム作用の機構には、相補的な標的RNAへのリボザイム分子の配列特異性ハイブリダイゼーションが含まれ、ヌクレオチド鎖切断が続く。例えば、EXCSをコードする配列のヌクレオチド鎖切断を、特異的且つ効果的に触媒する組換え型のハンマーヘッド型リボザイム分子が含まれる。

【０１６６】

任意の潜在的RNA標的内の特異的なリボザイム切断部位が、後続の配列ＧＵＡ

、ＧＵＵ、及びＧＵＣを含むリボザイム切断部位に対して、標的分子をスキャニングすることによって初めに同定される。一度同定されると、切断部位を含む標的遺伝子の領域に対応する１５個から２０個のリボヌクレオチドの短いRNA配列を、オリゴヌクレオチドの機能を不全にする二次的な構造の特徴について評価することが可能である。候補標的の適合性も、リボヌクレアーゼ保護アッセイを用いて、相補的なオリゴヌクレオチドとのハイブリダイゼーションの容易性をテストすることによって評価することが可能である。

【０１６７】

本発明の相補的なリボ核酸分子及びリボザイムは、当分野で周知の方法を用いて、核酸分子の合成のために作製することができる。これらの方法には、固相ホスホラミダイト化合物などのオリゴヌクレオチドを化学的に合成する方法が含まれる。別法では、RNA分子がin vitro及びin vivoでEXCSをコードするDNA配列の転写によって生成され得る、このようなDNA配列はT7またはSP6等の好適なRNAポリメラーゼプロモータを用いて、種々のベクターの中に組み入れることが可能である。別法では、相補的なRNAを構成的または誘導的に合成するこれらのcDNA作製物は、細胞株、細胞、または組織の中に導入することができる。

【０１６８】

RNA分子を修飾することによって、細胞内の安定性を高め、半減期を長くすることができる。可能な修飾には、分子の５’及び／または３’端部でのフランキング配列の追加、または分子のバックボーン内でのホスホジエステラーゼ結合よりむしろホスホロチオネート又は２’Ｏメチルの使用が含まれる、がこれらに限定されるものではない。PNAの生成に固有のこの概念は、内在性のエンドヌクレアーゼによって容易には認識されないアデニン、シチジン、グアニン、チミン、及びウリジンのアセチル－、メチル－、チオ－、及び同様の修飾形態だけでなく、イノシン、キュエオシン（queosine）、及びワイブトシン（wybutosine）などの従来のものでない塩基を含めることによって、これらの分子の全体に拡大することができる。

【０１６９】

ベクターを細胞又は組織に導入する多数の方法が利用でき、in vivo、in vitr

o、及びex vivoでの使用に等しく適している。ex vivoでの治療の場合、患者から採取された肝細胞の中にベクターを導入して、自家移植で同じ患者に戻すためにクローニング増殖される。トランスフェクション、リボソーム注入またはポリカチオンアミノポリマーによる運搬は、当分野で周知の方法を用いて実行することができる（例えば、Goldman, C.K. 他. (1997) Nature Biotechnology 15:462-66:を参照）。

【０１７０】

上記したいかなる治療方法も、例えば、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ウサギ及びサルなどの哺乳動物を含む、治療が必要な全ての被験者に適用できる。

【０１７１】

本発明の別の実施例は、上記した全ての治療効果のために、医学上認められる担体と共に医薬品或いは無菌組成物の投与に関連する。このような医薬品組成物は、EXCS、EXCSの抗体、擬態、アゴニスト、アンタゴニスト、又はEXCSのインヒビターなどからなる。この組成物は、単体で、或いは安定剤などの１種類以上の別の薬剤と共に、無菌の生体適合性医薬品担体に投与することができる。このような医薬品担体には、生理食塩水、緩衝食塩水、ブドウ糖、及び水などが含まれるがこれらに限定されるものではない。この組成物は、単独或いは薬物又はホルモンなどの別の薬剤と共に投与することができる。

【０１７２】

本発明に用いられる医薬品組成物は、様々な経路を用いて投与するが可能である。この経路には、経口、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、クモ膜下、心室内、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸内、局所、舌下、または直腸が含まれるがこれらに限定されるものではない。

【０１７３】

活性処方成分に加えて、これらの医薬品組成物には、活性化合物を医薬的に使用可能な薬剤にするのを容易にする、医薬品添加物及び補助剤を含む好適な薬学的に認められる担体が含まれ得る。製剤及び投与についての詳しい技術については、最新版のRemington's Pharmaceutical Sciences (Maack Publishing, PA)に記載されている。

【０１７４】

経口投与用の医薬品組成物が、経口投与に好適な投与量において当分野で周知の薬学的に許容される担体を用いて、製剤することができる。このような担体により、医薬品組成物が患者が摂取するために、錠剤、丸薬、糖衣剤、カプセル、液体、ゲル状、シロップ剤、泥状物、懸濁液として製剤される。

【０１７５】

経口用に用いられる医薬品は、活性化合物と固体の薬品添加物とを混合し、得られた顆粒の混合物を処理して、（所望に応じてすりつぶした後）タブレット或いは糖衣錠コア（dragee cores）にする。好適な医薬品添加物とは、ラクトース、スクロース、マンニトール、又はソルビトールを含む糖類、トウモロコシ、小麦、米、ジャガイモ、又はその他の植物からのでんぷん、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、又はカルボキシメチルセルロースナトリウムなどのセルロース、アラビアゴム及びトラガカントゴムを含むゴム、ゼラチン及びコラーゲンなどのタンパク質などの炭水化物又はタンパク質賦形剤である。必要に応じて、例えば、架橋結合したポリビニルピロリドン、かんてん、アルギン酸、またはその塩であるアルギン酸ナトリウムなどの崩壊剤または可溶化剤が加えられる。

【０１７６】

糖衣錠コアは、濃縮糖溶剤などの好適なコーティングと共に用いられる。このような濃縮糖溶剤には、アラビアゴム、タルク、ポリビニルピロリドン、カーボポルゲル（carbopol gel）、ポリエチレングリコール、及び／または二酸化チタン、ラッカー溶剤、及び好適な有機溶媒または混合溶剤などが含まれ得る。染料または色素が、製品の識別又は活性化合物の量、即ち薬用量を示すため、錠剤または糖衣錠に加えられる。

【０１７７】

経口用に用いられる医薬品製剤には、ゼラチンから作られたプッシュ－フィット型のカプセル、グリセロールまたはソルビトールなどのコーティングとゼラチンからなる封入されたカプセルが含まれる。プッシュ－フィット型のカプセルには、ラクトース又はスターチなどの賦形剤や結合材、タルク又はステアリン酸マ

グネシウムなどの潤滑剤、所望に応じて安定剤と混合された活性処方成分が含まれる。ソフトカプセルでは、活性化合物が、安定剤と共に或いは安定剤なしで、脂肪油、溶液、またはポリエチレングリコール溶液などの好適な溶液に溶解或いは懸濁され得る。

【０１７８】

非経口投与用に好適な医薬品剤が、水溶液で製剤されるが、ハンクス液、リンガー液、生理緩衝食塩水などの生理学的に適合性のある緩衝剤が好ましい。水性懸濁注射液は、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、又はデキストランなどの懸濁液の粘性を高める物質を含み得る。更に、活性化合物の懸濁液は、好適な油性注入懸濁液として製剤され得る。好適な親水性溶液または媒体には、ごま油などの脂肪油、オレイン酸エチル、トリグリセリド又はリポソームなどの合成脂肪酸が含まれる。非脂質ポリカチオンアミノポリマーが、運搬目的で使用される。随意選択により、懸濁液は高濃度の溶液が可能となるよう化合物の溶解性を高める好適な安定剤または薬剤を含み得る。

【０１７９】

局部または鼻腔投与のために、特定の障壁に浸透する好適な浸透剤が製剤に用いられる。このような浸透剤は当業者には周知である。

【０１８０】

本発明の医薬品組成物は、当分野で周知の方法、例えば従来の混合、溶解、顆粒化、糖衣化、溶離（levigating）、乳化、カプセル化、封入、または凍結乾燥処理を用いて製造され得る。

【０１８１】

医薬品組成物は塩類として製剤され、限定されないが、塩酸、硫酸、酢酸、乳酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸等の多くの酸と共に形成可能である。塩分は対応する遊離塩基系よりも、水溶剤または他のプロトン溶剤に溶けやすい。別の薬剤の形態には、１ ｍＭ～50 ｍＭヒスチジン、０．１％～２％スクロース、及び２％～７％マンニトールの幾つか或いは全てを含み、ｐＨの範囲が４．５～５．５であり、使用前に緩衝剤と結合する凍結乾燥粉末を用いることができる。

【０１８２】

医薬品組成物が調合された後、それらは適当な箱に詰められ、指定した症状の薬としてラベルが貼られる。EXCSの投与のため、このようなラベルには、量、頻度、及び投与の方法が含まれるであろう。

【０１８３】

本発明に用いる好適な医薬品組成物には、目的を達成するため、効果的な量の活性処方成分を含む組成物が含まれる。当業者は、自身の能力で十分に効果的な服用量を決めることができる。

【０１８４】

どのような組成物であっても、治療に効果的な薬用量は、初めは、例えば腫瘍細胞の腫瘍細胞アッセイで、或いは動物モデルのどちらかで推定することができる。通常、動物モデルには、マウス、ウサギ、イヌ、又はブタなどが用いられる。動物モデルはまた、好適な濃縮範囲及び投与の経路を決めるのに用いることができる。このような治療をもとに、ヒトへの有益な薬用量及び投与経路を決定することができる。

【０１８５】

医学的に効果的な薬用量は、症状や容態を回復させる、たとえばEXCS又はその断片、EXCSの抗体、EXCSのアゴニストまたはアンタゴニスト、インヒビターなどの活性処方成分の量に関連する。薬用有効度及び毒性は、たとえば、ED_{50}（服用に対して集団の５０％に医薬的効果がある）またはLD_{50}（服用に対して集団の５０％に致命的である）統計を計算するなど、細胞培養または動物実験における標準的な薬剤手法によって決定することができる。毒性効果と治療効果との薬用量比は治療指数であり、LD_{50}／ED_{50}と示すことができる。高い治療指数を示す医薬品組成物が望ましい。細胞培養アッセイ及び動物実験から得られたデータが、ヒトへの適用のために、薬用量の範囲を調剤するのに用いられる。このような組成物が含まれる薬用量は、毒性を殆ど或いは全く含まず、ED_{50}を含む血中濃度の範囲であることが望ましい。薬用量は、用いられる投与形態及び患者の感受性、投与の経路によって、この範囲内で様々である。

【０１８６】

正確な薬用量は、治療が必要な患者に関する要素を考慮して、実務者によって

決められるであろう。薬用量及び投与は、効果的なレベルの活性成分を与えるため或いは所望の効果を維持するために調節される。薬用量の要素として考慮されるものには、疾患の重症度、患者の一般的な健康状態、年齢、体重、及び患者の性別、投与の時間及び頻度、併用する薬剤、反応感受性、及び治療に対する応答が含まれる。作用器官が長い医薬品組成物は、三日か四日に一度、一週間に一度、二週間に一度、特定の製剤の半減期及びクリアランス率によって左右され、投与され得る。

【０１８７】

通常の薬用量は投与の経路によって異なるが、約0.1～100,000μgまでの最大約１グラムまでである。特定の薬用量及び運搬の方法に関するガイダンスは文献に記載されており、一般に当分野の実務者はそれを利用することができる。当業者は、タンパク質またはインヒビターとは異なったヌクレオチドの製剤を利用するであろう。同様に、ポリヌクレオチド又はポリペプチドの運搬は、特定の細胞、状態、位置などに対して特異的であろう。

【０１８８】

（診断）

別の実施例では、EXCSに特異的に結合する抗体が、EXCSの発現によって特徴付けられる疾患の診断、またはEXCSやEXCSのアゴニストまたはアンタゴニスト、インヒビターで治療を受けている患者をモニターするためのアッセイに用いられる。診断に有用な抗体は、治療のところで記載した方法と同じ方法で製剤される。EXCSの診断アッセイには、抗体及び標識を用いてヒトの体液或いは細胞や組織から採取されたものからEXCSを検出する方法が含まれる。これらの抗体は、修飾をして或いはしないで使用され、レポーター分子の共有結合性或いは非共有結合性の接着によって標識化され得る。当分野で周知の種々のレポーター分子が用いられるが、その内の幾つかは上記した。

【０１８９】

EXCSを測定するためのELISA，RIA，及びFACSを含む種々のプロトコルは、当分野では周知であり、変わった或いは異常なレベルのEXCSの発現を診断する元となるものを提供する。正常或いは標準的なEXCSの発現の値は、複合体の形成に適し

た条件の下、正常な哺乳動物、例えばヒトなどの被験者から採取した体液または細胞とEXCSに対する抗体とを結合させることによって決定する。標準的な複合体形成の量は、測光法（photometric）などの種々の方法で定量され得る。被験者のEXCSの発現の量、制御及び疾患、生検組織からのサンプルが基準値と比較される。基準値と被験者との間の偏差が、診断の指標となる。

【０１９０】

別の実施例によれば、EXCSをコードするポリヌクレオチドを診断のために用いることもできる。用いられるポリヌクレオチドには、オリゴヌクレオチド配列、相補的なRNA及びDNA分子、及びPNAが含まれる。このポリヌクレオチドを用いて、疾患と相関し得るEXCSを発現する生検組織における遺伝子の発現を検出し定量する。この診断アッセイを用いて、EXCSの存在の有無、更に過剰な発現を調べ、治療中のEXCS値の調節を監視する。

【０１９１】

ある実施形態では、EXCSまたは近縁の分子をコードする遺伝子配列を含むポリヌクレオチド配列を検出可能なPCRプローブを用いたハイブリダイゼーションによって、EXCSをコードする核酸配列を同定することが可能である。例えば５'調節領域である高度に特異的な領域か、例えば保存されたモチーフであるやや特異性の低い領域から作られているかのプローブの特異性と、ハイブリダイゼーション或いは増幅のストリンジェントは、プローブがEXCSをコードする自然界の配列のみを同定するかどうか、或いはアレルや関連配列コードする自然界の配列のみを同定するかどうかによって決まるであろう。

【０１９２】

プローブはまた、関連する配列の検出に利用され、EXCSをコードする任意の配列と少なくとも５０％の配列同一性を有し得る。目的の本発明のハイブリダイゼーションプローブには、DNAあるいはRNAが可能であり、SEQ ID NO:27－52の配列、或いはEXCS遺伝子のプロモーター、エンハンサー、イントロンを含むゲノム配列に由来し得る。

【０１９３】

EXCSをコードするDNAに対して特異的なハイブリダイゼーションプローブの作

製方法には、EXCS及びEXCS誘導体をコードするポリヌクレオチド配列をmRNAプローブの作製のためのベクターにクローニングする方法がある。このようなベクターは市販されており、当業者には周知であり、好適なRNAポリメラーゼ及び好適な標識されたヌクレオチドを加えることによって、in vitroでRNAプローブを合成するために用いられる。ハイブリダイゼーションプローブは、例えば^{32}P或いは^{35}Sなどの放射性核種、或いはアビジン／ビオチン（biotin）結合系によってプローブに結合されたアルカリホスファターゼなどの酵素標識等の種々のレポーターの集団によって標識され得る。

【０１９４】

EXCSをコードするポリヌクレオチド配列を用いて、EXCSの発現に関連する疾患を診断することが可能である。限定するものではないが、限定するものではないが、このような疾患の中には感染症が含まれ、その中には、プラスモディウムまたはマラリアを引き起こす体内寄生性アメーバ及びレーシュマニア、トリパノソーマ属、トキソプラズマ、ニューモシスチス‐カリニ、ジアルジア属などの腸内原生動物、トリコモナス、旋毛虫などの組織線形動物、回虫属などの腸内線形動物、リンパのフィラリア性線形動物、住血吸虫及び条虫（サナダムシ）などの線形動物に分類される寄生虫による感染症と、アデノウイルス及びアレナウイルス、ブンヤウイルス、カリチウイルス、コロナウイルス、フィロウイルス、ヘパドナウイルス、ヘルペスウイルス、フラビウイルス、オルソミクソウイルス、パルボウイルス、パポーバウイルス、パラミキソウイルス、ピコルナウイルス、ポックスウイルス、レオウイルス、レトロウイルス、ラブドウイルス、トガウイルスに分類されるウイルス病原体による感染と、肺炎球菌及びブドウ球菌、連鎖球菌、桿菌、コリネバクテリウム、クロストリジウム属、髄膜炎菌、淋菌、リステリア、モラクセラ属、キンゲラ、ヘモフィルス属、レジオネラ、ボルデテラ、グラム陰性腸内細菌（赤痢菌属及びサルモネラ、カンピロバクターを含む）、シュードモナス、ビブリオ属、ブルセラ、フランシセラ、エルシニア、バルトネラ、norcardium、アクチノミセス、ミコバクテリア、スピロヘターレス、リケッチア、クラミジア、マイコプラズマに分類される細菌病原体による感染症と、コウジカビ及びブラストマイセス、皮膚糸状菌、クリプトコッカス、コクシジオイデス、

malasezzia、ヒストプラスマ、及び真菌症を引き起こすその他の真菌病原体に分類される真菌病原体による感染症とが含まれ、また、胃腸疾患も含まれ、その中には、嚥下障害、消化性食道炎、食道痙攣、食道狭窄、食道癌、消化不良、消化障害、胃炎、胃癌、食欲不振、悪心、嘔吐、胃不全麻痺、洞または幽門の浮腫、腹部アンギナ、胸焼け、胃腸炎、イレウス、腸管感染、消化性潰瘍、胆石症、胆嚢炎、胆汁うっ滞、膵臓炎、膵臓癌、胆道疾患、肝炎、高ビリルビン血症、硬変症、肝臓の受動性うっ血、ヘパトーム、感染性大腸炎、潰瘍性大腸炎、潰瘍性直腸炎、クローン病、ホイップル病、マロリー‐ヴァイス症候群、結腸癌、結腸閉塞、過敏性腸症候群、短小腸症候群、下痢、便秘、胃腸出血、及び後天性免疫不全症候群（AIDS）腸症、黄疸、肝性脳症、肝腎症候群、肝炎、肝脂肪症、血色素症、ウィルソン病、α-1-アンチトリプシン欠損症、ライ症候群、原発性硬化性胆管炎、肝梗塞、門脈循環閉塞及び血栓、小葉中心壊死、肝臓紫斑病、肝静脈血栓、肝静脈閉塞症、子癇前症、子癇、妊娠性急性肝脂肪、妊娠性肝臓内胆汁うっ滞と、結節性再生及び腺腫、癌腫を含む肝癌とが含まれ、また、また、神経の疾患が含まれ、その中には、癲癇、虚血性脳血管障害、脳卒中、大脳新生物、アルツハイマー病、ピック病、ハンチントン病、痴呆、パーキソン病及びその他の錐体外路障害、筋萎縮性側策硬化及びその他の運動ニューロン障害、進行性神経性筋萎縮症、色素性網膜炎、遺伝性運動失調、多発性硬化症及び他の脱髄疾患、細菌性及びウイルス性髄膜炎、脳膿瘍、硬膜下蓄膿症、硬膜外膿瘍、化膿性頭蓋内血栓性静脈炎、脊髄炎及び神経根炎、ウイルス性中枢神経系疾患と、クールー及びクロイツフェルト‐ヤコブ病、ゲルストマン症候群、Gerstmann-Straussler-Scheinker症候群を含むプリオン病と、致死性家族性不眠症、神経系性栄養病及び代謝病、神経線維腫症、結節硬化症、小脳網膜血管芽腫（cerebelloretinal hemangioblastomatosis）、脳３叉神経血管症候群、中枢神経系性精神薄弱及び他の発生障害、脳性麻痺、神経骨格異常症、自律神経系障害、末梢神経疾患、皮膚筋炎及び多発性筋炎と、遺伝性、代謝性、内分泌性、及び中毒性ミオパシーと、重症筋無力症、周期性四肢麻痺と、気分性及び不安性の障害、分裂病性疾患を含む精神病と、季節性障害（SAD）と、静座不能、健忘症、緊張病、糖尿病性ニューロパシー、錐体外路性終末欠陥症候群、ジストニー、分裂病性精神障害、帯状疱

疹後神経痛、及びトゥーレット病と、進行性核上麻痺、皮質基部変性（corticobasal degeneration）及び家族性の前頭側頭性健忘症とが含まれ、また生殖障害が含まれ、その中には、プロラクチン産生異常と、卵管病、排卵異常、及び子宮内膜症、発情期異常、月経周期異常、多嚢胞卵巣症候群、卵巣過剰刺激症候群、子宮内膜癌及び卵巣癌、子宮筋腫、自己免疫異常、異所性妊娠、及び奇形発生を含む不妊症と、乳癌、線維嚢胞性乳腺症、及び乳漏症と、精子形成異常、生理学上の精子異常、精巣癌、前立腺癌、良性の前立腺過形成、前立腺炎、ペーロニー病、インポテンス、男性乳房癌及び女性化乳房とが含まれ、また、また、自己自己免疫／炎症異常も含まれ、その中には炎症及び日光性角化症、後天性免疫不全症候群（AIDS）及び副腎機能不全、成人呼吸窮迫症候群、アレルギー、強直性脊椎炎、アミロイド症、貧血、喘息、アテローム性動脈硬化症、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫性多腺性内分泌カンジダ性外胚葉ジストロフィ（APECED）、気管支炎、滑液包炎、硬変、胆嚢炎、接触皮膚炎、クローン病、アトピー性皮膚炎、皮膚筋炎、糖尿病、肺気腫、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、赤芽球症、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、発作性夜間血色素尿症、肝炎、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、混合型結合織病（MCTD）、骨髄線維症、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋又は心膜炎症、骨関節炎、骨粗しょう症、膵炎、真性多血症、多発性筋炎、乾癬、ライター症候群、リウマチ様関節炎、強皮症、シェーグレン症候群、全身性アナフィラキシー、全身性エリテマトーデス、全身性硬化症、原発性血小板血症、血小板減少症、潰瘍性大腸炎、ウェルナー症候群、癌合併症、血液透析、体外循環、ウイルス感染症、細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、蠕虫感染症、外傷と、リンパ腫及び白血病、骨髄腫を含む造血性の癌が含まれ、また、細胞増殖異常が含まれ、その中には日光性角化症及びアテローム性動脈硬化、滑液包炎、硬変、肝炎、混合型結合組織病（MCTD）、骨髄線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症、並びに腺癌及び白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、及び奇形癌、具体的には、副腎、膀胱、骨、骨髄、脳、乳房、頚部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣

、膵臓、副甲状腺、陰茎、前立腺含まれる。EXCSをコードするポリヌクレオチド配列は、サザーン法やノーザン法、ドットブロット法、或いはその他の膜系の技術、PCR法、ディップスティック（dipstick）、ピン（pin）、ELISA式アッセイ、及び変異EXCSの発現を検出するために患者から採取した体液或いは組織を利用するマイクロアレイに使用することが可能である。このような質的或いは量的方法は、当分野では周知である。

【０１９５】

ある実施態様では、EXCSをコードするヌクレオチド配列は、関連する疾患、特に上記した疾患を検出するアッセイにおいて有用であろう。EXCSをコードするヌクレオチド配列は、標準的な方法で標識化され、ハイブリダイゼーション複合体の形成に好適な条件の下、患者から採取した体液或いは組織のサンプルに加えることができるであろう。好適な培養期間の後、サンプルを洗浄し、シグナルを定量して基準値と比較する。患者のサンプルのシグナルの量が、制御サンプルと較べて著しく変わっている場合は、サンプル内のEXCSをコードするヌクレオチド配列の変異レベルにより、関連する疾患の存在が明らかになる。このようなアッセイを用いて、動物実験、臨床試験、或いは個人の患者の治療を監視における、特定の治療効果を推定することが可能である。

【０１９６】

EXCSの発現に関連する疾患の診断の基準となるものを提供するために、正常あるいは標準的な発現の概要が確立される。これは、ハイブリダイゼーション或いは増幅に好適な条件の下、動物或いはヒトの何れかの正常な被験者から抽出された体液或いは細胞と、EXCSをコードする配列或いはその断片とを結合させることにより達成され得る。標準的なハイブリダイゼーションは、正常な被験者から得た値と周知の量の実質的に精製されたポリヌクレオチドが用いられる実験からの値とを比較することによって定量可能である。正常なサンプルから得た標準的な値を、疾患の症状を示す被験者から得た値と比較可能である。基準値と被験者の値との偏差を用いて罹患しているかどうを決定する。

【０１９７】

疾患の存在が確定され、治療プロトコルが開始されると、ハイブリダイゼーシ

ョンアッセイを通常ベースで繰り返して、被験者における発現のレベルが正常な患者に示される値に近づき始めたかどうかを推定することが可能である。繰り返し行ったアッセイの結果を、数日から数ヶ月の期間の治療の効果を見るのに用いることができる。

【０１９８】

癌では、個体からの生体組織における異常な量の転写物が、疾患の発生の素因を示し、また実際に臨床的症状が出る前に疾患を検出する方法を提供することが可能である。この種のより明確な診断により、医療の専門家が予防方法或いは積極的な治療法を早くから利用して、癌の発生または進行を防ぐことが可能となる。

【０１９９】

EXCSをコードする配列から設計されたオリゴヌクレオチドのさらなる診断への利用には、PCRの利用が含まれ得る。このようなオリゴマーは、化学的な合成、酵素を用いた生成、或いはin vitroで生成され得る。オリゴマーは、好ましくはEXCSをコードするポリヌクレオチドの断片、或いはEXCSをコードするポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドの断片を含み、最適な条件の下、特定の遺伝子や条件を識別するために利用される。また、オリゴマーは、やや緩いストリンジェントな条件の下、近縁のDNA或いはRNA配列の検出及び／または定量のため用いることが可能である。

【０２００】

EXCSの発現を定量するために用いられ得る方法には、ヌクレオチドの放射標識或いはビオチン標識、調節核酸の相互増幅（coamplification）、及び標準的な曲線に結果が加えられたものが含まれる（例えば、Melby, P.C.等(1993) J. Immunol. Methods, 159:235-44；Duplaa, C.等(1993) Anal. Biochem. 229-236を参照）。多数のサンプルの定量速度は、目的のオリゴマーが種々の希釈液に含まれ、分光光度法或いは非色応答によって定量が迅速なハイスループット型のアッセイを用いることで加速された。

【０２０１】

別の実施例では、本明細書で記載した任意のポリヌクレオチド配列由来のオリ

ゴヌクレオチドまたはそれより長い断片を、マイクロアレイにおける標的として用いる。マイクロアレイを用いて、同時に極めて多くの遺伝子の発現レベルを監視し、遺伝子の変異、突然変異及び多形性を識別する。この情報は、遺伝子機能の決定、疾患の遺伝的根拠の解釈、疾患の診断、及び治療薬剤の活性の監視及び開発に有用である。

【０２０２】

当分野で周知の方法でマイクロアレイを準備して使用し、分析する。(例えば、Brennan, T.M. 他 (1995) 米国特許第5,474,796号;Schena, M. 他 (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. 93:10614-10619; Baldeschweiler 他(1995) PCT出願番号WO95/251116; Shalon, D.他 (1995) PCT出願番号WO95/35505; Heller, R.A. 他(1997) Proc. Natl. Acad. Sci. 94:2150-2155; 及び Heller, M.J. 他 (1997) 米国特許第5,605,662号を参照)

本発明の別の実施例ではまた、EXCSをコードする核酸配列を用いて、自然発生のゲノム配列をマッピングするのに有用なハイブリダイゼーションプローブを生成することが可能である。この配列は、以下のものに対してマッピングされる。特定の染色体、染色体の特定領域または人工生成の染色体、例えば、ヒト人工染色体（HAC）、酵母人工染色体（YAC）、細菌人工染色体（BAC）、細菌Ｐ１生成物或いは単一染色体cDNAライブラリである。（例えば、Harrington, 1.3. 他 (1997) Nat Genet. 15:345-355; Price, C.M. (1993) Blood Rev. 5－87-134, 及びTrask, B.J. (1991) Trends Genet. 7:149-154を参照）

in sit蛍光ハイブリダイゼーション（FISH）は、他の物理的染色体マッピング技術及び遺伝マップデータと相関するであろう（例えば、Heinz-Ulrich, 他による(1995) in Meyers, 前出, pp. 965-968.を参照）。遺伝子マップデータの例は、種々の科学誌あるいはOnline Mendelian Inheritance in Man（OMIM）のワールドワイドウェブのサイトで見付けることができる。物理的な染色体マップ上のEXCSをコードする遺伝子の位置と特定の疾患との相関性、或いは特定の疾患に対する素因が、このような疾患と関係するDNAの領域を決定するのに役立つ。本発明のヌクレオチド配列を用いて、正常者と、保有者、及び感染した者との遺伝子配列における違いを検出することもある。

【０２０３】

染色体標本のin sitハイブリダイゼーション、及び確定した染色体マーカーを用いた結合分析などの物理的マッピング技術を用いて、遺伝子マップを拡張することもできる。マウスなどの別の哺乳動物の染色体上での遺伝子の配置により、たとえ特定のヒト染色体の数或いはアームが分かっていなくても、関連するマーカーが明らかになることが多い。新規の配列を、物理的なマッピングによって、染色体アームに割り付けることもできる。このことは、位置クローニング或いは別の遺伝子発見技術を用いて遺伝的疾患の研究をしている研究者にとって、価値ある情報である。疾患或いは症候群の位置が、例えば血管拡張性失調症の11q22-23などの特定の遺伝子領域に遺伝子結合によって大まかに決定されると、その領域に対するどの配列マッピングも、さらなる調査のための関連する遺伝子或いは調節遺伝子を表す（例えば、Gatti, R.A.他による（1988）Nature 336:577-580を参照）。また、目的の本発明のヌクレオチド配列を用いて、正常者、保有者、即ち感染者の間の、転位置、反転などによる染色体位置の違いを検出することもある。

【０２０４】

本発明の別の実施例では、EXCS、その触媒作用断片或いは免疫原断片またはそのオリゴペプチドを、種々の任意の薬剤スクリーニング技術における化合物のライブラリのスクリーニングに用いることができる。このようなスクリーニングに用いる断片は、溶液に遊離、固体支持物に固定、細胞の表面上に保持、或いは細胞内に存在する。EXCSと検査する薬剤との結合による複合体の形成を測定してもよい。

【０２０５】

薬剤スクリーニングに用いる別の方法は、目的のタンパク質に対して、好適な結合親和性を有する化合物のスクリーニング処理能力を高めるために用いられる（例えば、Geysen,他による(1984) PCT出願番号 WO84/03564を参照）。この方法では、相当な数の異なる小さな試験用化合物が、プラスチックピン或いは他の基板の上に合成される。試験用化合物は、EXCS、或いはその断片と反応してから洗浄される。次ぎに、結合されたEXCSが、当分野で周知の方法で検出される。精製

されたEXCSはまた、前記した薬剤をスクリーニングする技術に用いられるプレート上で直接被覆することもできる。別法では、非中和抗体を用いて、ペプチドを捕らえ、固体支持物に固定することもできる。

【０２０６】

別の実施例では、EXCSと結合可能な中和抗体がEXCSと結合するため試験用化合物と特に競合する、競合的薬剤スクリーニングアッセイを用いることができる。この方法では、抗体が、EXCSと１つ以上の抗原決定因子を共有するどのペプチドの存在も検出する。

【０２０７】

別の実施例では、発展途上の分子生物学技術にEXCSをコードするヌクレオチド配列を用いて、限定はされないが、現在知られているトリプレット暗号及び特異的な塩基対相互作用などのヌクレオチド配列の特性に依存する新しい技術を提供することができる。

【０２０８】

当分野の技術者であれば、更なる説明がなくても前述の説明だけで最大限に本発明を利用できるであろう。したがって、以下に記載する特定の好適な実施例は、例示目的であって本発明を限定するものではない。

【０２０９】

前述した及び以下に記載した全ての特許出願、特許、刊行物、特に米国特許出願通し番号60/134,949及び60/144,270、60/146,700、60/157,508に言及することをもって本明細書の一部とする。

【０２１０】

（実施例）

１　cDNAライブラリの作製

RNAは、Clontech社から購入、或いは表４に列記した組織から単離した。まず、この組織の一部をホモジナイズしてグアニジニウムイソチオシアネート溶液に溶解する一方、この組織の別の一部をホモジナイズしてフェノールに溶解するか、或いはTRIZOL (Life Technologies)、グアニジニウムイソチオシアネート及びフェノールの単相溶液などの好適な変性剤の混合液に溶解した。この溶解物を塩

化セシウムにおいて遠心分離またはクロロホルムで抽出した。イソプロパノール或いは酢酸ナトリウムのどちらかとエタノール、或いは別の方法でこの溶解物からRNAを沈殿させた。

【０２１１】

RNAの純度を高めるためにRNAのフェノールによる抽出及び沈殿を必要な回数繰り返した。場合によっては、DNA分解酵素でRNAを処理する。殆どのライブラリでは、オリゴd(T)連結常磁性粒子(Promega)またはOLIGOTEXラテックス粒子(QIAGEN. Valencia CA)、OLIGOTEX mRNA精製キット(QIAGEN)を用いてポリ（A＋）RNAを単離した。別法では、POLY(A)PURE mRNA精製キット(Ambion, Austin TX)などの別のRNA単離キットを用いて組織溶解物から直接単離した。

【０２１２】

ある場合には、Stratagene社にRNAを提供し、Stratagene社が対応するcDNAライブラリを作製した。そうでない場合は、UNIZAPベクターシステム(Stratagene)またはSUPERSCRIPT プラスミドシステム(Life Technologies)を用いて当分野で周知の推奨方法または類似の方法でcDNAを合成してcDNAライブラリを作製した。(例えば、Ausubel, 1997,前出,ユニット5.1-6.6を参照)。逆転写は、オリゴd(T)またはランダムプライマーを用いて開始した。合成オリゴヌクレオチドアダプターを二本鎖cDNAに結合させてから、好適な１つの制限酵素或いは複数の制限酵素でcDNAを消化した。殆どのライブラリでは、SEPHACRYL S 1000または SEPHAROSE CL2B、SEPHAROSE CL4Bカラムクロマトグラフィー(Amersham Pharmacia Biotech)、アガロースゲル電気泳動法によってcDNAの大きさ（300～1000bp）を選択した。PBLUESCRIPTプラスミド(Stratagene)またはpSPORT1プラスミド(Life Technologies)、pcDNA2.1プラスミド(Invitrogen Carlsbad CA)、plNCYプラスミド(Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto CA)などの好適なプラスミドのポリリンカーの適合性制限酵素部位にcDNAを結合させた。この組換えプラスミドを、Stratagene社のXL1-Blue, XL1-BIueMRF、SOLR、またはLife Technologies社のDH5αまたはDH 10B、ELECTROMAX DH 10Bを含むコンピテント大腸菌細胞に導入し組み込んだ。

【０２１３】

２　cDNAクローンの単離

UNIZAPベクターシステム(Stratagene)或いは細胞溶解を利用して、in vivo切除によって宿主細胞からプラスミドを回収した。MagicまたはWIZARD Minipreps DNA精製システム(Promega)、及びAGTC Miniprep精製キット(Edge Biosystems, Gaithersburg MD)、QIAGEN社のQIAWELL 8 Plasmid、QIAWELL 8 Plus Plasmid、QIAWELL 8 Ultra Plasmid 精製システム、REAL Prep 96プラスミドキットの内の少なくとも１つを用いてプラスミドを精製した。沈殿させた後、０．１ｍｌの蒸留水に再懸濁して、凍結乾燥して或いは凍結乾燥しないで４℃で保管した。

【０２１４】

別法では、ハイスループットの直接結合PCR法によって宿主細胞溶解物からプラスミドDNAを増幅した。(Rao, V.B. (1994) Anal. Biochem. 216:1-14)。宿主細胞の溶解及び熱サイクリング過程を単一反応混合液で行った。サンプルを処理してから３８４－ウェルプレートに移して保管し、増幅したプラスミドDNAの濃度をPICOGREEN色素(Molecular Probes, Eugene OR)及びFluoroskan II蛍光スキャナー(Labsystems Oy, Helsinki, Finland)を用いて蛍光定量的に測定した。

【０２１５】

３　シークエンシング及び分析

cDNAのシークエンシング反応は、標準的な方法で、或いはABI CATALYST 800 (Perkin-Elmer) thermal cyclerまたはPTC-200 thermal cycler (MJ Research)とHYDRAマイクロディスペンサー(Robbins Scientific) またはMICROLAB 2200 (Hamilton) 液体転移システムとの組み合わせなどのハイスループット装置で行った。cDNAのシークエンシング反応の準備には、Amersham Pharmacia Biotech社の試薬、またはABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reactionキット(Perkin-Elmer)などのABIシークエンシングキットに含まれる試薬を用いた。cDNAのシークエンシング反応の電気泳動的な分離及び標識したポリヌクレオチドの検出には、MEGABACE 1000 DNAシークエンシングシステム(Molecular Dynamics)、標準ABIプロトコル及び塩基対呼び出しソフトウェアを用いるABI PRISM 373または377シークエンシングシステム(Perkin-Elmer)、当分野で周知のその他の配列解析システムを用いた。cDNA配列の読み枠は、標準的な方法(Ausubel, 1997, 前出, unit 7.7)を用いて決定した。cDNA配列の幾つかを選択して、本実施例

の５に記載した方法で配列を伸長した。

【０２１６】

cDNAのシークエンシングから得たポリヌクレオチド配列の構築及び解析は、当分野の技術者に周知のアルゴリズムを利用したソフトウェアを組合せて行った。表５は、利用したツール、ソフトウェア、アルゴリズム、それらの説明、引用文献、閾値パラメーターの概要を示す。表５の列１は用いたツール及びプログラム、アルゴリズム、列２はそれらの簡単な説明、列３は引用することで本明細書の一部とした引用文献、列４の記載部分は２つの配列の一致度の評価に用いたスコア及び確率値、他のパラメータを示す（確率値が高ければ高いほど配列間の相同性が高くなる）。配列の解析には、MACDNASIS PROソフトウェア(Hitachi Software Engineering, S. San Francisco CA)及びLASERGENEソフトウェア (DNASTAR)を用いた。

【０２１７】

ポリヌクレオチド配列の確証は、BLAST及び動的計画法、ジヌクレオチド最近接分析に基づいたプログラム及びアルゴリズムを用いて、ベクター及びリンカー、ポリＡ配列を取り除き、あいまいな塩基対をマスクすることで行った。次に、BLAST及びFASTA、BLIMPSに基づいたプログラムを用いて、公共のデータベースであるGenBankの霊長類及びげっ歯類、哺乳類、脊椎動物、真核生物のデータベースやBLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM及びPFAMなどのデータベースから選択した配列に対してこれらの配列を問合わせて注釈を得た。Phred及びPhrap、Consedに基づいたプログラムを用いて完全長のポリヌクレオチド配列の中にこれらの配列を構築して、BLAST及びFASTA、BLIMPSに基づいたプログラムでオープンリーディングフレームのためにスクリーニングした。完全長のポリヌクレオチド配列を翻訳して対応する完全長のアミノ酸配列を引き出し、GenBankデータベース(上記)及びSwissProt、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM及びPrositeなどのデータベース、またはPFAMなどの隠れマルコフモデル(HMM)に基づいたタンパク質ファミリーデータベースに対して問い合わせてこれらの完全長の配列を分析した。HMMは、確率を利用して遺伝子ファミリーのコンセンサス一次構造を解析する（例えば、Eddy, S.R. (1996) Curr. Opin. Struct. Biol. 6:361-365を参照）。

【０２１８】

完全長のポリヌクレオチド配列及びアミノ酸配列の構築及び分析に用いる上記のプログラムは、SEQ ID NO:27－52からのポリヌクレオチド配列の断片の同定にも使用できる。約２０～４０００個までのヌクレオチドの断片はハイブリダイゼーション及び増幅に有用であり、上記の発明で説明した。

【０２１９】

４　ノーザン分析

ノーザン分析は、遺伝子の転写物の存在を検出するために用いられる実験用技術であり、特定の細胞種或いは組織からのRNAが結合されている膜への標識されたヌクレオチド配列のハイブリダイゼーションを伴う(例えば、Sambrook,前出, 7章; 及び Ausubel. F.M. 他、前出, 4章及び16章を参照)。

【０２２０】

BLASTに用いる類似のコンピュータ技術を用いて、GenBank或いはLIFESEQ（Incyte Pharmaceuticals）のようなヌクレオチドデータベース内の同一或いは関連する分子を検索する。この分析は多くの膜系ハイブリダイゼーションより非常に速度が速い。さらにコンピュータ検索の感度を変更して、任意の特定の一致が、厳密な一致或いは相同的一致の何れかとして分類されるかを確定することができる。検索の基準は、

（%配列同一性×%最大BLASTスコア）／１００

として定義される積スコアである。積スコアは、２つの配列間の類似度及び配列一致の長さの両方を考慮する。例えば、積スコア４０の場合、その一致は１～２%誤差の範囲内で正確であり、７０ではその一致は正確であろう。類似分子は通常、１５～４０の範囲の積スコアを示す分子を選択することにより同定されるが、それより低いスコアでも関連した分子が同定される場合もある。

【０２２１】

ノーザン分析の結果は、EXCSをコードする転写物が発生したライブラリの分布割合として報告される。分析には、器官／組織及び疾患によるcDNAライブラリの分類も含まれる。器官／組織のカテゴリーには、心血管、皮膚、発生、内分泌、胃腸、造血／免疫、筋骨格、神経、生殖、泌尿器が含まれる。疾患のカテゴリー

には、癌、炎症、外傷、細胞増殖、神経、貯留(pooled)が含まれる。カテゴリー別に、目的の配列を発現するライブラリの数を数えて、それを全ての範囲のライブラリの数で除した。各組織に特異的に発現する割合（パーセント）と各疾患で発現する割合を表３に示した。

【０２２２】

５　EXCSをコードするポリヌクレオチドの染色体マッピング

SEQ ID NO:42－52を構築するために用いたcDNA配列を、BLAST及びSmith-Watermanアルゴリズムのインプリテーションを使って、インサイト社LIFESEQデータベース及び公共のドメインデータベースの配列と比較した。SEQ ID NO:27－52と一致するこれらのデータベースの配列を、Phrap（表５）などの構築アルゴリズムを使用して、連続及び重複した配列のクラスターに組み入れた。Stanford Human Genonse Center (SHGC)、Whitehead Institute for Genome Research (WIGR)及びGenethonなどの公共の情報源から入手できる放射線ハイブリッド（radiation hybrid）及び遺伝子マッピングのデータを用いて、クラスター化した配列がすでにマッピングされているかを調べる。クラスターにマッピングされた配列が含まれている場合は、そのクラスターの全ての配列（特定のSEQ ID NOを含む）をそのマップ位置に割り当てた。

【０２２３】

SEQ ID NO:47の遺伝子マップ位置は、ヒト染色体の区間即ち範囲として本明細書の（発明）の部分に記載した。センチモルガンで示したマップ位置の範囲は、染色体の短腕（p）の末端から測定した（センチモルガン（cM）は、同一染色体上の遺伝子間の乗換え率に基づいた距離を表す単位である。平均すると、１cMはヒトの染色体の１メガベースに概ね等しいいが、組換え率の高い部分と低い部分があるため、大きく変化し得る）。距離cMは、配列がそれぞれのクラスターに含まれている放射線ハイブリッドマーカーの境界を検出できるGenethonによってマッピングされた遺伝子マーカーに基づいている。

【０２２４】

６　EXCSをコードするポリヌクレオチドの伸長

SEQ ID NO:27－52の完全長の核酸配列は、完全長分子の好適な断片から設計し

たオリゴヌクレオチドプライマーを用いてその完全長分子の好適な断片を伸長して作製した。一方のプライマーは既知の断片の５'の伸長を開始するために合成し、他方のプライマーは既知の断片の３'の伸長を開始するために合成した。開始プライマーは、OLIGO 4. 06ソフトウェア（National Biosciences）或いは他の適切なプログラムを用いて、約２２個から約３０個のヌクレオチドの長さで約５０％以上のＧＣ含量を有し、かつ約６８～７２℃の温度で標的配列にアニールするように設計した。ヘアピン構造及びプライマー－プライマー二量体が生じないようにヌクレオチドを伸長した。

【０２２５】

選択されたヒトcDNAライブラリを用いてこの配列を伸長した。２段階以上の伸長が必要な場合、若しくは望ましい場合は、追加或いはネスト化プライマーの組を設計する。

【０２２６】

当分野で既知の方法を利用したPCR法で高い忠実度で増幅した。PCRはPTC-200 thermal cycler (MJ Research, Inc.)用いて96ウェルブロックプレートで行った。反応混合液は、鋳型DNA及び200 nmolの各プライマー、Mg^{2+}と$(NH_4)_2SO_4$とβ－メルカプトエタノールを含むバッファー、Taq DNAポリメラーゼ(Amersham Pharmacia Biotech)、ELONGASE酵素(Life Technologies)、Pfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)を含む。プライマーの組、PCI AとPCI Bに対して以下のパラメーターで増幅を行った。

ステップ１　　９４℃で３分間
ステップ２　　９４℃で１５秒
ステップ３　　６０℃で１分間
ステップ４　　６８℃で２分間
ステップ５　　ステップ２、３、及び４を２０回繰り返す
ステップ６　　６８℃で５分間
ステップ７　　４℃で保管

別法では、プライマーの組、T7とSK+に対して以下のパラメーターで増幅を行った。

ステップ１　　９４℃で３分間

ステップ２　　９４℃で１５秒

ステップ３　　５７℃で１分間

ステップ４　　６８℃で２分間

ステップ５　　ステップ２、３、及び４を２０回繰り返す

ステップ６　　６８℃で５分間

ステップ７　　４℃で保管。

【０２２７】

各ウェルのDNA濃度は、１X TE及び0.5μlの希釈していないPCR産物に溶解した100μlのPICOGREEN定量試薬(0.25% (v/v) PICOGREEN; Molecular Probes, Eugene OR)を不透明な蛍光光度計プレート(Coming Costar, Acton MA)の各ウェルに分配してDNAが試薬と結合できるようにして測定する。このプレートをFluoroskan II (Labsystems Oy, Helsinki, Finland)でスキャンして、サンプルの蛍光を計測してDNAの濃度を定量化する。反応混合物の5～10μlのアリコットを１％のアガロースミニゲル上での電気泳動によって解析し、何れの反応物が配列を伸長することに成功したかを決定する。

【０２２８】

伸長したヌクレオチドを脱塩及び濃縮してから384ウェルプレートに移し、CviJIコレラウィルスエンドヌクレアーゼ(Molecular Biology Research, Madison WI)で消化し、pUC 18ベクター(Amersham Pharmacia Biotech)に再連結する前に音波処理またはせん断を行った。ショットガンシークエンシングのために、消化したヌクレオチドを低濃度（０．６～０．８％）のアガロースゲル上に分離して断片を切断し、寒天をAgar ACE (Promega)で消化した。T4リガーゼ(New England Biolabs, Beverly MA)を用いて伸長したクローンをpUC 18ベクター(Amersham Pharmacia Biotech)に再連結し、Pfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)で制限部位の延び出しを処理してコンピテント大腸菌細胞に形質移入した。形質移入した細胞を選択して抗生物質を含む培地に移し、それぞれのコロニーを切りとってLB/2Xカルベニシリン培養液の384ウェルプレートに３７℃で一晩培養した。

【０２２９】

細胞を溶解して、Taq DNAポリメラーゼ(Amersham Pharmacia Biotech)及びPfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)を用いて以下の手順でDNAをPCR増幅した。

ステップ１　　９４℃で３分間

ステップ２　　９４℃で１５秒

ステップ３　　６０℃で１分間

ステップ４　　７２℃で２分間

ステップ５　　ステップ２、３、及び４を２９回繰り返す

ステップ６　　７２℃で５分間

ステップ７　　４℃で保管。

上記したようにPICOGREEN試薬(Molecular Probes)でDNAを定量化した。DNA回収率の悪いサンプルは、上記した条件で再び増幅した。サンプルを20%のジメチルサルホサイド（dimethysulphoxide）(1:2, v/v)で希釈し、DYENAMIC DIRECTキット(Amersham Pharmacia Biotech)またはABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reactionキット(Perkin-Elmer)を用いてシークエンシングした。

【０２３０】

同様に上述の手順で、SEQ ID NO:27－52のヌクレオチド配列を利用し、この伸長のために設計したオリゴヌクレオチドと好適な遺伝子ライブラリを用いて５′調節配列を得た。

【０２３１】

７　個々のハイブリダイゼーションプローブの標識化及び使用法

SEQ ID NO:27－52から導き出されたハイブリダイゼーションプローブを用いて、cDNA、mRNA、またはゲノムDNAをスクリーニングする。約２０塩基対からなるオリゴヌクレオチドの標識について特に記すが、より大きなcDNAフラグメントの場合でも基本的に同じ手順を用いる。オリゴヌクレオチドを、OLIGO4.06ソフトウェア（National Bioscience）のような最新式のソフトウェアを用いてデザインし、50pmolの各オリゴマーと、250μCiの[γ－^{32}P]アデノシン三リン酸（Amersham, Chicago, IL）及びＴ４ポリヌクレオチドキナーゼ（DuPont NEN、Boston MA）とを組み合わせて用いることにより標識する。標識されたオリゴヌクレ

オチドを、SEPHADEX G-25超精細排除デキストランビードカラム（Amersham Pharmacia Biotech）を用いて実質的に精製する。毎分１０^{7}カウントの標識されたプローブを含むアリコットを、次のエンドヌクレアーゼ、Ase Ⅰ、Bgl II、Eco RⅠ、Pst Ⅰ、Xba1或いはPvu II（DuPont NEN）の１つを用いて切断したヒトゲノムDNAの典型的な膜ベースのハイブリダイゼーション解析において用いる。

【０２３２】

各切断物からのDNAを、0.7%アガロースゲル上で分画して、ナイロン製メンブラン（Nytran Plus, Schleicher & Schuell, Durham NH）に転写する。ハイブリダイゼーションは４０℃で１６時間かけて行う。非特異的シグナルを取り除くため、例えば、最大０．１ｘクエン酸ナトリウム食塩水及び０．５％ドデシル硫酸ナトリウムの条件の下、ブロットを順次室温にて洗浄する。ハイブリダイゼーションパターンをオートラジオグラフィー或いは別のイメージ化手段で視覚化して比較する。

【０２３３】

８　マイクロアレイ

化学結合方法及びインクジェット装置を用いて、基板の表面上でアレイ要素を合成することが可能である（例えば、上記Baldeschweilerを参照）。ドットブロット法またはスロットブロット法に類似したアレイを利用し、要素を熱、ＵＶ、機械的または化学的結合方法を用いて基板の表面に配置し結合させる。典型的なアレイは、手作業または利用可能な方法や機械を用いて作製することができ、任意の適正な数の要素を含み得る。ハイブリダイゼーションの後、ハイブリダイズしていないプローブを取り除き、スキャナーを用いて蛍光のレベル及びパターンを決定する。スキャンした画像を分析して、マイクロアレイ上で要素にハイブリダイズする各プローブの相補性の程度及び相対的な量／発現レベルを調べることが可能である。

【０２３４】

完全長のcDNA、発現遺伝子配列断片（EST）、或いはそれらの断片が、マイクロアレイの要素となり得る。ハイブリダイゼーションに好適な断片を、LASERGENEソフトウェア（DNASTAR）などの当分野で周知のソフトウェアを用いて選択する

ことが可能である。本発明の核酸配列の１つに対応する完全長のcDNA、EST、或いはそれらの断片、或いは本発明に関連するcDNAライブラリから任意に選択されたcDNAを、ガラススライドなどの好適な基板に整列する。cDNAは、例えばＵＶ交差結合（UV cross-linking）を利用してスライドに固定してから、熱処理及び化学処理を施し、最後に乾燥させる(例えば、 Schena, M. 他. (1995) Science 270:467-470; 及び Shalon, D. 他. (1996) Genome Res. 6:639-645を参照)。蛍光プローブを準備して、基板上の要素にハイブリダイゼーションするために用いる。上記した方法でこの基板を分析する。

【０２３５】

９　相補的ポリヌクレオチド

EXCSをコードする配列或いはその任意の一部に対して相補的な配列は、自然発生のEXCSの発現を低下させるため即ち阻害するために用いられる。約１５～約３０個の塩基対を含むオリゴヌクレオチドの使用について記すが、より小さな或いはより大きな配列の断片の場合でも本質的に同じ方法を用いることができる。Oligo4.06ソフトウェア（National Biosciences）及びEXCSのコーディング配列を用いて、適切なオリゴヌクレオチドを設計する。転写を阻害するためには、最も独特な５′配列から相補的なオリゴヌクレオチドを設計し、これを用いてプロモーターがコーディング配列に結合するのを阻害する。翻訳を阻害するためには、相補的なオリゴヌクレオチドを設計して、リボソームがEXCSをコードする転写物に結合するのを阻害する。

【０２３６】

１０　EXCSの発現

EXCSの発現及び精製は、細菌若しくはウイルスを基にした発現系を用いて行うことができる。細菌でEXCSが発現するために、抗生物質耐性及びcDNAの転写レベルを高める誘導性のプロモーターを含む好適なベクターにcDNAをサブクローニングする。このようなプロモーターには、lacオペレーター調節要素に関連するT5またはT7バクテリオファージプロモーター及びtrp-lac(tac)ハイブリッドプロモーターが含まれるが、これらに限定されるものではない。組換えベクターを、BL21(DE3)などの好適な細菌宿主に形質転換する。抗生物質耐性をもつ細菌が、イ

ソプロピルβ－Dチオガラクトピラノシド(IPTG)で誘発されるとEXCSを発現する。真核細胞でのEXCSの発現は、昆虫細胞株または哺乳動物細胞株に一般にバキュロウイスルスとして知られているAutographica californica核多面性ウイルス(AcMNPV)を感染させて行う。バキュロウイルスの非必須ポリヘドリン遺伝子を、相同組換え或いは転移プラスミドの媒介を伴う細菌の媒介による遺伝子転移のどちらかによって、EXCSをコードするcDNAと置換する。ウイルスの感染力は維持され、強いポリヘドリンプロモータによって高いレベルのcDNAの転写が行われる。組換えバキュロウイルスは、多くの場合はSpodoptera frugiperda (Sf9)昆虫細胞に感染に用いられるが、ヒト肝細胞の感染にも用いられることもある。後者の感染の場合は、バキュロウイルスの更なる遺伝的変更が必要になる。(例えば、Engelhard. E. K.他 (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-3227; Sandig, V. 他 (1996) Hum. Gene Ther. 7:1937-1945.を参照)。

【０２３７】

殆どの発現系では、EXCSが、例えばグルタチオンＳトランスフェラーゼ(GST)、またはFLAGや6-Hisなどのペプチドエピトープ標識で合成された融合タンパク質となるため、未精製の細胞溶解物からの組換え融合タンパク質の親和性ベースの精製が素早く１回で行うことができる。Schistosoma japonicumからの２６キロダルトンの酵素GSTによって、タンパク質の活性及び抗原性を維持した状態で固定されたグルタチオンで融合タンパク質の精製が可能となる(Amersham Pharmacia Biotech)。精製の後、GST部分を特定の操作部位でEXCSからタンパク分解的に切断できる。アミノ酸８個のペプチドであるFLAGで、市販のモノクローナル及びポリクローナル抗FLAG抗体(Eastman Kodak)を用いた免疫親和性の精製が可能となる。６個の連続するヒスチジン残基のストレッチである6-Hisによって、金属キレート樹脂(QIAGEN)で精製が可能となる。タンパク質の発現及び精製の方法は、Ausubel (1995,前出, ch 10, 16)に記載されている。これらの方法で精製したEXCSを直接用いて以下のアッセイを行うことができる。

【０２３８】

１１　EXCSの活性の実証

EXCSの活性は幾つかの方法の内の１つによって測定される。成長因子の活性は

、Swissマウス3T3細胞におけるDNA合成の刺激によって測定される（McKay, I.及びLeigh. I., eds. (1993) Growth Factors: A Practical Approach, Oxford University Press, New York, NY.）。DNA合成の開始は、細胞が有糸分裂サイクルに入ったこと及びその後の分化を示唆する。3T3細胞は、分裂促進だけではなく、胚誘発に関与する大抵の成長因子に対して適格に応答する。この適格性は、ある種の成長因子によって実証されるin vivoでの特異性が固有である必要がなく、応答する組織によって決まるために可能である。このアッセイでは、放射性のDNA前駆体である[^{3}H]チミジンの存在下で、様々な量のEXCSを静止状態の3T3培養細胞に加える。このアッセイに用いるEXCSは、遺伝子組み換え技術もしくは生化学的な標本から得ることができる。酸不溶性DNAの中への[^{3}H]チミジンの組み込みは適正な時間間隔で測定され、取り込まれたその量は新規に合成されたDNAの量に正比例する。少なくとも１００倍のEXCS濃度範囲に対する線形の用量反応曲線は、成長因子の活性を示唆する。１ ml当たりの活性の一単位は、応答レベルが50%（100%は、[^{3}H]チミジンの酸不溶性DNAの中への最大取り込み量を表す）になるEXCSの濃度と定義される。

【０２３９】

別法のサイトカインの活性を調べるアッセイでは、線維芽細胞或いは白血球などの培養細胞の増殖を測定する。このアッセイでは、新規に合成されたDNAの中に取り込まれたトリチウム化チミジンの量を用いて増殖の活性を推定する。放射活性DNA前駆体である[^{3}H]チミジンの存在下で、様々な量のEXCSを、顆粒球や単球、リンパ球などの培養白血球または培養線維芽細胞に加える。このアッセイに用いるEXCSは、遺伝子組み換え技術もしくは生化学的な標本から得ることができる。酸不溶性DNAの中への[^{3}H]チミジンの組み込みは適正な時間間隔で測定され、取り込まれたその量は新規に合成されたDNAの量に正比例する。少なくとも１００倍のEXCS濃度範囲に対する線形の用量反応曲線は、EXCSの活性を示唆する。１ ml当たりの活性の一単位は、応答レベルが50%（100%は、[^{3}H]チミジンの酸不溶性DNAの中への最大取り込み量を表す）になるEXCSの濃度と従来から定義されている。

【０２４０】

EXCSサイトカインの活性を調べる別のアッセイでは、ボイデンマイクロチェンバー（Neuroprobe. Cabin John. MD）を用いて白血球の走化性を測定する。このアッセイでは、マクロファージや単球などの約10^5個の走化性細胞を、チェンバーの上側区画の細胞培地に置いた。様々に希釈したEXCSを下側の区画に置いた。２つの区画は、細孔の大きさが５若しくは８μmのポリカーボネイトフィルター（Nucleopore. Pleasanton CA）によって分離されている。３７℃で８０～１２０分間インキュベーションした後、このフィルターをメタノール内に固定し、好適な標識剤で染色する。他方の膜に遊走した細胞を標準的な顕微鏡でカウントする。走化性指数は、EXCSが下側の区画に存在する時にカウントされた遊走細胞の個数を、培地のみが下側の区画に存在する時にカウントされた遊走細胞の個数で除して求めることができる。

【０２４１】

別法では、EXCSをコードするヌクレオチド配列を含むベクターで形質転換された細胞株または組織をアッセイして、免疫ブロッティングによるEXCSの活性を調べることができる。細胞をβ-メルカプトエタノールの存在下、SDS内で変性し、エタノール沈殿によって核酸を除去し、アセトン沈殿によってタンパク質を精製する。ペレットを20 mMトリス緩衝液（pH7.5）の中で再懸濁し、EXCSに特異的な抗体で予めコーティングされたProtein G-Sepharoseを用いてインキュベートする。洗浄後、セファロースビーズを電気泳動サンプル緩衝液内で煮沸し、溶出したタンパク質をSDS-PAGEにかける。免疫ブロッティングをするためにこのSDS-PAGEをニトロセルロース膜に移し、EXCSに特異的な抗体を一次抗体として、一次抗体に特異的な^{125}I標識IgGを二次抗体として用いて、ブロットのバンドを視覚化し定量して、EXCSの活性をアッセイする。

【０２４２】

１２　機能的アッセイ

EXCSの機能は、哺乳動物細胞培養系において生理学的に高められたレベルでのEXCSをコードする配列の発現によって評価する。cDNAを、cDNAを高いレベルで発現する強いプロモーターを含む哺乳動物発現ベクターにサブクローニングする。このようなベクターには、pCMV SPORT™ (Life Technologies.)及びpCR 3.1 (In

vitrogen, Carlsbad, CA)が含まれ、どちらもサイトメガロウイルスプロモーターを含んでいる。５～１０μgの組換えベクターを、例えば内皮由来か造血由来のヒト細胞株にリポソーム製剤或いは電気穿孔法によって一時的に形質移入する。更に、標識タンパク質をコードする配列を含む１～２μｇのプラスミドを同時に形質移入する。標識タンパク質の発現により、形質移入された細胞と形質移入されていない細胞とを区別できる。また、標識タンパク質の発現によって、cDNAの組換えベクターからの発現を正確に予想できる。このような標識タンパク質には、緑色蛍光タンパク質(GFP；Clontech)、及びCD64またはCD64-GFP融合タンパク質が含まれる。レーザー光学に基づいた技術を利用した自動流動細胞計測法(FCM)を用いて、GFPまたはCD64-GFPを発現する形質移入された細胞を同定し、その細胞のアポトーシス状態や他の細胞特性を評価する。また、FCMで、先行した或いは同時の細胞死の現象を診断する蛍光分子の取り込みを検出して計量する。これらの現象には、プロピジウムヨウ化物でのDNAの染色によって計測される核DNA内容物の変化と、ブロモデオキシウリジンの取り込み量の低下によって計測されるDNA合成の下方調節と、特異的な抗体との反応性によって計測される細胞表面及び細胞内のタンパンク質の発現の変化と、蛍光複合アネキシンⅤタンパク質の細胞表面への結合によって計測される原形質膜組成の変化とが含まれる。流動細胞計測法は、Ormerod, M. G.による (1994) Flow Cytometry Oxford, New York, NY.に記載されている。

【０２４３】

遺伝子発現におけるEXCSの影響は、EXCSをコードする配列とCD64またはCD64-GFPのどちらかが形質移入された高度に精製された細胞集団を用いて評価することができる。CD64またはCD64-GFPは形質転換された細胞表面で発現し、ヒト免疫グロブリンG(IgG)の保存された領域と結合する。形質転換された細胞と形質転換されない細胞とは、ヒトIgGかCD64に対する抗体のどちらかで被覆された磁気ビードを用いて分離することができる(DYNAL. Lake Success. NY)。mRNAは、当分野で周知の方法で細胞から精製することができる。EXCS及び目的の他の遺伝子をコードするmRNAの発現は、ノーザン分析やマイクロアレイ技術で分析することができる。

【０２４４】

１３　EXCSに特異的な抗体の作製

ポリアクリルアミドゲル電気泳動法(PAGE；例えば、Harrington, M.G. (1990) Methods Enzymol. 1816－3088-495を参照)または他の精製技術で実質的に精製されたEXCSを用いて、標準的なプロトコルでウサギを免疫化して抗体を作り出す。

【０２４５】

別法では、EXCSアミノ酸配列をLASERGENEソフトウェア（DNASTAR）を用いて解析して免疫原性の高い領域を決定し、対応するオリゴペプチドを合成してこれを用いて当業者に周知の方法で抗体を生産する。Ｃ末端付近の、或いは隣接する親水性領域内のエピトープなどの適切なエピトープの選択については、当分野で周知である(例えば、前出のAusubel, 1995,11章を参照)。

【０２４６】

通常、約１５残基の長さのオリゴペプチドを、Applied BiosystemsのABI 431Aペプチドシンセサイザ（Perkin-Elmer）を用いてfmoc法のケミストリにより合成し、Ｎ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル（MBS）を用いた反応によりKLH（Sigma-Aldrich, St. Louis MO）に結合させて、免疫原性を高める(例えば、前出のAusubel, 1995を参照)。フロイントの完全アジュバントにおいてオリゴペプチド－KLH複合体を用いてウサギを免疫化する。得られた抗血清の抗ペプチド活性及び抗EXCS活性を検査するには、ペプチドまたはEXCSを基板に結合し、１％BSAを用いてブロックし、ウサギ抗血清と反応させて洗浄し、さらに放射性ヨウ素標識されたヤギ抗ウサギIgGと反応させる。

【０２４７】

１４　特異的抗体を用いる自然発生EXCSの精製

自然発生EXCS或いは組換えEXCSを、EXCSに特異的な抗体を用いるイムノアフィニティークロマトグラフィにより実質的に精製する。イムノアフィニティーカラムは、CNBr-活性化SEPHAROSE（Amersham Pharmacia Biotech）のような活性化クロマトグラフィー用レジンと抗EXCS抗体とを共有結合させることにより形成する。結合の後、そのレジンを製造者の使用説明書に従って、ブロックし洗浄する。

【０２４８】

EXCSを含む培養液をイムノアフィニティーカラムに通し、EXCSを優先的に吸着できる条件で（例えば、界面活性剤の存在下において高イオン強度のバッファーで）そのカラムを洗浄する。そのカラムを、抗体とEXCSとの結合を切るような条件で（例えば、ｐＨ２～３のバッファー、或いは高濃度の尿素またはチオシアン酸塩イオンのようなカオトロピックイオンで）溶出させ、EXCSを回収する。

【０２４９】

１４　EXCSと相互作用する分子の同定

EXCS又は生物学的に活性なその断片を、^{125}Ｉボルトンハンター試薬（例えば、Bolton A.E.及びW.M. Hunter (1973) Biochem. J. 133:529を参照）で標識する。マルチウェルプレートに予め配列しておいた候補の分子を、標識したEXCSと共にインキュベートし、洗浄して、標識したEXCS複合体を有する全てのウェルをアッセイする。様々なEXCS濃度で得られたデータを用いて、候補分子と結合したEXCSの数量及び親和性、会合についての値を計算する。

【０２５０】

別法では、EXCSと相互作用する分子を、Fields, S.及びO. Song(1989, Nature 340:245-246)に記載の酵母２－ハイブリッドシステム（yeast two-hybrid system）やMATCHMAKERシステム(Clontech)などの２－ハイブリッドシステムに基づいた市販のキットを用いて分析する。

【０２５１】

当業者は、本発明の範囲及び精神から逸脱することなく本発明の記載した方法及びシステムの種々の改変を行うことができるであろう。特定の好適実施例に基づいて本発明を説明したが、本発明の範囲が、そのような特定の実施例に不当に制限されるべきではないことを理解されたい。実際に、分子生物学或いは関連する分野の専門家には明らかな、本明細書に記載の本発明の実施方法の様々な改変は、特許請求の範囲に含まれる。

【０２５２】

（表の簡単な説明）

表１は、EXCSをコードする完全長の配列を作り出すために用いた、ポリペプチ

ド配列及びヌクレオチド配列の配列番号(SEQ ID NO)、クローン識別番号、cDNAライブラリ、及びcDNA断片を示す。

【０２５３】

表２は、潜在モチーフ及び相同配列を含む各ポリペプチド配列の特徴、並びにEXCSの解析に用いた方法、アルゴリズム、及び検索可能なデータベースを示す。

【０２５４】

表３は、各核酸配列の選択された断片と、ノーザン分析によって決定された各核酸配列の組織特異的発現パターンと、これらの組織に関連した疾患、異常症及び症状と、各DNAがクローニングされたベクターとを示す。

【０２５５】

表４は、EXCSをコードするcDNAクローンを単離したcDNAライブラリの作製に用いた組織を示す。

【０２５６】

表５は、EXCSの分析に用いたツール、プログラム、及びアルゴリズム、並びにその説明、引用文献、閾値パラメーターを示す。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> INCYTE GENOMICS, INC.
TANG, Y. Tom
YUE, Henry
LAL, Preeti
BURFORD, Neil
BANDMAN, Olga
BAUGHN, Mariah R.
AZIMZAI, Yalda
LU, Dyung Aina M.
PATTERSON, Chandra

<120> EXTRACELLULAR SIGNALING MOLECULES

<130> PF-0701 PCT

<140> To Be Assigned
<141> Herewith
<160> 55
<170> PERL Program

<210> 1
<211> 77
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1288847CD1

<400> 1
Met Gly Lys Glu Trp Val Lys Ile Leu Leu Phe Leu Leu His Leu
1 5 10 15
Ser Asn Phe Phe Thr Ile Val Thr Phe Leu Gly Ser Gln Gly Leu
20 25 30
Leu Gln Ser Pro Ser Tyr Glu Lys Leu Val Gly Cys Cys Leu Met
35 40 45
Thr Arg Gly Cys Phe Ser Pro Ser Val Met Leu Pro Ser Ala Ala
50 55 60
Pro Ser Gln Gln Asp Ser Pro Ser His Ser Arg Ala Pro Gly Pro
65 70 75
Cys Ser

<210> 2
<211> 88
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1329044CD1

<400> 2
Met Lys Thr Pro Asn Asp Leu Phe Leu Arg Gln Leu Gly Tyr Leu
1 5 10 15
Ser Ile Cys Cys Phe Val Phe Ser Ser Glu Glu Ser Lys Asn Tyr
20 25 30
Lys Ile Ser Leu Ile Val Tyr Leu Thr Phe Leu Thr Met Glu Thr
35 40 45
Lys Pro Arg Asn Ser Ile Tyr Ser Val Leu Thr Gln Ser Thr His

```
                50                  55                  60
Pro Asp Phe Glu Ser Pro Arg Thr Gly Val Pro Asn Pro Arg Ala
                65                  70                  75
Glu Asp Gln Tyr Gln Phe Glu Ala Tyr Tyr Arg Val Thr
                80                  85
<210> 3
<211> 96
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1493630CD1

<400> 3
Met Ser Met Gln Phe Leu Phe Lys Met Val Ala Leu Cys Cys Cys
  1               5                  10                  15
Leu Trp Lys Ile Ser Gly Cys Glu Glu Val Pro Leu Thr Tyr Asn
                20                  25                  30
Leu Leu Lys Cys Leu Leu Asp Lys Ala His Cys Val Leu Leu Thr
                35                  40                  45
Pro Cys Gly Tyr Ile Phe Ser Leu Ile Ser Pro Glu Ile Leu Lys
                50                  55                  60
Leu Thr Leu Ile Thr Leu Gln Ile Leu Leu Ile Leu Lys Asn Leu
                65                  70                  75
His Leu Leu Trp Leu Thr Val Ser Ser Arg Cys Val His Arg Ser
                80                  85                  90
Ser Ala Arg Lys Glu Lys
                95
<210> 4
<211> 104
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1533041CD1

<400> 4
Met Arg Leu Ser Leu Pro Leu Gly Ser Leu Leu Trp Pro Phe Leu
  1               5                  10                  15
Val Cys Gly Cys Leu Leu Gln Val Ala Leu Cys Gln Thr Arg Ser
                20                  25                  30
Ala Pro His Leu Asp Thr His Ser Pro Val Ala Phe Gln Cys Ser
                35                  40                  45
Gly Arg Lys Pro Val Ser Leu Asp Val Lys Leu Thr Leu Met Gly
                50                  55                  60
Trp Gly Arg Gly Leu Gly Arg Arg Gly Gly Arg Gly Glu Gly Thr
                65                  70                  75
Glu Leu Arg Ile Ser Trp Ser Ala Leu Gln Ala Gln Arg Arg Ser
                80                  85                  90
Ala Lys Val Leu Asn Arg Phe Ser Leu Glu Ile Lys Asn Pro
                95                 100
<210> 5
<211> 60
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1566162CD1
```

<400> 5
Met Leu Met Phe Ile Lys Gly Leu Ser Ser Thr Leu Phe Leu Gly
1 5 10 15
Ser Thr Leu Ser His Arg Asp Pro Ile Cys Phe Tyr Ser Phe His
20 25 30
Phe His Leu Tyr Leu Leu Pro His Ala Val Ser Pro Val Thr Asn
35 40 45
Ser Ile Tyr Asn Tyr Leu Leu Gly Leu Tyr Leu Asp Thr Cys Thr
50 55 60

<210> 6
<211> 117
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1811831CD1

<400> 6
Met Pro Lys Ser Gln Ser His His Leu Thr Gln Leu Gln Leu Leu
1 5 10 15
Pro Ser Cys Leu Leu Gly Leu Leu Pro Pro Val Pro Ala Val His
20 25 30
Ala Tyr Ile Leu Gln Gly Cys Val Leu Ser Gly Arg Glu Ile Phe
35 40 45
Phe Ser Val Leu Gln Phe Phe Thr Gln Thr Phe Ser Phe Val Val
50 55 60
Pro Val Phe Pro Ser Phe Pro Gly Gly Phe Arg Leu Pro Phe Ser
65 70 75
Ser Pro Trp Leu Ser Leu Cys Pro Ile His Arg Ser Thr Leu Gln
80 85 90
Ala Cys Leu Tyr Glu Arg Gly Leu Phe Leu Cys Arg Lys Leu Thr
95 100 105
Leu Thr Arg Cys Gly Cys Ser Tyr Thr Asp Leu Ile
110 115
<210> 7
<211> 86
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1835447CD1

<400> 7
Met Arg Ala Lys Gly Phe Leu Ala Pro Ser Leu Val Leu Ala Val
1 5 10 15
Ser Leu Glu Leu Met His Pro Asp Ala Asn Ser Pro Ser Glu Cys
20 25 30
Arg Gly Asp Glu Thr Leu Thr Gly Gln Phe Asn Leu Tyr Met Gly
35 40 45
Asp Lys Leu Glu Gly Lys Thr Asn Gly Arg Arg Val Lys Arg Lys
50 55 60
Leu Asn Tyr Cys Ala Asn Thr Arg His Ser Asn Pro Gly Gly Tyr
65 70 75
Cys Arg Val Asn Asn Asp Arg Tyr Tyr Phe Val
80 85
<210> 8
<211> 109
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3892281CD1

<400> 8
Met Arg Cys Arg Leu Leu Ala Gly Ala Leu Val Leu Leu His Leu
1 5 10 15
Arg Leu Ser Ile Trp Leu Leu Gly Leu Pro His Ser Met Ala Asp
20 25 30
Gly Leu Arg Glu Gly Ala Phe Pro Asn Lys Gly Pro His Lys Leu
35 40 45
Asp Leu Trp Arg Ala Ser Leu Arg Ser His Pro Val Ser His Gly
50 55 60
Pro His Phe Ile Gly Tyr Arg Ala Ser Gln Phe Glu Gly Glu Glu
65 70 75
Lys Tyr Val Ala Val Tyr Ala Val Ser Ser Ala Ser Leu Leu Pro
80 85 90
Ala Leu Pro Val Pro Val Leu Arg Ala Ala Leu Ala Glu Gln Met
95 100 105
Tyr Leu Leu Ser

<210> 9
<211> 111
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 4318494CD1

<400> 9
Met Arg Ser Pro Ser Phe Pro Phe Thr Leu Leu Ser Gly Leu Pro
1 5 10 15
Gly Pro Gly Phe Ser Gln Leu Cys Val Arg Val Ser Gln Val Ser
20 25 30
Arg Asn Pro Met Arg Ser Glu Gly Cys Phe Gly Leu Leu Lys Ser
35 40 45
Val Gln Asp Asn Pro Ala Ser Ala Leu Glu Leu Leu Asp Phe Ser
50 55 60
Asp Ile Gln Val Asn Ala Glu Phe Asp Gly Leu Ala Ser Ser Val
65 70 75
Arg Gly Ile Leu Pro Glu Leu Cys Ile Lys Thr Gly Ala Cys Arg
80 85 90
Val Glu Tyr Lys Lys Glu Leu Leu Pro Val Phe Arg Ser Ala Leu
95 100 105
Pro Ala Ser Val Pro Lys
110

<210> 10
<211> 182
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5090841CD1

<400> 10
Met Glu Pro Gln Leu Gly Pro Glu Ala Ala Ala Leu Arg Pro Gly
1 5 10 15

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

<210> 11
<211> 105
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2006548CD1

<400> 11

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

<210> 12
<211> 342
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2207183CD1

<400> 12

```
Met Glu Gly Pro Glu Phe Leu Arg Thr Ala Thr Ser Ala Ser Gly
  1               5                  10                  15
```

```
Arg Gly Glu His Arg Ala Glu Gly Val Cys Ser Arg Leu Arg Glu
                 20                  25                  30
Ala Ala Arg Arg Arg Gly Arg Pro Ser Leu Lys Gly Lys Arg Lys
                 35                  40                  45
Arg Gly Ser Ala Ser Ile Pro Glu Arg Gly Leu Gly Arg Met Lys
                 50                  55                  60
Thr Ser Ala Glu Leu His Glu Gln Glu Lys Pro Pro Ser Ser Pro
                 65                  70                  75
Arg Ala Thr Gly Pro Gly Arg Leu Gly His Ala Arg Gly Arg Gly
                 80                  85                  90
Pro Asp Ala Leu Arg Gly Gly Ala Ala Gly Pro Gly Arg Ala Ser
                 95                 100                 105
Ser Gly Ala Pro Arg Glu Arg Lys Met Ala Pro His Gly Pro Gly
                110                 115                 120
Ser Leu Thr Thr Leu Val Pro Trp Ala Ala Ala Leu Leu Leu Ala
                125                 130                 135
Leu Gly Val Glu Arg Ala Leu Ala Leu Pro Glu Ile Cys Thr Gln
                140                 145                 150
Cys Pro Gly Ser Val Gln Asn Leu Ser Lys Val Ala Phe Tyr Cys
                155                 160                 165
Lys Thr Thr Arg Glu Leu Met Leu His Ala Arg Cys Cys Leu Asn
                170                 175                 180
Gln Lys Gly Thr Ile Leu Gly Leu Asp Leu Gln Asn Cys Ser Leu
                185                 190                 195
Glu Asp Pro Gly Pro Asn Phe His Gln Ala His Thr Thr Val Ile
                200                 205                 210
Ile Asp Leu Gln Ala Asn Pro Leu Lys Gly Asp Leu Ala Asn Thr
                215                 220                 225
Phe Arg Gly Phe Thr Gln Leu Gln Thr Leu Ile Leu Pro Gln His
                230                 235                 240
Val Asn Cys Pro Gly Gly Ile Asn Ala Trp Asn Thr Ile Thr Ser
                245                 250                 255
Tyr Ile Asp Asn Gln Ile Cys Gln Gly Gln Lys Asn Leu Cys Asn
                260                 265                 270
Asn Thr Gly Asp Pro Glu Met Cys Pro Glu Asn Gly Ser Cys Val
                275                 280                 285
Pro Asp Gly Pro Gly Leu Leu Gln Cys Val Cys Ala Asp Gly Phe
                290                 295                 300
His Gly Tyr Lys Cys Met Arg Gln Gly Ser Phe Ser Leu Leu Met
                305                 310                 315
Phe Phe Gly Ile Leu Gly Ala Thr Thr Leu Ser Val Ser Ile Leu
                320                 325                 330
Leu Trp Ala Thr Gln Arg Arg Lys Ala Lys Thr Ser
                335                 340
<210> 13
<211> 451
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2267403CD1

<400> 13
Met Val Pro Glu Val Arg Val Leu Ser Ser Leu Leu Gly Leu Ala
  1                 5                  10                  15
Leu Leu Trp Phe Pro Leu Asp Ser His Ala Arg Ala Arg Pro Asp
                 20                  25                  30
Met Phe Cys Leu Phe His Gly Lys Arg Tyr Ser Pro Gly Glu Ser
                 35                  40                  45
Trp His Pro Tyr Leu Glu Pro Gln Gly Leu Met Tyr Cys Leu Arg
```

```
                    50                  55                  60
Cys Thr Cys Ser Glu Gly Ala His Val Ser Cys Tyr Arg Leu His
                    65                  70                  75
Cys Pro Pro Val His Cys Pro Gln Pro Val Thr Glu Pro Gln Gln
                    80                  85                  90
Cys Cys Pro Lys Cys Val Glu Pro His Thr Pro Ser Gly Leu Arg
                    95                 100                 105
Ala Pro Pro Lys Ser Cys Gln His Asn Gly Thr Met Tyr Gln His
                   110                 115                 120
Gly Glu Ile Phe Ser Ala His Glu Leu Phe Pro Ser Arg Leu Pro
                   125                 130                 135
Asn Gln Cys Val Leu Cys Ser Cys Thr Glu Gly Gln Ile Tyr Cys
                   140                 145                 150
Gly Leu Thr Thr Cys Pro Glu Pro Gly Cys Pro Ala Pro Leu Pro
                   155                 160                 165
Leu Pro Asp Ser Cys Cys Gln Ala Cys Lys Asp Glu Ala Ser Glu
                   170                 175                 180
Gln Ser Asp Glu Glu Asp Ser Val Gln Ser Leu His Gly Val Arg
                   185                 190                 195
His Pro Gln Asp Pro Cys Ser Ser Asp Ala Gly Arg Lys Arg Gly
                   200                 205                 210
Pro Gly Thr Pro Ala Pro Thr Gly Leu Ser Ala Pro Leu Ser Phe
                   215                 220                 225
Ile Pro Arg His Phe Arg Pro Lys Gly Ala Gly Ser Thr Thr Val
                   230                 235                 240
Lys Ile Val Leu Lys Glu Lys His Lys Lys Ala Cys Val His Gly
                   245                 250                 255
Gly Lys Thr Tyr Ser His Gly Glu Val Trp His Pro Ala Phe Arg
                   260                 265                 270
Ala Phe Gly Pro Leu Pro Cys Ile Leu Cys Thr Cys Glu Asp Gly
                   275                 280                 285
Arg Gln Asp Cys Gln Arg Val Thr Cys Pro Thr Glu Tyr Pro Cys
                   290                 295                 300
Arg His Pro Glu Lys Val Ala Gly Lys Cys Cys Lys Ile Cys Pro
                   305                 310                 315
Glu Asp Lys Ala Asp Pro Gly His Ser Glu Ile Ser Ser Thr Arg
                   320                 325                 330
Cys Pro Lys Ala Pro Gly Arg Val Leu Val His Thr Ser Val Ser
                   335                 340                 345
Pro Ser Pro Asp Asn Leu Arg Arg Phe Ala Leu Glu His Glu Ala
                   350                 355                 360
Ser Asp Leu Val Glu Ile Tyr Leu Trp Lys Leu Val Lys Asp Glu
                   365                 370                 375
Glu Thr Glu Ala Gln Arg Gly Glu Val Pro Gly Pro Arg Pro His
                   380                 385                 390
Ser Gln Asn Leu Pro Leu Asp Ser Asp Gln Glu Ser Gln Glu Ala
                   395                 400                 405
Arg Leu Pro Glu Arg Gly Thr Ala Leu Pro Thr Ala Arg Trp Pro
                   410                 415                 420
Pro Arg Arg Ser Leu Glu Arg Leu Pro Ser Pro Asp Pro Gly Ala
                   425                 430                 435
Glu Gly His Gly Gln Ser Arg Gln Ser Asp Gln Asp Ile Thr Lys
                   440                 445                 450
Thr
```

<210> 14
<211> 189
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2933038CD1

<400> 14
Met Leu Gly Ser Arg Ala Val Met Leu Leu Leu Leu Leu Pro Trp
1 5 10 15
Thr Ala Gln Gly Arg Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp
20 25 30
Thr Gln Cys Gln Gln Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp
35 40 45
Ser Ala His Pro Leu Val Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly
50 55 60
Asp Glu Glu Thr Thr Asn Asp Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp
65 70 75
Gly Cys Asp Pro Gln Gly Leu Arg Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu
80 85 90
Gln Arg Ile His Gln Gly Leu Ile Phe Tyr Glu Lys Leu Leu Gly
95 100 105
Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu Pro Ser Leu Leu Pro Asp Ser Pro
110 115 120
Val Gly Gln Leu His Ala Ser Leu Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu
125 130 135
Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr Gln Gln Ile Pro Ser Leu
140 145 150
Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu Leu Arg Phe Lys Ile
155 160 165
Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala Ala Arg Val Phe
170 175 180
Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro
185

<210> 15
<211> 216
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3216587CD1

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

```
                155                 160                 165
Leu Lys Glu Asp Thr Pro Arg Gln His Val Asp Val Phe Phe Gln
                170                 175                 180
Lys Met Asp Lys Asn Lys Asp Gly Ile Val Thr Leu Asp Glu Phe
                185                 190                 195
Leu Glu Ser Cys Gln Glu Asp Asp Asn Ile Met Arg Ser Leu Gln
                200                 205                 210
Leu Phe Gln Asn Val Met
                215
<210> 16
<211> 178
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5037143CD1

<400> 16
Met Ala Ala Ala Arg Leu Cys Leu Ser Leu Leu Leu Leu Ser Thr
  1                 5                  10                  15
Cys Val Ala Leu Leu Leu Gln Pro Leu Leu Gly Ala Gln Gly Ala
                 20                  25                  30
Pro Leu Glu Pro Val Tyr Pro Gly Asp Asn Ala Thr Pro Glu Gln
                 35                  40                  45
Met Ala Gln Tyr Ala Ala Asp Leu Arg Arg Tyr Ile Asn Met Leu
                 50                  55                  60
Thr Arg Pro Arg Cys Val Pro Gln Leu Gly Arg Glu Ile Pro Ala
                 65                  70                  75
Pro Gly Thr Leu Gly Pro Leu His Ile Pro Gly His Thr Leu Ser
                 80                  85                  90
Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ser Arg Pro Ala Leu Gly Lys Thr
                 95                 100                 105
Gly His Leu Cys Ser Thr Gly Leu Asp Gln Cys Ala Leu Gly Lys
                110                 115                 120
Met Val Pro Thr Gly Arg Tyr Glu Thr Gly Gly Leu Ala Pro Gly
                125                 130                 135
His Ser Ala Cys Pro Cys Cys Leu Phe Pro Pro Arg Tyr Gly Lys
                140                 145                 150
Arg His Lys Glu Asp Thr Leu Ala Phe Ser Glu Trp Gly Ser Pro
                155                 160                 165
His Ala Ala Val Pro Arg Glu Leu Ser Pro Leu Asp Leu
                170                 175
<210> 17
<211> 177
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1235265CD1

<400> 17
Met Glu Pro Gly Asn Arg Ser Leu Asn Pro His Lys Thr Lys His
  1                 5                  10                  15
His Met Glu Cys Arg Val Thr Gly Arg Ala Glu Val Thr Ala Ser
                 20                  25                  30
Arg Glu Gly Arg Gly Ala Cys Ala Trp Glu Cys Gly Ser Ser Arg
                 35                  40                  45
Gly Pro Trp Gly Leu Leu Arg Tyr Thr Phe Ala Pro Val Arg Ala
                 50                  55                  60
```

```
Ser Arg Pro Trp Ala Cys Leu Pro Lys Gly Ser Leu Ser Gln Arg
                65                  70                  75
Pro Lys Leu Pro Pro Pro Val His Leu Pro Pro Lys Ser Ser Cys
                80                  85                  90
Pro Pro Arg Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gln Gly Arg Gly Val Pro
                95                 100                 105
Cys Thr Tyr Leu Ser Pro Leu Ser His Ser Pro Lys Thr Phe Cys
               110                 115                 120
Thr Phe Leu Gln Gly Cys Pro Ser Gln Gln Phe Pro Ser Trp Leu
               125                 130                 135
Ile Lys Pro Ser Asp Trp Cys Cys Val Pro Ser Leu Trp Pro Leu
               140                 145                 150
Cys Gly Glu Arg Gly Leu Gln Gly Glu Glu Pro Gly Arg Asp Ser
               155                 160                 165
Gln Ala Ser Pro Trp Glu Gly Gly Ala Ser Arg Arg
               170                 175
<210> 18
<211> 179
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5571181CD1

<400> 18
Met Ala Ala Leu Gln Lys Ser Val Ser Ser Phe Leu Met Gly Thr
  1                 5                  10                  15
Leu Ala Thr Ser Cys Leu Leu Leu Leu Ala Leu Leu Val Gln Gly
                20                  25                  30
Gly Ala Ala Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser
                35                  40                  45
Asn Phe Gln Gln Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala
                50                  55                  60
Lys Glu Ala Ser Leu Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile
                65                  70                  75
Gly Glu Lys Leu Phe His Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr
                80                  85                  90
Leu Met Lys Gln Val Leu Asn Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe
                95                 100                 105
Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro Tyr Met Gln Glu Val Val Pro
               110                 115                 120
Phe Leu Ala Arg Leu Ser Asn Arg Leu Ser Thr Cys His Ile Glu
               125                 130                 135
Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val Gln Lys Leu Lys Asp
               140                 145                 150
Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile Lys Ala Ile Gly
               155                 160                 165
Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala Cys Ile
               170                 175
<210> 19
<211> 213
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 685374CD1

<400> 19
Met Ala Leu Leu Arg Lys Ser Tyr Ser Glu Pro Gln Leu Lys Gly
```

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

<210> 20
<211> 239
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 843193CD1

<400> 20

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

```
Asn Ala Arg His Glu Gly Trp Phe Met Ala Phe Thr Arg Gln Gly
                170                 175                 180
Arg Pro Arg Gln Ala Ser Arg Ser Arg Gln Asn Gln Arg Glu Ala
                185                 190                 195
His Phe Ile Lys Arg Leu Tyr Gln Gly Gln Leu Pro Leu Thr Asn
                200                 205                 210
His Ala Glu Lys Gln Lys Gln Phe Glu Phe Val Gly Ser Ala Pro
                215                 220                 225
Thr Arg Arg Ala Lys Arg Thr Arg Arg Pro Gln Pro Leu Thr
                230                 235
<210> 21
<211> 493
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1359783CD1

<400> 21
Met Leu Lys Ala Leu Phe Leu Thr Met Leu Thr Leu Ala Leu Val
  1                 5                  10                  15
Lys Ser Gln Asp Thr Glu Glu Thr Ile Thr Tyr Thr Gln Cys Thr
                 20                  25                  30
Asp Gly Tyr Glu Trp Asp Pro Val Arg Gln Gln Cys Lys Asp Ile
                 35                  40                  45
Asp Glu Cys Asp Ile Val Pro Asp Ala Cys Lys Gly Gly Met Lys
                 50                  55                  60
Cys Val Asn His Tyr Gly Gly Tyr Leu Cys Leu Pro Lys Thr Ala
                 65                  70                  75
Gln Ile Ile Val Asn Asn Glu Gln Pro Gln Gln Glu Thr Gln Pro
                 80                  85                  90
Ala Glu Gly Thr Ser Gly Ala Thr Thr Gly Val Val Ala Ala Ser
                 95                 100                 105
Ser Met Ala Thr Ser Gly Val Leu Pro Gly Gly Gly Phe Val Ala
                110                 115                 120
Ser Ala Ala Ala Val Ala Gly Pro Glu Met Gln Thr Gly Arg Asn
                125                 130                 135
Asn Phe Val Ile Arg Arg Asn Pro Ala Asp Pro Gln Arg Ile Pro
                140                 145                 150
Ser Asn Pro Ser His Arg Ile Gln Cys Ala Ala Gly Tyr Glu Gln
                155                 160                 165
Ser Glu His Asn Val Cys Gln Asp Ile Asp Glu Cys Thr Ala Gly
                170                 175                 180
Thr His Asn Cys Arg Ala Asp Gln Val Cys Ile Asn Leu Arg Gly
                185                 190                 195
Ser Phe Ala Cys Gln Cys Pro Pro Gly Tyr Gln Lys Arg Gly Glu
                200                 205                 210
Gln Cys Val Asp Ile Asp Glu Cys Thr Ile Pro Pro Tyr Cys His
                215                 220                 225
Gln Arg Cys Val Asn Thr Pro Gly Ser Phe Tyr Cys Gln Cys Ser
                230                 235                 240
Pro Gly Phe Gln Leu Ala Ala Asn Asn Tyr Thr Cys Val Asp Ile
                245                 250                 255
Asn Glu Cys Asp Ala Ser Asn Gln Cys Ala Gln Gln Cys Tyr Asn
                260                 265                 270
Ile Leu Gly Ser Phe Ile Cys Gln Cys Asn Gln Gly Tyr Glu Leu
                275                 280                 285
Ser Ser Asp Arg Leu Asn Cys Glu Asp Ile Asp Glu Cys Arg Thr
                290                 295                 300
Ser Ser Tyr Leu Cys Gln Tyr Gln Cys Val Asn Glu Pro Gly Lys
```

```
                305                 310                 315
Phe Ser Cys Met Cys Pro Gln Gly Tyr Gln Val Val Arg Ser Arg
                320                 325                 330
Thr Cys Gln Asp Ile Asn Glu Cys Glu Thr Thr Asn Glu Cys Arg
                335                 340                 345
Glu Asp Glu Met Cys Trp Asn Tyr His Gly Gly Phe Arg Cys Tyr
                350                 355                 360
Pro Arg Asn Pro Cys Gln Asp Pro Tyr Ile Leu Thr Pro Glu Asn
                365                 370                 375
Arg Cys Val Cys Pro Val Ser Asn Ala Met Cys Arg Glu Leu Pro
                380                 385                 390
Gln Ser Ile Val Tyr Lys Tyr Met Ser Ile Arg Ser Asp Arg Ser
                395                 400                 405
Val Pro Ser Asp Ile Phe Gln Ile Gln Ala Thr Thr Ile Tyr Ala
                410                 415                 420
Asn Thr Ile Asn Thr Phe Arg Ile Lys Ser Gly Asn Glu Asn Gly
                425                 430                 435
Glu Phe Tyr Leu Arg Gln Thr Ser Pro Val Ser Ala Met Leu Val
                440                 445                 450
Leu Val Lys Ser Leu Ser Gly Pro Arg Glu His Ile Val Asp Leu
                455                 460                 465
Glu Met Leu Thr Val Ser Ser Ile Gly Thr Phe Arg Thr Ser Ser
                470                 475                 480
Val Leu Arg Leu Thr Ile Ile Val Gly Pro Phe Ser Phe
                485                 490
<210> 22
<211> 121
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1440015CD1

<400> 22
Met Ala Arg Arg Ala Gly Gly Ala Arg Met Phe Gly Ser Leu Leu
  1                 5                  10                  15
Leu Phe Ala Leu Leu Ala Ala Gly Val Ala Pro Leu Ser Trp Asp
                 20                  25                  30
Leu Pro Glu Pro Arg Ser Arg Ala Ser Lys Ile Arg Val His Ser
                 35                  40                  45
Arg Gly Asn Leu Trp Ala Thr Gly His Phe Met Gly Lys Lys Ser
                 50                  55                  60
Leu Glu Pro Ser Ser Pro Ser Pro Leu Gly Thr Ala Pro His Thr
                 65                  70                  75
Ser Leu Arg Asp Gln Arg Leu Gln Leu Ser His Asp Leu Leu Gly
                 80                  85                  90
Ile Leu Leu Leu Lys Lys Ala Leu Gly Val Ser Ser Ala Ala Pro
                 95                 100                 105
His Pro Lys Ser Ser Thr Gly Gly Cys Trp Tyr Lys Tyr Leu Gln
                110                 115                 120
Lys

<210> 23
<211> 116
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1652885CD1
```

<400> 23
Met Val Pro Gln Pro Pro Thr Thr Cys Pro Trp Lys Pro Val Pro
1 5 10 15
Ser Pro Cys Asp Leu Arg Val Gln Gly Ile Cys Pro Ser Ser Phe
20 25 30
Pro Asp Thr Pro Leu Ala Gln Glu Glu Asp Ser Glu Pro Leu Pro
35 40 45
Pro Gln Asp Ala Gln Thr Ser Gly Ser Leu Leu His Tyr Leu Leu
50 55 60
Gln Ala Met Glu Arg Pro Gly Arg Ser Gln Ala Phe Leu Phe Gln
65 70 75
Pro Gln Arg Phe Gly Arg Asn Thr Gln Gly Ser Trp Arg Asn Glu
80 85 90
Trp Leu Ser Pro Arg Ala Gly Glu Gly Leu Asn Ser Gln Phe Trp
95 100 105
Ser Leu Ala Ala Pro Gln Arg Phe Gly Lys Lys
110 115

<210> 24
<211> 136
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 4003984CD1

<400> 24
Met Gln Arg Trp Thr Leu Trp Ala Ala Ala Phe Leu Thr Leu His
1 5 10 15
Ser Ala Gln Ala Phe Pro Gln Thr Asp Ile Ser Ile Ser Pro Ala
20 25 30
Leu Pro Glu Leu Pro Leu Pro Ser Leu Cys Pro Leu Phe Trp Met
35 40 45
Glu Phe Lys Gly His Cys Tyr Arg Phe Phe Pro Leu Asn Lys Thr
50 55 60
Trp Ala Glu Ala Asp Leu Tyr Cys Ser Glu Phe Ser Val Gly Arg
65 70 75
Lys Ser Ala Lys Leu Ala Ser Ile His Ser Trp Glu Glu Asn Val
80 85 90
Phe Val Tyr Asp Leu Val Asn Ser Cys Val Pro Gly Ile Pro Ala
95 100 105
Asp Val Trp Thr Gly Leu His Asp His Arg Gln Val Arg Lys Gln
110 115 120
Trp Pro Leu Gly Pro Leu Gly Ser Ser Ser Gln Asp Ser Ile Leu
125 130 135
Ile

<210> 25
<211> 176
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 4365383CD1

<400> 25
Met Asn Phe Val His Thr Ser Arg Lys Val Lys Ser Leu Asn Pro
1 5 10 15
Lys Lys Phe Ser Ile His Asp Gln Asp His Lys Val Leu Val Leu
20 25 30

```
Asp Ser Gly Asn Leu Ile Ala Val Pro Asp Lys Asn Tyr Ile Arg
                  35                  40                  45
Pro Glu Ile Phe Phe Ala Leu Ala Ser Ser Leu Ser Ser Ala Ser
                  50                  55                  60
Ala Glu Lys Gly Ser Pro Ile Leu Leu Gly Val Ser Lys Gly Glu
                  65                  70                  75
Phe Cys Leu Tyr Cys Asp Lys Asp Lys Gly Gln Ser His Pro Ser
                  80                  85                  90
Leu Gln Leu Lys Lys Glu Lys Leu Met Lys Leu Ala Ala Gln Lys
                  95                 100                 105
Glu Ser Ala Arg Arg Pro Phe Ile Phe Tyr Arg Ala Gln Val Gly
                 110                 115                 120
Ser Trp Asn Met Leu Glu Ser Ala Ala His Pro Gly Trp Phe Ile
                 125                 130                 135
Cys Thr Ser Cys Asn Cys Asn Glu Pro Val Gly Val Thr Asp Lys
                 140                 145                 150
Phe Glu Asn Arg Lys His Ile Glu Phe Ser Phe Gln Pro Val Cys
                 155                 160                 165
Lys Ala Glu Met Ser Pro Ser Glu Val Ser Asp
                 170                 175
<210> 26
<211> 134
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5497814CD1

<400> 26
Met Ser Val Leu Pro Leu Cys Val Leu Pro Leu Leu Leu Ala Ser
  1               5                  10                  15
Cys Ser His Leu Ser Thr Phe Leu Trp Pro Pro Ser Leu Ala Cys
                 20                  25                  30
Cys Leu Glu Thr Leu Val Gly Ile Pro Phe Ser Arg His Arg Ser
                 35                  40                  45
Leu Gly Leu Ile Pro Ala Pro Arg Cys Leu Pro Leu Pro Ala Ala
                 50                  55                  60
Ile Pro Thr Ser Leu Cys Ser Pro Pro Phe His Ser Leu His Ser
                 65                  70                  75
Leu Pro Arg Cys Pro Leu Leu Lys Val Leu Gly His Pro Gln Val
                 80                  85                  90
Ala Trp Ser Arg Gln Gln Pro Leu His Phe Thr Ser Ala Asn Asp
                 95                 100                 105
Arg His Leu Ser Lys Ala Cys Pro Gly Cys Ser Trp Tyr Ser Ser
                110                 115                 120
Asp Ser Leu Val Ala Phe Gln Arg Pro Phe Pro Ser Gly Leu
                125                 130
<210> 27
<211> 2730
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1288847CB1

<400> 27
cgggtaggaa gctcctctta gtactaagag acttcaagct tcttgcttta agtcctcacc 60
ctttacatta tctaattctt cagttttgat gctgatacct gccccggcc ctaccttagc 120
tctgtggcat tatatctcct ctctgggact cttcaacctg gtactccata cctcttgtgc 180
```

cctctcactt taggcagctt gcactatttct tgaatgaatg aagaattatt tcctcatttg 240
gaagtaggag ggactgaaga aattctcccc aggcactgtg ggactgagag tcctattccc 300
ctagtaatag gtcatattcc cctagtaata tgagttctca aagcctacat tcaggatctc 360
cctctaggat gtgatagatc tggtccctct ccttgaacta cccctccaca cgctctagtc 420
ccttcaacct accggtctat taagtggtgg cttttctctc cttggagtgc cccaatttta 480
tattctcagg ggccaaggct aggtctgcaa cccctctgtct ctgacagatt gggagccaca 540
ggtgcctaat tgggaaccag ggcatgggaa aggagtgggt caaaattctt ctctttctcc 600
tccacctctc aaacttcttc actatagtga ccttcctagg ctctcagggg ctccttcagt 660
ccccatccta tgagaaacta gtgggttgct gcctgatgac aaggggttgt ttcagcccct 720
cagtcatgct gccttctgct gctcccctcc agcaggattc accctctcat tcccgggctc 780
ctgggccctg ttcttaggat cagtggcagg gagaaacggg tatctctttt ctctcttcta 840
attttcagta taaccaaaaa ttatcccagc atgagcacgg gcacgtgccc ttcaccccat 900
tccacccttg ttccagcaag actgggatgg gtacaactga actggggtct tcctttacta 960
cccccttcta cactcagctc ccagacacag ggtaggaggg gggactgctg gctactgcag 1020
agacccttgg ctatttgagt aacctaggat tagtgagaag gggcagaagg agatacaact 1080
ccactgcaag tggaggtttc tttctacaag agttttctgc ccaaggccac agccatccca 1140
ctctctgctt ccttgagatt caaaccaaag gctgtttttc tatgtttaaa gaaaaaaaaa 1200
agtaaaaacc aaacacaaca cctcacaagt tgtaactctt ggtccttctc tctctccttt 1260
tctcttccct tccttcccct tccatctttc tttccacatg tcctttcctt attggctctt 1320
ttacctccta ctttttctcac tccctatcag ggatattttg gggggggatg gtaaagggtg 1380
ggctaaggaa cagaccctgg gattagggcc ttaagggctc tgagaggagt ctaccttgcc 1440
ttcttatggg aagggagacc ctaaaaaact ttctcctctt tgtcctcctt tttctccccc 1500
actctgaggt ttccccaaga gaaccagatt ggcagggaga agcattgtgg ggcaattgtt 1560
cctccttgac aatgtagcaa taaatagatg ctgccaaggg cagaaaatgg ggaggttagc 1620
tcagagcaga gtagtctcta gagaaaggaa gaatcctcaa cggcaccctg gggtgctagc 1680
tcctttttag aatgtcagca gagctgagat taatatctgg gcttttcctg aactattctg 1740
gttattgagc ccttcctgtt agacctaccg cctcccacct cttctgtgtc tgctgtgtat 1800
ttggtgacac ttcataagga ctagtccctt ctggggtatc agagccttag ggtgccccca 1860
tcccccttcc cagtcaactg tggcacctgt aacctcccgg aacatgaagg actatgctct 1920
gaggctatac tctgtgccca tgagagcaga gactggaagg gcaagaccag gtgctaagga 1980
ggggagaggg ggcatcctgt ctctctccag accatcactg cactttaacc agggtcttag 2040
gtacaaaatc ctacttttca gagccttcca gctctggaac ctcaaacatc ctcatgctct 2100
ctcccagctc cttttgcata aaaaaaaaag taaagaaaaa gaaaaaaaaa tacacacaca 2160
ctgaaaccca catggagaaa agaggtgttt ccttttatat tgctattcaa aatcaatacc 2220
accaacaaaa tatttctaag tagacacttt tccagacctt tgtttttttg tgtcagtgtc 2280
caagctgcag ataggatttt gtaatacttc tggcagcttc tttccttgtg tacataatat 2340
atatatatac atatatatat atatttttaa tcagaagtta tgaagaacaa aaagaaaaaa 2400
taaacacaga agcaagtgca ataccacctc tctttctccct ctctcctagg gtttcctttg 2460
tagcctatgt ttggtgtctc ttttgacctt taccccttca cctcctcctc tcttcttctg 2520
attcccctcc ccccctttct taaagagttt ttctcctttc tcaaggggag ttaaactagc 2580
ttttgagact tattgcaaag cattttgtat atgtaatata ttgtaagtaa atatttgtgt 2640
aacggagata tactactgta agttttgtac tgtactggct gaaagtctgt tataaataaa 2700
catgagtaat ttaacaccaa aaaaaaaaaa 2730

<210> 28
<211> 1339
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1329044CB1

<400> 28
cacacatttt gaaatatgtg tcaaatattt aggaatacta atttaatcta aaaatccata 60
attgaaattt aaagagttaa aagtacacaa aatagactga aaaattaatt atccaacaat 120
atgaaaaccc caaatgacct atttctcaga caactagggt atctttcaat ctgctgcttt 180
gtattttctt ctgaagagtc aaaaaattat aaaatatcct taatagtcta cttgacattt 240
ttgactatgg aaaccaagcc caggaatagt atatacagtg tactaaccca gtcaacccac 300
ccagactttg agtccccacg tacaggagtc cccaacccca gggccgaaga ccagtaccag 360
tttgaggcct attaccgggt cacatagcag gaggtgagca gcgggatgag gcagcattac 420

tgcctgaact ctgcctcctg ttagatcagc agcagcatta ggttctcata ggagtgtgaa 480
ccctattgtg aactgtgcag gtgagggatc taggttgcat gctccttatg agaatctaat 540
gcctgatgat ccgagtggga cagtttcatc ccaaaaccat ccaccaccac caccctctcc 600
catgtccatg gaaaaactgt ctttgacaaa actggtccct ggtgccaaaa aggttgggga 660
ccgctgccta agtagaccaa gtctatgagt atctaaaccc agcagacaaa gtacacattc 720
acatccaaaa aatgaagagc aggagtaaga tgagcagagc atcagtgagg ctttgggaag 780
gtcaactatt agcatccatt ttgatatgct ggcatttcat tggatattgg acattcacag 840
catcattctc ttccaggaag ggagaagagc tgtggagtag atctgtgagc aaaagagaaa 900
tggaagacag tggctgatcc caaatacatt tgagtagcag ataattaaga agagttatac 960
aggccagaga caacgaacac aaagaatcta acagtctacc caaaaattat gccctaaaac 1020
agtgacttct caaccagact caatttctct gcaatgtctg gagacattca gtagttgtct 1080
ggagacattc agtagttgtc acaactgagc tggaggtact gtgttgctcc tggcatttag 1140
taggtagaga tcagggatgc tgctaaacac cctacagtgt acaggacagc ccctacaaca 1200
aagaattaac caaaatgtca acaatgctaa ggctgagaaa ctctgaccta aaatgacaat 1260
cattatgact aaccatgtgc atagctgaaa agatccatga aaagccttaa aatagatcgc 1320
aataaacatt atgtagtca 1339

<210> 29
<211> 987
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1493630CB1

<400> 29
aaatgtgcat agcagaatgt taacagacgc tgcctttagg gagagataaa aagcataatg 60
acattagcta ggaaagttaa ttttcagttc ttactgaagt gctgtatgaa actgaaattt 120
ccaaggaact gaattttgtg agccaaatga gcatgcaatt cttgtttaag atggtggcct 180
tatgctgttg tctctggaag atctccggct gtgaggaagt ccctctaact tacaacctgc 240
tcaagtgcct cctagataaa gcgcactgtg tactcctgac accttgtggt tacatctttt 300
ccttgatcag tccagaaatt ctcaaactca ctttaatcac tttgcagatc ctcttaatac 360
tcaaaaatct acacttactg tggctgacag tttcaagcag atgtgttcat cgcagtagtg 420
caagaaaaga aaagtagaag aaccctgcag agatttgatg gaacccagct tctattcatt 480
aaaaccaatg gcaaaatata aagcaaatag gaggtgacga aggttacaaa gatacgtatt 540
gtttatgttt tccctggggt gtgctgattg tcaggcatca gttcctgtg ccattcattc 600
cccaacacag catgcatcag aaattttatc aataaatgct ttctctctca atgttcaacc 660
tatgctgata gaccattaaa tacagttttt gggttcacag cttgtcatca tcatttgtct 720
atacatgtgg aaaagaatat ctaataagat actctcagca ttttgcacac ttaaactaag 780
atgctgaatg ctgtatttta cggaataatc agccacatta aatttggaga ctcaacaagc 840
atgctgtgaa cattcaacat taggtttaaa ttttatttt aaaagttaat aataaaagga 900
tatatgttaa gtattatgaa accctgcata tactgtaata aaatggtgga tgtgaatgga 960
caatatatgc aataaaatat ataaaaa 987

<210> 30
<211> 842
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1533041CB1

<400> 30
ggtgcctcct gcagtttggg agacatggac cagcatctgg tcttgtttcc aggagcatag 60
aagccacatc gttgagacat caggaaggta aaaacccagc ggcttagcca agccctaagc 120
ctgtccccag accaaccctg ggacctatac agaacagagg gccagagcta gggctgctgc 180
ttctgctcca gccccttgc ctctgtcctc ccatcccctc aacaccctgc ttctcccggg 240
gacgcttttg agtgggccct gcccggggag ctgcagagca gcagcacctt tctctgagaa 300
gaggtccttg gttgggtcaa ggacagggct gagcgtggaa gggggaggag tcaggggctc 360

tgtgttagga tgcggctttc tctgcctctg ggcagcctgc tttggccttt ccttgtatgt 420
gggtgtttat tacaagtggc tttgtgtcag acacgctcgg ctccccacct ggacacacac 480
tcaccagtgg cctttcagtg tagcgggagg aagccggtgt ccctggatgt gaagctcaca 540
ctgatgggct ggggcagggg cctgggccgg cgaggggccc ggggggaggg gacagagctg 600
aggatttcct ggagtgccct gcaggcacag aggaggtcag caaaggtctt gaatagattt 660
tctctggaaa taaagaatcc ttagatgcct aaaaattccc ttcctgttcc ctcctggtcc 720
tgggacacct cccaggggac tgttccttat ttctctctcc tggtgtgggt aaagggacag 780
ttacaaacca ggtcaccatc ctcagaggct gagccctgta cccacccagc acagccactc 840
cg 842

<210> 31
<211> 1125
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1566162CB1

<400> 31
gtaagaatcc cagatccata gtttgggtcg ggtaaaggtt tgatgagatg ataagggtgg 60
tttatttcag actttgggta aaagggagta tgaatcagtt cattaattca tcttgtttcc 120
cagagagaaa aaaaagatca agagaagcca ttctggctct gccacatccc cacagccagc 180
cctgttttat ttcaactgct tgctcaaatt aaactcacca cactggagtg caatctgcca 240
ggagccagct ggggtgtatt gtgttcagtt gttcaaatgt tcaggcccgt tctgggtaag 300
ttcatgctgg tgtctcttgg agggatgcct agggtgaagg gctgagctct gaagtcagaa 360
tgatctgttt tagaacctgg ctctttcata gattataggt catttcctct ttctttatgg 420
caactcacaa aagaggaatc aggaaagctc ctgtaccaat gtggctctct aacaggatct 480
ggaactgaag actaattatt tggatgtggc ttacactcaa aaggacattt tgaagtggtt 540
gaagaggaga aactttccta acaacttgtt caaagactct tttactccag ggaacatagc 600
taactgggaa gagggtggag gatctagtgc cttgtcccat actggaaaca cacaggacag 660
aaggctccac aacacagcct ggccttggga ggaaggtagg aggttctgac tcagcagcca 720
gctgtgagag gtggaagagg acccttgatc tgggcaagca agggttcagt cctgctggaa 780
agatgactct tttaccaaga gaatactgaa tcccagagaa gtctcagact gcagtactct 840
aggagtgaaa accagttgga tgtctagagg aactcagcca gctggataag ttctcatctc 900
tccacctttg acattgtgct tcacactgat gttgatgttc atcaagggtt tgtcttccac 960
cctcttcttg ggcagcacac tctcccacag ggatcccatc tgtttttata gcttccattt 1020
ccatctctat ctgttgcctc atgctgtttc cccagtgaca aactcaatat acaattacct 1080
gctgggactc tacctggata cctgcacatg agacccaaca aagga 1125

<210> 32
<211> 597
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1811831CB1

<400> 32
cttatttgaa aatcaatata accacatcta taaaaacaat tttaaagaat gcccaaatcc 60
cagagccatc atctcaccca attacaactc ttgccttcat gtctgcttgg cctcttgccc 120
cctgttcctg ctgtgcatgc atacatttta cagggatgtg tcctcagtgg acgtgagatt 180
ttttttctg ttttgcagtt ttttacacaa acattttcat ttgttgttcc tgtttttcct 240
tctttcccag gaggctttag gctcccattc tcctctccct ggctttctct ctgtcccatc 300
cacgctcta cccttcaggc ctgcctatat gaaagaggtc tctttctatg cagaaaactc 360
actttaacaa gatgtgggtg ctcttacaca gacctcatat gaggaaaata gcacatcagt 420
gaacttgggg tccctgggag tcacagtgat gttcaccaga aaatcagaca acggtaatgt 480
acctcccca tcaggttgcc aaaaattaga ataggttttg tgtttttgg tgttgtttgt 540
ttgagacgga gtcttgctct gtcaccaggc tggagtgcag tggtgcgatc tcggctc 597

<210> 33
<211> 658
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1835447CB1

<400> 33
acgatgcgag ccaaaggatt cttggctcca agcctggtcc tggctgttag tttggaactc 60
atgcacccag atgctaactc gccctcagaa tgcagagggg atgaaacact gaccggacaa 120
ttcaatctgt atatgggaga taaactggag gggaagacga atggcaggag ggtgaagagg 180
aaactgaatt actgtgcaaa cacccgccac tcaaatccgg gtggttactg cagagtgaat 240
aacgataggt actatttcgt gtaaggcaaa gtcctttgaa agggctccta gagcgtcaag 300
gcctccacct gatgaatgaa tgagtcaggc aggcccagct ccacttcacg gatgggaaaa 360
ctgaggtacg aggcctcgct gaaagatgcg aggcagagcg gagaaccaga agcaccactt 420
ctctcaggct gatgctctaa tctcggctcc ccccgccccc acaatggcgt agacggcctc 480
cgccgcccga ctcacacaca ccctcccccg ggaacggcaa gtctcctcgg gttccaagga 540
cagggtcaaa agacaagagg cccgaggcgc tcccgccgtg atttgcagcc agataccgtt 600
gggagcgcac gcagagagcg ttgggagcgt gcgtacctcc agcccaacat ggcggcgg 658

<210> 34
<211> 639
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3892281CB1

<400> 34
gggttacagg cgtgagcacg gtgcacggcc tgctttataa caaattgtcc ccaaacttag 60
caacaactat ttgccccaga caactgtttt tcccccttcc ttctatggat tgaccagcca 120
gttctgcttt agatggtatt ggatggagcc ctggaatggc tgaaaagtcc aaactggcct 180
gacttgctca gccagcaatg cggtgcaggc tcctagctgg ggccttagtt ctcctgcacc 240
tgcggctctc catatggctg cttggacttc ctcatagcat ggcagatgga ttacgagaag 300
gagcattccc aaataaagga ccacataagc tagatctctg gagggctagc ctcagaagtc 360
acccagtgtc acatgggcca cattttattg gttacagggc cagccagttt gaaggggaag 420
agaaatatgt cgctgtttat gctgtgtcca gtgctagctt gctacctgct ctcccagttc 480
cagtgctcag ggcagcactg gcagaacaga tgtacttact gagttaaaaa cagcaacatc 540
caagacaatt gttaactttt aaaactgtct cccatcccag aaggtataac taaaaaacta 600
acaataaaaa taatagtaat aaataataaa aaaaaaaaa 639

<210> 35
<211> 996
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 4318494CB1

<400> 35
gtctgactat ctgatggaga caccttctga gccgaaacag tgtggccata gtggctgtgt 60
cctcagagat gaggagcccc tccttccctt tcacattgct ctctggcctt cccggacctg 120
gcttctcgca gctttgtgtg cgtgtttctc aggtgtccag gaatcccatg cgaagtgaag 180
gctgctttgg tctcctcaag tctgtccagg acaatccagc ctctgccctg gaactgctgg 240
atttctcaga tatccaggtg aacgcagagt ttgatggcct tgctagctca gtgaggggaa 300
ttcttccaga actctgcata aagactggcg cttgcagagt ggagtataaa aaggagttgc 360
tgccagtctt cagatcagcc ctgccagcgt ctgtccctaa gtgaccttgg agtgtggctt 420

cctcatctcc aatcagctgc tttgacctcc agggtatata cttgaaagaa atgaagacat 480
atgtccccac aagaactcgt gcacgaatat ccatagcaac attatttata atattctaag 540
agtgaaaatg cccaccagtg gataaatgca atgtggtata tccatacagt ggaatattat 600
ttggcaataa aaaggaattt gaggtgatac caatgttcta aaatgtattg tggtgatggc 660
tacgtaactg tgcatattct aaaggcaatt gaattacaga tgctttacat gaatgaaccg 720
tatggtatgt gaacggcatc tcaataaaac tgtttcgaaa agaaggaaaa ggacggacac 780
atgctgaaaa cgggtgaaac tagaaaacat ggcgctaagt gaaagaagcc agccacaaga 840
tcacgtgtcg catgaccgca tttatgtgaa acatccggag tatgcaaatc tatacagaca 900
gaaagtagat tatacattgc ctaggtgcag agaaatggaa gtattggagg ttgacggcta 960
aaggatgtgg atttctttgg gggtgataaa agtggt 996

<210> 36
<211> 795
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5090841CB1

<400> 36
ggatggggtc agcacccaga agccagcccc ctctgacagc ttcctctttg gccaagccct 60
gcctctgtac agcctcgagt ggacagccag aggctgcagc tggagcccag agcccaagat 120
ggagccccag ctggggcctg aggctgccgc cctccgccct ggctggctgg ccctgctgct 180
gtgggtctca gccctgagct gttctttctc cttgccagct tcttcccttt cttctctggt 240
gccccaagtc agaaccagct acaattttgg aaggactttc ctcggtcttg ataaatgcaa 300
tgcctgcatc gggacatcta tttgcaagaa gttctttaaa gaagaaataa gatctgacaa 360
ctggctggct tcccaccttg gactgcctcc cgattccttg ctttcttatc ctgcaaatta 420
ctcagatgat tccaaaatct ggcgccctgt ggagatcttt agactggtca gcaaatatca 480
aaacgagatc tcagacagga gaatctgtgc ctctgcatca gccccaaaga cctgcagcat 540
tgagcgtgtc ctgcggaaaa cagagaggtt ccagaaatgg ctgcaggcca agcgcctcac 600
gccggacctg gtgcaggact gtcaccaggg ccagagagaa ctaaagttcc tgtgtatgct 660
gagataacac cagtgaaaaa gcctggcatg gagcccagca ctgagaactt ccagaaagtg 720
ttagccttct cccaactgtg ttataccaac cacattttca aatagtaatc attaaagagg 780
cttctgcatc aaaaa 795

<210> 37
<211> 1419
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2006548CB1

<400> 37
tggcctcccc agcttgccag gcacaaggct gagcgggagg aagcgagagg catctaagca 60
ggcagtgttt tgccttcacc ccaagtgacc atgagaggtg ccacgcgagt ctcaatcatg 120
ctcctcctag taactgtgtc tgactgtgct gtgatcacag gggcctgtga gcgggatgtc 180
cagtgtgggg caggcacctg ctgtgccatc agcctgtggc ttcgagggct gcggatgtgc 240
accccgctgg ggcgggaagg cgaggagtgc caccccggca gccacaaggt ccccttcttc 300
aggaaacgca agcaccacac ctgtccttgc ttgcccaacc tgctgtgctc caggttcccg 360
gacggcaggt accgctgctc catggacttg aagaacatca atttttaggc gcttgcctgg 420
tctcaggata cccaccatcc ttttcctgag cacagcctgg atttttattt ctgccatgaa 480
acccagctcc catgactctc ccagtcccta cactgactac cctgatctct cttgtctagt 540
acgcacatat gcacacaggc agacatacct cccatcatga catggtcccc aggctggcct 600
gaggatgtca cagcttgagg ctgtggtgtg aaaggtggcc agcctggttc tcttccctgc 660
tcaggctgcc agagaggtgg taaatggcag aaaggacatt ccccctcccc tccccaggtg 720
acctgctctc tttcctgggc cctgcccctc tccccacatg tatcccctcgg tctgaattag 780
acattcctgg gcacaggctc ttgggtgcat tgctcagagt cccaggtcct ggcctgaccc 840
tcaggccctt cacgtgaggt ctgtgaggac caatttgtgg gtagttcatc ttccctcgat 900

tggttaactc cttagtttca gaccacagac tcaagattgg ctcttcccag agggcagcag 960
acagtcaccc caaggcaggt gtagggagcc cagggaggcc aatcagcccc ctgaagactc 1020
tggtcccagt cagcctgtgg cttgtggcct gtgacctgtg accttctgcc agaattgtca 1080
tgcctctgag gcccccctct accacacttt accagttaac cactgaagcc cccaattccc 1140
acagcttttc cattaaaatg caaatggtgg tggttcaatc taatctgata ttgacatatt 1200
agaaggcaat tagggtgttt ccttaaacaa ctcctttcca aggatcagcc ctgagagcag 1260
gttggtgact ttgaggaggg cagtcctctg tccagattgg ggtgggagca agggacaggg 1320
agcagggcag gggctgaaag gggcactgat tcagaccagg gaggcaacta cacaccaacc 1380
tgctggcttt agaataaaag caccaactga aaaaaaaaa 1419

<210> 38
<211> 1265
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2207183CB1

<400> 38
gtttactgag ggcagatgga ggggcccgag tttctgcgaa ccgcgacctc ggcgtccgga 60
cgcggggaac accgggctga gggagtctgc agtcggctcc gggaagccgc gcggcgacgg 120
gggaggcctt cactaaaggg gaaaaggaag agggggtcgg ccagtatccc cgaaagaggg 180
ctagggcgca tgaagaccag cgcagagctc cacgagcagg aaaagccccc aagcagcccc 240
agggcgactg gaccgggccg cttaggccac gcccggggaa gagggcctga cgcgctgcgg 300
ggcggggccg cggggccggg tcgcgcgagc agcggagcac caagggaacg gaaaatggcg 360
cctcacggcc cgggtagtct tacgaccctg gtgccctggg ctgccgccct gctcctcgct 420
ctgggcgtgg aaagggctct ggcgctaccc gagatatgca cccaatgtcc agggagcgtg 480
caaaatttgt caaaagtggc cttttattgt aaaacgacac gagagctaat gctgcatgcc 540
cgttgctgcc tgaatcagaa gggcaccatc ttggggctgg atctccagaa ctgttctctg 600
gaggaccctg gtccaaactt tcatcaggca cataccactg tcatcataga cctgcaagca 660
aaccccctca aaggtgactt ggccaacacc ttccgtggct ttactcagct ccagactctg 720
atactgccac aacatgtcaa ctgtcctgga ggaattaatg cctggaatac tatcacctct 780
tatatagaca accaaatctg tcaagggcaa aagaaccttt gcaataacac tggggaccca 840
gaaatgtgtc ctgagaatgg atcttgtgta cctgatggtc caggtctttt gcagtgtgtt 900
tgtgctgatg gtttccatgg atacaagtgt atgcgccagg gctcgttctc actgcttatg 960
ttcttcggga ttctgggagc caccactcta tccgtctcca ttctgctttg ggcgacccag 1020
cgccgaaaag ccaagacttc atgaactaca taggtcttac cattgaccta agatcaatct 1080
gaactatctt agcccagtca gggagctctg cttcctagaa aggcatcttt cgccagtgga 1140
ttcgcctcaa ggttgaggcc gccattggaa gatgaaaaat tgcactccct tggtgtagac 1200
aaataccagt tcccattggt gttgttgcct ataataaaca ctttttttct ttaaaaaaaa 1260
aaaaa 1265

<210> 39
<211> 1720
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2267403CB1

<400> 39
cccacgcgtc cgcgcctctc ccttctgctg gaccttcctt cgtctctcca tctctccctc 60
ctttccccgc gttctctttc caccttttct ttcttcccac cttagacctc ccttcctgcc 120
ctcctttcct gcccaccgct gcttcctggc ccttctccga ccccgctcta gcagcagacc 180
tcctggggtc tgtgggttga tctgtggccc ctgtgcctcc gtgtcctttt cgtctccctt 240
cctcccgact ccgctcccgg accagcggcc tgaccctggg gaaaggatgg ttcccgaggt 300
gagggtcctc tcctccttgc tgggactcgc gctgctctgg ttccccctgg actcccacgc 360
tcgagcccgc ccagacatgt tctgcctttt ccatgggaag agatactccc ccggcgagag 420
ctggcacccc tacttggagc cacaaggcct gatgtactgc ctgcgctgta cctgctcaga 480

gggcgcccat gtgagttgtt accgcctcca ctgtccgcct gtccactgcc cccagcctgt 540
gacggagcca cagcaatgct gtcccaagtg tgtggaacct cacactccct ctggactccg 600
ggccccacca aagtcctgcc agcacaacgg gaccatgtac caacacggag agatcttcag 660
tgcccatgag ctgttccccc cccgcctgcc caaccagtgt gtcctctgca gctgcacaga 720
gggccagatc tactgcggcc tcacaacctg ccccgaacca ggctgcccag cacccctccc 780
actgccagac tcctgctgcc aagcctgcaa agatgaggca agtgagcaat cggatgaaga 840
ggacagtgtg cagtcgctcc atggggtgag acatcctcag gatccatgtt ccagtgatgc 900
tgggagaaag agaggcccgg gcaccccagc ccccactggc ctcagcgccc ctctgagctt 960
catccctcgc cacttcagac ccaagggagc aggcagcaca actgtcaaga tcgtcctgaa 1020
ggagaaacat aagaaagcct gtgtgcatgg cgggaagacg tactcccacg gggaggtgtg 1080
gcacccggcc ttccgtgcct tcggcccctt gccctgcatc ctatgcacct gtgaggatgg 1140
ccgccaggac tgccagcgtg tgacctgtcc caccgagtac ccctgccgtc accccgagaa 1200
agtggctggg aagtgctgca agatttgccc agaggacaaa gcagaccctg gccacagtga 1260
gatcagttct accaggtgtc ccaaggcacc gggccgggtc ctcgtccaca catcggtatc 1320
cccaagccca gacaacctgc gtcgctttgc cctggaacac gaggcctcgg acttggtgga 1380
gatctacctc tggaagctgg taaaagatga ggaaactgag gctcagagag gtgaagtacc 1440
tggcccaagg ccacacagcc agaatcttcc acttgactca gatcaagaaa gtcaggaagc 1500
aagacttcca gaaagaggca cagcacttcc gactgctcgc tggcccccac gaaggtcact 1560
ggaacgtctt cctagcccag accctggagc tgaaggtcac ggccagtcca gacaaagtga 1620
ccaagacata acaaagacct aacagttgca gatatgagct gtataattgt tgttattata 1680
tattaataaa taagaagttg cattaccctc aaaaaaaaaa 1720

<210> 40
<211> 1055
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2933038CB1

<400> 40
gagaaaaaca acaggaagca gcttacaaac tcggtgaaca actgagggaa ccaaaccaga 60
gacgcgctga acagagagaa tcaggctcaa agcaagtgga agtgggcaga gattccacca 120
ggactggtgc aaggcgcaga gccagccaga tttgagaaga aggcaaaaag atgctgggga 180
gcagagctgt aatgctgctg ttgctgctgc cctggacagc tcagggcaga gctgtgcctg 240
ggggcagcag ccctgcctgg actcagtgcc agcagctttc acagaagctc tgcacactgg 300
cctggagtgc acatccacta gtgggacaca tggatctaag agaagaggga gatgaagaga 360
ctacaaatga tgttccccat atccagtgtg gagatggctg tgaccccaa ggactcaggg 420
acaacagtca gttctgcttg caaaggatcc accagggtct gatttttat gagaagctgc 480
taggatcgga tattttcaca ggggagcctt ctctgctccc tgatagccct gtgggccagc 540
ttcatgcctc cctactgggc ctcagccaac tcctgcagcc tgagggtcac cactgggaga 600
ctcagcagat tccaagcctc agtcccagcc agccatggca gcgtctcctt ctccgcttca 660
aaatccttcg cagcctccag gcctttgtgg ctgtagccgc ccgggtcttt gcccatggag 720
cagcaaccct gagtccctaa aggcagcagc tcaaggatgg cactcagatc tccatggccc 780
agcaaggcca agataaatct accaccccag gcacctgtga gccaacaggt taattagtcc 840
attaatttta gtgggacctg catatgttga aaattaccaa tactgactga catgtgatgc 900
tgacctatga taaggttgag tatttattag atgggaaggg aaatttgggg attatttatc 960
ctcctgggga cagtttgggg aggattattt attgtattta tattgaatta tgtacttttt 1020
tcaataaagt cttatttttg tggctaaaaa aaaaa 1055

<210> 41
<211> 1379
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3216587CB1

<400> 41

cgggtcctcg cgcggggaag cggttccgaa ggctcgcggg gagcggctag ccctgagtcc 60
ctgcatgtgc ggggctgaag aaggaagcca gaagcctcct agcctcgcct ccacgcttgc 120
tgaataccaa gctgcaggcg agctgccggg cgcttttctc tcctccaatt cagagtagac 180
aaaccacggg gatttctttc cagggtaggg gaggggccgg gcccggggtc ccaactcgca 240
ctcaagtctt cgctgccatg ggggccgtca tgggcacctt ctcatctctg caaaccaaac 300
aaaggcgacc ctcgaaagat aagattgaag atgagctgga gatgaccatg gtttgccatc 360
ggcccgaggg actggagcag ctcgaggccc agaccaactt caccaagagg gagctgcagg 420
tcctttatcg aggcttcaaa aatgagtgcc ccagtggtgt ggtcaacgaa gacacattca 480
agcagatcta tgctcagttt ttccctcatg gagatgccag cacgtatgcc cattacctct 540
tcaatgcctt cgacaccact cagacaggct ccgtgaagtt cgaggacttt gtaaccgctc 600
tgtcgatttt attgagagga actgtccacg agaaactaag gtggacattt aatttgtatg 660
acatcaacaa ggacggatac ataaacaaag aggagatgat ggacattgtc aaagccatct 720
atgacatgat ggggaaatac acatatcctg tgctcaaaga ggacactcca aggcagcatg 780
tggacgtctt cttccagaaa atggacaaaa ataaagatgg catcgtaact ttagatgaat 840
ttcttgaatc atgtcaggag gacgacaaca tcatgaggtc tctccagctg tttcaaaatg 900
tcatgtaact ggtgacactc agccattcag ctctcagaga cattgtacta aacaaccacc 960
ttaacaccct gatctgccct tgttctgatt ttacacacca actcttggga cagaaacacc 1020
ttttacactt tggaagaatt ctctgctgaa gactttctat ggaacccagc atcatgtggc 1080
tcagtctctg attgccaact cttcctcttt cttcttcttg agagagacaa gatgaaattt 1140
gagtttgttt tggaagcatg ctcatctcct cacactgctg ccctatggaa ggtccctctg 1200
cttaagctta aacagtagtg cacaaaatat gctgcttacg tgcccccagc ccactgccta 1260
caagtcaggc agaccttggt gaatctggaa gcaagaggac ctgagccaga tgcacaccat 1320
ctctgatggc ctcccaaacc aatgtgcctg tttctcttcc tttggtggga agaatgaga 1379

<210> 42
<211> 702
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5037143CB1

<400> 42
ggcaggtgct cgcttggtct agtgcccatt tactctggac tccggatggc tgccgcacgc 60
ctctgcctct ccctgctgct cctgtccacc tgcgtggctc tgttactaca gccactgctg 120
ggtgcccagg gagccccact ggagccagtg tacccagggg acaatgccac accagagcag 180
atggcccagt atgcagctga tctccgtaga tacatcaaca tgctgaccag gcctaggtgt 240
gtgccacagt tggggagaga gatcccagcc cctgggaccc tgggcccact ccacattcct 300
ggccacaccc tatccccagc cccagcccca gcccttcca ggcctgctct tgggaaaaca 360
gggcatctgt gctcaacagg cctagaccaa tgtgccctgg gcaagatggt gcctacaggc 420
agatatgaaa caggtgggct ggcacctggg cacagtgctt gcccctgctg cctcttccct 480
cccaggtatg ggaaaagaca caaagaggac acgctggcct tctcggagtg ggggtccccg 540
catgctgctg tccccaggga gctcagcccg ctggacttat aatgccacct tctgtctcct 600
acgactccat gagcagcgcc agcccagctc tcccctctgc acccttggct ctggccaaag 660
cttgcttcct gctcccacac agatcaataa agaagcatgt cc 702

<210> 43
<211> 1855
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1235265CB1

<400> 43
acctgggtcc ggcccctga ggccgcccgg actccaggct cagacaagga gcggcctgtg 60
gagcggaggg agccctccat caccaaggag gagaaggaca gggacctccc cttctcacgg 120
ccccagctcc gagtttctcc tgctactccc aaggcccggg ctggtgagga ggggcctcgg 180
ccaaccaagg aatctgtgcg ggtaaaggaa gagcggaagg aggaggctgc cgccgccgct 240

gccgctgctg ctgccgccgc cgctgccgcc gccgcagcag ccactgggcc ccagggcctt 300
cacctgctgt ttgagaggcc ccggccgccc ccgtttctgg gccctagccc accagatcgc 360
tgtgctggct tcctggagcc aacctggttg gcagcacccc cacgcctggc aaggccaccc 420
cgcttctatg aggcgggtga ggagctaact ggacccgggg ccgtggccgc tgcccgcctc 480
tacggtctgg aacctgctca ccccttgctc tacagccgct tggctcctcc accaccacct 540
gctgcggccc cgggaacccc tcaccttctc agcaagaccc caccgggagc ccttttgggg 600
gcaccacctc cgcttgtgcc cgccccccgg cccagttccc cacctagggg ccctggccca 660
gctcgggctg acaggtgagg ggaacggggg ggggtcgggg caaagctcca tctccccttc 720
ctttaaccag gtcctagggc tgaggtttta agccagggct ggagggcaaa ggtcataacc 780
tcaccagcca cctctgaggt catggaacct gggaacagaa gcctcaaccc ccacaagacc 840
aagcatcaca tggagtgtag ggtcactggg agagcagagg tcacagcctc tagagaaggg 900
agaggggcgt gtgcatggga gtgtggctca tctcgggggc catgggcctc cctgaggtac 960
acctttgccc ctgtaagggc ctctaggccc tgggcctgcc tccccaaggg ctcactaagc 1020
cagaggccaa agttgccccc tcccgttcac ctaccaccca agtcctcatg ccctccgagg 1080
gctgggggag gaggggctca aggaaggggg gttccatgta catatttatc acccctttca 1140
catagcccca agaccttttg tacattttta caggggtgcc cctcccaaca gttcccttcc 1200
tggttaatta aaccctcaga ctggtgctgt gttcctagcc tctggcctct ctgtggggaa 1260
aggggactgc agggggaaga gccgggaagg gacagtcagg cttctccctg ggaaggtggg 1320
gccagcagga gatgaccaac agggggcagg acctggggac ctgggctgga gggaagggca 1380
gaagcttcct acttggctga cagccccggt tccccccaaca tgttcccgtt cactctgccc 1440
ccaccccaa aggctcagcc tctaaatctc agactccacc acctcttaat ggctcagtcc 1500
ccttcacccc atttccaagt gccccagga ctcctgggcc ctgcttcccc gaaccctgtt 1560
ctccaaaacc ctgccccagg ctaagggtgg ccagagaagg tcaccatgta ccacacacca 1620
aagaaggggg tcggcccagg ggtgggcgac acaggcagct tcttcggcag cctcacggca 1680
gcaaccccag ccttcccaaa gcagcaggcg cctccaggct ggggcccaac ctagaaggca 1740
ggggtcaatc taacaaaacc ctaacgttga ctttttccc tggtggggct tcttctgtaa 1800
catgacttgc gaatatttat ataaaaacga gtgttacaat gagaaaaaaa aaaaa 1855

<210> 44
<211> 1132
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5571181CB1

<400> 44
acaggttctc cttccccagt caccagttgc tcgagttaga attgtctgca atggccgccc 60
tgcagaaatc tgtgagctct ttccttatgg ggaccctggc caccagctgc ctccttctct 120
tggccctctt ggtacaggga ggagcagctg cgcccatcag ctcccactgc aggcttgaca 180
agtccaactt ccagcagccc tatatcacca accgcacctt catgctggct aaggaggcta 240
gcttggctga taacaacaca gacgttcgtc tcattgggga gaaactgttc cacggagtca 300
gtatgagtga gcgctgctat ctgatgaagc aggtgctgaa cttcaccctt gaagaagtgc 360
tgttccctca atctgatagg ttccagcctt atatgcagga ggtggtgccc ttcctggcca 420
ggctcagcaa caggctaagc acatgtcata ttgaaggtga tgacctgcat atccagagga 480
atgtgcaaaa gctgaaggac acagtgaaaa agcttggaga gagtggagag atcaaagcaa 540
ttggagaact ggatttgctg tttatgtctc tgagaaatgc ctgcatttga ccagagcaaa 600
gctgaaaaat gaataactaa ccccctttcc ctgctagaaa taacaattag atgccccaaa 660
gcgatttttt ttaaccaaaa ggaagatggg aagccaaact ccatcatgat gggtggattc 720
caaatgaacc cctgcgttag ttacaaagga aaccaatgcc acttttgttt ataagaccag 780
aaggtagact ttctaagcat agatatttat tgataacatt tcattgtaac tggtgttcta 840
tacacagaaa acaatttatt ttttaaataa ttgtcttttt ccataaaaaa gattactttc 900
cattccttta ggggaaaaaa cccctaaata gcttcatgtt tccataatca gtactttata 960
tttataaatg tatttattat tattataaga ctgcatttta tttatatcat tttattaata 1020
tggatttatt tatagaaaca tcattcgata ttgctacttg agtgtaaggc taatattgat 1080
atttatgaca ataattatag agctataaca tgtttatttg cctcaatgcc ct 1132

<210> 45
<211> 1906
<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 685374CB1

<400> 45
cgaggcaaga attcggcacg aggggaccag cttataaaga agcatggctt tgttaaggaa 60
gtcgtattca gagcctcagc ttaagggtat agttaccaag ctatacagcc gacaaggcta 120
ccacttgcag ctgcaggcgg atggaaccat tgatggcacc aaagatgagg acagcactta 180
cactctgttt aacctcatcc ctgtgggtct gcgagtggtg gctatccaag gagttcaaac 240
caagctgtac ttggcaatga acagtgaggg atacttgtac acctcggaac ttttcacacc 300
tgagtgcaaa ttcaaagaat cagtgtttga aaattattat gtgacatatt catcaatgat 360
ataccgtcag cagcagtcag gccgagggtg gtatctgggt ctgaacaaag aaggagagat 420
catgaaaggc aaccatgtga agaagaacaa gcctgcagct cattttctgc ctaaaccact 480
gaaagtggcc atgtacaagg agccatcact gcacgatctc acggagttct cccgatctgg 540
aagcgggacc ccaaccaaga gcagaagtgt ctctggcgtg ctgaacggag gcaaatccat 600
gagccacaat gaatcaacgt agccagtgag ggcaaaagaa gggctctgta acagaacctt 660
acctccaggt gctgttgaat tcttctagca gtccttcacc caaaagttca aatttgtcag 720
tgacatttac caaacaaaca ggcagagttc actattctat ctgccattag accttcttat 780
catccatact aaagccccat tatttagatt gagcttgtgc ataagaatgc caagcatttt 840
agtgaactaa atctgagaga aggactgcca aatttttctca tgatctcacc tatactttgg 900
ggatgataat ccaaaagtat ttcacagcac taatgctgat caaaatttgc tctcccacca 960
agaaaatgta aaagaccaca attgttcttc aaaaacaaac aaaacaaaac aaaacaaaat 1020
taactgctta aatgttttgt cggggcaaac aaaattatgt gaattgtgtt gttttcttgg 1080
cttgatgttt tctatctacg cttgattcac atgtactctt ttctttggca tagtgcaact 1140
ttatgatttc tgaaattcaa tggttctatt gacttttgc gtcacttaat ccaaatcaac 1200
caaattcagg gttgaatctg aattggcttc tcaggctcaa ggtaacagtg ttcttgtggt 1260
ttgaccaatt gtttttcttt ctttttttt ttttttagat ttgtggtatt ctggtcaagt 1320
tattgtgctg tactttgtgc gtagaaattg agttgtattg tcaaccccag tcagtaaaga 1380
gaacttcaaa aaattatcct caagtgtaga tttctcttaa ttccatttgt gtatcatgtt 1440
aaactattgt tgtggcttct tgtgtaaaga caggaactgt ggaactgtga tgttgtcttt 1500
tgtgttgtta aaataagaaa tgtcttatct gtatatgtat gagtcttcct gtcattgtat 1560
ttggcacatg aatattgtgt acaaggaatt gttaagactg gttttccctc aacaacatat 1620
attatacttg ctactggaaa agtgtttaag acttagctag gtttccattt agatcttcat 1680
atctgttgca tggaagaaag ttgggttctt ggcatagagt tgcatgatat gtaagatttt 1740
gtgcattcat aattgttaaa aatctgtgtt ccaaaagtgg acatagcatg tacaggcagt 1800
tttctgtcct gtgcacaaaa agtttaaaaa agttgtttaa tatttgttgt tgtataccca 1860
aatacgcacc gaataaactc tttatattca ttcaaagaaa aaaaaa 1906

<210> 46
<211> 1803
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 843193CB1

<400> 46
caactggcca ggagcctctg ttacattgtg gctaaggagc tgcctgccag gggcagccat 60
tggggccacc gctgatagtg cctgtcctct tggtactgcc tctgcctccc tccgctaagg 120
aggcaccttg cctgcctgct gtcccatagt gcccagcccc agccccagcc ccagctccag 180
cccatagagg agggaggaac actggaaggg ccctgagcac caggggggcaa ggccgggaag 240
aagatgggta tgagctcagg attccacagt tagtgcttca aagaaatgct cacgggaccc 300
tgcaggagct ttcagagtcc cccacatgct ctctggtgac cctaactcgc agcaccatct 360
gctctgtgcc catgtgctgg gcaaggggtc tttcaaggcc agtggggagg atgaggaagg 420
aatctggttg tcccggctaa tggagcatgt ccttggagtt ctgggggaga tgacaggctc 480
tggtctaaga ggtagggaca ggggttctgt ccctaatgag ctgtgtgccc cgtgcacctc 540
cttcatagaa tacgaggacg ggatagaacc ctgagggctc cttccagctc ccagagtcct 600
gattccaggg ctgtgctctg tcaataagtg tcccccagcc tgggcagacc ccagtccctt 660

ctgtaaggta gacgcaaagc aaagaggtta tgaccggctc acccaggggc ctgggaaggc 720
tatggccata tgcccacttc actctgcagg acaagtggcc tgtccccact atattcacct 780
cctcacccct ctcccttgga tggaccagtg gtggtgtcac ccaaagcaaa ttgacactat 840
ttttcccttg gtaaccgcaa aggggagaaa tcacccgtct cctaatttta accagtacgt 900
gagggaccag ggcgccatga ccgaccagct gagcaggcgg cagatccgcg agtaccaact 960
ctacagcagg accagtggca agcacgtgca ggtcaccggg cgtcgcatct ccgccaccgc 1020
cgaggacggc aacaagtttg ccaagctcat agtggagacg gacacgtttg gcagccgggt 1080
tcgcatcaaa ggggctgaga gtgagaagta catctgtatg aacaagaggg gcaagctcat 1140
cgggaagccc agcgggaaga gcaaagactg cgtgttcacg gagatcgtgc tggagaacaa 1200
ctatacggcc ttccagaacg cccggcacga gggctggttc atggccttca cgcggcaggg 1260
gcggccccgc caggcttccc gcagccgcca gaaccagcgc gaggcccact tcatcaagcg 1320
cctctaccaa ggccagctgc ccttgaccaa ccacgccgag aagcagaagc agttcgagtt 1380
tgtgggctcc gccccaccc gccgggcgaa gcgcacacgg cggccccagc ccctcacgta 1440
gtctgggagg cagggggcag cagcccctgg gccgcctccc cacccctttc ccttcttaat 1500
ccaaggactg ggctggggtg gcgggagggg agccagatcc ccgagggagg accctgaggg 1560
ccgcgaagat ccgagccccc agctgggaag gggcaggccg gtgccccagg ggcggctggc 1620
acagtgcccc cttcccggac gggtggcagg ccctggagag gaactgagtg tcaccctgat 1680
ctcaggccac cagcctctgc cggcctccca gccgggctcc tgaagcccgc tgaaaagtca 1740
gcgacttaag gccttgcaga caaccgtctg gaggtggctg tcctcaaaat ctgcttctcg 1800
gat 1803

<210> 47
<211> 3053
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1359783CB1

<400> 47
ctagtattct actagaactg gaagattgct ctccgagttt tgttttgtta ttttgtttaa 60
aaaataaaaa gcttgaggcc aaggcaattc atattggctc acaggtattt ttgctgtgct 120
gtgcaaggaa ctctgctagc tcaagattca caatgttgaa agccctttcc ctaactatgc 180
tgactctggc gctggtcaag tcacaggaca ccgaagaaac catcacgtac acgcaatgca 240
ctgacggata tgagtgggat cctgtgagac agcaatgcaa agatattgat gaatgtgaca 300
ttgtcccaga cgcttgtaaa ggtggaatga agtgtgtcaa ccactatgga ggatacctct 360
gccttccgaa aacagcccag attattgtca ataatgaaca gcctcagcag gaaacacaac 420
cagcagaagg aacctcaggg gcaaccaccg gggttgtagc tgccagcagc atggcaacca 480
gtggagtgtt gcccgggggt ggttttgtgg ccagtgctgc tgcagtcgca ggccctgaaa 540
tgcagactgg ccgaaataac tttgtcatcc ggcggaaccc agctgaccct cagcgcattc 600
cctccaaccc ttcccaccgt atccagtgtg cagcaggcta cgagcaaagt gaacacaacg 660
tgtgccaaga catagacgag tgcactgcag ggacgcacaa ctgtagagca gaccaagtgt 720
gcatcaattt acggggatcc tttgcatgtc agtgccctcc tggatatcag aagcgagggg 780
agcagtgcgt agacatagat gaatgtacca tccctccata ttgccaccaa agatgcgtga 840
atacaccagg ctcattttat tgccagtgca gtcctgggtt tcaattggca gcaaacaact 900
atacctgcgt agatataaat gaatgtgatg ccagcaatca atgtgctcag cagtgctaca 960
acattcttgg ttcattcatc tgtcagtgca atcaaggata tgagctaagc agtgacaggc 1020
tcaactgtga agacattgat gaatgcagaa cctcaagcta cctgtgtcaa tatcaatgtg 1080
tcaatgaacc tgggaaattc tcatgtatgt gccccaggg ataccaagtg gtgagaagta 1140
gaacatgtca agatataaat gagtgtgaga ccacaaatga atgccgggag gatgaaatgt 1200
gttggaatta tcatggcggc ttccgttgtt atccacgaaa tccttgtcaa gatccctaca 1260
ttctaacacc agagaaccga tgtgtttgcc cagtctcaaa tgccatgtgc cgagaactgc 1320
cccagtcaat agtctacaaa tacatgagca tccgatctga taggtctgtg ccatcagaca 1380
tcttccagat acaggccaca actatttatg ccaacaccat caatactttt cggattaaat 1440
ctggaaatga aaatggagag ttctacctac gacaaacaag tcctgtaagt gcaatgcttg 1500
tgctcgtgaa gtcattatca ggaccaagag aacatatcgt ggacctggag atgctgacag 1560
tcagcagtat agggaccttc cgcacaagct ctgtgttaag attgacaata atagtggggc 1620
cattttcatt ttagtctttt ctaagagtca accacaggca tttaagtcag ccaaagaata 1680
ttgttacctt aaagcactat tttatttata gatatatcta gtgcatctac atctctatac 1740
tgatcagatc ttgtgagact tattcactac cacaacaata gtatggggga aactgccccc 1800

atgattcaaa ttatctccct cccacaacac gcgggaatta tgggagtaca attcaagagg 1860
cgatttgggt ggggacacag ccaaaccata tcagtgtata tgtagcacat tttctttgtg 1920
gatgtggatc cttgagggtg gaggaaggag caagggactg attattttga gttggtggta 1980
gagcctggtc gtcaggaaag accacatagg ggtgcagcat aaactatgac ttcagagatg 2040
gaaaggaatt ccccagatat gcaggtgagg aaggggactt gtggcaaggt ccctgcatgt 2100
gtgaaggcat gggacaggag agactatcac ttgtattgct cttgggtctt ccctcccctt 2160
cccccgccc ttgcctctgt cccagggatc cactgggget aaagggatgt cctgggggccc 2220
agactgctag aggagccatg ctacagggtc tgttcagcac ccccacctga ctcctgacgc 2280
agagaggtgg agaagctcat gggtcagcac tgggcttggc tgcccatctg aggcctgcaa 2340
ctgtggccag catggaatgt ctatgggagg ccatcagctg ggacatttag aactcttctg 2400
ggaggggcgc tcttgaccct tctggagagc atgtggggaa gcagaggagc tgctccccta 2460
agccaggagg agctggtgct gagttgttta ttgggtgaga gttgtgtcca acaccaatga 2520
tctttaaatg aactgagtcc tagagctgtc cggaagacta gaactaggac cccggttgga 2580
gactgcaggg agtgcttata gttgacatcg gacagggcag ctccgttagg aaggagtgtc 2640
acctgcactg ggaaggttcc aaggaagagg ttgcctgcct tagagaccaa gtaccctgat 2700
aggccagcat caggctggcc tagtacaaag atggtctcga agcgccccca gggaaatgtg 2760
cctccaacaa atcgaagtgg ataaaaaggg caggacactc taatgagcac cgggcactct 2820
ctagacatct ttttcagatt ccccctcgct atgaggcagg tctgtctcca tcttgcagat 2880
gagaatctca gtgaggaggt tcaggatcac acagccagta caggactctg gtgccgcgcc 2940
gtctctaaag cccaccgttc aaccactcgc ctgtgctctc agagaggtcg gtggaaccctg 3000
cgggatttct ggaaggggag cctgagagag cttcagaagg gcgaagactg tca 3053

<210> 48
<211> 560
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1440015CB1

<400> 48
cccacgcgtc cgcccacgcg tccgaaaagg atcgaaggca gccccggagc ccagcggccg 60
ggaggcgcgc ccgaacgaag ccgcggcccg ggcacagcca tggcccggcg ggcgggggcc 120
gctcggatgt tcggcagcct cctgctcttc gccctgctcg ctgccggcgt cgccccgctc 180
agctgggatc tcccggagcc ccgcagccga gccagcaaga tccgagtgca ctcgcgaggc 240
aacctctggg ccaccggtca cttcatgggc aagaagagtc tggagccttc cagcccatcc 300
ccattgggga cagctcccca cacctccctg agggaccagc gactgcagct gagtcatgat 360
ctgctcggaa tcctcctgct aaagaaggct ctgggcgtga gctcagccgc cccgcacccc 420
aaatccagta caggaggctg ctggtacaaa tacttgcaga aatgacacca ataatggggc 480
agacacaaca gcgtggctta gattgtggcc aaccccaggg aaaggtgctg aattgggaac 540
cttgttgaat gggccccatt 560

<210> 49
<211> 613
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1652885CB1

<400> 49
ctcgagcgcg ggggctgtgc tgaagggcca ggaggccagc aggaagacca gctctccgcg 60
gtgagtgtgt gtcccatccc catatcacca ttgcctctac ttcggttgag acttgtgctc 120
taggttctga tactttctct ggctgccaag gttgtcatta ggtcctcaca tctgaggaaa 180
tggttccgca gcctcctacc acttgccccc ggaagccagt cccttccccc tgtgacttac 240
gtgtccaggg tatttgccca tcttccttcc ctgataccgc cttggcacag gaggaagaca 300
gcgaacccct cccaccacag gatgcccaga cctctgggtc actgttgcac tacctgctcc 360
aggcaatgga gagacctggc cggagccaag ccttcctgtt tcagccccag aggtttggca 420
gaaataccca gggatcctgg aggaatgaat ggctgagtcc ccgggctgga gaggggctga 480

attcccagtt ctggagcctg gctgcccctc aacgctttgg gaagaagtga catgtcatcc 540
cttgatatgt ctgcatgcaa ggtccacacc caaaagtgtc aatgtttgcc ccccaaataa 600
aattgtctgg ctt 613

<210> 50
<211> 655
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 4003984CB1

<400> 50
cctggaccca agctccagcc aaaaagcctc tctcctccac tcaggctggg aggttgcttt 60
ctaggagctc aggatgcaaa ggtggacact gtgggctgca gccttcctga ccctccactc 120
tgcacaggcc tttccacaaa cagacatcag tatcagtcca gccctgccag agctgccact 180
gccttccctg tgccccctgt tctggatgga gttcaaaggc cactgctatc gattcttccc 240
tctcaataag acctgggctg aggccgacct ctactgttct gagttctctg tgggcaggaa 300
gtccgccaag ctggcctcca tccacagctg ggaggagaat gtcttttgtat atgacctcgt 360
gaacagctgt gttcccggca tcccagctga cgtctggaca ggccttcatg atcacagaca 420
ggtgagaaag cagtggccat tgggcccccc tggaagctcc agccaggatt ctattttgat 480
ttaataagct tttcacatca gtgccaggtc acggctatgc acacagcata tagagagaaa 540
tcagacacca agatgtcaca gttacagcat gaccaatttg tgaaagacat ttaatgatgt 600
cctactaaat gatgggaaca gatagcatgg tcagagaaaa cctgtttggc tggga 655

<210> 51
<211> 630
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 4365383CB1

<400> 51
ccaggcccaa gcttccccac catgaatttt gttcacacaa gtcgaaaggt gaagagctta 60
aacccgaaga aattcagcat tcatgaccag gatcacaaag tactggtcct ggactctggg 120
aatctcatag cagttccaga taaaaactac atacgcccag agatcttctt tgcattagcc 180
tcatccttga gctcagcctc tgcggagaaa ggaagtccga ttctcctggg ggtctctaaa 240
ggggagtttt gtctctactg tgacaaggat aaaggacaaa gtcatccatc ccttcagctg 300
aagaaggaga aactgatgaa gctggctgcc caaaaggaat cagcacgccg gcccttcatc 360
ttttataggg ctcaggtggg ctcctggaac atgctggagt cggcggctca ccccggatgg 420
ttcatctgca cctcctgcaa ttgtaatgag cctgttgggg tgacagataa atttgagaac 480
aggaaacaca ttgaattttc atttcaacca gtttgcaaag ctgaaatgag ccccagtgag 540
gtcagcgatt aggaaactgc cccattgaac gccttcctcg ctaatttgaa ctaattgtat 600
aaaaacccca aacctgctca ctaaaaaaaa 630

<210> 52
<211> 501
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5497814CB1

<400> 52
gcccttcctg tccccaccat gtctgtcttg cctctgtgcg tcctgccact tctgctggcc 60
tcctgctcac acctgtccac cttcctctgg cctcccagcc ttgcatgttg cttggaaaca 120
ttggttggaa ttccatttag ccggcaccgt agccttggcc tcatccctgc cccacggtgc 180

ctgccccttc ccgctgcaat ccccacttct ctctgctctc caccattcca cagcctgcat 240
tccctacccc gatgccctct gctgaaagtc ctgggccatc cacaggtggc atggtcaagg 300
cagcagccac tgcactttac ctctgccaat gaccgtcatc tctccaaggc ctgccctggc 360
tgcagctggt attccagtga cagcctggtt gcatttcaga gacccttccc ttcagggctg 420
tgagaaggcg gcagcgttcc catgtgggaa aaaggaggag gagggctgtg tccttcttac 480
tgtctctgag cagccccgcc c 501

<210> 53
<211> 179
<212> PRT
<213> Cervus elaphus

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: gi511295

<400> 53
Met Pro Ser Ser Ser Ala Leu Leu Cys Cys Leu Val Phe Leu Ala
1 5 10 15
Gly Val Ala Ala Ser Arg Asp Ala Ser Ala Pro Ser Asp Ser Ser
20 25 30
Cys Thr His Phe Ser Asn Ser Leu Pro Leu Met Leu Arg Glu Leu
35 40 45
Arg Thr Ala Phe Ser Arg Val Lys Asn Phe Phe Gln Met Lys Asp
50 55 60
Gln Leu Asp Ser Met Leu Leu Thr Gln Ser Leu Leu Asp Asp Phe
65 70 75
Lys Gly Tyr Leu Gly Cys Gln Ala Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe
80 85 90
Tyr Leu Glu Glu Val Met Pro Gln Ala Glu Asn His Gly Pro Glu
95 100 105
Ile Lys Glu His Val Asn Ser Leu Gly Glu Lys Leu Lys Thr Leu
110 115 120
Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg Phe Leu Pro Cys Glu Asn
125 130 135
Lys Ser Lys Ala Val Glu Gln Val Lys Ser Val Phe Ser Lys Leu
140 145 150
Gln Glu Arg Gly Val Tyr Lys Ala Met Ser Glu Phe Asp Ile Phe
155 160 165
Ile Asn Tyr Ile Glu Thr Tyr Thr Thr Met Lys Met Lys Asn
170 175

<210> 54
<211> 193
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<220>
<221> misc_feature
<223> Genbank ID No: gi1841298

<400> 54
Met His Ser Ser Ala Leu Leu Cys Cys Leu Val Leu Leu Thr Gly
1 5 10 15
Val Arg Ala Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys
20 25 30
Thr Arg Phe Pro Gly Asn Leu Pro His Met Leu Arg Asp Leu Arg
35 40 45
Asp Ala Phe Ser Arg Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Asp Asn Ile Leu Leu Lys Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys
65 70 75

```
Gly Tyr Leu Gly Cys Gln Ala Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr
                80                  85                  90
Leu Glu Glu Val Met Pro Gln Ala Glu Asn His Asp Pro Asp Ile
                95                 100                 105
Lys Glu His Val Asn Ser Leu Gly Glu Asn Leu Lys Thr Leu Arg
               110                 115                 120
Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg Phe Leu Pro Cys Glu Asn Lys
               125                 130                 135
Ser Lys Ala Val Glu Gln Val Lys Asn Ala Phe Ser Lys Leu Gln
               140                 145                 150
Glu Lys Gly Val Tyr Lys Ala Met Ser Glu Phe Asp Ile Phe Ile
               155                 160                 165
Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met Thr Met Lys Ile Arg Asn Unk Unk
               170                 175                 180
Unk Unk Unk Unk Unk Unk Unk Unk Unk Unk Unk Unk Unk
               185                 190
<210> 55
<211> 178
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Genbank ID No: gi106805

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

【図面の簡単な説明】

【図１Ａ】

LASERGENEソフトウェア(DNASTAR. Madison WI)を用いて作成した、EXCS-18 (SEQ ID NO:18)及びインターロイキン10 (GI 511295)、IL-10 前駆体(GI 1841298)、ヒトインターロイキン10前駆体 (GI 106805)との間のアミノ酸配列のアラインメントを示す。

【図１Ｂ】

LASERGENEソフトウェア(DNASTAR. Madison WI)を用いて作成した、EXCS-18 (SEQ ID NO:18)及びインターロイキン10 (GI 511295)、IL-10 前駆体(GI 1841298)、ヒトインターロイキン10前駆体 (GI 106805)との間のアミノ酸配列のアラインメントを示す。

【表１】

表1-1

ポリペプチド SEQ ID NO:	ヌクレオチド SEQ ID NO:	クローンID	ライブラリ	断片
1	27	1288847	BRAINOT11	00334U1 (U937NOT01), 840916T6 (PROSTUT05), 1288847F6 (BRAINOT11), 1288847H1 (BRAINOT11), 1651772F6 (PROSTUT08), 2720131F6 (LUNGTUT10), 2954659F6 (KIDNFET01), 3321171H1 (PTHYNOT03), 3520878T6 (LUNGNON03), 3870826H1 (BMARNOT03), 5271406H1 (OVARDIN02), SBYA00334U1
2	28	1329044	PANCNOT07	04082U1 (HMC1NOT01), 1329044F1 (PANCNOT07), 1329044H1 (PANCNOT07), 1329044T1 (PANCNOT07), SBYA04082U1
3	29	1493630	PROSNON01	1493630H1 (PROSNON01), 1493630R6 (PROSNON01), 1493630T1 (PROSNON01)
4	30	1533041	SPLNNOT04	1533041F1 (SPLNNOT04), 1533041H1 (SPLNNOT04), 2688779F6 (LUNGNOT23), 3973608H1 (ADRETUT06)
5	31	1566162	HEALDIT02	1566162H1 (HEALDIT02), 1759922T6 (PITUNOT03)
6	32	1811831	PROSTUT12	1811831F6 (PROSTUT12), 1811831H1 (PROSTUT12)
7	33	1835447	BRAINON01	1835447H1 (BRAINON01), 1835447R6 (BRAINON01), 4523747H1 (HNT2TXT01), 5310808H1 (KIDETXS02)
8	34	3892281	BRSTTUT16	1948957R6 (PITUNOT01), 3892281H1 (BRSTTUT16), 3895852T6 (TLYMNOT05)
9	35	4318494	BRADDIT02	4318494F6 (BRADDIT02), 4318494H1 (BRADDIT02), 4318494T6 (BRADDIT02)
10	36	5090841	UTRSTMR01	742729H1 (PANCNOT04), 1329245H1 (PANCNOT07), 4539309H1 (THYRTMT01), 5090841F6 (UTRSTMR01), 5090841H1 (UTRSTMR01), 5153892H1 (HEARFET03)
11	37	2006548	TESTNOT03	1725329X11C1 (PROSNOT14), 2006548H1 (TESTNOT03), 3476792F6 (OVARNOT11), SBIA08125D1, SBIA01870D1
12	38	2207183	SINTFET03	191932F1 (SYNORAB01), 1273270F1 (TESTTUT02), 2207183H1 (SINTFET03), 2219907H1 (LUNGNOT18), 3336344H1 (SPLNNOT10)
13	39	2267403	UTRSNOT02	1449035F1 and 1449035R1 (PLACNOT02), 1599756F6 (BLADNOT03), 2267403H1 and 2267403R6 (UTRSNOT02), 3145756F6 (TESTNOT07)
14	40	2933038	THYMNON04	157761F1 (THP1PLB02), 2933038H1 (THYMNON04), 3294396F6 (TLYJINT01)

【表２】

表1-2

ポリペプチド SEQ ID NO:	ヌクレオチド SEQ ID NO:	クローンID	ライブラリ	断片
15	41	3216587	TESTNOT07	3216587F6 and 3216587H2 (TESTNOT07), 3416261H1 (PTHYNOT04), 4204275F6 (BRAITUT29), 4316562F6 (BRAFNOT01), 5385916H1 (BRAINOT19)
16	42	5037143	LIVRTUT13	5035406H1, 5037143H1, and 5037690T6 (LIVRTUT13)
17	43	1235265	LUNGFET03	523352F1 (MMLR2DT01), 1262491R1 (SYNORAT05), 1699607F6 (BLADTUT05), 1717617H1 (UCMCNOT02), 1720254F6 (BLADNOT06), SBLA02298F1
18	44	5571181	TLYMNOT08	4348184T6 (TLYMTXT01), 4905349F6 (TLYMNOT08), 5571181H1 (TLYMNOT08)
19	45	685374	UTRSNOT02	111201R6 (PITUNOT01), 685374H1 (UTRSNOT02), 685374R6 (UTRSNOT02), 837768R1 (PROSNOT07), 1369176R6 (SCORNON02), 3321269H1 (PTHYNOT03), 4309489H1 (BRAUNOT01), 4943366F6 (BRAIFEN05), 5108512H1 (PROSTUS19)
20	46	843193	PROSTUT05	843193H1 (PROSTUT05), 843193X23 (PROSTUT05), 843193X25 (PROSTUT05), 996669R6 (KIDNTUT01), 4699738F6 (BRALNOT01), SZAL00006D1
21	47	1359783	LUNGNOT12	1359783F1 (LUNGNOT12), 1403716H1 (LATRTUT02), 2160063H1 (ENDCNOT02), 2464542H1 (THYRNOT08), 3423249H1 (UCMCNOT04), SANA00380F1, SANA02266F1, SANA02708F1, SANA00364F1, SANA01088F1, SANA03698F1
22	48	1440015	THYRNOT03	1440015H1 (THYRNOT03), 1462822H1 (PANCNOT04), 1577577F6 (LNODNOT03)
23	49	1652885	PROSTUT08	1478195T1 (CORPNOT02), 1652885F6 (PROSTUT08), 1652885H1 (PROSTUT08)
24	50	4003984	HNT2AZS07	4003984H1 (HNT2AZS07), 4003984R6 (HNT2AZS07), 4003984T6 (HNT2AZS07)
25	51	4365383	SKIRNOT01	4365383F6 (SKIRNOT01), 4365383H1 (SKIRNOT01), 5098601H2 (EPIMNON05), g3228929
26	52	5497814	BRABDIR01	5497814F6 (BRABDIR01), 5497814H1 (BRABDIR01)

【表３】

表2-1

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸残基	リン酸化可能部位	グリコシレーション可能部位	サイン（signature）配列	ホモログ配列	分析方法及びデータベース
1	77	S62		シグナルペプチド： M1-T20		SPSCAN HMM
2	88	T3 S23 T59 S65		シグナルペプチド： M1-E26 or M1-S27		SPSCAN HMM
3	96	S20 S83 S91		シグナルペプチド： M1-G21 or M1-C22		SPSCAN HMM
4	104	S45 S90		シグナルペプチド： M1-S30 or M1-C26		SPSCAN HMM
5	60	S19		シグナルペプチド： M1-S19		SPSCAN HMM
6	117	T105 S40 S112 S40		シグナルペプチド： M1-A28 or M1-A31		SPSCAN HMM
7	86	S26		シグナルペプチド： M1-A24 or M1-P22 ATP/GTP結合部位： G45-T52		SPSCAN HMM MOTIFS
8	109	S27 S69 S51		シグナルペプチド： M1-G23 or M1-A29		SPSCAN HMM
9	111	S45 S52 S74		シグナルペプチド： M1-S20		SPSCAN HMM
10	182	T161 S125 T148		シグナルペプチド： M1-A34 or M1-S31		SPSCAN HMM
11	105	T15 S64 Y94		シグナルペプチド： M1-I22 毒タンパク質A： A20-C96	毒タンパク質A： (P25687) g6524951 Bv8 変異体３前駆物質	BLAST GenBank BLAST SwissProt MOTIFS SPScan BLAST-PRODOM HMMER

【表４】

表2-2

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸残基	リン酸化可能部位	グリコシレーション可能部位	サイン（signature）配列	ホモログ配列	分析方法及びデータベース
12	342	S48 S50 T61 T167 S194 S255 S14 S39 S74 T225 T334	N157 N192 N270 N281	膜内外ドメイン： L314-I334 EGF様ドメイン システイン型サイン： C294-C305 FGFドメイン：D258-Q308	g4689122 HSPC013 造血幹／前駆細胞	BLAST-GenBank MOTIFS HMMER BLAST - DOMO
13	451	S41 T62 S125 S142 T154 S182 S260 T281 S398 S444 T239 S328 T416	N114	シグナルペプチド： M1-A25 AIP/GIP結合サイト モチーフA(P-ループ)： A251-T258 フォン・ウィルブランド 因子C型ドメイン： C33-C95, C111-C174, C252-C314	g48008227 Chordin様タンパク質の C末端部分	BLAST GenBank MOTIFS SPScan HMMER-PFAM, HMMER BLIMPS - PFAM
14	189	T64 S37		シグナルペプチド： M1-P23 インターロイキン 6/G-CSF:T65-F109 S151-A181	Y29783 ヒトインターロイキン B30	MOTIFS SPScan HMMER BLIMPS-BLOCKS BLIMPS-PRINTS BLAST-GENESEQ
15	216	S19 T49 T122 T191 S198 T49 T73 S105 T170	N47	リカバリン科サイン： H34-F48, F48-G67, L94-L115, L118- N137, G140-M158, P164-F179, V190- L210 EF-ハンドドメイン： K126-I154, H174- D202	カルセリニン (g4416432) A型カリウム チャンネル修飾 タンパク質 (g6969255)	BLAST-GenBank MOTIFS HMMER-PFAM BLIMPS-PRINTS

【表５】

表2-3

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸残基	リン酸化可能部位	グリコシレーション可能部位	サイン（signature）配列	ホモログ配列	分析方法及びデータベース
16	178	T111 S174 T124		シグナルペプチド： M1-G29 膵臓ホルモンペプチド： A30-C65 膵臓ホルモン前駆体： G149-L178	膵臓ホルモン前駆体 (g1902701)	BLAST-GenBank MOTIFS HMMER SPScan ProfileScan HMMER-PFAM BLAST-PRODOM BLIMPS-PRINTS BLIMPS-BLOCKS
17	177	S168 T22 S43 S73 S115 S175	N5	シグナルペプチド： M1-A60	Fibrosin (g710336) ハツカネズミ	MOTIFS BLAST_GenBank SPSCAN
18	179	S64 S84 T99 T53 S86 S108 S126 T151 S173	N54 N68 N97	シグナルペプチド： M1-A33 膜内外ドメイン： V8-L27	g6996554 TIFアルファタンパク質	BLAST_GENBANK MOTIFS SPSCAN HMMR
19	213	S7 T39 S93 S155 S187 S112 Y46	N189 N202	G178-S185: ATP/GTP結合サイト 線維芽細胞成長因子： K14-P145 HBGF/FGF科サイン： V58-S112, W116-P143	g4323515 線維芽細胞成長因子13 イソ型1B	Motifs BLAST_GENBANK HMMER_PFAM PROFILESCAN BLIMPS_BLOCKS BLIMPS_PRINTS BLAST_PRODOM BLAST_DOMO
20	239	S97 T99 T45 S71 S85 T92 S127 S144 T226 T232 Y81 Y130	N160	HBGF/FGF科サイン： Q74-L201 シグナルペプチド： M1-P15 IL1/HBGF科サイン： D149-H169	g3041790 線維芽細胞成長因子 FGF17	Motifs BLAST_GENBANK SPSCAN HMMER_PFAM PROFILESCAN BLIMPS_BLOCKS BLIMPS_PRINTS BLAST_PRODOM BLAST_DOMO

【表６】

表2-4

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸残基	リン酸化可能部位	グリコシレーション可能部位	サイン（signature）配列	ホモログ配列	分析方法及びデータベース
21	493	T251 T331 T340 S430 T132 S154 S287 S399 S402 T425 T475	N249	シグナルペプチド： M1-S17 EGF様ドメイン： C224-R299	g2429083 T16EGF様プロテイン	Motifs BLAST_GENBANK SPSCAN HMMER BLIMPS_ BLOCKS BLAST_DOMO
22	121	S76 S76		シグナルペプチド： M1-D30 ボンベシン様 ペプチド科サイン： R46-M56, D30-R81 ボンベシン科 ニューロメディンB 前駆体蛋白： G57-K121	g 189228 ニューロメディンB ［ヒト］	Motifs BLAST_GENBANK HMMER SPSCAN BLIMPS_BLOCKS PROFILESCAN BLAST_PRODOM BLAST_DOMO
23	116	S16 S29 S86 S93			g2232301 FMRFアミド－関連 プリプロペプチド ［ヒト］	Motifs BLAST_GENBANK
24	136	T60 S85 S129 S77 Y67	N58	シグナルペプチド： M1-A19	g6715115 agkisacutacin	BLAST_GENBANK Motifs SPSCAN
25	176	S19 S19 S72 S170 T6 S7 S107 T148		インターロイキン１： I20-P163 インターロイキン１ サイン：092-E158	g6694392 FIL1(IL1科タンパク質) ゼータ	BLAST_GENBANK Motifs HMMER_PFAM PROFILESCAN BLAST_DOMO
26	134	S102		シグナルペプチド： M1-H18		Motifs HMMER

【表７】

表3-1

スクレオチド SEQ ID NO:	選択断片	発現組織（割合）	疾患又は症状（割合）	ベクター
27	651-695	神経（0.321） 心血管（0.143） 発達（0.143）	癌（0.357） 炎症（0.250） 胎児／細胞増殖（0.214）	pINCY
28	271-315	発達（1.000）	胎児／細胞増殖（1.000）	pINCY
29	327-371	生殖（1.000）	癌（0.667） トラウマ（0.333）	PSPORT1
30	640-684	造血／免疫（0.333） 心血管（0.167） 内分泌（0.167）	癌（0.667） 炎症（0.333） 胎児／細胞増殖（0.167）	pINCY
31	1028-1072	心血管（0.333） 神経（0.333） 生殖（0.333）	炎症（0.667） 癌（0.333）	PSPORT1
32	271-315	内分泌（0.500） 生殖（0.500）	癌（1.000）	pINCY
33	205-249	神経（0.750） 胃腸（0.250）	癌（1.000） 胎児／細胞増殖（0.500）	PSPORT1
34	21-65	生殖（0.400） 造血／免疫（0.200） 神経（0.200）	癌（0.400） 胎児／細胞増殖（0.200） 炎症（0.200）	pINCY
35	273-317	神経（1.000）	神経（1.000）	pINCY
36	131-175	生殖（0.333） 胃腸（0.222） 心血管（0.111）	癌（0.333） 炎症（0.222） 胎児／細胞増殖（0.111）	pINCY
37	58 - 87 376 - 405	生殖（1.000）	癌（0.750） 炎症（0.250）	PBLUESCRIPT
38	109 - 168 415 - 474	生殖（0.300） 心血管（0.143） 神経（0.138） 胃腸（0.113）	癌（0.488） 炎症（0.330） 細胞増殖（0.172）	pINCY
39	809 - 868 1229 - 1288	生殖（0.625） 胃腸（0.188）	癌（0.438） 炎症（0.437） 細胞増殖（0.125）	PSPORT1
40	243 - 302	造血／免疫（0.727） 皮膚（0.091） 胃腸（0.091） 生殖（0.091）	炎症（0.545） 細胞増殖（0.360） 癌（0.182）	PSPORT1

【表８】

表3-2

スクレオチド SEQ ID NO:	選択断片	発現組織（割合）	疾患又は症状（割合）	ベクター
41	459 - 518	神経（0.555） 内分泌（0.111） 胃腸（0.111） 生殖（0.111） 心血管（0.111）	癌（0.500） 神経（0.111）	pINCY
42	241 - 300	胃腸（1.000）	癌（0.500）	pINCY
43	757-801	生殖（0.289） 造血／免疫（0.140） 神経（0.132）	癌（0.465） 炎症（0.360） 細胞増殖（0.123）	pINCY
44	165-209 434-479	造血／免疫（1.000）	癌（0.300） 炎症（0.300）	pINCY
45	1-46	神経（0.375） 生殖（0.313） 胃腸（0.093）	癌（0.281） 炎症（0.313）	PSPORT1
46	866-910	泌尿器（0.500） 神経（0.250） 生殖（0.250）	癌（0.750） 炎症（0.250）	PSPORT1
47	1029-1073	心血管（0.234） 生殖（0.221） 神経（0.182）	癌（0.455） 炎症（0.331） 細胞増殖（0.143）	pINCY
48	76-120	造血／免疫（0.308） 胃腸（0.231） 神経（0.154）	癌（0.308） 細胞増殖（0.231） 炎症（0.308）	pINCY
49	111-155	生殖（0.333） 心血管（0.167） 発達（0.167） 神経（0.167）	癌（0.750） 細胞増殖（0.167） 炎症（0.083）	pINCY
50	218-262	神経（1.000）	細胞増殖（1.000）	PSPORT1
51	109-153	皮膚（0.500） 生殖（0.500）		pINCY
52	277-321	神経（1.000）	神経（1.000）	pINCY

【表９】

表4-1

ヌクレオチド配列ＩＤ番号	ライブラリ	ライブラリの説明
２７	BRAINOT11	ライブラリは大脳半球切除の際に５歳の白人男性の右側頭葉より取り除いた脳組織より単離したＲＮＡを用いて作製された。病理学的には、激しい多小脳回症を示し、また慢性発作疾患と一致する（軟膜下及び皮質下で優勢な）グリオーシスを緩和するためには弱かった。家族歴には頚部新生物があった。
２８	PANCNOT07	ライブラリは、妊娠期間23週間目に死亡した白人の男胎児の膵臓組織から単離したRNAを用いて作製した。
２９	PROSNON01	ライブラリは、前立腺ライブラリからの独立したクローン４．４×１０^{6}個から作製され規準化された。ＲＮＡは、銃で自殺した２８歳の白人男性から採取した前立腺組織から作製した。この際の規準化及びハイブリダイゼーションの条件には、かなり長い（１９時間）アニーリングを用いたSoares, M.B.他(1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:9228-9232を採用した。
３０	SPLNNOT04	ライブラリは、大脳無酸素症で死亡した２歳のヒスパニック系男児の脾臓組織から単離したRNAを用いて作製した。
３１	HEAJDIT02	ライブラリは、心移植の際に５６歳の男性より取り除かれた病変左心室組織より単離されたRNAを用いて作製された。病歴には心血管疾患及び心筋梗塞が有った。
３２	PROSTUT12	ライブラリは、６５歳白人男性の根治前立腺切除中に採取した前立腺腫瘍組織から単離したポリARNAを用いて作製した。病理学的には、腺癌（Greased グレード２＋２）を示していた。腺線維筋腫性過形成も示していた。患者には、前立腺特異的抗原（PSA）の上昇も見られた。
３３	BRAINON01	ライブラリは、BRAINON03ライブラリからの独立したクローン４．８８×１０^{6}個から作製され規準化された。ＲＮＡは、２６歳の白人男性の頭蓋形成術及び大脳髄膜病変の切除の際に採取した脳組織から作った。関連した腫瘍組織は病理学的には、右前頭頭頂のグレードＩＶの乏星状細胞腫（oligoastrocytoma）である。
３４	BRSTTUT16	ライブラリは、片側拡大単純乳房切断術の際に４３歳の白人女性より取り除いた乳房腫瘍組織より単離したRNAを用いて作製された。病理学的には、再発（recurrent）グレードＩＶ、核グレードＩＩＩの腺管癌を示していた。血管リンパ管浸潤が確認された。左乳房針バイオプシーは、グレードＩＶの管腺癌を示した。パラフィン埋没組織は、陽性エストロゲンであった。病歴には乳癌および欠乏性貧血があった。家族歴には子宮頚癌が有った。

【表１０】

表4-2

ヌクレオチド配列ＩＤ番号	ライブラリ	ライブラリの説明
３５	BRADDIT02	ライブラリは、脳血管発作で死亡した５７歳の白人男性の脳より取り出した側脳室の病変脈絡叢組織より単離したRNAを用いて作製した。病歴には、ハンチントン病及び肺気腫を示していた。
３６	UTRSTMR01	ライブラリは、膣式子宮切開術の際に４１歳の白人女性より取り除いた子宮筋組織より単離した１．５マイクログラムのポリＡRNAを用いて作製された。子宮筋層及び子宮内膜は、子宮内膜ポリープの分泌及び抑制断片である点で際だっていなかった。関連腫瘍組織の病理学的には子宮平滑筋腫をがしていた。病歴には腹壁ヘルニア及び良性卵巣新生物が有った。
３７	TESTNOT03	ライブラリは、肝不全で死亡した37歳の白人男性から採取した精巣組織から単離されたRNAを用いて作製した。患者の病歴には、肝硬変、黄疸、及び肝不全が含まれる。
３８	SINTFET03	ライブラリは、妊娠期間２０週間目で死亡した白人の女胎児の小腸組織から単離したＲＮＡを用いて作製した。
３９	UTRSNOT02	ライブラリは、３４歳白人女性の膣式子宮摘出術の際に採取した子宮組織から単離したRNAを用いて作製した。患者の病歴には僧帽弁疾患があった。家族歴には、胃癌及び先天性心臓異常、過敏性腸症候群、潰瘍性大腸炎、大腸癌、脳血管障害、II型糖尿病、抑うつ症があった
４０	THYMNON04	ノーマライズされた胸腺ライブラリは、無酸素症で死亡した三歳の白人男児より取り除いたRNAを用いて作製した。
４１	TESTNOT07	ライブラリは、３１歳の白人男性の片側睾丸摘除（精巣切除）の際に採取した精巣組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、白膜の裂傷を伴う巨大被膜下血腫を含む腫瘤であった。精巣実質の周囲は広範囲に壊死していた。患者には躯幹外傷があった。
４２	LIVRTUT13	ライブラリは、部分的肝切除及び診査開腹の際に６２歳の白人女性より取り出した肝腫瘍組織より単離したＲＮＡを用いて作製された。病理学的には、側方及び内側左肝葉中で、様々なサイズに広がる小結節を形成する烏細胞腫瘍に一致した転移中程度神経内分泌癌腫を示した。膵臓は、線維症、慢性炎症、及び偽性嚢胞と一致した脂肪組織壊死症を示した。胆嚢は、軽い慢性胆嚢炎を示した。病歴には、膝尾部の悪性新生物、肺動脈塞栓症、高脂血症、血栓静脈炎、複数関節の関節痛、２型糖尿病、良性高血圧、及び脳血管障害があった。家族歴には、膵臓癌、続発性肝臓癌、良性高血圧、及び高脂血症が有った。

【表１１】

【表１２】

表4-3

ヌクレオチド配列ＩＤ番号	ライブラリ	ライブラリの説明
４３	LUNGFET03	ライブラリは、妊娠20週目に死亡した白人の女胎児から採取された肺組織から単離したRNAを用いて作製した。皮膚
４４	TLYMNOT08	ライブラリは、ある白人男性（４０～５０歳）から採取したアネルギー性アロジェニックTリンパ球組織から単離したRNAを用いて作製した。この細胞は、OKT3 mAb(１μｇ／mlのOKT3でコートした組織培養フラスコ)及び５％のヒト血清の存在下で３日間インキュベートした。患者にアレルギーはなかった。
４５	UTRSNOT02	ライブラリは、34歳の白人女性から膣式子宮摘出の際に採取した子宮組織から単離したRNAを用いて作製した。患者の病歴には僧帽弁障害が含まれる。以前、卵巣傷害の局所破壊手術を受けている。家族の病歴には、胃癌、先天性心臓異常、過敏性腸症候群、潰瘍性大腸炎、大腸癌、脳血管障害、Ⅱ型糖尿病、及びうつ病が含まれる。
４６	PROSTUT05	ライブラリは、６９歳白人男性の根治前立腺切除中に前立腺腫瘍組織を採取し、その前立腺腫瘍組織から単離したＲＮＡを用いて作製した。病理学的には腺癌である(Gleasonグレード3+4)。腺線維筋腫性過形成もあった。家族歴には、うっ血性心不全、多発性骨髄腫、高脂血症、リュウマチ様関節炎。
４７	LUNGNOT12	ライブラリは、７８歳の白人男性の部分的な肺切除及び所属リンパ節切除の際に採取した肺組織から単離したＲＮＡを用いて作製した。病理学的には、関連腫瘍組織は、グレード３の浸潤性肺腺癌であった。患者の病歴には、脳血管障害及びアテローム硬化性冠状動脈疾患、血栓性静脈炎、慢性閉塞性肺疾患、喘息があった。家族歴には、頭蓋内血腫及び脳血管障害、アテローム硬化性冠状動脈疾患、I型糖尿病があった。
４８	THYRNOT03	ライブラリは、年齢２８歳の白人女性の左甲状腺から完全甲状腺切除術の際に採取された甲状腺組織から単離されたRNAで作製した。病変は、左甲状腺に存在する腺腫状過形成の小結節を示していた。関連腫瘍組織の病変は、左甲状腺によく被包化された腫瘍集塊を形成している優性小胞状腺腫を示していた。
４９	PROSTUT08	ライブラリは、60歳の白人男性の根治的前立腺切除および領域性リンパ節切除術の際に採取した前立腺腫瘍組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、腺癌（Gleasonグレード3＋4）を示していた。また、腺線維筋腫性過形成も示していた。患者には、前立腺特異性抗原（PSA）の上昇が見られた。家族歴には、結核、脳血管性の疾患、動脈硬化性の冠動脈疾患が含まれていた。

表4-4

ヌクレオチド配列ＩＤ番号	ライブラリ	ライブラリの説明
５０	HNT2AZS07	サブトラクションライブラリは、３日間0.35マイクロモルのAZと共に処理された（関連ニューロン前駆体の特性を示すヒト奇形癌を由来とするような）hNT細胞株より単離されたRNAから作製された。サブトラクションの為のハイブリダイゼーションプローブは、未処置のhNT2細胞よりの同様に構成されたライブラリを由来とする。AZ処理されたライブラリよりの3.08Mのクローンは、未処理のライブラリよりの3.04Mのクローンと共に三回の差し引きハイブリダイゼーションを施された。差し引きハイブリダイゼーション条件は、Swaroopら(NAR (1991) 19:1954)及びBonaldoら(Genome Research (1996) 6:791)の方法を基にした。
５１	SKIRNOT01	ライブラリは、両側縮復乳房形成術の際に２６歳の白人女性より乳房より取り除いた皮膚組織から単離したRNAを用いて作製された。
５２	BRABDIR01	BRABDIR01ライブラリは、脳血管発作で死亡した５７歳白人男性の脳から採取した病変脳血管組織から単離したRNAを用いて作製した。

【表１３】

表5-1

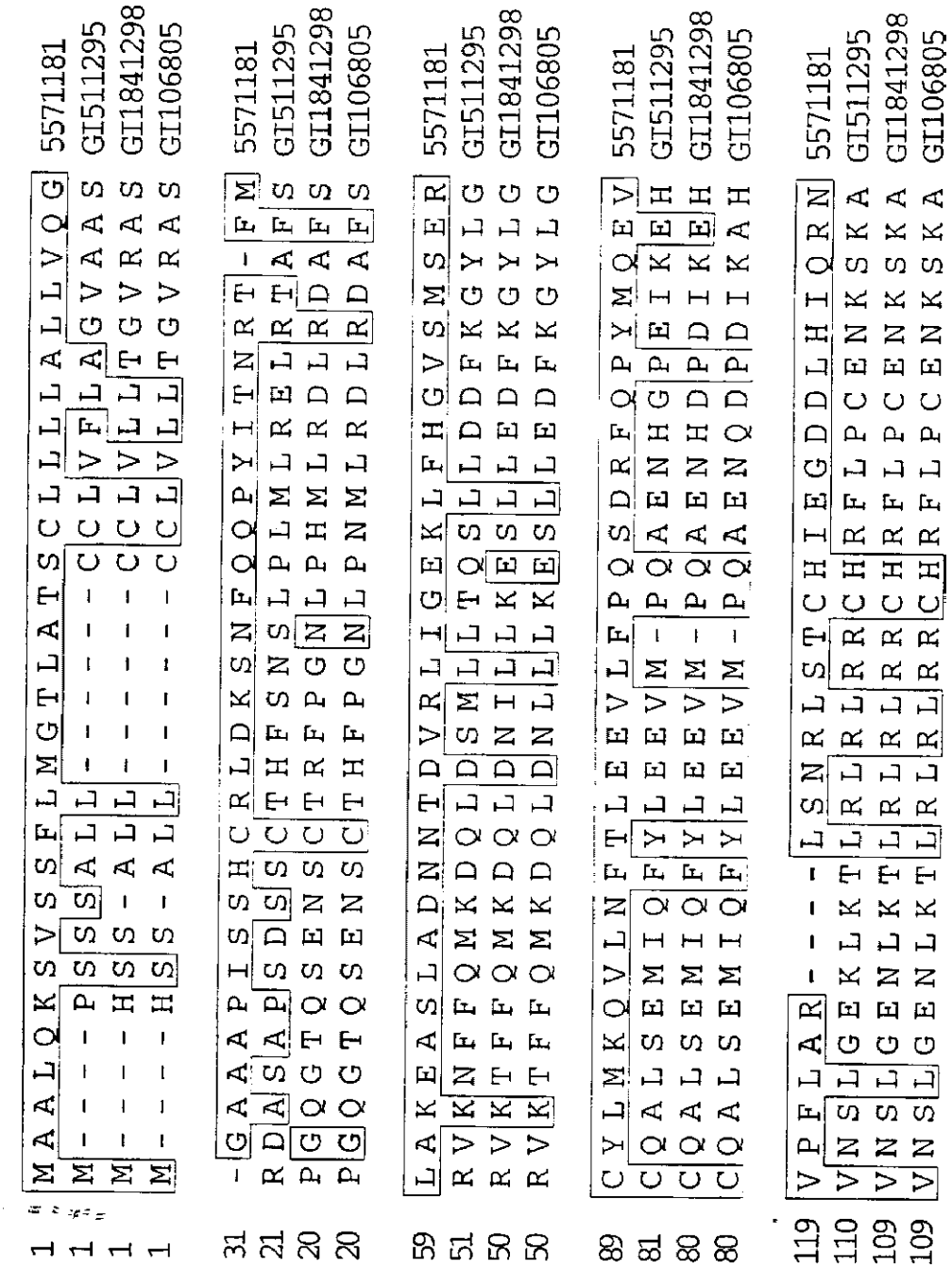
【表１４】

プログラム名	説明	引用文献	パラメーター閾値
ABI FACTURA	核酸配列においてベクター配列を除去して不定の塩基をマスクするプログラム。	Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, CA.	
ABI/PARACEL FDF	Fast Data Finderは、アミノ酸または核酸配列の比較及び注釈付け（annotation）に有用である。	Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, CA; Paracel Inc., Pasadena, CA.	不一致<50%
ABI AutoAssembler	核酸配列を構築するプログラム。	Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster City, CA.	
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool は、アミノ酸及び核酸配列の配列類似性検索に有用であり、blastp及びblastn、blastx、tblastn、tblastxの５つのファンクションがある。	Altschul, S.F.他 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Altschul, S.F. 他 (1997)Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402.	ESTs：確率値=1.0E-8以下 完全長配列：確率値=1.0E-10以下
FASTA	Pearson及びLipmanアルゴリズムは、問合わせの配列と同種の配列群との類似性を検索する。FASTAは、fasta及びtfasta、fastx、tfastx、ssearchの少なくとも５つのファンクションを含む。	Pearson, W.R. and D.J. Lipman (1988) Proc. Natl. Acad Sci. 85:2444-2448; Pearson, W.R.(1990) Methods Enzymol. 183: 63-98; Smith, T.F. and M. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489.	ESTs：fasta E値=1.06E-6 構築されたESTs：fasta同一性=95%以上、一致長さ=200塩基以上、fastx E値=1.0E-8以下 完全長配列：fastxスコア=100以上
BLIMPS	BLocks IMProved Searcherは、BLOCKS及びPRINTS、DOMO、PRODOM、PFAMデータベースにおける配列に対して、ある配列の一致性を調べ、遺伝子ファミリー及び配列相同性、構造的フィンガープリント領域を探索する。	Henikoff, S and J.G. Henikoff, Nucl. Acid Res.,19:6565-72, 1991. J.C;. Henikoff and S. Henikoff (1996) Methods Enzymol. 266:88-105; Artwood, T.K.他 (1997) J. Chem. Inf. Comput. Sci. 37: 417-424.	スコア=1000以上 スコア／強度=0.75以上 該当する場合、確率値=1.0E-3以下
HMMER	PFAMなどのタンパク質ファミリーコンセンサス配列の隠れマルコフモデル(HMM)に基づいたデータベースに対して問合せ配列を検索するアルゴリズム。	Krogh, A.他 (1994) J. Mol. Biol., 235:1501-1531; Sonnhammer, E.L.L.他 (1988) Nucleic Acids Res. 26:320-322.	スコア=10-50ビット、各タンパク質ファミリーによって異なる。

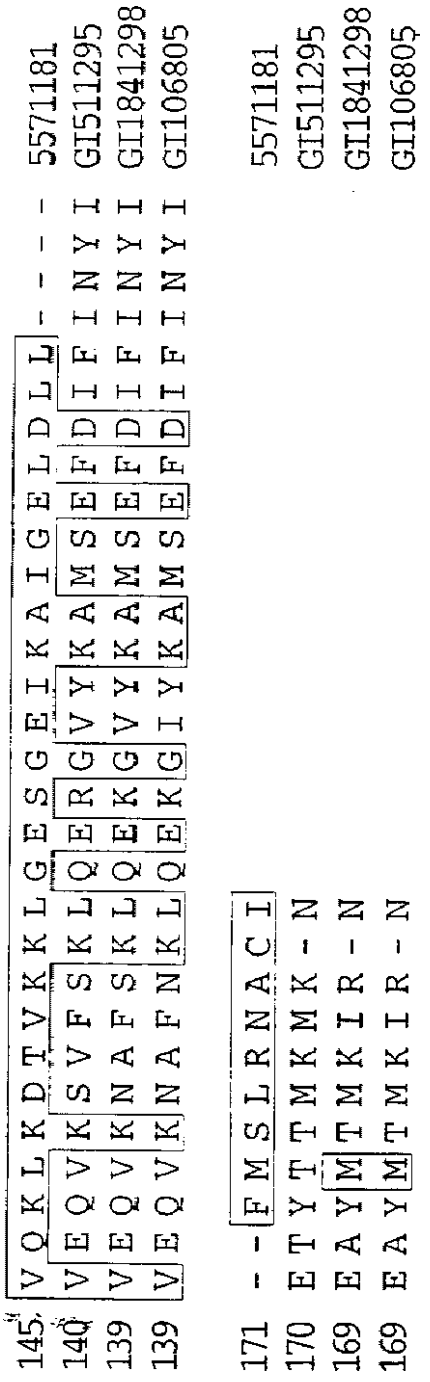
表5-2

プログラム名	説明	引用文献	パラメーター閾値
ProfileScan	Prosite で定義された配列パターンと一致するタンパク質配列における構造及び配列のモチーフを検索するアルゴリズム。	Gribskov, M.他 (1988) CABIOS 4:61-66; Gribskov, 他 (1989) Methods Enzymol. 183:146-159; Bairoch, A. 他 (1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221	ノーマライズされた質のスコア≧特定の Prosite モチーフに対する GCG 指定"HIGH"値 通常、スコア=1.4-2.1
Phred	高い感度及び確率で自動配列決定機のトレースを調べる塩基読出しアルゴリズムである。	Ewing, B. 他 (1998) Genome Res. 8:175-185; Ewing, B. and P. Green (1998) Genome Res. 8:186-194.	
Phrap	Smith-Waterman アルゴリズムの効率的なインプリメンテーションに基づく SWAT や CrossMatch を含む Phils Revised Assembly プログラムであって、配列相同性の検索及びＤＮＡ配列の構築に有用である。	Smith, T.F. and M. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489; Smith, T.F. and M.S. Waterman (1981) J. Mol. Biol. 147:195-197; Green, P., University of Washington, Seattle, WA.	スコア=120 以上 一致長さ=56 以上
Consed	Phrap で構築したものの表示及び編集をするためのグラフィックツールである。	Gordon, D. 他 (1998) Genome Res. 8:195-202.	
SPScan	タンパク質配列をスキャンして分泌シグナルペプチドの存在を調べる重み付けマトリクス解析プログラムである。	Nielson, H. 他 (1997) Protein Engineering 10: 1-6; Claverie, J.M. and S. Audic (1997) CABIOS 12: 431-439.	スコア=3.5 以上
Motifs	Prosite で定義された配列と一致したパターンについてアミノ酸配列を検索するプログラムである。	Bairoch 他、前出; Wisconsin Package Program Manual, version 9, page M51-59, Genetics Computer Group, Madison, WI.	

【図１Ａ】



【図１Ｂ】


145 V Q K L K D T V K K L G E S G E I K A I G E L D L L - - - - 5571181
140 V E Q V K S V F S K L Q E R G V Y K A M S E F D I F I N Y I GI511295
139 V E Q V K N A F S K L Q E K G V Y K A M S E F D I F I N Y I GI1841298
139 V E Q V K N A F N K L Q E K G I Y K A M S E F D I F I N Y I GI106805
171 - - F M S L R N A C I 5571181
170 E T Y T T M K M K - N GI511295
169 E A Y M T M K I R - N GI1841298
169 E A Y M T M K I R - N GI106805

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter nal Application No
PCT/US 00/13975

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12N15/12 C12N5/10 C07K14/47 C07K16/18 A61K38/17
A01K67/027 G01N33/50 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 A61K A01K G01N C12Q

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, STRAND, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL SEQUENCES [Online] Accession No. AA760907, 27 January 1998 (1998-01-27) R. STRAUSBERG: "EST; H. sapiens cDNA clone IMAGE:1287455" XP002148318 compare nt 2116-1648 of seq. 27 and nt 15-486 of AA760907 ---	1-17,20, 23
A	US 5 585 087 A (LUSTIG KEVIN D ET AL) 17 December 1996 (1996-12-17) the whole document ---	1-17,20, 23
	-/--	

[X] Further documents are listed in the continuation of box C. [X] Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
26 September 2000	28. 12. 00
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 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Galli, I

2

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Interr. nal Application No
PCT/US 00/13975

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WATSON, HOPKINS, ROBERTS, STEITZ & WEINER: "Molecular Biology of the Gene, 4th Edition, ISBN0-8053-961-4" 1988 , BENJAMIN CUMMINGS , MENLO PARK, CA XP002148377 page 975; table 25.3 -----	1-17,20, 23

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 00/13975

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. [X] Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

2. [X] Claims Nos.: 18,19,21,22
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:

see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.

2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. [X] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-23 partly

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US 00/13975

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. Claims: 1-23, partly

An isolated polypeptide comprising the amino acid sequence of seq. ID 1 or homologs, fragments or epitopes thereof.

Corresponding nucleic acids (seq. ID 27), pharmaceutical compositions, antibodies, therapeutic and screening applications.

2. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 2,28

3. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 3,29

4. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 4,30

5. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 5,31

6. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 6,32

7. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 7,33

8. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 8,34

9. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 9,35

10. Claims: 1-23, partly

International Application No. PCT/US 00/13975

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 10,36

11. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 11,37

12. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 12,38

13. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 13,39

14. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 14,40

15. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 15,41

16. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 16,42

17. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 17,43

18. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 18,44

19. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 19,45

20. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 20,46

21. Claims: 1-23, partly

International Application No. PCT/US 00/13975

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 21,47

22. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 22,48

23. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 23,49

24. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 24,50

25. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 25,51

26. Claims: 1-23, partly

Idem as subject-matter 1, but limited to seq. IDs 26,52

International Application No. PCT/US 00/13975

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.1

Although claims 16 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition. Claims 19 and 22 are equally directed to methods of treatment, but, for reasons listed elsewhere, they have not been searched at all.

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 18,19,21,22

Claims 18,19,21,22 relate to agonists and antagonists of the polypeptide claimed, however without giving a true technical characterization. Moreover, no such compounds are defined in the application. In consequence, said claims are ambigous and vague, and the subject-matter is not sufficiently disclosed and supported by the description according to Art. 5 and 6 PCT. No search can be performed for such purely speculative claims, the wording of which is, in fact, a mere recitation of the results to be achieved.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inter. ..onal Application No
PCT/US 00/13975

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5585087 A	17-12-1996	US 5866098 A	02-02-1999

フロントページの続き

(51)Int.Cl.[7]	識別記号	FI		テーマコード(参考)
Ａ６１Ｐ 15/00		Ａ６１Ｐ	29/00	４Ｃ０８４
25/00			31/00	４Ｈ０４５
29/00			35/00	
31/00			37/00	
35/00			43/00	１０５
37/00		Ｃ０７Ｋ	14/47	
43/00	１０５		16/18	
Ｃ０７Ｋ 14/47		Ｃ１２Ｎ	1/15	
16/18			1/19	
Ｃ１２Ｎ 1/15			1/21	
1/19		Ｃ１２Ｐ	21/02	Ｃ
1/21		Ｃ１２Ｑ	1/68	Ａ
5/10		Ｇ０１Ｎ	33/15	Ｚ
Ｃ１２Ｐ 21/02			33/50	Ｚ
Ｃ１２Ｑ 1/68			33/53	Ｍ
Ｇ０１Ｎ 33/15			37/00	１０２
33/50		Ｃ１２Ｎ	15/00	ＺＮＡＡ
33/53			5/00	Ａ
// Ｇ０１Ｎ 37/00	１０２	Ａ６１Ｋ	37/02	

(31)優先権主張番号　６０／１４６，７００
(32)優先日　平成11年７月30日(1999．7．30)
(33)優先権主張国　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／１５７，５０８
(32)優先日　平成11年10月４日(1999．10．4)
(33)優先権主張国　米国（ＵＳ）
(81)指定国　ＥＰ(ＡＴ，ＢＥ，ＣＨ，ＣＹ，ＤＥ，ＤＫ，ＥＳ，ＦＩ，ＦＲ，ＧＢ，ＧＲ，ＩＥ，ＩＴ，ＬＵ，ＭＣ，ＮＬ，ＰＴ，ＳＥ)，ＯＡ(ＢＦ，ＢＪ，ＣＦ，ＣＧ，ＣＩ，ＣＭ，ＧＡ，ＧＮ，ＧＷ，ＭＬ，ＭＲ，ＮＥ，ＳＮ，ＴＤ，ＴＧ)，ＡＰ(ＧＨ，ＧＭ，ＫＥ，ＬＳ，ＭＷ，ＭＺ，ＳＤ，ＳＬ，ＳＺ，ＴＺ，ＵＧ，ＺＷ)，ＥＡ(ＡＭ，ＡＺ，ＢＹ，ＫＧ，ＫＺ，ＭＤ，ＲＵ，ＴＪ，ＴＭ)，ＡＥ，ＡＬ，ＡＭ，ＡＴ，ＡＵ，ＡＺ，ＢＡ，ＢＢ，ＢＧ，ＢＲ，ＢＹ，ＣＡ，ＣＨ，ＣＮ，ＣＵ，ＣＺ，ＤＥ，ＤＫ，ＥＥ，ＥＳ，ＦＩ，ＧＢ，ＧＤ，ＧＥ，ＧＨ，ＧＭ，ＨＲ，ＨＵ，ＩＤ，ＩＬ，ＩＮ，ＩＳ，ＪＰ，ＫＥ，ＫＧ，ＫＰ，ＫＲ，ＫＺ，ＬＣ，ＬＫ，ＬＲ，ＬＳ，ＬＴ，ＬＵ，ＬＶ，ＭＤ，ＭＧ，ＭＫ，ＭＮ，ＭＷ，ＭＸ，ＮＯ，ＮＺ，ＰＬ，ＰＴ，ＲＯ，ＲＵ，ＳＤ，ＳＥ，ＳＧ，ＳＩ，ＳＫ，ＳＬ，ＴＪ，ＴＭ，ＴＲ，ＴＴ，ＵＡ，ＵＧ，ＵＳ，ＵＺ，ＶＮ，ＹＵ，ＺＡ，ＺＷ

(72)発明者　ラル、プリーティ
アメリカ合衆国カリフォルニア州95054･
サンタクララ・ラスドライブ　2382

(72)発明者　バーフォード、ニール
アメリカ合衆国カリフォルニア州94122･
サンフランシスコ・フォースアベニュー
1308
(72)発明者　バンドマン、オルガ
アメリカ合衆国カリフォルニア州94043･
マウンテンビュー・アンナアベニュー
366
(72)発明者　ボーグン、マライア・アール
アメリカ合衆国カリフォルニア州94577･
サンレアンドロ・サンティアゴロード
14244
(72)発明者　アジムザイ、ヤルダ
アメリカ合衆国カリフォルニア州94545･
ヘイワード・ロックスプリングスドライブ
2045
(72)発明者　リュ、デュング・アイナ・エム
アメリカ合衆国カリフォルニア州95136･
サンノゼ・パークベルモントプレイス　55
(72)発明者　パターソン、チャンドラ
アメリカ合衆国カリフォルニア州94025･
メンロパーク・＃１・シャーウッドウェイ
490

Ｆターム(参考)　2G045 AA25 AA40 BB20 CA25 CA26
CB01 CB03 DA12 DA13 DA14
DA36 DA77 FB02 FB07 HA16
4B024 AA01 AA11 CA04 DA02 EA02
FA02 GA11 HA12 HA15 HA17
4B063 QA01 QA19 QA20 QQ08 QQ43
QR08 QR42 QR56 QS25 QS34
QX02 QX07
4B064 AG02 CA10 CA19 CC24 DA01
DA13
4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X
AA93Y AB01 BA02 CA24
CA44 CA46
4C084 AA01 AA06 AA07 AA17 BA02
CA18 NA14 ZA01 ZA81 ZB02
ZB05 ZB11 ZB21 ZB26 ZB31
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10
CA40 DA01 DA75 EA20 EA50
FA72 FA74

专利名称(译)	细胞外信号分子		
公开(公告)号	JP2002543840A	公开(公告)日	2002-12-24
申请号	JP2000618455	申请日	2000-05-19
[标]申请(专利权)人(译)	洞察Genomics公司		
申请(专利权)人(译)	洞察基因组公司		
[标]发明人	タングワイトム ユエヘンリー ラルプリーティ バーフォードニール バンドマンオルガ ボーグンマライアアール アジムザイヤルダ リュデュングアイナエム パターソンチャンドラ		
发明人	タング、ワイ·トム ユエ、ヘンリー ラル、プリーティ バーフォード、ニール バンドマン、オルガ ボーグン、マライア·アール アジムザイ、ヤルダ リュ、デュング·アイナ·エム パターソン、チャンドラ		
IPC分类号	A01K67/027 A61K38/00 A61K45/00 A61P1/00 A61P15/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/00 A61P35/00 A61P37/00 A61P43/00 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N37/00		
CPC分类号	A01K2217/05 A61P1/00 A61P15/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/00 A61P35/00 A61P37/00 A61P43/00 C07K14/47		
FI分类号	A01K67/027 A61K45/00 A61P1/00 A61P15/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/00 A61P35/00 A61P37/00 A61P43/00.105 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.M G01N37/00.102 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/BB20 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/CB01 2G045/CB03 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/DA77 2G045/FB02 2G045/FB07 2G045/HA16 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/EA02 4B024/FA02 4B024/GA11 4B024/HA12 4B024/HA15 4B024/HA17 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QA20 4B063/QQ08 4B063/QQ43 4B063/QR08 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02 4B063/QX07 4B064/AG02 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA01 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA17 4C084/BA02 4C084/CA18 4C084/NA14 4C084/ZA01 4C084/ZA81 4C084/ZB02 4C084/ZB05 4C084/ZB11 4C084/ZB21 4C084/ZB26 4C084/ZB31 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA01 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74		
优先权	60/134949 1999-05-19 US 60/144270 1999-07-15 US 60/146700 1999-07-30 US		

	60/157508 1999-10-04 US
外部链接	Espacenet

摘要(译)

本发明提供了鉴定和编码EXCS的人细胞外信号分子（EXCS）和多核苷酸。 本发明还提供表达载体和宿主细胞，抗体，激动剂，拮抗剂。 此外，本发明提供了用于诊断，治疗和预防与EXCS表达有关的疾病的方法。