

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) **公表特許公報** (A) (11)特許出願公表番号

特表2003 - 505083

(P2003 - 505083A)

(43)公表日 平成15年2月12日(2003.2.12)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 45/00	2 G 0 4 5
A 6 1 K 38/00		48/00	4 B 0 2 4
45/00		A 6 1 P 1/00	4 B 0 6 3
48/00		1/16	4 B 0 6 4
A 6 1 P 1/00		1/18	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全188数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 512881(P2001 - 512881)

(86)(22)出願日 平成12年7月21日(2000.7.21)

(85)翻訳文提出日 平成14年1月21日(2002.1.21)

(86)国際出願番号 PCT/US00/20035

(87)国際公開番号 W001/007612

(87)国際公開日 平成13年2月1日(2001.2.1)

(31)優先権主張番号 60/145,232

(32)優先日 平成11年7月21日(1999.7.21)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 60/158,578

(32)優先日 平成11年10月7日(1999.10.7)

(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 オウ・ヤング、ジャニス

アメリカ合衆国カリフォルニア州94005・プリズベーン・ゴールドデンイーグルレーン 233

(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

(74)代理人 弁理士 大島 陽一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 受容体及び関連タンパク質

(57)【要約】

本発明は、ヒト受容体及び関連タンパク質 (RECAP) と、RECAPを同定及びコードするポリヌクレオチドを提供する。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、RECAPの発現に関連する疾患の診断・治療・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、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22らなる一群から選択されたアミノ酸配列と、

(b) SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22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天然のアミノ酸配列と、

(c) SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22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、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22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、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22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】 請求項2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5】 SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、およびSEQ ID NO:44からなる一群から選択された請求項4の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項6】 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7】 請求項6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8】 請求項6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9】 請求項1のポリペプチドを生産する方法であって、

(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のポリペプチドの生産方法。

【請求項10】 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11】 単離されたポリヌクレオチドであって、

(a) SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、およびSEQ ID N

0:44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:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、およびSEQ ID NO:44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70%の配列同一性を有する天然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)乃至(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12】 請求項11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13】 サンプルにおいて、請求項11に記載のポリヌクレオチド配列を有する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からなる少なくとも20個の連続するヌクレオチドを含むプローブで前記サンプル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またはその断片とのハイブリダイゼーション複合体が形成される条件下で、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が存在するか否かを検出し、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13に記載の方法。

【請求項15】 サンプルにおいて、請求項11のポリヌクレオチド配列を有する標的ポリヌクレオチドを検出する方法であって、

(a) ポリメラーゼ連鎖反応増幅を用いて、前記標的ポリヌクレオチドまたは

その断片を増幅するステップと、

(b) 増幅された前記標的ポリヌクレオチドまたはその断片が存在するか否かを検出し、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16】 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組成物。

【請求項17】 前記ポリペプチドが、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22からなる一群から選択されたアミノ酸配列を含むポリペプチドであることを特徴とする請求項16の医薬組成物。

【請求項18】 機能的RECAP(受容体及び関連タンパク質)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16の医薬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19】 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20】 請求項19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組成物。

【請求項21】 機能的RECAP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20の医薬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22】 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) 前記サンプルにおける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23】 請求項22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組成物。

【請求項24】 機能的RECAP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23の医薬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25】 請求項1のポリペプチドに特異的に結合する化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項1のポリペプチドを好適な条件下で少なくとも1つの試験化合物と結合させるステップと、

(b) 請求項1のポリペプチドと前記試験化合物との結合を検出して、請求項1のポリペプチドと特異的に結合する化合物を同定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26】 請求項1のポリペプチドの活性を調節する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、その活性が許容される条件下で少なくとも1つの試験化合物と結合させるステップと、

(b) 前記試験化合物の存在下での請求項1のポリペプチドの活性を評価するステップと、

(c) 前記試験化合物の存在下での請求項1のポリペプチドの活性と、前記試験化合物の不在下での請求項1のポリペプチドの活性とを比較するステップとを含み、

前記試験化合物の存在下での請求項1のポリペプチドの活性の変化が、請求項1のポリペプチドの活性を調節する化合物の存在を示唆すること特徴とするスクリーニング方法。

【請求項27】 請求項5の配列を含む標的ポリヌクレオチドの発現を変化させ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ことを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項28】 試験化合物の毒性を評価する方法であって、

(a) 核酸を含む生体サンプルを前記試験化合物で処置するステップと、

(b) 処置した前記生体サンプルの核酸を、請求項11のポリヌクレオチドの連続する少なくとも20個のヌクレオチドを含むプローブと、前記プローブと前記生体サンプルの標的ポリヌクレオチドとの間で特異的なハイブリダイゼーション複合体が形成される条件下でハイブリダイズさせるステップであって、標的ポリヌクレオチドが請求項11のポリヌクレオチドのポリヌクレオチド配列またはその断片を含む、前記ステップと、

(c) ハイブリダイゼーション複合体の収量を測定するステップと、

(d) 前記処置した生体サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体の収量を、未処置の生体サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体の収量とを比較するステップとを含み、

前記処置した生体サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体の収量の差が試験化合物の毒性を示唆することを特徴とする試験化合物の毒性評価方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****(技術分野)**

本発明は、受容体及び関連タンパク質の核酸配列及びアミノ酸配列に関し、また、神経の疾患、自己免疫疾患/炎症性疾患を含む免疫異常、および癌を含む細胞増殖異常の診断・治療・予防におけるこれらの配列の利用に関する。

【0002】**(発明の背景)**

用語「受容体」は、他の分子を特異的に認識するタンパク質を指す。そのカテゴリーは広範であり、様々な機能を有するタンパク質が含まれる。殆どの受容体は細胞表面タンパク質であり、細胞外リガンドと結合し、成長、分化、エンドサイトーシス、および免疫反応において細胞応答を起こさせる。他の受容体は、小胞体からのタンパク質の選択的な輸送を促進し、細胞の特定の部位に酵素を局在化させる。細胞内におけるシグナル伝達、タンパク質の輸送及び局在化はすべて、受容体と種々の関連するタンパク質との相互作用に依存する。用語「受容体」はまた、既知或いは未知の化学化合物と共にリガンドと結合し、その他の細胞内成分と相互作用するタンパク質も指す。例えば、ステロイドホルモン受容体はDNAに結合してそのDNA転写物を調節する。

【0003】

細胞表面受容体は、通常は膜内在性タンパク質である。これらの受容体は、カテコールアミン、ペプチドホルモン、成長因子および分化因子、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモンなどの小ペプチド因子、ガラニン、ソマトスタチン、タキキニン、および循環系仲介性シグナル伝達分子などのホルモンを認識する。免疫系細胞上の細胞表面タンパク質は、抗原、抗体、および主要組織適合複合体(MHC)結合ペプチドを認識する。他の細胞表面受容体は、リガンドと結合して細胞内に取り込まれる。このような受容体仲介性エンドサイトーシスは、低密度リポタンパク質(LDL)、トランスフェリン、グルコース末端糖タンパク質、マンノース末端糖タンパク質、ガラクトース末端糖タンパク質、免疫グロブリン、ホスホビテロゲニン(phosphovitellogenin)、フィブリン、プロテイナーゼインヒビタ

一複合体、プラスミノーゲン活性化因子、及びトロンボスポンジンの取り込みの際に起こる (Lodish, H. 他. (1995) *Molecular Cell Biology*, Scientific American Books, New York NY, p. 723; and Mikhailenko, I. 他 (1997) *J. Biol. Chem.* 272:6784-6791)。

【0004】

シグナル伝達は生化学現象のプロセスの1つであり、それによって細胞は互いに伝達し合って細胞外シグナルに応答する。細胞外シグナルは、シグナル伝達分子の細胞膜受容体への結合から始まる生化学カスケードによって伝達される。このシグナルは、細胞内シグナル伝達タンパク質によってエフェクター分子に伝達され、最終的に細胞内標的分子が活性化される。シグナル伝達のプロセスによって、細胞増殖、分化、および遺伝子転写を含む多様な細胞機能が調節される。

【0005】

Gタンパク質結合受容体 (GPCR)

Gタンパク質結合受容体 (GPCR) は、様々な細胞型におけるシグナル伝達に関与する分子のクラスである。GPCRは内在性膜タンパク質であって、細胞膜を貫通して逆平行ヘリックスの束を形成する疎水性の7回膜貫通ドメインによって特徴付けられる。これらのタンパク質の大きさの範囲は、400個未満から1000個以上のアミノ酸である (Strosberg, A.D. (1991) *Eur. J. Biochem.* 196:1-10; Coughlin, S.R. (1994) *Curr. Opin. Cell Biol.* 6:191-197)。GPCRのアミノ末端は細胞外にあり、その長さは可変性であってグリコシル化している場合が多い。そのカルボキシル末端は細胞内にあり、通常はリン酸化している。GPCRの細胞外のループは細胞内のループと交互に膜貫通ドメインをつないでいる。GPCRの最も保存されたドメインは、膜貫通ドメインと初めの2つの細胞質ループである。膜貫通ドメインは、その受容体の構造および機能の特性を左右する。殆どの場合、ヘリックスの束が結合ポケットを形成する。加えて、細胞外N末端セグメント、または3つの細胞外ループの内1或いは複数のループが、リガンドとの結合に関与する。リガンドとの結合によって、その受容体の細胞内部分における構造が変化し、それによってその受容体が活性化される。次に、活性化された受容体は、細胞内ヘテロ三量体グアニンヌクレオチド (G) タンパク質複合体と

相互作用する。このタンパク質複合体は、一般にサイクリックAMP (cAMP)、ホスホリパーゼC、およびイノシトール三リン酸などのセカンドメッセンジャーの産生やイオンチャンネルタンパク質との相互作用である細胞内のシグナル伝達の働きを仲介する (Baldwin, J.M. (1994) *Curr. Opin. Cell Biol.* 6:180-190; Watson, S. and S. Arkininstall (1994) *The G-protein Linked Receptor Facts Book*, Academic Press, San Diego CA, pp. 2-6)。Gタンパク質による結合GTPの加水分解によって、Gタンパク質が不活性なGDP結合状態へ戻るサイクルが完結する。

【0006】

GPCRには多様な受容体が含まれる。その中には、感覚シグナルメディエーター (例えば、光や嗅覚刺激分子) や、アデノシン、ボンベシン、ブラジキニン、エンドセリン、 γ -アミノ酪酸 (GABA)、肝細胞成長因子、黄体形成ホルモン (LH)、トロンピン、甲状腺刺激ホルモン (TSH)、メラノコルチン、神経ペプチドY、オピオイドペプチド、オプシン、ソマトスタチン、タキキニン、血管作働性腸管ポリペプチドファミリー、およびバソプレッシンや、生体アミン (例えば、ドーパミン、エピネフリン、ノルエピネフリン、ヒスタミン、グルタミン酸 (代謝調節効果)、アセチルコリン (ムスカリン効果)、およびセロトニン) や、ケモカインや、炎症の脂質メディエーター (例えば、プロスタグランジンおよびプロスタノイド、血小板活性化因子、およびロイコトリエン) や、ペプチドホルモン (例えば、カルシトニン、C5aアナフィラトキシン、卵胞刺激ホルモン (FSH)、生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH)、ニューロキニン、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン (TRH)、およびオキシトシン) の受容体が含まれる。同定されていない刺激に対する受容体として作用するGPCRは、オーファン受容体と呼ばれる。例えば、TPRA40タンパク質は、マウスの脂肪細胞から単離されたGPCRであり、複数のマウスの組織やヒトの組織に存在する。このタンパク質の脂肪組織における発現は、老化やII型糖尿病によって変化する (Yang, H. (1999) *Endocrinology* 140:2859-2867)。

【0007】

機能不全や恒常的な活性化を引き起こしうるGPCRの変異は、様々なヒトの疾患

に関連する (Coughlin、前出)。例えば、網膜色素変性症は、ロドプシン遺伝子の変異によって起こりうる。ロドプシンは、網膜杆体細胞外節に位置する網膜光受容体である。Parma, J. 他は、甲状腺刺激ホルモン受容体における体細胞突然変異が機能亢進性甲状腺腺腫を引き起こし、恒常的に活性化するようになりやすいある種のGPCRは、プロトオンコジーンとして作用し得ることを報告した (1993, Nature 365:649-651)。TSH受容体のレベルの上昇が、ダウン症候群およびアルツハイマー病の脳組織で観察され、神経変性疾患においてこの受容体がアポトーシスに導く役割を果たしていることを示唆する (Labudova, O. 他 (1999) Life Sci. 64:1037-1044)。アドレナリン受容体の活性に影響を与える および遮断薬を含む臨床的に適切な薬剤は、GPCRに作用するため、高血圧やその他の心血管疾患の治療に用いられる (前出のWatson, pp. 32-33)。

【0008】

免疫系に關与する受容体

炎症や免疫反応に關係するGPCRの例には、EGFモジュールを含むムチン様ホルモン受容体 (Emr1) およびCD97受容体タンパク質がある。これらのGPCRは、近年その特徴が明らかになったEGF-TM7受容体ファミリーのメンバーである。これらの7回膜貫通型ホルモン受容体は、*in vivo*でヘテロ二量体として存在し、3個から7個の潜在的なカルシウム結合EGF様モチーフを含む。CD97は主に白血球で発現され、活性化したB細胞およびT細胞上で著しくアップレギュレートされる (McKnight, A. J. and Gordon, S. (1998) J. Leukoc. Biol. 20 63:271-280)。

【0009】

GPCRシグナル伝達カスケードにおける異常によって、白血球およびリンパ球の異常な活性化が起こって、様々な炎症性の疾患や自己免疫疾患における組織の損傷や破壊につながり得る。このような疾患の例には、リウマチ様関節炎、胆汁性肝硬変、溶血性貧血、紅斑性狼瘡、および甲状腺炎がある。脳、甲状腺、副腎、および生殖腺の組織におけるサイクリックAMP刺激を含む異常な細胞増殖は、Gタンパク質によって制御される (Meij, J.T.A. (1996) Mol. Cell. Biochem. 157: 31-38; Ausseil, C. 他 (1988) J. Immunol. 140:215-220)。

【0010】

T細胞は、エフェクター及び制御因子として免疫系における2つの役割を果たす。つまり、抗原を認識して、感染細胞における細胞死を誘導し、また他の免疫細胞を刺激するシグナルを伝達する。T細胞は多様な抗原を集合的に認識するが、T細胞のクローン株は、1種類の抗原のみを認識する。さらに、抗原が、抗原提示細胞の表面上で主要組織適合複合体(MHC)とペプチドの複合体としてT細胞受容体に提示されなければならない。殆どのT細胞上のTCRは、およびの2つのポリペチドサブユニットからなる。これらのサブユニットは、免疫グロブリン様膜内在性糖タンパク質であり、分子量は類似している。TCRサブユニットおよびTCRサブユニットは、可変領域と非可変領域の両方を含む細胞外ドメインと、膜を1回貫通する膜貫通ドメインと、短い細胞内ドメインとを有している(Saito, H. 他、(1984) *Nature* 309:757-762)。TCRサブユニットの遺伝子は、体細胞の異なる遺伝子セグメントの再配置によって形成される。MHCの適正な位置にある抗原とTCRとの相互作用によって、免疫系の細胞増殖、成熟、および細胞成分の働きを誘導するシグナル伝達カスケードが開始される(Weiss, A. (1991) *Annu. Rev. Genet.* 25: 487-510)。TCR遺伝子における再編成およびTCRの発現の変化が、リンパ腫、白血病、自己免疫疾患、免疫不全症に見られる(Aisenberg, A.C. 他 (1985) *N. Engl. J. Med.* 313:529-533; Olive, C. (1995) *Immunol. Cell. Biol.* 73:297-307; and Weiss、前出)。TCRに由来するペプチドを用いて免疫化は、ある種のヒトT細胞仲介性自己免疫疾患の治療やこのような疾患の動物モデル、特にリュウマチ様関節炎の治療に効果がある(Bridges, S.L. and Moreland, L.W. (1998) *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 24:641-650)。

【0011】

腫瘍壊死因子(TNF)は、免疫の制御および炎症反応を仲介する多面発現性サイトカインである。TNFによって開始される細胞内反応は、明確に異なるTNF-R1およびTNF-R2の2つの細胞表面受容体とTNFとの相互作用によって始まる(Tartaglia, L.A. and Goeddel, D.V. (1992) *Immunol. Today* 13:151-153)。両方のTNF受容体は、TNF受容体(TNFR)スーパーファミリーのメンバーである。このTNFRファミリーのメンバーには、Fas抗原、NGF受容体のp75サブユニット、TRAIL受容体、TRUNND、SaIF19R、CD27、CD30、およびCD40も含まれる。TNFRスーパー

ファミリーのメンバーは、細胞外ドメインのシステインの多い偽反復からなるTNFR / NGFRファミリー高システイン領域シグネチャを共有する (ExpASY PROSITE 文献 PDOC00561; Pan, G. 他 (1998) FEBS Lett. 424:41-45; Bairoch, A. 他 (1997) Nucleic Acids Res. 25:217-221; and Smith, C.A. 他 (1994) Cell 76:959-962)。TNF-R2における遺伝子多型は、全身性エリテマトーデスに関連する (Komata, T. 他 (1999) Tissue Antigens 53:527-533)。加えて、可溶性TNF-R1の血清濃度の上昇は、末期の胃癌または結腸直腸癌の患者で観察された (Shibata, M. 他 (1998) Surg. Today 28:884-888)。

【0012】

補体系は、免疫反応の別の必須要素である。補体系は、抗原認識によって生成されるシグナルに対して、炎症、食作用、および細胞溶解を含むエフェクターの作用を動員して応答する。マクロファージおよび好中球上の受容体が、細菌などの外来粒子の表面上の活性化された補体C3に結合し、それによって外来粒子が食作用され、リソソーム酵素によって分解される。補体受容体1 (CR1) は、細胞 / 組織に広く分布し、食作用の促進、IL-1の分泌の誘導、およびB細胞の分化の促進を仲介する。CR-1の発現の欠損は、自己免疫疾患である全身性エリテマトーデスに関連する (Carroll, M.C. (1998) Annu. Rev. Immunol. 16:545-568)。

【0013】

核受容体

核受容体は別の受容体ファミリーであり、レチノイン酸受容体 (RAR) およびレチノイドX受容体 (RXR) を含む。RARとRXRとで、シグナル伝達機能を有すると考えられているヘテロ二量体を形成する。レチノイン酸 (RA) は、ビタミンA (レチノール) の生物学的に活性な代謝産物であり、魚の肝油、肝臓、卵黄、バター、クリームに見られる脂溶性ビタミンである。レチノールは、in vivoで合成することができないため、食事から摂取しなければならない。レチノール、RA、およびその他のレチノイドは、上皮細胞の分化に影響を与える。レチノールおよびその他のレチノイドに結合するキャリアタンパク質が数種類同定された。これらのレチノイド結合タンパク質 (RBP) は、レチノイド分子を特定の代謝経路に直接結合させると考えられる。RBPに特異的な受容体は、レチノイドの細胞内へ

の取り込み、およびレチノイドの細胞内RBPへの輸送を仲介する (Sundaram, M. 他 (1999) J. Biol. Chem. 273:3336-3342)。

【0014】

低分子量 (LMW) Gタンパク質

低分子量 (LMW) Gタンパク質は、細胞の成長、細胞周期の制御、タンパク質の分泌、および細胞内小胞の相互作用を制御する。LMW Gタンパク質は、GTPに結合してそのGTPを加水分解可能な単一のポリペプチドからなるため、不活性状態と活性状態との間を循環する。LMW Gタンパク質は受容体からの細胞外シグナルに応答し、様々な細胞機能に關与する有糸分裂促進シグナルを伝達してタンパク質を活性化する。GTPの結合及び加水分解は、LMW Gタンパク質の応答を調節し、このプロセスにおけるエネルギー源となる (Bokoch, G. M. and Der, C. J. (1993) FASEB J. 7:750-759)。

【0015】

LMW Gタンパク質スーパーファミリーの少なくとも6つのメンバーが同定され、現在はras、rho、arf、sar1、ran、およびrabのサブファミリーに分類される。活性化されたras遺伝子は、初めヒトの癌組織で同定された。後の研究によって、rasの機能が、細胞が成長を続けるか分裂するか、或いは分化するかを決定する受容体チロシンキナーゼ仲介性シグナル伝達経路にとって極めて重要であることが分かった。Rho Gタンパク質は、正常な細胞の成長および分裂に必要な、成長因子受容体をアクチンの重合に結びつけるシグナル伝達経路を制御する。rab、arf、およびsar1の各ファミリーのタンパク質は、タンパク質の局在化、タンパク質のプロセッシング、および分泌のために、小胞を膜に移動させたり、膜から移動させたりする。Ran Gタンパク質は核内に位置し、核タンパク質の移入、DNA合成の制御、および細胞周期の進行に重要な役割を果たす (Hall, A. (1990) Science 249:635-640; Barbacid, M. (1987) Ann. Rev Biochem. 56:779-827; and Sasaki, T. and Takai, Y. (1998) Biochem. Biophys. Res. Commun. 245:641-645)。

【0016】

LMW Gタンパク質は、活性なGTP結合型と不活性なGTP結合型との間を循環するG

TPアーゼである。少なくとも3種類のタンパク質がこのプロセスを制御する。その3種類のタンパク質とは、LMW Gタンパク質によるGTP加水分解を促進するGTPアーゼ活性化タンパク質(GAP)、LMW Gタンパク質に結合したGDPのGTPへの交換を促進するグアニンヌクレオチド交換因子、およびこの反応を抑制するグアニンヌクレオチド解離インヒビター(GDI)である(Ikeda, M. 他(1998) J. Biol. Chem. 273:814-821; Quilliam, L. A. (1995) Bioessays 17:395-404)。最大の特徴を有するGEPは、ショウジョウバエSon-of-Sevenlessタンパク質の哺乳動物相同体である。GEPおよびGAPの活性は共に、細胞外の刺激によって影響を受け、RalBP1およびPOB 1などの補助タンパク質(accessory proteins)によって修飾され得る。GTPと結合するが加水分解できない突然変異Rasファミリータンパク質は、恒常的に活性化状態であり、GEPがLMW Gタンパク質を活性化させるのと同様に細胞増殖即ち癌を引き起こす(Drivas, G. T. 他(1990) Mol. Cell. Biol. 10:1793-1798; and Whitehead, I. P. 他(1998) Mol Cell Biol. 18:4689-4697)。

【0017】

嗅覚GPCR

GPCRの別の大きなサブファミリーは嗅覚受容体である。これらの受容体は、他のGPCRと同様に疎水性の7回膜貫通ドメインを有し、臭気物質シグナルがGタンパク質によって伝達されると機能する。それぞれの嗅覚ニューロンは、たった1種類の嗅覚受容体しか発現しない。異なる受容体を発現するニューロンの別個の空間的領域が鼻腔に見られる。

【0018】

新たな複数の受容体及び関連タンパク質及びそれらをコードするポリヌクレオチドの発見によって、細胞増殖異常、自己免疫疾患/炎症性疾患の疾患、および神経疾患の診断・治療・予防において有用な新規の組成物を提供することにより、当分野におけるニーズが満たされる。

【0019】

(発明の要約)

本発明は、総称して「RECAP」、個別にはそれぞれ「RECAP:1」、「RECAP:2」

、「RECAP:3」、「RECAP:4」、「RECAP:5」、「RECAP:6」、「RECAP:7」、「RECAP:8」、「RECAP:9」、「RECAP:10」、「RECAP:11」、「RECAP:12」、「RECAP:13」、「RECAP:14」、「RECAP:15」、「RECAP:16」、「RECAP:17」、「RECAP:18」、「RECAP:19」、「RECAP:20」、「RECAP:21」、「RECAP:22」および「RECAP:22」と呼ぶ受容体及び関連タンパク質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乃至22 (SEQ ID NO:1 - 22) 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 - 22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天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1 - 22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 - 22と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単離されたポリペプチドを提供する。別法では、SEQ ID NO:1 - 22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。

【0020】

更に本発明は、(a) SEQ ID NO:1 - 22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 - 22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天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1 - 22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 - 22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:1 - 22からなる一群から選択されたポリペプチドをコードする。別法では、このポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:23 - 44からなる一群から選択される。

【0021】

更に、本発明は、(a) SEQ ID NO:1 - 22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 - 22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天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1 - 22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 - 22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。

【0022】

また、本発明は、(a) SEQ ID NO:1 - 22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 - 22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天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1 - 22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 - 22と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ポリペプチドの生産方法を提供する。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。

【0023】

更に、本発明は、(a) SEQ ID NO:1 - 22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 - 22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天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1 - 22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 - 22と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。

【0024】

更に、本発明は、(a) SEQ ID NO:23 - 44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:23 - 44からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と70%以上の配列同一性を有する天然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)乃至(d)のRNA等化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。

【0025】

更に本発明は、(a)SEQ ID NO:23-44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:23-44からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と70%以上の配列同一性を有する天然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)乃至(d)のRNA等化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ポリヌクレオチド配列を有する標的ポリヌクレオチドをサンプルにおいて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構成する少なくとも20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またはその断片とでハイブリダイゼーション複合体が形成される条件下で、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するか否かを検出し、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。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。

【0026】

更に本発明は、(a)SEQ ID NO:23-44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:23-44からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と70%以上の配列同一性を有する天然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)乃至(d)のRNA等化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ポリヌクレオチド配列を有する標的ポリヌクレオチドをサンプルにおいて検出する方法を提供する。この方法は、(a)ポリメラーゼ連鎖反応増幅を用いて、前記標的ポリヌクレオチドまた

はその断片を増幅するステップと、(b)増幅された前記標的ポリヌクレオチドまたはその断片が存在するか否かを検出し、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。

【0027】

更に本発明は、(a)SEQ ID NO:1-22からなる一群から選択されたアミノ酸配列と、(b)SEQ ID NO:1-22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天然のアミノ酸配列と、(c)SEQ ID NO:1-22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:1-22と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効果的な量のポリペプチド及び好適な医薬用賦形剤を含む医薬組成物を提供する。一実施例では、SEQ ID NO:1-22からなる一群から選択されたアミノ酸配列を含む医薬組成物を提供する。更に、本発明は、患者にこの医薬組成物を投与することを含む、機能的RECAP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。

【0028】

更に本発明は、(a)SEQ ID NO:1-22からなる一群から選択されたアミノ酸配列と、(b)SEQ ID NO:1-22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天然のアミノ酸配列と、(c)SEQ ID NO:1-22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:1-22と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)こ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)この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、この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組成物を提供する。更なる別法では、本発明は、この医薬組成物の患者への投与を含む、機能的RECAP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。

【0029】

更に、本発明は、(a)SEQ ID NO:1-22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 - 22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天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1 - 22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 - 22と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)こ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)この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、この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組成物を提供する。更なる別法では、本発明は、この医薬組成物の患者への投与を含む、機能的RECAP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。

【0030】

更に本発明は、(a) SEQ ID NO:1 - 22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 - 22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天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1 - 22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 - 22と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ポリペプチドに特異的に結合する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)このポリペプチドを好適な条件下で少なくとも1つの化合物と結合させるステップと、(b)このポリペプチドとこの試験化合物との結合を検出して、このポリペプチドと特異的に結合する化合物を同定するステップとを含む。

【0031】

更に本発明は、(a) SEQ ID NO:1 - 22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 - 22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天然のアミノ酸配列と、(c) SEQ ID NO:1 - 22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 - 22と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ポリペプチドの活性を調節する化合物をスクリーニングする方法を提供する。このスクリーニング方法は、(a)このポリペプチドを、その活性が許容される条件下で少なくとも1つの化合物と結合させるステップと、(b)この試験化合物の存在下でのこのポリペプチドの活性を評価するステップと、(c)この試験化合物の存在下でのこのポリペプチドの活性と、この試験化合物の不在下でのこのポリペプチドの活性とを比較するステップとを含み、この試験化合物の存在下でのこのポリペプチドの活性の変化が、このポリペプチドの活性を調節する化合物の存在を示唆するという特徴を有する。

【0032】

更に本発明は、SEQ ID NO:23 - 44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化させ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)この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)この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。

【0033】

本発明はさらに、試験化合物の毒性を評価する方法を提供する。この方法は、(a)核酸を含む生体サンプルを前記試験化合物で処置するステップと、(b)処置した前記生体サンプルの核酸をプローブとハイブリダイズするステップと、(c)ハイブリダイゼーション複合体の収量を測定するステップと、(d)前記処置した生体サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体の収量を、未処置の生体サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体の収量とを比較するステップとを含み、前記処置した生体サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体の収量の差異が試験化合物の毒性を示唆する。この方法における前記プローブは、(1)SEQ ID NO:23 - 44からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と、(2)SEQ ID NO:23 - 44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70%の配列同一性を有する天然のポリヌクレオチド配列と、(3)前記(1)に相補的なポリヌクレオチド配列と、(4)前記(2)に相補的なポリヌクレオチド配列と、(5)前記(1)乃至(4)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ポリヌクレオチドの連続す

る少なくとも20個のヌクレオチドを含む。また、前記ハイブリダイゼーションは、前記プローブと前記生体サンプルの標的ポリヌクレオチドとの間で特異的なハイブリダイゼーション複合体が形成される条件下で行われる。また、前記標的ポリヌクレオチドが、(1)SEQ ID NO:23-44からなる一群から選択されたポリヌクレオチド配列と、(2)SEQ ID NO:23-44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70%の配列同一性を有する天然のポリヌクレオチド配列と、(3)前記(1)に相補的なポリヌクレオチド配列と、(4)前記(2)に相補的なポリヌクレオチド配列と、(5)前記(1)乃至(5)のRNA等価物とを含む。代替的に前記標的ポリヌクレオチドは前記ポリヌクレオチド配列の断片である。

【0034】

(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。

【0035】

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。

【0036】

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。従来の特許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。

【0037】

(定義)

用語「RECAP」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RECAPのアミノ酸配列を指す。

【0038】

用語「アゴニスト」は、RECAP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、RECAPに直接相互作用するか、或いはRECAPが関与する生物学的経路の成分と作用して、RECAP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。

【0039】

用語「アレル変異配列」は、RECAP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、天然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。

【0040】

RECAP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、RECAPと同じポリペプチド或いはRECAP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、RECAP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當或いは予期しないハイブリダイゼーション、並びにRECAP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RECAP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RECAP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。

【0041】

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」が天然のタンパク質分子の配列を指す場合、「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。

【0042】

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。

【0043】

用語「アンタゴニスト」は、RECAP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、RECAPに直接相互作用するか、或いはRECAPが関与する生物学的経路の成分と作用して、RECAP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。

【0044】

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。RECAP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。

【0045】

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。

【0046】

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（コーディング）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）などの修飾された骨格（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修飾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などの修飾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出することができる。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天然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。

【0047】

用語「生物学的に活性」は、天然分子の構造的、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」または「免疫原

性」は、天然或いは組換え体のRECAP、合成のRECAP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。

【0048】

用語「相補的」は、塩基対合によってアニールする2つの一本鎖核酸配列間の関係を指す。例えば、配列「5'AGT3'」が相補的な配列「3'TCA5'」と対をなす。

【0049】

「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。RECAP若しくはRECAP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。

【0050】

「コンセンサス配列」は、不要な塩基を分離するためにDNA配列の解析を繰り返し行い、XL-PCRキット（PE Biosystems, Foster City CA）を用いて5'及び/または3'の方向に伸長され、再度シーケンシングされた核酸配列、またはGEL VIEW 断片構築システム（GCG, Madison, WI）またはPhrap（University of Washington, Seattle WA）等の断片構築用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重複するcDNAやEST、またはゲノムDNA断片から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。

【0051】

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, Ser
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、シートや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。

【0052】

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。

【0053】

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。

【0054】

「検出可能な標識」は、測定可能な信号を生成し得る、ポリヌクレオチドやポリペプチドに共有結合或いは非共有結合するレポーター分子や酵素を指す。

【0055】

用語「断片」は、RECAPまたはRECAP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。

【0056】

SEQ ID NO:23 - 44の断片は、例えば、この断片を得たゲノム内の他の配列とは異なる、SEQ ID NO:23 - 44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:23 - 44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:23 - 44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:23 - 44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。

【0057】

「完全長」ポリヌクレオチド配列とは、少なくとも1つの翻訳開始コドン（例えばメチオニン）、それに続くオープンリーディングフレーム及び翻訳終止コドンを有する配列である。「完全長」ポリヌクレオチド配列は、「完全長」ポリペプチド配列をコードする。

【0058】

「相同性」は、2つ以上のポリヌクレオチド配列間または2つ以上のポリペプチド配列間の配列類似性である。この配列類似性は配列同一性と言い換えることができる。

【0059】

SEQ ID NO:1 - 22のある断片は、SEQ ID NO:23 - 44のある断片によってコードされる。SEQ ID NO:1 - 22のある断片は、特異的にSEQ ID NO:1 - 22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 - 22のある断片は、特異的にSEQ ID NO:1 - 22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 - 22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。

【0060】

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（サザンブロットニング或いはノーザンブロットニング法、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）に相互作用しなければならない。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。

【0061】

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。

【0062】

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、Kt uple=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間の「類似性のパーセント」としてCLUSTAL Vによって報告される。

【0063】

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/BLAS>

T/) 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、以下のようになる。

【 0 0 6 4 】

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。

【0065】

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。

【0066】

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。

【0067】

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。

【0068】

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 (Apr-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。

。

【0069】

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。

【0070】

「ヒト人工染色体 (HAC)」は、約6 kb (キロベース) ~ 10 MbのサイズのDNA配列を含み得る、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エレメントを含む直鎖状の小染色体である。

【0071】

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。

【0072】

「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相同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100 µg/mlのせん断して変性したサケ精子DNAが含まれる。

【0073】

一般に、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、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(T_m)より約5~20℃低く選択される。この T_m 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。 T_m 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, Plainville NY; 特に2巻の9章に記載されている。

【0074】

本発明のポリヌクレオチド間の高いストリンジェンシーのハイブリダイゼーションでは、約0.2×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0.1~2×SSCの範囲である。通常は、ブロッキング試薬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。このようなブロッキング試薬には、例えば、約100~200 µg/mlの切断され変性したサケ精子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。

【0075】

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、C₀tまたはR₀t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。

【0076】

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。

【0077】

「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。

【0078】

用語「マイクロアレイ」は、基質上の複数のポリヌクレオチド、ポリペプチドまたはその他の化合物の構成を指す。

【0079】

用語「エレメント」または「アレイエレメント」は、マイクロアレイ上に固有の指定された位置を有する、ポリヌクレオチド、ポリペプチドまたはその他の化合物を指す。

【0080】

用語「変調」は、RECAPの活性の変化を指す。例えば、変調によって、RECAP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。

【0081】

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し、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様物質である。

【0082】

「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。

【0083】

「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。

【0084】

RECAPの「翻訳後修飾」には、脂質化、グリコシル化、リン酸化、アセチル化、ラセミ化、蛋白分解性切断及びその他の当分野で既知の修飾を含まれ得る。これらのプロセスは、合成或いは生化学的に生じ得る。生化学的修飾は、RECAPの酵素環境に依存し、細胞の種類によって異なり得る。

【0085】

「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、RECAP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。

【0086】

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。

【0087】

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。

【0088】

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 MA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 library)」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法やシーケンシングプライマー、マイクロアレイエレメント、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。

【0089】

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。この人工の組み合わせは、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。

【0090】

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。

【0091】

「調節エレメント」は、通常は遺伝子の非翻訳領域に由来する核酸配列であり、エンハンサー、プロモーター、イントロン及び5'及び3'の非翻訳領域(UTR)を含む。調節エレメントは、転写や翻訳、またはRNAの安定性を調節する宿主またはウイルスタンパク質と相互作用する。

【0092】

「レポーター分子」は、核酸、アミノ酸または抗体の標識に用いられる化学的または生化学的な部分である。レポーター分子には、放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、発色剤、基質、補助因子、インヒビター、磁気粒子及びその他の当分野で既知の成分が含まれる。

【0093】

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。

【0094】

用語「サンプル」は、その最も広い意味で用いられている。RECAPをコードする核酸若しくはその断片、RECAP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。

【0095】

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。

【0096】

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%除去されたものであり、好ましくは約75%以上の除去、最も好ましくは90%以上除去されたものを指す。

【0097】

「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。

【0098】

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。

【0099】

「転写イメージ」は、所定条件下での所定時間における特定の細胞の種類または組織による集合的遺伝子発現のパターンを指す。

【0100】

「形質転換」とは、外来DNAが受容細胞に導入され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、バクテリオファージまたはウイルス感染、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。

【0101】

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、こ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。

【0102】

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、病態、病態の性向を示唆し得る。

【0103】

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。

【0104】

(発明)

本発明は、新規のヒト受容体及び関連タンパク質(RECAP)及びRECAPをコードするポリヌクレオチドの発見に基づいた、神経の疾患、自己免疫疾患/炎症性疾患を含む免疫異常、および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。

【0105】

表1は、RECAP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RECAP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。列5に示されているインサイト社クローンは、各RECAPのコンセンサスヌクレオチド配列の構築に用いられ、八

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。

【0106】

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の分析手法は、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。

【0107】

表3の列は、RECAP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:23 - 44を同定し、SEQ ID NO:23 - 44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、RECAPを発現する組織名、及びRECAPを発現する全組織におけるその割合を示す。列4は、RECAP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RECAP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。SEQ ID NO:11が造血/免疫組織で発現し、SEQ ID NO:14が生殖組織で発現することにも注目されたい。

【0108】

表4の各列は、RECAP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ライブラリに対応する組織の由来及び詳細を示す。

【0109】

本発明はまた、RECAPの変異体も含む。好適なRECAPの変異体は、RECAP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RECAP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、RECAP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、RECAPをコードするSEQ ID NO:23 - 44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:23 - 44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等価RNA配列を含む。

【0111】

本発明はまた、RECAP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、RECAP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:23 - 44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:23 - 44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、RECAP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RECAP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、天然のRECAP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】

RECAP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下で、天然のRECAPのヌクレオチド配列とハイブリダイズ可能であるが、非天然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RECAP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、RECAP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、天然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、RECAP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、RECAP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な条件下で、請求項に記載されたポリヌクレオチド配列、特に、SEQ ID NO:23 - 44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のシーケ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 (PE Biosystems, Foster City CA)、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 (PE Biosystems)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シーケンシングシステム (PE Biosystems)、MEGABACE 1000 DNAシーケンシングシステム (Molecular Dynamics, Sunnyvale CA)または当分野で周知の他の方法を用いてシーケンシングを行う。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、RECAPをコードする核酸配列を伸長し、プロモーターや調節エレメント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入れ子プライマー (nested primer) 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含量が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、シーケンシングまたは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、キャピラリーシーケンシングには、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、適切なソフトウェア(例えば、GENOTYPER及びSEQUENCE NAVIGATOR、PE Biosystems)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の小片のシーケンシングに特に適している。

【0120】

本発明の別の実施例では、RECAP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RECAP、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RECAP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RECAP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、コドン選択の変更、スプライスバリエーション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; Cramer, 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、RECAP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RECAP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、多数の天然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、RECAP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RECAP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、Creighton, T. (1984) *Proteins. Structures and Molecular Properties*, WH Freeman, New York NY, pp. 55-60; 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ー（PE Biosystems）を用いて達成し得る。更にRECAP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、天然のポリペプチド配列を有するポリペプチドまたは変異体ポリペプチドを作製す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ケンシングにより確認することができる(例えば、Creighton、前出、pp28-53を参照)。

【0125】

生物学的に活性なRECAPを発現させるために、RECAP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エレメントを含む。これらのエレメントには、ベクター及びRECAP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。このようなエレメントは、

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、RECAP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。RECAP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、RECAPをコードする配列、好適な転写及び翻訳調節エレメント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、RECAP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(前出のSambrook、前

出のAusubel, Van Heeke, G. and S.M. Schuster (1989) J. Biol. Chem. 264:5503-5509、Bitter, G.A.他 (1987) Methods Enzymol. 153:516-544; Scorer, C. A. ら (1994) Bio/Technology 12:18 1-184; Engelhard, E.K. 他 (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-3227、Sandig, V. 他 (1996) Hum. Gene Ther. 7:1937-1945、タカマツ, N. (1987) EMBOJ. 6:307-311、Coruzzi, G. 他 (1984) EMBOJ. 3:1671-1680、Broglie, R. 他 (1984) Science 224:838-843、Winter, J. 他 (1991) Results Probl. Cell Differ. 17:85-105、『マグローヒル科学技術年鑑』(The McGraw Hill Yearbook of Science and Technology) (1992) McGraw Hill New York NY, pp.191-196、Logan, J. and T. Shenk (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3655-3659、Harrington, J.J. 他 (1997) Nat. Genet. 15:345-355等を参照)。レトロウイルス、アデノウイルス、ヘルペスウイルスまたはワクシニアウイルス由来の発現ベクター、または種々の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器官、組織または細胞集団へ輸送することができる (Di Nicola, M. 他 (1998) Cancer Gen. Ther. 5(6):350-356、Yu, M. 他(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90(13):6340-6344、Buller, R.M. 他(1985) Nature 317(6040):813-815; McGregor, D.P. 他(1994) Mol. Immunol. 31(3):219-226、Verma, I.M. and N. Somia (1997) Nature 389:239-242等を参照)。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、RECAP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、RECAP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pSPORT 1 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RECAP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RECAPが必要な場合は、RECAP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】

RECAPの発現に酵母の発現系の使用が可能である。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 - 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RECAPの発現に使用可能である。RECAP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(例えば、Coruzzi, 前出、Broglie, 前出、Winter, 前出を参照)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) McGraw 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RECAP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RECAP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6 kb ~ 10 Mb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RECAP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、RECAP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確実に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^r又はapr^r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 (cRECAPsulfuron)、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)。アミノシアニン、緑色蛍光タンパク質 (GFP; Clontech)、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、RECAP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、RECAP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RECAP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、RECAPをコードする核酸配列を含み、RECAP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RECAP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。RECAP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, Humana 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。RECAP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、RECAP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】

RECAP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。RECAP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RECAP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「プレプロ」または「プロ」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類の宿主細胞 (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、RECAP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RECAPタンパク質が、RECAP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-myc、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、RECAP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、RECAP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RECAP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、³⁵S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】

本発明のRECAPまたはその断片を用いて、RECAPに特異結合する化合物をスクリーニングすることができる。少なくとも1つまたは複数の試験化合物を用いて、RECAPへの特異的な結合をスクリーニングすることが可能である。試験化合物の例には、抗体、オリゴヌクレオチド、タンパク質 (例えば受容体) または小分子が挙げられる。

【0143】

一実施例では、このように同定された化合物は、例えばリガンドやその断片などのRECAPの天然のリガンド、または天然の基質、構造的または機能的な擬態性または自然結合パートナーに密接に関連している (Coligan, J.E. 他 (1991) *Current Protocols in Immunology* 1(2)の5章等を参照)。同様に、化合物は、RECAPが結合する天然受容体、或いは例えばリガンド結合部位などの少なくとも受容

体のある断片に密接に関連し得る。何れの場合も、既知の技術を用いてこの化合物を合理的に設計することができる。一実施例では、このような化合物に対するスクリーニングには、分泌タンパク質或いは細胞膜上のタンパク質の何れか一方としてRECAPを発現する好適な細胞の作製が含まれる。好適な細胞には、哺乳動物、酵母、大腸菌からの細胞が含まれる。RECAPを発現する細胞またはRECAPを含有する細胞膜断片を試験化合物と接触させて、RECAPまたは化合物の何れかの結合、刺激または阻害を分析する。

【0144】

あるアッセイは、単に試験化合物をポリペプチドに実験的に結合させ、結合を、フルオロフォア、放射性同位体、酵素抱合体またはその他の検出可能な標識により検出することができる。例えば、このアッセイは、少なくとも1つの試験化合物を、溶液中の或いは固体支持物に固定されたRECAPと結合させるステップと、RECAPとこの化合物との結合を検出するステップを含み得る。別法では、標識された競合物の存在下での試験化合物の結合の検出及び測定を行うことができる。更にこのアッセイでは、細胞遊離剤、化学ライブラリまたは天然の生成混合物を用いて実施することができ、試験化合物は、溶液中で遊離させるか固体支持体に固定させる。

【0145】

本発明のRECAPまたはその断片を用いて、RECAPの活性を調整する化合物をスクリーニングすることが可能である。このような化合物には、アゴニスト、アンタゴニスト、或るいは部分的または逆アゴニスト等が含まれる。一実施例では、RECAPが少なくとも1つの試験化合物と結合する、RECAPの活性が許容される条件下でアッセイを実施し、試験化合物の存在下でのRECAPの活性が試験化合物不在下でのRECAPの活性と比較する。試験化合物の存在下でのRECAPの活性の変化は、RECAPの活性を調整する化合物の存在を示唆する。別法では、試験化合物をRECAPの活性に適した条件下でRECAPを含むin vitroまたは細胞遊離系と結合させてアッセイを実施する。これらアッセイの何れかにおいて、RECAPの活性を調整する試験化合物は間接的に結合することが可能であり、試験化合物と直接接触する必要がない。少なくとも1つから複数の試験化合物をスクリーニングすることができ

る。

【0146】

別の実施例では、胚性幹細胞（ES細胞）における相同組換えを用いて動物モデル系内で、RECAPまたはその哺乳動物相同体をコードするポリヌクレオチドを「ノックアウト」する。このような技術は当技術分野において周知であり、ヒト疾患動物モデルの作製に有用である（米国特許第5,175,383号及び第5,767,337号等を参照）。例えば129/SvJ細胞株等のマウスES細胞は初期のマウス胚に由来し、培地で増殖させることができる。このES細胞は、ネオマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子（neo: Capecchi, M.R. (1989) Science 244:1288-1292）等のマーカー遺伝子で破壊した目的の遺伝子を含むベクターで形質転換する。このベクターは、相同組換えにより宿主ゲノムの対応する領域に組み込まれる。別法では、Cre-loxP系を用いて相同組換えを行い、組織特異的または発生段階特異的に目的遺伝子をノックアウトする（Marth, J.D. (1996) Clin. Invest. 97:1999-2002; Wagner, K.U. 他 (1997) Nucleic Acids Res. 25:4323-4330）。形質転換したES細胞を同定し、例えばC57BL/6マウス系等から採取したマウス細胞胚盤胞に微量注入する。胚盤胞を偽妊娠メスに外科的に導入し、得られるキメラ子孫の遺伝形質を決め、これを交配させてヘテロ接合性系またはホモ接合性系を作製する。このようにして作製した遺伝子組換え動物は、潜在的な治療薬や毒性薬剤で検査することができる。

【0147】

RECAPをコードするポリヌクレオチドをin vitroでヒト胚盤胞由来のES細胞において操作することが可能である。ヒトES細胞は、内胚葉、中胚葉及び外胚葉の細胞の種類を含む少なくとも8つの別々の細胞系統に分化する可能性を有する。これらの細胞系統は、例えば神経細胞、造血系統及び心筋細胞に分化する（Thomson, J.A. 他 (1998) Science 282:1145-1147）。

【0148】

RECAPをコードするポリヌクレオチドを用いて、ヒト疾患をモデルとした「ノックイン」ヒト化動物（ブタ）または遺伝子組換え動物（マウスまたはラット）を作製することが可能である。ノックイン技術を用いて、RECAPをコードするポ

リヌクレオチドの或る領域を動物ES細胞に注入し、注入した配列を動物細胞ゲノムに組み込ませる。形質転換細胞を胞胚に注入し、胞胚を上記のように移植する。遺伝子組換え子孫または近交系について研究し、潜在的な医薬品を用いて処置し、ヒトの疾患の治療に関する情報を得る。別法では、例えばRECAPを乳汁内に分泌するなどRECAPを過剰発現する哺乳動物近交系は、便利なタンパク質源となり得る (Janne, J. 他 (1998) *Biotechnol. Annu. Rev.* 4:55-74)。

【0149】

(治療)

RECAPのある領域と受容体及び関連タンパク質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、RECAPの発現は、細胞増殖、癌、炎症/外傷、および神経の疾患に密接に関連する。従って、RECAPは、神経の疾患、自己免疫疾患/炎症性疾患を含む免疫異常、および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。RECAP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、RECAPの発現または活性を低下させることが望ましい。また、RECAP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、RECAPの発現または活性を増大させることが望ましい。

【0150】

従って、一実施例において、RECAP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RECAP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、このような疾患の例には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、パーキンソン病及びその他の錐体外路障害、ダウン症候群、筋萎縮性側索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 (cerebellor etinal 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、進行性核上性麻痺、皮質基底変性症、家族性前頭側頭痴呆とが含まれ、また自己免疫疾患 / 炎症性疾患を含む免疫異常が含まれ、その中には後天性免疫不全症候群 (AIDS)、ブルトン型伴性無ガンマロブリン血症、後天性免疫グロブリン血症 (CVI)、ディジョージ症候群 (胸腺形成不全)、胸腺異形成、IgA単独欠損症、重症複合免疫不全 (SCID)、血小板減少及び湿疹を伴った免疫不全 (ウイスコット アルドリッチ症候群)、チェディアック 東異常、慢性肉芽腫性疾患、遺伝性血管神経性浮腫、クッシング病に関連する免疫不全、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、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、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、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、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、体外循環や、ウイルス感染症及び細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、蠕虫の感染症や、リンパ腫及び白血病、骨髄腫を含む造血性癌、外傷が含まれ、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、頸部、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、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、子宮の癌が含まれる。

【0151】

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RECAP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、RECAP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。

【0152】

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RECAP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RECAPを含む医薬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。

【0153】

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RECAP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、RECAP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。

【0154】

更なる実施例では、RECAP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RECAP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、上記した神経の疾患、自己免疫疾患 / 炎症性疾患を含む免疫異常、および癌を含む細胞増殖異常が含まれる。一実施態様では、RECAP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RECAPを発現する細胞または組織に薬剤を運ぶターゲティング或いは運搬機構として間接的に用いられ得る。

【0155】

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RECAP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、RECAP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。

【0156】

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す得る。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。

【0157】

RECAP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RECAP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RECAPと特異的に結合するものを同定が可能である。RECAP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。

【0158】

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、RECAP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ール、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。

【0159】

RECAP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い。RECAP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。

【0160】

RECAP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)。

【0161】

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、RECAP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オタイプ組成の抗体は、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)。

【0162】

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）。

【0163】

RECAP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）。

【0164】

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、RECAP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RECAP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)。

【0165】

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、RECAPに対する抗体の親和性を評価する。親和性を結合定数 K_a で表すが、この K_a は、平衡状態の下でRECAP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RECAP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 K_a は、RECAP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RECAPエピトープに単一特異的なモノクローナル抗体医薬の K_a は、親和性の真の測定値を表す。 K_a 値が $10^9 \sim 10^{12} \text{ L/mol}$ の高親和性抗体医薬は、RECAP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 $10^6 \sim 10^7 \text{ L/mol}$ の低親和性抗体医薬は、RECAP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 (immunopurification) 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)。

【0166】

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 $1 \sim 2 \text{ mg/ml}$ の特異的な抗体、好ましくは $5 \sim 10 \text{ mg/ml}$ 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、RECAP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)。

【0167】

本発明の別の実施例では、RECAPをコードするポリヌクレオチド、またはその任意の断片や相補配列が、治療目的で使用することができる。ある実施態様では、RECAPをコードする遺伝子のコーディング領域や調節領域に相補的な配列やアンチセンス分子 (DNA及びRNA、修飾ヌクレオチド) を設計して遺伝子発現を変更することができる。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、RECAP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。

【0168】

治療に用いる場合、アンチセンス配列を好適な標的細胞に導入するのに好適な任意の遺伝子送達系を用いることができる。アンチセンス配列は、転写時に標的タンパク質をコードする細胞配列の少なくとも一部に相補的な配列を発現する発現プラスミドの形で細胞内に送達することができる (例えば、Slater, J.E. 他 (1998) *J. Allergy Clin. Immunol.* 102(3):469-475; and Scanlon, K.J. 他 (1995) 9(13):1288-1296. を参照)。また、アンチセンス配列は、例えばレトロウ

イルスやアデノ関連ウイルスベクター等のウイルスベクターを用いて細胞内に導入することもできる（例えば、Miller, A.D. (1990) *Blood* 76:271; Ausubel, 前出; Uckert, W. and W. Walther (1994) *Pharmacol. Ther.* 63(3):323-347を参照）。その他の遺伝送達機構には、リポソーム系、人工的なウイルスエンベロープ、及び当分野で周知のその他の系が含まれる（Rossi, J.J. (1995) *Br. Med. Bull.* 51(1):217-225; Boado, R.J.他 (1998) *J. Pharm. Sci.* 87(11):1308-1315; and Morris, M.C. 他 (1997) *Nucleic Acids Res.* 25(14):2730-2736.を参照）。

【0169】

本発明の別の実施例では、RECAPをコードするポリヌクレオチドを、体細胞若しくは生殖細胞の遺伝子治療に用いることが可能である。遺伝子治療は、(i) 遺伝子欠損症（例えば、X染色体連鎖遺伝（Cavazzana-Calvo, M. 他 (2000) *Science* 288:669-672）によって特徴づけられる重度の複合型免疫欠損（SCID）-X1）、遺伝性アデノシン - デアミナーゼ（ADA）欠損症（Blaese, R.M. 他 (1995) *Science* 270:475-480; Bordignon, C. 他 (1995) *Science* 270:470-475）に関連する重度の複合型免疫欠損、嚢胞性繊維症（Zabner, J. 他 (1993) *Cell* 75:207-216; Crystal, R.G. 他 (1995) *Hum. Gene Therapy* 6:643-666; Crystal, R.G. 他. (1995) *Hum. Gene Therapy* 6:667-703）、サラセミア（thalassamia）、家族性高コレステロール血症、第VIII因子若しくは第IX因子欠損による血友病（Crystal, 35 R.G. (1995) *Science* 270:404-410; Verma, I.M. and Somia. N. (1997) *Nature* 389:239-242）を治療したり、(ii) 条件的致死性遺伝子産物（例えば、細胞増殖の制御不能による癌の場合）を発現させたり、及び(iii) 細胞内の寄生虫（例えば、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）（Baltimore, D. (1988) *Nature* 335:395-396; Poeschla, E. 他 (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93:11395-11399）や、B型若しくはC型肝炎ウイルス（HBV、HCV）、*Candida albicans*及び*Paracoccidioides brasiliensis*等の真菌寄生虫、*Plasmodium falciparum*及び*Trypanosoma cruzi*等の原虫寄生体）に対する防御機能を有するタンパク質を発現させて行うことができる。RECAPの発現若しくは調節に必要な遺伝子の欠損が疾患を引き起こす場合、導入した細胞の好適な集団からRECAPを発現させて

、遺伝子欠損によって起こる症状の発現を緩和することが可能である。

【0170】

本発明の更なる実施例では、RECAPの欠損による疾患や異常症は、RECAPをコードする哺乳動物発現ベクターを作製して、これらのベクターを機械的手段によってRECAP欠損細胞に導入することによって治療する。in vivo或いはex vitroの細胞に用いる機械的な導入技術には、(i) 個々の細胞内へのDNAのマイクロインジェクション、(ii) 金粒子の打ち込み、(iii) リポソーム仲介性トランスフェクション、(iv) 受容体仲介性遺伝子導入、及び(v) DNAトランスポソン (Morgan, R.A. and W.F. Anderson (1993) Annu. Rev. Biochem. 62:191-217; Ivics, Z. (1997) Cell 91:501-510; Boulay, J-L. and H. Recipon (1998) Curr. Opin. Biotechnol. 9:445-450) の使用が含まれる。

【0171】

RECAPの発現に影響を及ぼし得る発現ベクターには、限定するものではないが、PCDNA 3.1、EPITAG、PRCCMV2、PREP、PVAXベクター (Invitrogen, Carlsbad CA)、PCMV-SCRIPT、PCMV-TAG、PEGSH/PERV (Stratagene, La Jolla CA)、PTET-OFF、PTET-ON、PTRE2、PTRE2-LUC、PTK-HYG (Clontech, Palo Alto CA) が含まれる。RECAPを発現させるために、(i) 恒常的に活性なプロモーター (例えば、サイトメガロウイルス (CMV)、ラウス肉腫ウイルス (RSV)、SV40ウイルス、チミジンキナーゼ (TK)、若しくは - アクチン遺伝子等)、(ii) 誘導性プロモーター (例えば、市販されているT-REXプラスミド (Invitrogen) に含まれている、テトラサイクリン調節性プロモーター (Gossen, M. and H. Bujard (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:5547-5551; Gossen, M. 他 (1995) Science 268:1766-1769; Rossi, F.M.V. and H.M. Blau (1998) Curr. Opin. Biotechnol. 9:451-456)、エクジソン誘導性プロモーター (市販されているプラスミドPVGRXR及びPINDに含まれている: Invitrogen)、FK506/ラパマイシン誘導性プロモーター、またはRU486/ミフェプリストーン誘導性プロモーター (Rossi, F.M.V. and H.M. Blau, 前出)、または(iii) 正常な個体に由来するRECAPをコードする内在性遺伝子の天然のプロモーター若しくは組織特異的プロモーターを用いることが可能である。

【0172】

市販のリポソーム形質転換キット（例えば、Invitrogenが販売しているPERFECT LIPID及びTRANSFECTION KIT）を用いれば、当業者は経験にそれほど頼らないでもポリヌクレオチドを培養中の標的細胞に導入することが可能である。別法では、リン酸カルシウム法（Graham, F.L. and A.J. Eb (1973) *Virology* 52:456-467）若しくは電気穿孔法（Neumann, B. 他 (1982) *EMBO J.* 1:841-845）を用いて形質転換を行う。初代細胞にDNAを導入するためには、これらの標準的な哺乳動物トランスフェクションプロトコルを変更する必要がある。

【0173】

本発明の別の実施例では、RECAPの発現に関連する遺伝子欠損によって起こる疾患や異常症は、(i) レトロウイルス末端反復配列（LTR）プロモーター若しくは独立したプロモーターのコントロール下でRECAPをコードするポリヌクレオチドと、(ii) 好適なRNAパッケージングシグナルと、(iii) 追加のレトロウイルス・シス作用性RNA配列及び効率的なベクターの増殖に必要なコーディング配列を伴うRev応答性エレメント（RRE）とからなるレトロウイルスベクターを作製して治療することができる。レトロウイルスベクター（例えば、PFB及びPFBNE0）はStratagene社から入手可能であり、公表データ（Riviere, I. 他. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92:6733-6737）に基づいている。上記データを引用することをもって本明細書の一部とする。このベクターは、VSVg（Armentano, D. 他 (1987) *J. Virol.* 61:1647-1650; Bender, M.A. 他 (1987) *J. Virol.* 61:1639-1646; Adam, M.A. and A.D. Miller (1988) *J. Virol.* 62:3802-3806; Dull, T. 他 (1998) *J. Virol.* 72:8463-8471; Zufferey, R. 他 (1998) *J. Virol.* 72:9873-9880）等の乱交雑エンベロープタンパク質若しくは標的細胞上の受容体に対する親和性を有するエンベロープ遺伝子を発現する好適なベクター産生細胞系（VPCL）において増殖される。RIGGに付与された米国特許第5,910,434号（「Method for obtaining retrovirus packaging cell lines producing high transducing efficiency retroviral supernatant」）において、レトロウイルスパッケージング細胞系を得るための方法が開示されており、引用することをもって本明細書の一部とする。レトロウイルスベクターの増殖、ある細胞集団（例

例えば、CD4⁺T細胞)の形質導入、並びに形質導入した細胞を患者に戻す方法は、遺伝子治療の分野では周知であり、多数の文献に記載されている(Ranga, U. 他 (1997) J. Virol. 71:7020-7029; Bauer, G. 他 (1997) Blood 89:2259-2267; Bonyhadi, M.L. (1997) J. Virol. 71:4707-4716; Ranga, U. 他 (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95:1201-1206; Su, L. (1997) Blood 89:2283-2290)。

【0174】

別法では、アデノウイルス系遺伝子治療の送達系を用いて、RECAPの発現に関連する1或いは複数の遺伝子異常を有する細胞にRECAPをコードするポリヌクレオチドを送達する。アデノウイルス系ベクターの作製及びパッケージングは当分野では周知である。複製欠損型アデノウイルスベクターは、免疫調節タンパク質をコードする遺伝子を脾臓の無損傷の脾島の中に導入するために可変性であることが証明された(Csete, M.E. 他 (1995) Transplantation 27:263-268)。使用できる可能性のあるアデノウイルスベクターが、米国特許第5,707,618号(「Adenovirus vectors for gene therapy」)に記載されており、引用することをもって本明細書の一部とする。アデノウイルスベクターについてはまた、Antinozzi, P.A. 他 (1999) Annu. Rev. Nutr. 19:511-544; and Verma, I.M. and N. Soymia (1997) Nature 18:389:239-242を参照し、引用することをもって本明細書の一部とする。

【0175】

別法では、ヘルペス系遺伝子治療の送達系を用いて、RECAPの発現に関連する1或いは複数の遺伝子異常を有する標的細胞にRECAPをコードするポリヌクレオチドを送達する。単純疱疹ウイルス(HSV)系のベクターは、HSV親和性の中枢神経細胞にRECAPを導入する際に特に重要である。ヘルペス系ベクターの作製及びパッケージングは当分野では周知である。複製適格性の単純疱疹ウイルス(HSV)I型系のベクターは、霊長類の眼にレポーター遺伝子を送達するために用いられてきた(Liu, X. 他 (1999) Exp. Eye Res. 169:385-395)。HSV-1ウイルスベクターの作製は、DeLucalに付与された米国特許第5,804,413号(Herpes simplex virus swains for gene transfer)に記載されており、引用することをもって本明

細書の一部とする。米国特許第5,804,413号には、ヒト遺伝子治療を含む目的のために、好適なプロモーターのコントロールの下で、細胞に導入される少なくとも1つの内在性遺伝子を含むゲノムからなる組換えHSV d92についての記載がある。また上記特許には、ICP4、ICP27及びICP22のために除去される組換えHSV株の作製及び使用方法が開示されている。HSVベクターについては、Goins, W.F. 他 (1999) *J. Virol.* 73:519-532 and Xu, H. 他 (1994) *Dev. Biol.* 163:152-161を参照し、引用することをもって本明細書の一部とする。クローニングされたヘルペスウイルス配列の操作や、巨大ヘルペスウイルスのゲノムの異なった部分を含む多数のプラスミドをトランスフェクトした後の組換えウイルスの継代、ヘルペスウイルスの成長及び増殖、並びにヘルペスウイルスの細胞への感染は当分野で周知の技術である。

【0176】

別法では、ウイルス（正の一本鎖RNAウイルス）ベクターを用いてRECAPをコードするポリヌクレオチドを標的細胞に送達する。プロトタイプのウイルスであるセムリキ森林熱ウイルス（Semliki Forest Virus, SFV）の生物学的な研究が広範に行われ、遺伝子伝達ベクター（gene transfer vector）がSFVゲノムに基づいていることが分かった（Garoff, H. and K.-J. Li (1998) *Cun. Opin. Biotech.* 9:464-469）。ウイルスRNAの複製中に、通常はウイルスカプシドタンパク質をコードするサブゲノムRNAが作り出される。このサブゲノムRNAが完全長のゲノムRNAより高いレベルで複製されるため、酵素活性（例えばプロテアーゼ及びポリメラーゼ）を有するウイルスタンパク質に対してカプシドタンパク質が過剰に産生される。同様に、RECAPをコードする配列をウイルスゲノムのカプシドをコードする領域に導入することによって、ベクター導入細胞において多数のRECAPをコードするRNAが産生され、高いレベルでRECAPが合成される。通常はウイルス感染は2～3日以内の細胞溶解に関係するが、シンドビスウイルス（SIN）の変異体を有するハムスターの正常な腎細胞（BHK-21）の持続的な感染を確立する能力は、ウイルスの溶解性の複製が遺伝子治療に適用できるように好適に変更することが可能であることを示唆している（Dryga, S.A. 他. (1997) *Virology* 228 :74-83）。様々な宿主にウイルスを導入できることから、様々な

タイプの細胞にRECAPを導入することができる。ある集団における細胞のサブセットの特定の形質導入には、形質導入する前に細胞のソーティングを必要とする場合がある。ウイルスの感染性cDNAクローンの操作、ウイルスcDNA及びRNAのトランスフェクション、並びにウイルスの感染方法は当分野で周知である。

【0177】

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て、遺伝子の発現を阻害することが可能である。同様に、三重らせん塩基対合法を用いて阻害することができる。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 Immunologic Approaches, 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。

【0178】

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、RECAP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。

【0179】

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、標的分子をスキャン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。

【0180】

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RECAP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。

【0181】

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、キューエオシン (queosine)、及びワイプトシン (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。

【0182】

本発明の更なる実施例は、RECAPをコードするポリヌクレオチドの発現の変化に有効な化合物をスクリーニングする方法を含む。特定のポリヌクレオチドの発現の変化に有効な化合物には、限定するものではないが、特定のポリヌクレオチド配列と相互作用可能な非高分子化学物質、オリゴヌクレオチド、アンチセンスオリゴヌクレオチド、三重らせん形成オリゴヌクレオチド、転写因子やその他のポリペプチド転写調節因子が含まれる。有効な化合物は、ポリヌクレオチド発現のインヒビター或いはエンハンサーとして作用し、ポリヌクレオチドの発現を変

化させ得る。従って、RECAPの発現または活性の増加に関連する疾患の治療においては、RECAPをコードするポリヌクレオチドの発現を特異的に阻害する化合物が治療上有用であり、RECAP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、RECAPをコードするポリヌクレオチドの発現を特異的に促進する化合物が治療上有用であり得る。

【0183】

特定のポリヌクレオチドの発現の変化の有効性を調べるために、少なくとも1個から複数個の試験化合物をスクリーニングすることができる。試験化合物は、有効な化合物の化学修飾を含む当分野で周知の任意の方法で得ることができる。このような方法は、ポリヌクレオチドの発現を変化させる場合、一般に市販されている或いは専売の天然または非天然の化合物ライブラリから選択する場合、標的ポリヌクレオチドの化学的及び/または構造的特性に基づいて化合物を合理的にデザインする場合、更に組合せ的にまたは無作為に生成した化合物のライブラリから選択する場合に有効である。RECAPをコードするポリヌクレオチドを含むサンプルは、少なくとも1つの試験化合物に曝露して得る。サンプルには、例えば無傷細胞、透過化処理した細胞、*in vitro*細胞遊離系または再構成生化学系が含まれ得る。RECAPをコードするポリヌクレオチドの発現における変化は、当分野で周知の任意の方法でアッセイする。通常、RECAPをコードするポリヌクレオチドの配列に相補的なヌクレオチド配列を有するプローブを用いたハイブリダイゼーションにより、特定のヌクレオチドの発現を検出する。ハイブリダイゼーションの収量を定量し、その値が1 或いは複数の試験化合物に曝露される及び曝露されないポリヌクレオチドの発現の比較における基準となり得る。試験化合物に曝露されるポリヌクレオチドの発現の変化が検出される場合は、ポリヌクレオチドの発現の変化に試験化合物が有効であることを示している。特定のポリヌクレオチドの発現の変化に有効な化合物を調べるために、例えば *Schizosaccharomyces pombe* 遺伝子発現系 (Atkins, D. 他 (1999) 米国特許第5,932,435号、Arndt, G.M. 他 (2000) *Nucleic Acids Res.* 28:E15) または HeLa 細胞等のヒト細胞株 (Clarke, M.L. 他 (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 268:8-13) を用いてスクリーニングする。本発明の特定の実施例は、特異的ポリヌクレオチド配列に

対するアンチセンス活性を調べるための、各オリゴヌクレオチド（デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、ペプチド核酸、及び修飾オリゴヌクレオチド）の組み合わせライブラリのスクリーニングを含む（Bruice, T.W. 他（1997）米国特許第5,686,242号、Bruice, T.W. 他（2000）米国特許第6,022,691号）。

【0184】

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 vitro、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）。

【0185】

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。

【0186】

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。このような医薬組成物は、RECAP、RECAPの抗体、擬態、アゴニスト、アンタゴニスト、又はRECAP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。

【0187】

本発明に用いられる医薬組成物は、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。

【0188】

肺投与用の医薬組成物は、液状または乾燥粉末状に調製することができる。このような医薬組成物は通常、患者が吸入する直前にエアロゾル化する。小分子（例えば、従来の低分子量有機薬剤）の場合には、速効製剤のエアロゾル輸送が当分野で周知である。高分子（例えばより大きなペプチドやタンパク質）の場合には、肺の肺胞領域を介する肺輸送の技術が近年向上したため、インスリン等の薬剤を実際に血中に輸送することが可能となった（Patton, J.S. 他, 米国特許第5,997,848号等を参照）。肺輸送は、針注射を用いなくて投与できるという点で優れており、潜在的に有毒な浸透エンハンサーが必要でなくなる。

【0189】

本発明に用いる好適な医薬組成物には、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、十分に自身の能力で効果的な服用量を決めることができる。

【0190】

医薬組成物の特殊な形状は、RECAPまたはその断片を含む高分子を直接細胞内に輸送するべく調製される。例えば、細胞不透過性高分子を含むリポソーム製剤は、細胞融合及び高分子の細胞内輸送を促進し得る。別法では、RECAPまたはその断片をHIV Tat-1タンパク質の陽イオンN末端部に結合することもできる。このようにして作製された融合タンパク質は、マウスモデル系の脳を含む全ての組織の細胞に形質導入されることが確認されている（Schwarze, S.R. 他（1999）*Science* 285:1569-1572）。

【0191】

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、サル、また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。

【0192】

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RECAP又はその断片、RECAPの抗体、RECAP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、ED₅₀（服用に対して集団の50%に医薬的效果がある用量）またはLD₅₀（服用に対して集団の50%に致命的である用量）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、LD₅₀/ED₅₀と示すことができる。高い治療指数を示す医薬組成物が望ましい。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、ED₅₀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。

【0193】

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。

【0194】

通常の薬用量は投与の経路によって異なるが、約0.1~100,000 µg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。

【0195】

(診断)

別の実施例では、RECAPに特異的に結合する抗体が、RECAPの発現によって特徴付けられる疾患の診断、またはRECAPやRECAP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。RECAP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RECAP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。

【 0 1 9 6 】

RECAP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RECAP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RECAP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RECAP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RECAP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。

【 0 1 9 7 】

別の実施例によれば、RECAP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RECAP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、RECAPの存在の有無、更に過剰な発現を調べ、治療中のRECAP値の調節を監視する。

【 0 1 9 8 】

ある実施形態では、RECAP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、RECAP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RECAP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を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。

【0199】

プローブはまた、関連する配列の検出に利用され、RECAP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:23-44の配列、或いはRECAP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。

【0200】

RECAP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、RECAP及びRECAP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³²P或いは³⁵S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。

【0201】

RECAPをコードするポリヌクレオチド配列を用いて、RECAP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、このような疾患の例には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、パーキンソン病及びその他の錐体外路障害、ダウン症候群、筋萎縮性側索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、及びトゥレット病、進行性核上性麻痺、皮質基底変性症、家族性前頭側頭痴呆とが含まれ、また自己免疫疾患/炎症性疾患を含む免疫異常が含まれ、その中には後天性免疫不全症候群 (AIDS)、ブルトン型伴性無ガンマロブリン血症、後天性免疫グロブリン血症 (CVI)、ディジョージ症候群 (胸腺形成不全)、胸腺異形成、IgA単独欠損症、重症複合免疫不全 (SCID)、血小板減少及び湿疹を伴った免疫不全 (ウイスコット アルドリッチ症候群)、チェディアック 東異常、慢性肉芽腫性疾患、遺伝性血管神経性浮腫、クッシング病に関連する免疫不全、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、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的リンパ球減少症、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、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、腓炎、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、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、体外循環や、ウイルス感染症及び細菌感染症、真菌感染症、寄生虫感染症、原虫感染症、蠕虫の感染症や、リンパ腫及び白血病、骨髄腫を含む造血性癌、外傷が含まれ、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、頸部、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、唾液腺、皮膚、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺、子宮の癌が含まれる。RECAP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、ドットプロット法、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RECAP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。

【0202】

ある実施態様では、RECAP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。RECAP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RECAP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。

【0203】

RECAP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、RECAP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かを決定する。

【0204】

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。

【0205】

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。

【0206】

RECAP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RECAPをコードするポリヌクレオチドの断片、或いはRECAP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。

【0207】

或る実施態様において、RECAPをコードするポリヌクレオチド配列由来のオリ

ゴヌクレオチドプライマーを用いて、一塩基多型 (SNP) を検出し得る。SNPは、ヒトの先天性または後天性遺伝病の原因となる場合が多いヌクレオチドの置換、挿入及び欠失である。限定するものではないが、SNPの検出方法には、一本鎖立体構造多型 (SSCP) 及び蛍光SSCP (fSSCP) 法が含まれる。SSCPでは、RECAPをコードするポリヌクレオチド配列由来のオリゴヌクレオチドプライマーを用いたポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) でDNAを増幅する。このDNAは、例えば病変或いは正常な組織、生検サンプル、体液等に由来し得る。このDNA内のSNPは、一本鎖形状のPCR産物の2次及び3次構造に差異を生じさせる。この差異は非変性ゲル中でのゲル電気泳動法を用いて検出可能である。fSSCPでは、オリゴヌクレオチドプライマーを蛍光標識することによって、DNAシーケンシング装置などのハイスループット機器でアンプリマー (amplicon) の検出をすることが可能になる。更に、インシリコSNP (in silico SNP : isSNP) と呼ばれる配列データベース分析法は、共通のコンセンサス配列の構築に用いられる個々の重複するDNA断片の配列を比較することによって、多型を同定することができる。これらのコンピュータベースの方法は、DNA配列クロマトグラムの自動分析及び統計モデルを用いたシーケンシングエラーや研究室でのDNAの調整に起因する配列のばらつきを排除する。別法では、例えばハイスループットのMASSARRAYシステム (Sequenom, Inc., San Diego CA) を用いた質量分析によりSNPを検出し、特徴付ける。

【0208】

RECAP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、目的のオリゴマーやポリヌクレオチド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。

【0209】

更に別の実施例では、本明細書に記載した任意のポリヌクレオチド配列に由来するオリゴヌクレオチドまたはより長い断片を、マイクロアレイにおける標的と

して用いることができる。マイクロアレイを転写イメージング技術に用いて、多数の遺伝子の相対発現レベルを同時にモニタリングすることができる。これについては、Seilhamer, J.J.他に付与された米国特許第5,840,484号(名称「Comparative Gene Transcript Analysis」)に記載されており、この引用を以って本明細書の一部とする。マイクロアレイはまた、遺伝子変異、突然変異及び多型の同定に用いることができる。この情報を用いて、遺伝子機能を決定し、疾患の遺伝的根拠を解明し、疾患を診断し、遺伝子発現に関連する疾病の進行/後退をモニタリングし、疾患の治療における治療薬の開発や活性のモニタリングを行うことができる。特に、患者にとって最適かつ有効な治療法を選択するために、この情報を用いて患者の薬理ゲノムプロファイルを作成することができる。例えば、患者の薬理ゲノムプロファイルに基づいて、患者に対して極めて効果的でありながら副作用を殆ど示さない治療薬を選択することができる。

【0210】

別の実施例では、RECAPに特異的な抗体、RECAPまたはその断片をマイクロアレイ上でエレメントとして用いることができる。マイクロアレイを用いて、上記のようにタンパク質間相互作用、薬剤-標的相互作用及び遺伝子発現プロファイルをモニタリング及び測定することが可能である。

【0211】

或る実施例は、或る組織または細胞型の転写イメージを生成する本発明のポリヌクレオチドの使用に関連する。転写イメージは、特定の組織または細胞型により遺伝子発現の包括的パターンを表す。包括的遺伝子発現パターンは、所定の条件下で所定の時間に発現した遺伝子の数及び相対存在量を定量することにより分析される(Seilliamer 他、米国特許第5,840,484号の"Comparative Gene Transcript Analysis"を参照。この特許に言及することを以って本明細書の一部とする)。従って、特定の組織または細胞型の転写物全体または逆転写物全体に本発明のポリヌクレオチドまたはその相補配列をハイブリダイズすることにより、転写イメージが生成され得る。或る実施例では、本発明のポリヌクレオチドまたはその相補配列がマイクロアレイ上に複数のエレメントのサブセットを構成するハイスループット型でハイブリダイゼーションさせる。結果として得られる転写イ

メージは、遺伝子活性のプロフィールとなり得る。

【0212】

転写イメージは、組織、細胞株、生検サンプル、またはその他の生体サンプルから単離した転写物を用いて生成し得る。従って、転写イメージは、組織または生検サンプルの場合にはin vivo、または細胞株の場合にはin vitroにおける遺伝子発現を反映する。

【0213】

本発明のポリヌクレオチドの発現プロフィールを示す転写イメージはまた、合成化合物または天然化合物の毒性試験のみならず、in vitroモデル系及び薬剤の前臨床評価に関連して使用され得る。全ての化合物は、作用及び毒性の機構を示唆する、頻繁に分子フィンガープリント若しくは毒性シグネチャと称されるような特徴的な遺伝子発現パターンを引き起こす (Nuwaysir, E.F. 他 (1999) Mol. Carcinog. 24:15 3-159、Steiner, S. and N.L. Anderson (2000) Toxicol. Lett. 112-113:467-471、また言及することを以って本明細書の一部とする)。試験化合物が、毒性を有する既知の化合物のシグネチャと同一のシグネチャを有する場合には、毒性特性を共有している可能性が高い。フィンガープリンまたはシグネチャが、より多くの遺伝子及び遺伝子ファミリーからの発現情報を含んでいれば、より有用かつ正確になる。理想としては、発現のゲノム全域にわたって測定し、最高品質のシグネチャを提供することである。任意の試験化合物によっても発現が変化しない遺伝子も同様に重要である。それは、これらの遺伝子の発現レベルを用いて残りの発現データを標準化することができるためである。標準化処置は、異なる化合物で処理した後の発現データの比較に有用である。毒性シグネチャのエレメントへの遺伝子機能を割り当てることは毒性機構の解明に役立つが、毒性の予測につながるシグネチャの統計的な一致には遺伝子機能の知識は必要ではない (例えば2000年2月29日にNational Institute of Environmental Health Sciencesより発行されたPress Release 00-02を参照されたい。これについては<http://www.niehs.nih.gov/oc/news/toxchip.htm>で入手可能である)。従って、毒性シグネチャを用いる毒性スクリーニングにおいて、全ての発現した遺伝子配列を含めることは重要でありまた望ましいことである。

【0214】

或る実施例では、試験化合物の毒性は、核酸を含有する生体サンプルをその試験化合物で処置して評価する。処置した生体サンプル中で発現した核酸は、本発明のポリヌクレオチドに特異的な1若しくは複数のプローブでハイブリダイズさせ、それによって本発明のポリヌクレオチドに対応する転写レベルを定量することができる。処理した生体サンプル中の転写レベルを、非処理生体サンプル中のレベルと比較する。両サンプルの転写レベルの差が、処理されたサンプル中で試験化合物が引き起こす毒性反応を示唆する。

【0215】

別の実施例は、本発明のポリペプチド配列を用いて組織または細胞型のプロテオームを分析することに関連する。「プロテオーム」という用語は、特定のある組織または細胞型におけるタンパク質発現の包括的パターンを指す。プロテオームを構成する各タンパク質は、更に個々に分析することができる。プロテオーム発現パターン即ちプロフィールは、所定の条件下で所定の時間に発現したタンパク質の数及びそれらの相対的な存在量を定量することにより分析する。従って、ある細胞のプロテオームのプロフィールは、特定の組織または細胞型のポリペプチドを分離及び分析することにより作成し得る。或る実施例では、このような分離は2次元ゲル電気泳動によって行う。この2次元ゲル電気泳動法では、まず、1次元の等電点電気泳動によりサンプルからタンパク質を分離し、次に、2次元のドデシル硫酸ナトリウムスラブゲル電気泳動により分子量に従って分離する(前出のSteiner and Anderson)。これらのタンパク質は、通常クーマシーブルーまたはシルバーまたは蛍光染色などの染色剤を用いてゲルを染色して、分散した個別の位置にあるスポットとしてゲル中で可視化される。各タンパク質スポットの光学密度は、通常サンプル中のタンパク質レベルに比例する。異なるサンプル、例えば試験化合物または治療薬で処置済みまたは未処置のいずれかの生体サンプルから得られる等位置にあるタンパク質スポットの光学密度を比較し、処置に関連するタンパク質スポット密度の変化を調べる。スポット内のタンパク質は、例えば化学的または酵素的に切断した後、質量分析する標準的な方法を用いて部分的にシーケンシングする。スポット内のタンパク質の同一性は、好適には少

なくとも5個の連続するアミノ酸残基であるその部分的な配列を、本発明のポリペプチド配列と比較することにより決定し得る。場合によっては、決定的なタンパク質同定のための更なる配列が得られる。

【0216】

プロテオームのプロフィールは、RECAPに特異的な抗体を用いてRECAP発現レベルを定量することによっても作成可能である。或る実施例では、マイクロアレイ上のエレメントとして抗体を用い、マイクロアレイをサンプルに曝露して各アレイエレメントへのタンパク質結合レベルを検出することによりタンパク質発現レベルを定量する(Lueking, A. ら. (1999) *Anal. Biochem.* 270:103-111、Mendoza, L.G. ら. (1999) *Biotechniques* 27:778-788)。検出は当分野で既知の様々な方法で行うことができ、例えば、チオール反応性またはアミノ反応性蛍光化合物を用いてサンプル中のタンパク質を反応させ、各アレイエレメントにおける蛍光結合の量を検出し得る。

【0217】

プロテオームレベルでの毒性シグネチャも中毒学的スクリーニングに有用であり、転写レベルでの毒性シグネチャと並行して分析するべきである。或る組織における或るタンパク質では、転写物の存在量とタンパク質の存在量との相関性が低いことがあるため(Anderson, N.L. and J. Seilhamer (1997) *Electrophoresis* 18:533-537)、プロテオーム毒性シグネチャは、転写イメージにはそれ程影響しないがプロテオームのプロフィールを変化させる化合物の分析において有用たり得る。更に、体液中での転写の分析は、mRNAが急速に分解するため困難である。しがたがって、このような場合にはプロテオームのプロフィール作成はより信頼でき、情報価値がある。

【0218】

別の実施例では、試験化合物の毒性は、タンパク質を含む生体サンプルをその試験化合物で処置して評価する。処置された生体サンプル中で発現したタンパク質を分離して、各タンパク質の量が定量できるようにする。各タンパク質の量を、未処置生体サンプル中の対応するタンパク質の量と比較する。両サンプル中のタンパク質の量の差は、処置されたサンプル中の試験化合物に対する毒性反応を

示唆する。個々のタンパク質は、それらのアミノ酸残基をシーケンシングし、これらの部分配列を本発明のポリペプチドと比較することで同定する。

【0219】

別の実施例では、試験化合物の毒性は、タンパク質を含む生体サンプルをその試験化合物で処置することにより評価する。生体サンプルから得たタンパク質を、本発明のポリペプチドに特異的な抗体と共にインキュベートする。その抗体により認識されたタンパク質の量を定量する。処置された生体サンプル中のタンパク質の量を、未処置生体サンプル中のタンパク質の量と比較する。両サンプルのタンパク質量の差が、処置サンプル中の試験化合物に対する毒性反応を示唆する。

【0220】

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W095/251116; Shalon, D.他 (1995) PCT出願番号W095/35505; 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)。様々なタイプのマイクロアレイが周知であり、詳細については、DNA Microarrays: A Practical Approach, M. Schena, ed. (1999) Oxford University Press, Londonに記載されている。また、この文献を引用することを以って本明細書の一部とする。

【0221】

本発明の別の実施例ではまた、RECAPをコードする核酸配列を用いて、天然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作製することが可能である。コーディング配列または非コーディング配列の何れかを用いることができるが、或る例では、コーディング配列より非コード配列が好ましい。例えば、多重遺伝子ファミリーのメンバー間にコーディング配列が保存されていることにより、染色体マッピング時に望ましくない交差ハイブリダイゼーションが生じる可能性がある。この配列は、特定の染色体、染色体の特定領域または人工の染色体、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産物、或いは単一染色体cDNAライブラリに対してマッピングされる (Harrington, J.J. ら (1997) Nat Genet. 15:345-355、Price, C.M. (1993) Blood Rev. 7:127-134、Trask, B.J. (1991) Trends Genet. 7:149-154等を参照)。一度マッピングすると、本発明の核酸配列を用いて、例えば病状の遺伝と特定の染色体領域やまたは制限断片長多型 (RFLP) の遺伝とが相関するような遺伝子連鎖地図を作成可能である (Lander, E.S. and D. Botstein (1986) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:7353-7357を参照)。

【0222】

in situ蛍光ハイブリダイゼーション (FISH) は、他の物理的及び遺伝子地図データと相関し得る (例えば、Heinz-Ulrich, 他による(1995) in Meyers, 前出, pp. 965-968を参照)。遺伝子地図データの例は、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。物理的な染色体地図上のRECAP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連するDNA領域の決定に役立つため、更なる位置を決定するクローニングが行われる。

【0223】

染色体標本のin situ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、遺伝子地図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に遺伝子を配置させることにより、たとえ正確なヒト染色体の位置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場合が多い。この情報は、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がある。疾患や症候群に關与する1つ或いは複数の遺伝子の位置が、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。

【0224】

本発明の別の実施例では、RECAP、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。RECAP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。

【0225】

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 W084/03564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、RECAP、或いはその断片と反応してから洗浄される。次に、結合されたRECAPが、当分野で周知の方法で検出される。精製されたRECAP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。

【0226】

別の実施例では、RECAPと結合可能な中和抗体がRECAP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、RECAP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。

【0227】

別の実施例では、発展途上の分子生物学技術にRECAP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。

【0228】

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。

【0229】

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、特に米国特許出願番号60/145,232、60/158,578、60/165,192に言及することをもって本明細書の一部とする。

【0230】

(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单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によって、或い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。

【0231】

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。

【0232】

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)、pINCY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-BlueMRF、SOLR、またはLife Technologies社のDH5 またはDH10B、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。

【0233】

2 cDNAクローンの単離

上記実施例1で記載したように得たプラスミドは、UNIZAPベクターシステム(Stratagene)或いは細胞溶解を利用したin vivo切除によって宿主細胞から回収した。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。

【0234】

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。

【0235】

3 シークエンシング及び分析

実施例2に記載したようにプラスミドにおいて回収したインサイト社cDNAのシークエンシング方法は、以下の通りである。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 (PE Biosystems) 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(PE Biosystems)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(PE Biosystems)、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。

【0236】

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同源性が高くなる)。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。

【0237】

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、Edy, S.R. (1996) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 6:361-365を参照)。

【0238】

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:23 - 44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。

【0239】

4 ポリヌクレオチド発現の分析

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)。

【0240】

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cDNA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、

【0241】

【数1】

(BLAST スコア×配列一致率)

5 × (長さ(配列1), 長さ(配列2))の最小値

【0242】

として定義される積スコアである。積スコアは、0 ~ 100の標準化された値であり、以下のように求める。BLASTスコアにヌクレオチド配列の一致率を乗じ、その積を2つの配列の短い方の長さの5倍で除する。高スコアのセグメントの対(HSP)において一致する各塩基に+5のスコアを割り当て、各不適性塩基対に-4を割り当てることにより、BLASTスコアを計算する。2つの配列は、2以上のHSPを共有し得る(ギャップにより離隔される)。2以上のHSPがある場合には、最高BLASTスコアの塩基対を用いて積スコアを計算する。積スコアは、BLASTアラインメントの断片的重複と質とのバランスを表す。例えば積スコア100は、比較した2つの配列の短い方の長さ全体にわたって100%一致する場合にのみ得られる。積スコア70は、100%の一致で一端が70%重畳しているか、或いは88%一致で他端が100%重畳しているかの何れかの場合である。積スコア50は、100%の一致で一端が50%重畳しているか、或いは79%の一致で他端が100%重畳しているかの何れかの場合である。

【0243】

ノーザン分析の結果は、RECAP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、プール(pool ed)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。

【0244】

5 RECAP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:23 - 44を構築するために用いたcDNA配列を、BLAST及びSmith-Watermanアルゴリズムを用いて、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:23 - 44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 Genomese 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)をそのマッピング位置に割り当てた。

【0245】

遺伝子地図の位置は、ヒト染色体の区間即ち範囲として記載する。センチモルガンで示したマッピング位置の範囲は、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。SEQ ID NO:24は、第1染色体の12.8~22.9センチモルガンの範囲にマッピングされ、SEQ ID NO:36は、第1染色体の74.8~78.3センチモルガンの範囲に

マッピングされる。

【0246】

6 RECAPをコードするポリヌクレオチドの伸長

SEQ ID NO:23 - 44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。

【0247】

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。

【0248】

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。

【0249】

各ウェルのDNA濃度は、1X TE及び0.5 µlの希釈していないPCR産物に溶解した100 µl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5~10 µl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。

【0250】

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。ショットガンシーケンシングのために、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。

【0251】

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(dimethylsulphoxide)(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(PE Biosystems)を用いてシーケンシングした。

【0252】

同様に上述の手順で、SEQ ID NO:23 - 44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ゲノムライブラリを用いて5調節配列を得た。

【0253】

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:23 - 44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、OLIG04.06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、250 μ Ciの[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、XbaI 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。

【0254】

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0.1M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、プ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。

【0255】

8 マイクロアレイ

マイクロアレイ上のアレイエレメントの連結または合成は、フォトリソグラフィ、ピエゾプリント (インクジェットプリンター、前出のBalteschweiler等を参照)、機械的マイクロスポッティング技術及びこれらから派生したものをを用いて達成することが可能である。上記各技術において基板は、均一な非多孔性の固体とするべきである (Schena (1999). 前出)。推奨する基板には、シリコン、シリカ、スライドガラス、ガラスチップ及びシリコンウエハがある。別法では、ドットプロット法またはスロットプロット法に類似のアレイを利用して、熱や紫外線、または化学的或いは機械的な結合手段で基板の表面にエレメントを配置して結合させることができる。通常のアレイは利用可能な方法や機械を用いて作製でき、任意の適正な数のエレメントを含めることができる (Schena, M. 他 (1995) S

science 270:467-470、Shalon, D. 他 (1996) Genome Res. 6:639-645、Marshall, A. and J. Hodgson (1998) Nat. Biotechnol. 16:27-31.を参照)。

【0256】

完全長cDNA、発現遺伝子配列断片 (EST)、或いはそれらの断片やオリゴマーが、マイクロアレイのエLEMENTとなり得る。ハイブリダイゼーションに好適な断片やオリゴマーを、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。このアレイELEMENTを、生体サンプル中のポリヌクレオチドとハイブリダイズさせる。生体サンプル中のポリヌクレオチドは、検出を容易にするために蛍光標識またはその他の分子タグに結合する。ハイブリダイゼーションの後、生体サンプルからハイブリダイズしなかったヌクレオチドを除去し、蛍光スキャナを用いて各アレイELEMENTにおけるハイブリダイゼーションを検出する。別法では、レーザー脱離及び質量スペクトロメトリーを用いてもハイブリダイゼーションを検出し得る。マイクロアレイ上のELEMENTにハイブリダイズする各ポリヌクレオチドの相補性の程度及び相対的存在量は、算定することができる。一実施例におけるマイクロアレイの調整及び使用について、以下に詳述する。

【0257】

組織または細胞サンプルの準備

グアニジウムチオシアネート法を用いて組織サンプルから全RNAを単離し、オリゴ(dT)セルローズ法を用いてポリ(A)⁺RNAを精製する。各ポリ(A)⁺RNAサンプルは、MLLV逆転写酵素、0.05 pg/ μ lのオリゴ(dT)プライマー (21mer)、1 \times 第1鎖緩衝液、0.03単位/ μ lのRNアーゼインヒビター、500 μ M dATP、500 μ M dGTP、500 μ M dTTP、40 μ M dCTP、40 μ M dCTP-Cy3 (BDS) またはdCTP-Cy5 (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて逆転写する。この逆転写反応は、GEMBRIGHTキット (Incyte) を用いて、200 ngのポリ(A)⁺RNAを含む25 ml容量で行う。特異的なコントロールポリ(A)⁺RNAは、in vitro転写により非コーディング酵母ゲノムDNAから合成する。37 $^{\circ}$ Cで2時間インキュベートした後、各反応サンプル (一方はCy3標識、他方はCy5標識) は、2.5 mlの0.5 M 水酸化ナトリウムで処理し、85 $^{\circ}$ Cで20分間インキュベートし、反応を停止させ

てRNAを変性する。サンプルは、2つの連続するCHROMA SPIN 30ゲル濾過スピ
ンカラム (CLONTECH Laboratories, Inc. (CLONTECH), Palo Alto CA) を用いて精
製する。結合後、2つの反応サンプルを、1 mlのグリコーゲン (1 mg/ml)、6
0 mlの酢酸ナトリウム及び300 mlの100%エタノールを用いてエタノール沈
殿させる。サンプルは次に、SpeedVAC (Savant Instruments Inc., Holbrook NY
) を用いて乾燥して仕上げ、14 μ l 5 \times SSC / 0.2% SDS中で再懸濁する。

【0258】

マイクロアレイの準備

本発明の配列を用いて、アレイエレメントを作製する。各アレイエレメントは
、クローン化cDNA挿入断片を含むベクターを含有する細菌性細胞から増幅する。
PCR増幅は、cDNA挿入断片に隣接するベクター配列に相補的なプライマーを用い
る。30サイクルのPCRによって、1 ~ 2 ngの初期量から5 μ gを超える最終量ま
でアレイエレメントを増幅する。増幅されたアレイエレメントは、SEPHACRYL-40
0 (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて精製する。

【0259】

精製したアレイエレメントを、ポリマーコートされたスライドガラス上に固定
する。顕微鏡スライドガラス (Corning) は、処理中及び処理後に大量の蒸留水
での洗浄と、0.1%のSDS及びアセトン中で超音波による洗浄を行う。スライド
ガラスは、4%フッ化水素酸 (VWR Scientific Products Corporation (VWR), W
est Chester PA) 中でエッチングし、蒸留水中で広範囲にわたって洗浄し、95
%エタノール中の0.05%アミノプロピルシラン (Sigma) でコーティングする
。コーティングしたスライドガラスは、110 の天火で硬化させる。

【0260】

米国特許第5,807,522号に記載されている方法を用いて、コーティングしたガ
ラス基板にアレイエレメントを付加する。この特許に引用することを以って本明
細書の一部とする。平均濃度が100 ng/ μ lのアレイエレメントDNA 1 μ lを高速
機械装置により開放型キャピラリープリンティングエレメント (open capillary
printing element) に充填する。次にこの装置が、スライド毎に約5 nlのアレ
イエレメントサンプルを分注する。

【0261】

マイクロアレイには、STRATALINKER UVクロスリンカー (Stratagene) を用いてUV架橋する。マイクロアレイは、室温において0.2% SDSで1回洗浄し、蒸留水で3回洗浄する。非特異的な結合部位は、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (Tropix, Inc., Bedford MA) における0.2% カゼイン中で60 で30分間マイクロアレイをインキュベートし、その後上述したように0.2% SDS及び蒸留水で洗浄することによってブロックする。

【0262】

ハイブリダイゼーション

ハイブリダイゼーション反応液は、5 × SSC、0.2% SDSハイブリダイゼーション緩衝液にCy3及びCy5標識したcDNA合成産物を各0.2 µg含む9 µlのサンプル混合体を含めたものである。サンプル混合液を、65 で5分間加熱し、マイクロアレイ表面上に一定量分注してから1.8 cm² のカバーガラスで覆う。このアレイを、顕微鏡スライドより僅かに大きいキャビティを有する防水チェンバーに移す。チャンバーの角に140 µlの5 × SSCを加えて、チャンバー内を湿度100%に保持する。このアレイを含むチャンバーを、60 で約6.5時間インキュベートする。アレイは、第1洗浄緩衝液中 (1 × SSC, 0.1% SDS) において45 で10分間、第2洗浄緩衝液中 (0.1 × SSC) において45 で10分間それぞれ3回洗浄し、その後乾燥させる。

【0263】

検出

レポーター標識されたハイブリダイゼーション複合体は、Cy3を励起するための488 nm、及びCy3を励起するための632 nmのスペクトル線を生成し得るInnova 70混合ガス10 Wレーザー (Coherent, Inc., Santa Clara CA) を備えた顕微鏡で検出する。20倍の顕微鏡対物レンズ (Nikon, Inc., Melville NY) を用いて、アレイ上に励起レーザー光を集中させる。このアレイを含むスライドを顕微鏡のコンピュータ制御X-Yステージに置き、対物レンズを通してラスタスキャンする。本実施例で用いた1.8 cm × 1.8 cmのアレイは、20 µmの解像度でスキャンする。

【0264】

2つの異なるスキャンにおいて、混合ガスマルチラインレーザーは2つの蛍光体を連続的に励起する。放射された光は、波長に基づいて2つの蛍光体に対応する2つの光電子増倍管検出器（PMT R1477, Hamamatsu Photonics Systems, Bridgewater NJ）に分割される。アレイと光電子増倍管との間に配設された好適なフィルターを用いて信号をフィルタリングする。用いる蛍光体の最大発光は、Cy3では565nm、Cy5では650nmである。装置は両方の蛍光体からのスペクトルを同時に記録できるが、レーザー源に好適なフィルターを用いて、蛍光体1につき1回スキャンし、各アレイを通常2回スキャンする。

【0265】

スキャンの感度は通常、既知濃度のサンプル混合体に添加されるcDNAコントロール種により生成されるシグナル強度を用いて較正する。アレイ上の特定の位置には相補的DNA配列を含め、その位置におけるシグナルの強度がハイブリダイズする種の重量比1:100,000に相関するようにする。異なる試料（例えば検査細胞及びコントロール細胞を代表する）からの2つのサンプルを、各々異なる蛍光体で標識し、他と異なって発現する遺伝子を同定するために単一のアレイにハイブリダイズさせる場合には、較正は2つの蛍光体を有する較正するcDNAのサンプルを標識して、ハイブリダイゼーション混合液に各々等量を加えて行う。

【0266】

光電子増倍管の出力は、IBMコンパチブルPCコンピュータにインストールされた12ビットRTI-835Hアナログ-デジタル（A/D）変換ボード（Analog Devices, Inc., Norwood MA）を用いてデジタル化される。デジタル化されたデータは、リニア20色変換を用いてシグナル強度が青色（低シグナル）から赤色（高シグナル）までの擬似カラー範囲にマッピングされるイメージとして表示される。データはまた、定量的に分析される。2つの異なる蛍光体を同時に励起して測定する場合には、各蛍光体の発光スペクトルを用いて、先ずデータは蛍光体間の光学的漏話（重複発光スペクトルに起因する）に対して補正される。

【0267】

グリッドを蛍光シグナルイメージ上に重畳して、各スポットからのシグナルが

グリッドの各エレメントに中央に位置するようにする。各エレメント内の蛍光シグナルを統合し、シグナルの平均強度に対応する数値を得る。シグナル分析に用いるソフトウェアは、GEMTOOLS遺伝子発現分析プログラム (Incyte) である。

【0268】

9 相補的ポリヌクレオチド

RECAP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、天然のRECAP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RECAP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RECAPをコードする転写物に結合するのを阻害する。

【0269】

10 RECAPの発現

RECAP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RECAP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オペレーター調節エレメントに関連する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-Dチオガラクトピラノシド (IPTG) で誘発されるとRECAPを発現する。真核細胞でのRECAP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、RECAP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)。

【0270】

殆どの発現系では、RECAP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キログルトンの酵素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RECAPからタンパク質的に切断できる。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RECAPを直接用いて以下の実施例11及び15のアッセイを行うことができる。

【0271】

1.1 RECAPの活性の実証

RECAPの受容体活性は、 ^{125}I 標識RECAPの存在下で、候補リガンド分子を用いてリガンド結合アッセイにおいて測定する。RECAPを ^{125}I ボルトンハンター試薬で標識する(Bolton, A.E. and W.M. Hunter (1973) Biochem. 1. 133:529-539)。マルチウエルプレートのウェルに予め配置した候補リガンド分子を、標識したRECAPと共にインキュベートし、次に洗浄し、標識RECAP複合体の存在するすべて

のウエルをアッセイする。様々な濃度のRECAPから得たデータを用いて、候補分子と結合したRECAPの数量及び親和性、会合についての値を計算する。測定した結合のレベルがRECAPの活性のレベルに比例する。

【0272】

別法では、RECAPの活性は、血清を含まない条件下で、あるGPCRのin vitroで線維芽細胞および癌細胞を支持する性質に基づいたアッセイを用いて調べる (Chiquet-Ehrismann, R, 他 (1986) Cell 47:131-139)。96ウエルクラスタプレート (Falcon, Fisher Scientific, Santa Clara CA) のウエルを、50 - 100 μ g/mlの溶液を用いて、外界温度でインキュベートしてRECAPでコーティングする。細胞を移す前に、コーティング溶液を吸引し、Dulbecco培地で洗浄する。ラット線維芽培養細胞またはラット乳癌細胞を先述したように準備し、10%のウシ胎児血清 (FCS) を加えたDulbecco培地に 10^4 - 10^5 の濃度で移す。

【0273】

3日後に培地を除去し、血清を含まないDulbecco培地 (0.25mg/mlのウシ血清アルブミンを含む) を加える前に、培養した細胞をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で3回洗浄する (BSA, Fraction V, Sigma Chemical, St. Louis, MO)。2日後に培地を吸引し、0.25mg/mlのPBSを含む新しいDulbecco培地に2 μ Ci/mlの $[^3\text{H}]$ チミジン (NEN) を100 μ l加える。細胞の数を調べるためにパラレルプレートを固定して染色する。16時間後に培地を吸引し、細胞層をPBSで洗浄し、細胞層における10%のトリクロロ酢酸不溶性カウントをラジオアイソトープ (細胞数に対して標準化したChiquet-Ehrismann, R. 他 (1986)) による液体シンチレーションカウンタ法によって決定する。細胞増殖及び $[^3\text{H}]$ チミジンの取り込みの割合は、サンプルにおけるRECAPの活性に比例する。

【0274】

別法のRECAPの活性を調べるアッセイは、CD97 / Emr1 GPCRファミリータンパク質のGタンパク質活性化セカンドメッセンジャーシグナル伝達経路を調節する性質に基づいている (例えば、cAMP; Gaudin, P., 他 (1998) 1. Biol. Chem., 273:4990-4996を参照)。完全長のRECAPをコードするプラスミドを、当分野で周知の方法を用いて哺乳動物細胞系 (例えば、COS-7或いはチャイニーズハムスター

卵巣 (CHO-K1) 細胞系) にトランスフェクトする。このトランスフェクトした細胞を、2%のFCSを含む培地の12ウェルトレイで48時間成長させてから培地を排除し、次に付着した細胞を徐々にPBSで洗浄する。次に、細胞を10%のFCSまたは2%のFCSを含む培地で30分間インキュベートした後、培地を除去し、1M 過塩素酸で処置して細胞を溶解する。可溶化液中のサイクリックAMPのレベルを、当分野で周知の方法でラジオイムノアッセイによって測定する。2%のFCSで処置した場合と10%のFCSで処置した場合の可溶化液中のサイクリックAMPのレベルの違いが、トランスフェクトした細胞に存在するRECAPの活性に比例する。

【0275】

別法のRECAPの活性を調べるアッセイは、リガンド/受容体仲介性の細胞増殖の変化を調べるプロトタイプのアッセイに基づいている。このアッセイでは、Swissマウス3T3細胞におけるDNA合成の割合を測定する。RECAPをコードするポリヌクレオチドを含むプラスミドを、当分野で周知の方法で静止状態の3T3培養細胞に加える。次に、一過性にトランスフェクトした細胞を放射性DNA前駆体分子である $[^3\text{H}]$ チミジンの存在下でインキュベートする。様々な量のRECAPリガンドをトランスフェクト細胞に加える。適当な時間間隔で酸不溶性DNAの中に取り込まれた $[^3\text{H}]$ チミジンをラジオアイソトープカウンタ法で測定する。この取り込まれた $[^3\text{H}]$ チミジンの量が、新規に合成されたDNAの量に比例する。少なくとも100倍のRECAPリガンド濃度に対する線形の線量効果曲線が、受容体の活性を示す。1mlあたりの活性の1単位を、50%の応答レベルを生成するRECAPの濃度と定義する。ここで、100%の応答レベルとは、酸不溶性DNAへの $[^3\text{H}]$ チミジンの最大取り込み量を指す (McKay, I. and Leigh, I., eds. (1993) *Growth Factors: A Practical Approach*, Oxford University Press, New York, NY, p. 73)。

【0276】

別法のRECAPの活性を調べるアッセイは、GPCRファミリータンパク質のGタンパク質活性化セカンドメッセンジャー信号伝達経路を調節する性質に基づいている (例えば、cAMP; Gaudin, P., 他 (1998) 1. Biol. Chem., 273:4990-4996を参照

)。完全長のRECAPをコードするプラスミドを、当分野で周知の方法を用いて哺乳動物細胞系（例えば、チャイニーズハムスター卵巣（CHO-K1）細胞系またはヒト胎児腎（HEK-293）細胞系）にトランスフェクトする。このトランスフェクトした細胞を、培地の中の12ウエルトレイで48時間成長させてから培地を排除し、次に付着した細胞を徐々にPBSで洗浄する。次に、リガンドを含む或いは含まない培地で細胞を30分間インキュベートした後、培地を除去し、1M 過塩素酸で処置して細胞を溶解する。可溶化液中のサイクリックAMPのレベルを、当分野で周知の方法でラジオイムノアッセイによって測定する。リガンドに曝露した場合とリガンドに曝露しない場合の可溶化液中のサイクリックAMPのレベル違いが、トランスフェクトした細胞に存在するRECAPの活性に比例する。

【0277】

1.2 機能のアッセイ

RECAP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RECAP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 (Invitrogen, 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。5～10 µg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1～2 µg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、プ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。

【0278】

遺伝子発現におけるRECAPの影響は、RECAP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が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。RECAP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。

【0279】

1.3 RECAPに特異的な抗体の産生

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RECAP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。

【0280】

別法では、RECAP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)。

【0281】

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ー (PE Biosystems) 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RECAP活性を検査するには、ペプチドまたはRECAPを基板に結合し、1%BSAを用いてブロッキング処理し、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。

【0282】

1.4 特異的抗体を用いる天然RECAPの精製

天然RECAP或いは組換えRECAPを、RECAP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ーにより実質的に精製する。イムノアフィニティークラムは、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RECAP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キング処理し洗浄する。

【0283】

RECAPを含む培養液をイムノアフィニティークラムに通し、RECAP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RECAPとの結合を切るような条件で(例えば、pH 2~3のバッファー、或いは高濃度の尿素またはチオ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、RECAPを回収する。

【0284】

1.5 RECAPと相互作用する分子の同定

RECAP又は生物学的に活性なその断片を、¹²⁵I 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RECAPと共にインキュベートし、洗浄して、標識したRECAP複合体を有する全てのウェルをアッセイする。様々なRECAP濃度で得られたデータを用いて、候補分子と結合したRECAPの数量及び親和性、会合についての値を計算する。

【0285】

別法では、RECAP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。

【0286】

RECAPはまた、ハイスループット型の酵母2ハイブリッドシステムを使用するP ATHCALLINGプロセス (CuraGen Corp., New Haven CT) に用いて、遺伝子の2つの大きなライブラリによってコードされるタンパク質間の全ての相互作用を決定することができる (Nandabalan, K. 他 (2000) 米国特許第6,057,101号)。

【0287】

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に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。

【0288】

(表の簡単な説明)

表1は、RECAP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。

【0289】

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RECAP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

。

【0290】

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。

【0291】

表4は、RECAP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。

【0292】

表5は、本発明のポリヌクレオチド及びポリペプチド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。

【0293】**【表1】**

表1-1

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	23	209171	SPLMNOT2	156553R6 (THP1PLB02), 209171F1 (SPLMNOT2), 209171H1 (SPLMNOT2), 341273R6 (NEUTFMOT1), 607227X11 (BRSTTUT01), 921863X30R1 (RATRNOT02)
2	24	945430	RATRNOT2	465647X19C1 (LATRNOT01), 945430H1 (RATRNOT02), 2886970F6 (SINMNOT02), SAIA01782F1, SAIA03901F1, SAIA00918F1, SAIA03865F1
3	25	1305513	PLACNOT2	1305513H1 (PLACNOT2), SXZA00319V1, SXZA00758V1, SXZA00011V1, SXZA00705V1, SXZA00520V1, SXZA00707V1, SXZA00525V1
4	26	1876283	LEUKNOT2	1520713F1 (BLADTUT04), 1815520T6 (PROSNOT20), 1876283H1 (LEUKNOT02), 1876283X310D1 (LEUKNOT02)
5	27	2470285	THP1NOT3	2470285H1 (THP1NOT3), 2470285X26C1 (THP1NOT3), 2470285X304U1 (THP1NOT3), 2470285X313B1 (THP1NOT3), 2470285X31C1 (THP1NOT3), 2470285X41C1 (THP1NOT3), 2470285X44C1 (THP1NOT3), 2470285X46C1 (THP1NOT3), 4874704H1 (COLDNOT1), g3960000, g965238, g2063924
6	28	2925789	SININOT4	722886R1 (SYN00AT01), 955207R7 (KIDNNOT05), 1336911T1 (COLMNOT13), 1854413F6 (HNTJAZT01), 2196369F6 (SPLNFET02), 2275751R6 (PROSN01), 2925789F6 (SININOT4), 2925789H1 (SININOT4), 3538492H1 (SEMVNOT04)
7	29	3099990	STOMFET2	1824381H1 (GBLATUT01), 2553230H1 (THYMNOT03), 3099990H1 (STOMFET02), 3268969H1 (BRAINOT20), g1155644, g1491543
8	30	103561	BMARNOT2	103561H1 (BMARNOT2), SBA01615F1, g3836278
9	31	288709	EOS1HET2	288709F1 (EOS1HET2), 288709H1 (EOS1HET2), 3393757X301D2 (LUNGNOT28), 3395207F6 (LUNGNOT28), 4413060F6 (MONOTXT01), 4413060T6 (MONOTXT01), SZAH04055F1
10	32	959893	BRSTTUT3	959893H1 (BRSTTUT3), 959893R6 (BRSTTUT3)
11	33	1414179	BRAINOT12	1272762F1 (TESTTUT02), 2121559T6 (BRSTNOT07), 3248471H1 (SEMVNOT03), 4324516H1 (TLYMUNOT1)
12	34	2197211	SPMNFET2	2197211F6 (SPLNFET02), 2197211H1 (SPLNFET02)
13	35	2263653	UTRSNOT2	140819X2 (TLYMNOR01), 1550714T6 (PROSNOT6), 1843270R6 (COLMNOT8), 1906033F6 (OVARNOT07), 2110044R6 (BRAITUT03), 2263653H1 (UTRSNOT2), 4596808H1 (COLSTUT01), 4891416H1 (PROSTTUT05), 5063684F6 (ARITPTT01)

【0294】

【表2】

表1-2

ペグチドSEQ ID NO	スケレオチド SEQ ID NO	クローンID	ライブラリ	断片
14	36	2504590	CONUTUT01	1428502T1 (SINTBST01), 2504590H1 (CONUTUT01), SAJA00914R1, SAJA00733R1, SAJA009221R1
15	37	2529619	GBLANOT02	1504422X17C1 (BRAITUT07), 1506560X26C1 (BRAITUT07), 1516974F6 (PANCUT01), 2529619H1 (GBLANOT02)
16	38	5467661	LNODNOT11	2310518R6 (NGANNOT01), 2640268F6 (LUNGUT08), 2893053F6 (LUNGFET04), 3183381H1 (OVARNOT11), 3343709F6 (SPLMNCT09), 5049433T6 (BRSTNOT33), SBAA04161F2
17	39	229740	PANCNOT01	032924H1 (THPINOBO1), 229740H1 (PANCNOT01), 229740R1 (PANCNOT01), 881634R1 (THYRNOT02), 2072921F6 (ISLFTNOT01), 2072921T6 (ISLFTNOT01), 2614287H1 (GBLANOT01), 3362830H1 (PROSEPT02), 3409621H1 (PROSTUS08), 54249643
18	40	1317467	BLADTUT02	035646H1 (HVENOBO1), 412620R1 (BRSTNOT01), 1317467F6 (BLADTUT02), 1317467H1 (BLADTUT02), 2023272F6 (CONNCT01), 2023272T6 (CONNCT01), 2457956H1 (ENDANOT01), 4459319H1 (HEAADIT01), 4834580H1 (BRAWNOT01), 5097717H1 (EPIMNON05), 5293601H2 (COLENOT01)
19	41	2279267	PROSNON01	2279267H1 (PROSNON01), 3001127F6 (TYMNOT06), 3425035H1 (BRSTNOR01)
20	42	2436258	BRAVUNT02	633426H1 (NEVTGNT01), 1984786R6 (LUNGAST01), 2436258H1 (BRAVUNT02), 4109419F6 (PROSBPT07), 4594456H1 (PROSTUT18), 01349289
21	43	2681738	SINIUCT01	775882R1 (COINNOT05), 1752341F6 (LIVTUT01), 2520558F6 (BRAITUT21), 2681738F6 (SINIUCT01), 2681738H1 (SINIUCT01), 3389931F6 (LUNGUT17), 4379601H1 (LUNGNOT37)
22	44	2859482	SININOT03	161339H1 (ADENINBO1), 573392H1 (BRAVUNT01), 1002066H1 (BRSTNOT03), 1992904H1 (CORPNOT02), 2209522H1 (SINTFET03), 2257029R6 (OVRTUT01), 2620749R6 (KERANOT02), 2859482H1 (SININOT03), 2859867F6 (SININOT03), 3000455H1 (TYMNOT06), 3106558H1 (BRSTTUT15), 3970970H1 (PROSTUT10), 5687790H1 (BRAIUNT01), 54582148

【0295】

【表3】

表2-1

Seq ID NO	アミノ酸残基数	潜在的なリン酸化部位	潜在的なグリコシル化部位	シグネチャ配列、モチーフ、ドメイン	相同配列	分析方法およびデータベース
1	411	S75 T101 S129 S130 S143 T207 T235 T245 S294 S319 S329 T362 S376 S35 S72 T118 S119 T227 S289			レチノイン受容体相互作用タンパク質 (ヒト) g6523831 (Hiller L.D.他 (1996) Genome Res 6:807-28)	BLAST-GenBank MOTIFS
2	579	T16 T59 T60 S163 T525 S69 T120 T130 S135 T209 S248 T277 T311 S474 T503 Y513	N81 N416 N501 N543	シグナルペプチド: M1 - V25	ヒレチノール結合タンパク質受容体 R44617	SPScan BLAST-GENESEQ BLAST-DBOM MOTIFS
3	370	T134 S284 S342 S80 T93 T130 S178 T266	N3 N83 N182 N227 N264	Gタンパク質結合受容体シグネチャ: I30-S35 ロドプシン様GPCRスーパーファミリー: L22-V46, P65-F76, G101-I238, T137-L158, I283-W307, L321-R347 膜貫通ドメイン: L24-I41, C105-A122, D183-L203	Gタンパク質結合受容体 (マウス) g2739105	BLAST-GenBank BLAST-DBOM BLAST-PRODOM HMMER HMMER-EFAM BLIMPS-BLOCKS BLIMPS-PRINTS MOTIFS
4	267	S65 T210 S217	N208	シグナルペプチド: M1-Q56 膜貫通ドメイン: L48-Y61, L179-L196 腫瘍転写因子受容体ファミリー 高スルフィドシグネチャ: G99-G135	推定アンチリン反復含有タンパク質 (モルティエラ属 alpina) g6921507	SPScan HMMER HMMER-PFAM MOTIFS BLAST-GENBANK

【0296】

【表4】

表2-2

Seq ID NO	アミノ酸残基数	潜在的なリン酸化部位	潜在的なグリコシル化部位	シグネチャ配列、モチーフ、ドメイン	相同配列	分析手法およびデータベース
5	951	T820 S143 S164 S191 S249 T416 S421 S488 S508 T595 S646 T856 S44 S133 S390 S572 S646 T820 S871 Y352	R68 N199 N294 N314 N505 N854	Gタンパク質結合受容体シグネチャ: P631-L816 膜貫通ドメイン: L543-I660、L704-I724、V749-I775	Gタンパク質結合受容体(ヒト) g7739737	BLAST-GenBank BLAST-DOMO HMWER HMWER-PFAM BLIMPS-PRINTS MOTIFS
6	413	T236 S240 S376 T180 S315 Y252	N63 N234	膜貫通ドメイン: W22-D41、T146-L170、T205-I226 腫瘍転写因子受容体 ファミリー-高システインシグネチャ: C101-C136		HMWER HMWER-PFAM MOTIFS
7	144	S44 S82 T19 S94 S111 T131		カルシウム受容体シグネチャ: R110-A124	受容体様タンパク質(断片) (シロイヌナズナ) g3046693	BLAST-GenBank BLIMPS-PRINTS MOTIFS
8	174	S95 S30 S86 S13 S70	N48 N170	シグナルペプチド: M1-Q34 Sushiドメイン: C35-C91、C96-C153 補体因子H反復: G34-S95、K68-D154 補体経路タンパク質ドメイン: M1-S95	補体受容体1(ヒト) g563324	BLAST-GenBank MOTIFS SFSCAN HMWER HMWER-PFAM BLIMPS-PFAM BLAST-PRODOM BLAST-DOMO

【0297】

【表5】

表2-3

Seq ID NO	アミノ酸残基数	潜在的なリン酸化部位	潜在的なグリコシル化部位	シグネチャ配列、モチーフ、ドメイン	相同配列	分析手法およびデータベース
9	449	S332 S71 S416 S418 S436 S87 T244 S426 Y423	N73 N77 N183 N247 N252	シグネチャ配列、モチーフ、ドメイン 膜貫通ドメイン: M159-L177、W262-T289、 M302-R226、Y378-L398 Gタンパク質結合受容体 ファミリー-2シグネチャ: C216-L241、G288-R292、 W303-S332、Y369-E412 セクレチン様GPCR スーパーファミリー-シグネチャ: V155-K179、I218-L241、 K261-L286、W303-K328、A377-L398 CD97/EMR1受容体ドメイン:S63-K434 CD97 GPCRドメイン:M1-V146	EGF様モジュールEMR2 (ヒト) g6650889	BLAST-GenBank MOTIFS HMMER BLIMPS-BLOCKS PROFLESCAN BLIMPS-PRINTS BLAST-PRODOM BLAST-DOMO
10	126	S21 T89	N44	シグナルペプチド:M1-S21 免疫グロブリンドメイン: G36-L112、E25-S93	TCRAV6S1 (T細胞受容体アルファ鎖) (ヒト) g2358027	BLAST-GenBank MOTIFS SPSCAN HMMER HMMER-PFAM BLAST-DOMO
11	273	S25 S41 S54 S94 S66 S77 S93 S9 S17 S46 S90 T130 S268		オピオイド受容体シグネチャ: R40-R52	甲狀腺刺激ホルモン タンパク質結合受容体 N末端配列 (ヒト) Geneseq ID W03626	BLAST-Geneseq MOTIFS BLIMPS-PRINTS

【0298】

【表6】

表2-4

Seq ID NO	アミノ酸残基数	潜在的なリン酸化部位	潜在的なグリコシル化部位	シグネチャ配列、モチーフ、ドメイン	相同配列	分析手法およびデータベース
12	140	S92 S20 S73 T88 Y107	N43	シグナルペプチド: M1-G21 免疫グロブリンドメイン: Q87-V111 T細胞受容体α鎖シグネチャ: C7-P131 T細胞表面抗原ドメイン: F9-P188	T細胞受容体α鎖(アカゲザル) g55729	BLAST-GenBank MOTIFS SPSCAN HMMER HMMER-PFAM BLAST-PRODOM BLAST-DBOM
13	479	S44 T90 S160 T252 T258 S309 S422 S147 S313	N34 N387	膜貫通ドメイン: V169-V187, L225-Q246, L454-F472. B-細胞受容体シグネチャ: A328-L340, P404-S416		MOTIFS HMMER BLIMPS-PRINTS
14	99	S91			α1Cアドレナリンβ受容体 アイソフォーム2(ヒト) g927209	BLAST-GenBank MOTIFS
15	349	T307 T140 S338	N8 N45	膜貫通ドメイン: I26-G44, F203-V219 7回膜貫通型受容体ドメイン: G44-Y283 Gタンパク質結合受容体シグネチャ: K93-P132, N285-R301, P24-R301 嗅覚受容体シグネチャ: M62-Q83, F180-D194, F241-G256, L277-L288, G155-R301	マウス嗅覚受容体に類似(ヒト) g4159884	BLAST-GenBank MOTIFS HMMER HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS BLIMPS-PRINTS PROFLIESCAN BLAST-PRODOM BLAST-DBOM

【0299】

【表7】

表2-5

Seq ID NO	アミノ酸残基数	潜在的な リン酸化部位	潜在的な グリコシル化部位	シグネチャ配列、モチーフ、ドメイン	相同配列	分析手法および データベース
16	373	T3 T111 S179 T336 T363 T40 S67 S147 S224 S293 S365	N11 N23 N361	膜貫通ドメイン: P78-M102, I120-G140, F193-L211, F228-F261	7回膜貫通ドメイン オプティン受容体3 (ヒト) #6729336	BLAST-GenBank MOTIFS HMMER
17	353	S273 T146 S163 T188 S281 T309 S327 T18 T30 S54 T188 S287 S306 Y316	N68 N74 N79 N136 N144	WH1ドメイン: E13-K117 コイルドコイルドメイン: E103-L332 ロイシンジッパー: L325-L346	グルタミン酸受容体 関連タンパク質 homer-2b (ヒト) #834619 (Tu, J. C. 他. (1998) Neuron 21:717-726)	BLAST-GenBank HMMER-PFAM BLAST-PRODOM MOTIFS
18	441	S104 T167 S203 T266 S372 S382 S402 S427 S99 S104 S148 S155 S202 S223 S278 S365 Y286	N62 N165	シグナルペプチド: M1-S43 P276リン酸化部位: E107-C213 SP146およびリリアンジン受容体 (SPRY)ドメイン: E369-S382	構造タンパク質結合受容体 (緑豆) #3876583	BLAST-GenBank SPSCAN BLIMPS-PRINTS BLIMPS-PFAM MOTIFS

【0300】

【表8】

表2-6

Seq ID NO	アミノ酸残基数	潜在的なリン酸化部位	潜在的なグリコシル化部位	シグネチャ配列、モチーフ、ドメイン	相同配列	分析手法およびデータベース
19	310	S7 T136 S290 T299	N4 N41	シグネチャ配列、モチーフ、ドメイン 膜貫通ドメイン: I22-G40 7回膜貫通型受容体ドメイン: G40-C289 GPCRドメイン: K89-P128, N281-K297 嗅覚受容体シグネチャ: M68-R79, F176-D190, F237-G252, S290-L304, L165-L244 メラノコルチン受容体ファミリー: L50-L62, I125-T136 ハンプレシン受容体シグネチャ: L54-L66	臭気物質受容体(マウス) g283754 (Resler, K. J. 他, (1993) 73:597-609)	BLAST-GenBank HMMER HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS BLIMPS-PRINTS BLAST-DOMO BLAST-PRODOM MOTIFS
20	438	T160 T246 T322 S331 S375 T424 S116 T246 T353 T374 Y228	N282		Sand(プラスミノーゲン 関連成長因子受容体) (Fugu rubripes) g3928166	BLAST-GenBank MOTIFS

【0301】

【表9】

表2-7

Seq ID NO	アミノ酸残基数	潜在的なリン酸化部位	潜在的なグリコシル化部位	シグネチャ配列、モチーフ、ドメイン	相同配列	分析手法およびデータベース
21	357	T4 S301 S59	N158	膜貫通ドメイン: M64-A84, V178-F197, L131-E151, Y214-P234, F99-V117 グルタミル転変体: G102-V123, R206-T229 膜貫通型アマミリ- T96-L119, N174-S202, I87-L113 ムスカリンM2受容体: S336-V352		HMMER BLIMPS-PRINTS MOTIFS
22	1069	T448 T488 T489 S931 S42 S86 S163 T203 T337 T399 T409 S434 S447 T470 S479 S481 S508 T540 S600 T623 S639 T766 S767 T774 T823 S987 T996 S270 T337 T399 S444 S481 S493 T723 T766 S810 T823 T865 S945 S987 T1002 S1056 Y306 Y379 Y472 Y821	N40 N54 N190 N466 N611 N930 N1051	TBC GTPアーゼ活性化ドメイン: V563-T774 rabGAPドメイン: I806-P816, Y647-S652 (PIは2e-3より小さい) ホスホチロシン相互作用ドメイン: E147-K465 膜タンパク質アマミリ-W541-I756 ロイシンジッパー: L536-L559 Pループ(ATP/GTP結合部位): G371-S378	棒状rabGAPドメインタンパク質 (細菌) E1109865 (Sikovsky et al., (1999) 34:215-251)	BLAST-GenBank HMMER-PFAM BLIMPS-PFAM BLAST-PRODOM BLAST-DOMO MOTIFS

【0302】

【表10】

表3-1

スクレオチド SEQ ID NO:	選択断片	発現組織(割合)	疾患または症状(割合)	ベクター
23	607-663	造血/免疫 (0.333) 生殖 (0.200) 免疫 (0.100) 筋骨格 (0.100)	炎症 (0.433) 癌 (0.333) 細胞増殖 (0.233)	PBLUESCRIPT
24	890-934 1277-1321	胃腸 (0.333) 心血管 (0.250) 神経 (0.167) 生殖 (0.167)	炎症 (0.500) 癌 (0.250)	PSPORT1
25	748-792 1582-1626	免疫 (0.250) 内分泌 (0.250) 神経 (0.250) 生殖 (0.250)	細胞増殖 (0.500) 癌 (0.250) 炎症 (0.250)	PINCY
26	248-292	生殖 (0.238) 造血/免疫 (0.190) 胃腸 (0.175)	癌 (0.508) 炎症 (0.301) 細胞増殖 (0.238)	PINCY
27	1474-1518	生殖 (0.393) 神経 (0.179) 胃腸 (0.179)	癌 (0.643) 炎症 (0.179) 細胞増殖 (0.107)	PINCY
28	1595-1645	生殖 (0.235) 胃腸 (0.176) 造血/免疫 (0.147)	癌 (0.485) 炎症 (0.353) 細胞増殖 (0.147)	PINCY
29	31-75 535-579	免疫 (0.400) 神経 (0.200) 胃腸 (0.200) 造血/免疫 (0.200)	癌 (0.200) 細胞増殖 (0.400) 神経 (0.200)	PINCY
30	15-59	生殖 (0.250) 造血/免疫 (0.250) 胃腸 (0.167) 神経 (0.167)	癌 (0.500) 炎症/外傷 (0.333) 細胞増殖 (0.083)	PBLUESCRIPT
31	372-416 1530-1574	造血/免疫 (0.500) 心血管 (0.333) 胃腸 (0.167)	炎症/外傷 (0.500) 癌 (0.167)	PBLUESCRIPT
32	386-430	心血管 (0.286) 胃腸 (0.286) 造血/免疫 (0.286)	癌 (0.571) 炎症/外傷 (0.143)	PSPORT1

【0303】

【表11】

表3-2

ヌクレオチド SEQ ID NO.	選択断片	免疫組織(割合)	疾患または症状(割合)	ベクター
33	703-747	生殖(0.260) 胃腸(0.193) 神経(0.127)	癌(0.427) 炎症/外傷(0.306) 細胞増殖(0.173)	P1NCY
34	398-442	生殖(0.667) 免疫(0.333)	癌(0.667) 細胞増殖(0.333)	P1NCY
35	542-586 974-1018	生殖(0.294) 神経(0.157) 胃腸(0.137)	癌(0.510) 炎症/外傷(0.294) 細胞増殖(0.255)	PSFORT1
36	279-323	生殖(0.333) 胃腸(0.167) 造血/免疫(0.167) 泌尿器(0.167)	癌(0.500) 炎症/外傷(0.500)	P1NCY
37	919-963	生殖(0.467) 心血管(0.133) 胃腸(0.100) 神経(0.100)	癌(0.600) 炎症/外傷(0.274) 細胞増殖(0.133)	P1NCY
38	1313-1357	生殖(0.233) 造血/免疫(0.150) 心血管(0.117) 免疫(0.117)	炎症/外傷(0.366) 癌(0.350) 細胞増殖(0.300)	P1NCY
39	1-45	生殖(0.455) 胃腸(0.227)	癌(0.318) 炎症(0.273) 細胞増殖(0.182) 外傷(0.182)	PBLUESCRIPT
40	127-171 481-525 757-801	生殖(0.320) 神経(0.240) 胃腸(0.200)	癌(0.360) 炎症(0.240) 外傷(0.160)	P1NCY
41	928-972	生殖(0.333) 心血管(0.167) 神経(0.167) 胃腸(0.167) 造血/免疫(0.167)	癌(0.500) 炎症(0.333) 外傷(0.167)	PSFORT1

【0304】

【表12】

表3-3

スクリーン SEQ ID NO:	選択断片	発現組織(割合)	疾患または症状(割合)	ベクター
42	21-65	生殖(0.455) 造血/免疫(0.182) 神経(0.182)	癌(0.545) 炎症(0.182)	PSPORT1
43	1-45	胃腸(0.275) 心血管(0.225) 生殖(0.175)	癌(0.475) 炎症(0.325) 細胞増殖(0.125)	PINCY
44	202-246	生殖(0.419) 神経(0.129) 造血/免疫(0.097)	癌(0.516) 細胞増殖(0.161) 炎症(0.161)	PINCY

【0305】

【表13】

表4-1

ヌクレオチド SEQ ID NO	ライブラリ	ライブラリの説明
2 3	SPLNN0T02	このライブラリは、頭部外傷により死亡した年齢29歳の白人男性の脾臓組織から単離されたRNAを用いて作製した。血清検査の結果、サイトメガロウイルス(CMV)陽性であった。
2 4	PATRN0T02	このライブラリは、銃撃により死亡した39歳の白人男性の右心房組織から単離されたRNAを用いて作製した。
2 5	PLACN0T02	このライブラリは、妊娠21週で早産したヒスバニック系の女胎児の胎盤組織から単離したRNAを用いて作製した。血清検査の結果、母親はサイトメガロウイルス(CMV)の検査で陽性を示した。
2 6	LEUKN0T02	このライブラリは、血液型がO+の45歳の白人女性の白血球細胞から単離されたRNAを用いて作製した。このドナーのサイトメガロウイルス(CMV)の検査結果は陰性であった。
2 7	THP1N0T03	このライブラリは、身処置のTHP-1細胞から単離されたRNAを用いて作製した。THP-1(ATCC TIB202)は、単球性白血病の1歳の白人男児の抹消血に由来するヒト前単球系である。
2 8	SININ0T04	26歳白人男性の部分結腸切除、永久結腸フィステル形成、随伴性虫垂切除の際に採取した病変回腸組織から単離されたRNAを用いて作製した。病理学的には、軽度から重度のクローン病を示していた。家族歴には小腸炎があった。
2 9	STOMFEI02	このライブラリは、妊娠18週で死亡したヒスバニック系の胎児(男児)から採取した胃組織から単離したRNAを用いて作製した。
3 0	BMARN0T02	このライブラリは、16歳から60歳までの24人の男女のドナーの骨髄から単離したRNAを用いて作製した。(RNAはクローンテック社製)
3 1	EOSIHEI02	このライブラリは、48歳白人男性から採取した抹消血細胞から単離したRNAを用いて作製した。患者の病歴には過好酸球増加症があった。細胞集団は、ライト染色によって好酸球の値が77%高いことがわかった。
3 2	BRSTTUT03	このライブラリは、58歳の白人女性の片側拡大単純乳房切除の際に採取した乳房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、多中心性浸潤性グレード4の小葉癌を示していた。この腫瘍は、左乳房の上部外側で同定され、3つの小結節が左乳房の下部外側に見られた。患者の病歴には、皮膚癌、リウマチ性心疾患、変形性関節症、および結核があった。家族歴には、脳血管疾患、冠状動脈瘤、乳癌、前立腺癌、アテローム硬化性冠動脈疾患、および1型糖尿病があった。

【0306】

【表14】

表4-2

ヌクレオチド SEQ ID NO	ライブラリ	ライブラリの説明
3 3	BRAIN0T12	このライブラリは、5歳の白人男児の大脳半球切除術の際に右前葉から採取した脳組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、広範な多小脳回症および軽度から中程度のグリオオース（軟膜下および皮質下で顕著）を示し、慢性的な発作を伴っていた。家族歴には頸部癌があった。
3 4	SPLNFET02	このライブラリは、23週目で死亡した白人胎児（男児）の脾臓組織から単離したRNAを用いて作製した。
3 5	UTRSNOT02	このライブラリは、34歳の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の疾患があった。家族歴には、胃癌、先天性心奇形、過敏性腸症候群、潰瘍性大腸炎、結腸癌、脳血管疾患、II型糖尿病、およびうつ病があった。
3 6	CONUTUT01	このライブラリは、61歳の白人女性の膣式子宮全摘出、両側卵巣卵巣摘出、および部分リンパ節切除術の際に採取したS状腸間膜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、S状腸間膜の2ヶ所における転移性グレナード4の悪性混合性ニューラーム腫瘍であった。
3 7	GBLAN0T01	このライブラリは、21歳の白人男性の胆嚢摘出術の際に採取した病変胆嚢組織から単離したRNAを用いて作製された。病理学的には、中程度の慢性胆嚢炎、胆石症（1個の混合石）、および慢性漿膜炎を示していた。家族歴には、良性高血圧症、乳癌、結腸癌、およびII型糖尿病があった。
3 8	LNODN0T11	このライブラリは、頭部外傷により死亡した16ヶ月の白人男児から採取したリンパ節組織から単離したRNAを用いて作製された。ドナーの病歴には気管支炎があった。
3 9	PANCN0T01	このライブラリは、頭部外傷により死亡した29歳の白人男性の膵臓組織から単離したRNAを用いて作製された。
4 0	BLADTUT02	このライブラリは、80歳の白人女性から採取した膀胱腫瘍組織から単離したRNAを用いて作製された。病理学的には、浸潤性移行性細胞癌を示していた。家族歴には、急性腎不全、変形関節症、およびアテローム性動脈硬化症があった。
4 1	PROSN0N01	この標準化前立腺ライブラリは、前立腺ライブラリからの440万の独立したクローンから作製された。開始RNAは、銃自殺により死亡した28歳の白人男性から採取した前立腺組織から単離したRNAを用いて作製された。標準化およびハイブリダイゼーションの条件は、Soares, M. B. 他, (1994) Proc. Natl Acad. Sci. USA 91:9228-9232に従ったが、アンニリングハイブリダイゼーションの時間を19時間と長くした。

【0307】

【表15】

表4-3

ヌクレオチド SEQ ID NO	ライブラリ	ライブラリの説明
4 2	BRAVUNT02	このライブラリは、非刺激アストロサイトの分離した集団から単離したRNAを用いて作製された。
4 3	SINIUCT01	このライブラリは、42歳の白人男性から採取した回腸組織から単離したRNAを用いて作製された。家族歴には、脳血管疾患、良性高血圧、アテローム性冠動脈疾患、およびII型糖尿病があった。
4 4	SININOT03	このライブラリは、頭部外傷により死亡した8歳の白人女児から採取した回腸組織から単離したRNAを用いて作製された。血清検査の結果、サイトメガロウイルス(CMV)に陽性を示した。

【0308】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

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

<120> RECEPTORS AND ASSOCIATED PROTEINS

<130> PF-0726 PCT

<140> To Be Assigned
 <141> Herewith

<150> 60/145,232; 60/158,578; 60/165,192
 <151> 1999-07-21; 1999-10-07; 1999-11-12

<160> 44
 <170> PERL Program

<210> 1
 <211> 411
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 209171CD1

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

Glu Lys Glu Val Ala Ile Ser Thr Phe Ser Ser Ser Asn Gln Val
 185 190 195
 Ser Cys Pro Leu Cys Asp Gln Cys Phe Pro Pro Thr Lys Ile Glu
 200 205 210
 Arg His Ala Met Tyr Cys Asn Gly Leu Met Glu Glu Asp Thr Val
 215 220 225
 Leu Thr Arg Arg Gln Lys Glu Ala Lys Thr Lys Ser Asp Ser Gly
 230 235 240
 Thr Ala Ala Gln Thr Ser Leu Asp Ile Asp Lys Asn Glu Lys Cys
 245 250 255
 Tyr Leu Cys Lys Ser Leu Val Pro Phe Arg Glu Tyr Gln Cys His
 260 265 270
 Val Asp Ser Cys Leu Gln Leu Ala Lys Ala Asp Gln Gly Asp Gly
 275 280 285
 Pro Glu Gly Ser Gly Arg Ala Cys Ser Thr Val Glu Gly Lys Trp
 290 295 300
 Gln Gln Arg Leu Lys Asn Pro Lys Glu Lys Gly His Ser Glu Gly
 305 310 315
 Arg Leu Leu Ser Phe Leu Glu Gln Ser Glu His Lys Thr Ser Asp
 320 325 330
 Ala Asp Ile Lys Ser Ser Glu Thr Gly Ala Phe Arg Val Pro Ser
 335 340 345
 Pro Gly Met Glu Glu Ala Gly Cys Ser Arg Glu Met Gln Ser Ser
 350 355 360
 Phe Thr Arg Arg Asp Leu Asn Glu Ser Pro Val Lys Ser Phe Val
 365 370 375
 Ser Ile Ser Glu Ala Thr Asp Cys Leu Val Asp Phe Lys Lys Gln
 380 385 390
 Val Thr Val Gln Pro Gly Ser Arg Thr Arg Thr Lys Ala Gly Arg
 395 400 405
 Gly Arg Arg Arg Lys Phe
 410

<210> 2

<211> 579

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 945430CD1

<400> 2

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

Glu Leu Pro Gly Lys Ala Ala Ala Met Thr Asp Asn Thr Asn Val
 170 175 180
 Asn Tyr Val Arg Tyr Lys Gly Asp Tyr Tyr Leu Cys Thr Glu Thr
 185 190 195
 Asn Phe Met Asn Lys Val Asp Ile Glu Thr Leu Glu Lys Thr Glu
 200 205 210
 Lys Val Asp Trp Ser Lys Phe Ile Ala Val Asn Gly Ala Thr Ala
 215 220 225
 His Pro His Tyr Asp Pro Asp Gly Thr Ala Tyr Asn Met Gly Asn
 230 235 240
 Ser Phe Gly Pro Tyr Gly Phe Ser Tyr Lys Val Ile Arg Val Pro
 245 250 255
 Pro Glu Lys Val Asp Leu Gly Glu Thr Ile His Gly Val Gln Val
 260 265 270
 Ile Cys Ser Ile Ala Ser Thr Glu Lys Gly Lys Pro Ser Tyr Tyr
 275 280 285
 His Ser Phe Gly Met Thr Arg Asn Tyr Ile Ile Phe Ile Glu Gln
 290 295 300
 Pro Leu Lys Met Asn Leu Trp Lys Ile Ala Thr Ser Lys Ile Arg
 305 310 315
 Gly Lys Ala Phe Ser Asp Gly Ile Ser Trp Glu Pro Gln Cys Asn
 320 325 330
 Thr Arg Phe His Val Val Glu Lys Arg Thr Gly Gln Leu Leu Pro
 335 340 345
 Gly Arg Tyr Tyr Ser Lys Pro Phe Val Thr Phe His Gln Ile Asn
 350 355 360
 Ala Phe Glu Asp Gln Gly Cys Val Ile Ile Asp Leu Cys Ser Gln
 365 370 375
 Asp Asn Gly Arg Thr Leu Glu Val Tyr Gln Leu Gln Asn Leu Arg
 380 385 390
 Lys Ala Gly Glu Gly Leu Asp Gln Val His Asn Ser Ala Ala Lys
 395 400 405
 Ser Phe Pro Arg Arg Phe Val Leu Pro Leu Asn Val Ser Leu Asn
 410 415 420
 Ala Pro Glu Gly Asp Asn Leu Ser Pro Leu Ser Tyr Thr Ser Ala
 425 430 435
 Ser Ala Val Lys Gln Ala Asp Gly Thr Ile Trp Cys Ser His Glu
 440 445 450
 Asn Leu His Gln Glu Asp Leu Glu Lys Glu Gly Gly Ile Glu Phe
 455 460 465
 Pro Gln Ile Tyr Tyr Asp Arg Phe Ser Gly Lys Lys Tyr His Phe
 470 475 480
 Phe Tyr Gly Cys Gly Phe Arg His Leu Val Gly Asp Ser Leu Ile
 485 490 495
 Lys Val Asp Val Val Asn Lys Thr Leu Lys Val Trp Arg Glu Asp
 500 505 510
 Gly Phe Tyr Pro Ser Glu Pro Val Phe Val Pro Ala Pro Gly Thr
 515 520 525
 Asn Glu Glu Asp Gly Gly Val Ile Leu Ser Val Val Ile Thr Pro
 530 535 540
 Asn Gln Asn Glu Ser Asn Phe Leu Leu Val Leu Asp Ala Lys Asn
 545 550 555
 Phe Glu Glu Leu Gly Arg Ala Glu Val Pro Val Gln Met Pro Tyr
 560 565 570
 Gly Phe His Gly Thr Phe Ile Pro Ile
 575

<210> 3
 <211> 370
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 1305513CD1

```

<400> 3
Met Ala Asn Tyr Ser His Ala Ala Asp Asn Ile Leu Gln Asn Leu
 1      5      10      15
Ser Pro Leu Thr Ala Phe Leu Lys Leu Thr Ser Leu Gly Phe Ile
 20      25      30
Ile Gly Val Ser Val Val Gly Asn Leu Leu Ile Ser Ile Leu Leu
 35      40      45
Val Lys Asp Lys Thr Leu His Arg Ala Pro Tyr Tyr Phe Leu Leu
 50      55      60
Asp Leu Cys Cys Ser Asp Ile Leu Arg Ser Ala Ile Cys Phe Pro
 65      70      75
Phe Val Phe Asn Ser Val Lys Asn Gly Ser Thr Trp Thr Tyr Gly
 80      85      90
Thr Leu Thr Cys Lys Val Ile Ala Phe Leu Gly Val Leu Ser Cys
 95     100     105
Phe His Thr Ala Phe Met Leu Phe Cys Ile Ser Val Thr Arg Tyr
110     115     120
Leu Ala Ile Ala His His Arg Phe Tyr Thr Lys Arg Leu Thr Phe
125     130     135
Trp Thr Cys Leu Ala Val Ile Cys Met Val Trp Thr Leu Ser Val
140     145     150
Ala Met Ala Phe Pro Pro Val Leu Asp Val Gly Thr Tyr Ser Phe
155     160     165
Ile Arg Glu Lys Asp Gln Cys Thr Phe Gln His Arg Ser Phe Arg
170     175     180
Ala Asn Asp Ser Leu Gly Phe Met Leu Leu Leu Ala Leu Ile Leu
185     190     195
Leu Ala Thr Gln Leu Val Tyr Leu Lys Leu Ile Phe Phe Val His
200     205     210
Asp Arg Arg Lys Met Lys Pro Val Gln Phe Val Ala Ala Val Ser
215     220     225
Gln Asn Trp Thr Phe His Gly Pro Gly Ala Ser Gly Gln Ala Ala
230     235     240
Ala Asn Trp Leu Ala Gly Phe Gly Arg Gly Pro Thr Pro Pro Thr
245     250     255
Leu Leu Gly Ile Arg Gln Asn Ala Asn Thr Thr Gly Arg Arg Arg
260     265     270
Leu Leu Val Leu Asp Glu Phe Lys Met Glu Lys Arg Ile Ser Arg
275     280     285
Met Phe Tyr Ile Met Thr Phe Leu Phe Leu Thr Leu Trp Gly Pro
290     295     300
Tyr Leu Val Ala Cys Tyr Trp Arg Val Phe Ala Arg Gly Pro Val
305     310     315
Val Pro Gly Gly Phe Leu Thr Ala Ala Val Trp Met Ser Phe Ala
320     325     330
Gln Ala Gly Ile Asn Pro Phe Val Cys Ile Phe Ser Asn Arg Glu
335     340     345
Leu Arg Arg Cys Phe Ser Thr Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Lys Ser
350     355     360
Arg Leu Pro Arg Glu Pro Tyr Cys Val Ile
365     370

<210> 4
<211> 267
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1876283CD1

<400> 4
Met Ala Pro Trp Ala Leu Leu Ser Pro Gly Val Leu Val Arg Thr
 1      5      10      15
Gly His Thr Val Leu Thr Trp Gly Ile Thr Leu Val Leu Phe Leu

```

```

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

```

<210> 5

<211> 951

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 2470285CD1

<400> 5

```

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

```

				155					160					165
Thr	Glu	Val	Pro	Val	His	Pro	Leu	Ser	Asn	Leu	Pro	Thr	Leu	Gln
				170					175					180
Ala	Leu	Thr	Leu	Ala	Leu	Asn	Lys	Ile	Ser	Ser	Ile	Pro	Asp	Phe
				185					190					195
Ala	Phe	Thr	Asn	Leu	Ser	Ser	Leu	Val	Val	Leu	His	Leu	His	Asn
				200					205					210
Asn	Lys	Ile	Arg	Ser	Leu	Ser	Gln	His	Cys	Phe	Asp	Gly	Leu	Asp
				215					220					225
Asn	Leu	Glu	Thr	Leu	Asp	Leu	Asn	Tyr	Asn	Asn	Leu	Gly	Glu	Phe
				230					235					240
Pro	Gln	Ala	Ile	Lys	Ala	Leu	Pro	Ser	Leu	Lys	Glu	Leu	Gly	Phe
				245					250					255
His	Ser	Asn	Ser	Ile	Ser	Val	Ile	Pro	Asp	Gly	Ala	Phe	Asp	Gly
				260					265					270
Asn	Pro	Leu	Leu	Arg	Thr	Ile	His	Leu	Tyr	Asp	Asn	Pro	Leu	Ser
				275					280					285
Phe	Val	Gly	Asn	Ser	Ala	Phe	His	Asn	Leu	Ser	Asp	Leu	His	Ser
				290					295					300
Leu	Val	Ile	Arg	Gly	Ala	Ser	Met	Val	Gln	Gln	Phe	Pro	Asn	Leu
				305					310					315
Thr	Gly	Thr	Val	His	Leu	Glu	Ser	Leu	Thr	Leu	Thr	Gly	Thr	Lys
				320					325					330
Ile	Ser	Ser	Ile	Pro	Asn	Asn	Leu	Cys	Gln	Glu	Gln	Lys	Met	Leu
				335					340					345
Arg	Thr	Leu	Asp	Leu	Ser	Tyr	Asn	Asn	Ile	Arg	Asp	Leu	Pro	Ser
				350					355					360
Phe	Asn	Gly	Cys	His	Ala	Leu	Glu	Glu	Ile	Ser	Leu	Gln	Arg	Asn
				365					370					375
Gln	Ile	Tyr	Gln	Ile	Lys	Glu	Gly	Thr	Phe	Gln	Gly	Leu	Ile	Ser
				380					385					390
Leu	Arg	Ile	Leu	Asp	Leu	Ser	Arg	Asn	Leu	Ile	His	Glu	Ile	His
				395					400					405
Ser	Arg	Ala	Phe	Ala	Thr	Leu	Gly	Pro	Ile	Thr	Asn	Leu	Asp	Val
				410					415					420
Ser	Phe	Asn	Glu	Leu	Thr	Ser	Phe	Pro	Thr	Glu	Gly	Leu	Asn	Gly
				425					430					435
Leu	Asn	Gln	Leu	Lys	Leu	Val	Gly	Asn	Phe	Lys	Leu	Lys	Glu	Ala
				440					445					450
Leu	Ala	Ala	Lys	Asp	Phe	Val	Asn	Leu	Arg	Ser	Leu	Ser	Val	Pro
				455					460					465
Tyr	Ala	Tyr	Gln	Cys	Ala	Phe	Trp	Gly	Cys	Asp	Ser	Tyr	Ala	Ala
				470					475					480
Asn	Leu	Asn	Thr	Glu	Asp	Asn	Ser	Leu	Gln	Asp	His	Ser	Val	Ala
				485					490					495
Gln	Glu	Lys	Gly	Thr	Ala	Asp	Ala	Ala	Asn	Val	Thr	Ser	Thr	Leu
				500					505					510
Glu	Asn	Glu	Glu	His	Ser	Gln	Ile	Ile	Ile	His	Cys	Thr	Pro	Ser
				515					520					525
Thr	Gly	Ala	Phe	Lys	Pro	Cys	Glu	Tyr	Leu	Leu	Gly	Ser	Trp	Met
				530					535					540
Ile	Arg	Leu	Thr	Val	Trp	Phe	Ile	Phe	Leu	Val	Ala	Leu	Phe	Phe
				545					550					555
Asn	Leu	Leu	Val	Ile	Leu	Thr	Thr	Phe	Ala	Ser	Cys	Thr	Ser	Leu
				560					565					570
Pro	Ser	Ser	Lys	Leu	Phe	Ile	Gly	Leu	Ile	Ser	Val	Ser	Asn	Leu
				575					580					585
Phe	Met	Gly	Ile	Tyr	Thr	Gly	Ile	Leu	Thr	Phe	Leu	Asp	Ala	Val
				590					595					600
Ser	Trp	Gly	Arg	Phe	Ala	Glu	Phe	Gly	Ile	Trp	Trp	Glu	Thr	Gly
				605					610					615
Ser	Gly	Cys	Lys	Val	Ala	Gly	Phe	Leu	Ala	Val	Phe	Ser	Ser	Glu
				620					625					630
Ser	Ala	Ile	Phe	Leu	Leu	Met	Leu	Ala	Thr	Val	Glu	Arg	Ser	Leu

```

635                               640                               645
Ser Ala Lys Asp Ile Met Lys Asn Gly Lys Ser Asn His Leu Lys
650                               655                               660
Gln Phe Arg Val Ala Ala Leu Leu Ala Phe Leu Gly Ala Thr Val
665                               670                               675
Ala Gly Cys Phe Pro Leu Phe His Arg Gly Glu Tyr Ser Ala Ser
680                               685                               690
Pro Leu Cys Leu Pro Phe Pro Thr Gly Glu Thr Pro Ser Leu Gly
695                               700                               705
Phe Thr Val Thr Leu Val Leu Leu Asn Ser Leu Ala Phe Leu Leu
710                               715                               720
Met Ala Val Ile Tyr Thr Lys Leu Tyr Cys Asn Leu Glu Lys Glu
725                               730                               735
Asp Leu Ser Glu Asn Ser Gln Ser Ser Met Ile Lys His Val Ala
740                               745                               750
Trp Leu Ile Phe Thr Asn Cys Ile Phe Phe Cys Pro Val Ala Phe
755                               760                               765
Phe Ser Phe Ala Pro Leu Ile Thr Ala Ile Ser Ile Ser Pro Glu
770                               775                               780
Ile Met Lys Ser Val Thr Leu Ile Phe Phe Pro Leu Pro Ala Cys
785                               790                               795
Leu Asn Pro Val Leu Tyr Val Phe Phe Asn Pro Lys Phe Lys Glu
800                               805                               810
Asp Trp Lys Leu Leu Lys Arg Arg Val Thr Lys Lys Ser Gly Ser
815                               820                               825
Val Ser Val Ser Ile Ser Ser Gln Gly Gly Cys Leu Glu Gln Asp
830                               835                               840
Phe Tyr Tyr Asp Cys Gly Met Tyr Ser His Leu Gln Gly Asn Leu
845                               850                               855
Thr Val Cys Asp Cys Cys Glu Ser Phe Leu Leu Thr Lys Pro Val
860                               865                               870
Ser Cys Lys His Leu Ile Lys Ser His Ser Cys Pro Ala Leu Ala
875                               880                               885
Val Ala Ser Cys Gln Arg Pro Glu Gly Tyr Trp Ser Asp Cys Gly
890                               895                               900
Thr Gln Ser Ala His Ser Asp Tyr Ala Asp Glu Glu Asp Ser Phe
905                               910                               915
Val Ser Asp Ser Ser Asp Gln Val Gln Ala Cys Gly Arg Ala Cys
920                               925                               930
Phe Tyr Gln Ser Arg Gly Phe Pro Leu Val Arg Tyr Ala Tyr Asn
935                               940                               945
Leu Pro Arg Val Lys Asp
950

<210> 6
<211> 413
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2925789CD1

<400> 6
Met Gly Thr Phe Cys Ser Val Ile Lys Phe Glu Asn Leu Gln Glu
1                               5                               10                               15
Leu Lys Arg Leu Cys His Trp Gly Pro Ile Ile Ala Leu Gly Val
20                               25                               30
Ile Ala Ile Cys Ser Thr Met Ala Met Ile Asp Ser Val Leu Trp
35                               40                               45
Tyr Trp Pro Leu His Thr Thr Gly Gly Ser Val Asn Phe Ile Met
50                               55                               60
Leu Ile Asn Trp Thr Val Met Ile Leu Tyr Asn Tyr Phe Asn Ala
65                               70                               75
Met Phe Val Gly Pro Gly Phe Val Pro Leu Gly Trp Lys Pro Glu

```

```

      80      85      90
Ile Ser Gln Asp Thr Met Tyr Leu Gln Tyr Cys Lys Val Cys Gln
  95      100
Ala Tyr Lys Ala Pro Arg Ser His His Cys Arg Lys Cys Asn Arg
  110      115      120
Cys Val Met Lys Met Asp His His Cys Pro Trp Ile Asn Asn Cys
  125      130      135
Cys Gly Tyr Gln Asn His Ala Ser Phe Thr Leu Phe Leu Leu Leu
  140      145      150
Ala Pro Leu Gly Cys Ile His Ala Ala Phe Ile Phe Val Met Thr
  155      160      165
Met Tyr Thr Gln Leu Tyr His Arg Leu Ser Phe Gly Trp Asn Thr
  170      175      180
Val Lys Ile Asp Met Ser Ala Ala Arg Arg Asp Pro Leu Pro Ile
  185      190      195
Val Pro Phe Gly Leu Ala Ala Phe Ala Thr Thr Leu Phe Ala Leu
  200      205      210
Gly Leu Ala Leu Gly Thr Thr Ile Ala Val Gly Met Leu Phe Phe
  215      220      225
Ile Gln Met Lys Ile Ile Leu Arg Asn Lys Thr Ser Ile Glu Ser
  230      235      240
Trp Ile Glu Glu Lys Ala Lys Asp Arg Ile Gln Tyr Tyr Gln Leu
  245      250      255
Asp Glu Val Phe Val Phe Pro Tyr Asp Met Gly Ser Arg Trp Arg
  260      265      270
Asn Phe Lys Gln Val Phe Thr Trp Ser Gly Val Pro Glu Gly Asp
  275      280      285
Gly Leu Glu Trp Pro Val Arg Glu Gly Cys His Gln Tyr Ser Leu
  290      295      300
Thr Ile Glu Gln Leu Lys Gln Lys Ala Asp Lys Arg Val Arg Ser
  305      310      315
Val Arg Tyr Lys Val Ile Glu Asp Tyr Ser Gly Ala Cys Cys Pro
  320      325      330
Leu Asn Lys Gly Ile Lys Thr Phe Phe Thr Ser Pro Cys Thr Glu
  335      340      345
Glu Pro Arg Ile Gln Leu Gln Lys Gly Glu Phe Ile Leu Ala Thr
  350      355      360
Arg Gly Leu Arg Tyr Trp Leu Tyr Gly Asp Lys Ile Leu Asp Asp
  365      370      375
Ser Phe Ile Glu Gly Val Ser Arg Ile Arg Gly Trp Phe Pro Arg
  380      385      390
Lys Cys Val Glu Lys Cys Pro Cys Asp Ala Glu Thr Asp Gln Ala
  395      400      405
Pro Glu Gly Glu Lys Lys Asn Arg
  410
<210> 7
<211> 144
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3099990CD1

<400> 7
Met Lys Gly Lys Ala Arg Lys Leu Phe Tyr Lys Ala Ile Val Arg
  1      5      10
Gly Glu Glu Thr Leu Arg Val Gly Asp Cys Ala Val Phe Leu Ser
  20      25
Ala Gly Arg Pro Asn Leu Pro Tyr Ile Gly Arg Ile Glu Ser Met
  35      40
Trp Glu Ser Trp Gly Ser Asn Met Val Val Lys Val Lys Trp Phe
  50      55
Tyr His Pro Glu Glu Thr Lys Leu Gly Lys Arg Gln Cys Asp Gly

```

65 70 75
 Lys Asn Ala Leu Tyr Gln Ser Cys His Glu Asp Glu Asn Asp Val
 80 85 90
 Gln Thr Ile Ser His Lys Cys Gln Val Val Ala Arg Glu Gln Tyr
 95 100 105
 Glu Gln Met Ala Arg Ser Arg Lys Cys Gln Asp Arg Gln Asp Leu
 110 115 120
 Tyr Tyr Leu Ala Gly Thr Tyr Asp Pro Thr Thr Gly Arg Leu Val
 125 130 135
 Thr Ala Asp Gly Val Pro Ile Leu Cys
 140

<210> 8
 <211> 174
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 103561CD1

<400> 8
 Met Ala Pro Pro Val Arg Leu Glu Arg Pro Phe Pro Ser Arg Arg
 1 5 10 15
 Phe Pro Gly Leu Leu Leu Ala Ala Leu Val Leu Leu Leu Ser Ser
 20 25 30
 Phe Ser Asp Gln Cys Asn Val Pro Glu Trp Leu Pro Phe Ala Arg
 35 40 45
 Pro Thr Asn Leu Thr Asp Asp Phe Glu Phe Pro Ile Gly Thr Tyr
 50 55 60
 Leu Asn Tyr Glu Cys Arg Pro Gly Tyr Ser Gly Arg Pro Phe Ser
 65 70 75
 Ile Ile Cys Leu Lys Asn Ser Val Trp Thr Ser Ala Lys Asp Lys
 80 85 90
 Cys Lys Arg Lys Ser Cys Arg Asn Pro Pro Asp Pro Val Asn Gly
 95 100 105
 Met Ala His Val Ile Lys Asp Ile Gln Phe Gly Ser Gln Ile Lys
 110 115 120
 Tyr Ser Cys Pro Lys Gly Tyr Arg Leu Ile Gly Ser Ser Ser Ala
 125 130 135
 Thr Cys Ile Ile Ser Gly Asn Thr Val Ile Trp Asp Asn Lys Thr
 140 145 150
 Pro Val Cys Asp Ser Glu Leu Lys Tyr Ala Phe Leu Phe Leu Leu
 155 160 165
 Pro Ile His Ser Asn Phe Ser Leu Glu
 170

<210> 9
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 288709CD1

<400> 9
 Met Gln Leu Asp Trp Asn Gln Ala Gln Lys Ser Gly Asp Pro Gly
 1 5 10 15
 Pro Ser Val Val Gly Leu Val Ser Ile Pro Gly Met Gly Lys Leu
 20 25 30
 Leu Ala Glu Ala Pro Leu Val Leu Glu Pro Glu Lys Gln Met Leu
 35 40 45
 Leu His Glu Thr His Gln Gly Leu Leu Gln Asp Gly Ser Pro Ile
 50 55 60
 Leu Leu Ser Asp Val Ile Ser Ala Phe Leu Ser Asn Asn Asp Thr

```

        65              70              75
Gln Asn Leu Ser Ser Pro Val Thr Phe Thr Phe Ser His Arg Ser
      80              85              90
Val Ile Pro Arg Gln Lys Val Leu Cys Val Phe Trp Glu His Gly
      95              100             105
Gln Asn Gly Cys Gly His Trp Ala Thr Thr Gly Cys Ser Thr Ile
      110             115             120
Gly Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ile Cys Arg Cys Thr His Leu Ser
      125             130             135
Ser Phe Ala Val Leu Met Ala His Tyr Asp Val Gln Glu Glu Asp
      140             145             150
Pro Val Leu Thr Val Ile Thr Tyr Met Gly Leu Ser Val Ser Leu
      155             160             165
Leu Cys Leu Leu Leu Ala Ala Leu Thr Phe Leu Leu Cys Lys Ala
      170             175             180
Ile Gln Asn Thr Ser Thr Ser Leu His Leu Gln Leu Ser Leu Cys
      185             190             195
Leu Phe Leu Ala His Leu Leu Phe Leu Val Gly Ile Asp Arg Thr
      200             205             210
Glu Pro Lys Val Leu Cys Ser Ile Ile Ala Gly Ala Leu His Tyr
      215             220             225
Leu Tyr Leu Ala Ala Phe Thr Trp Met Leu Leu Glu Gly Val His
      230             235             240
Leu Phe Leu Thr Ala Arg Asn Leu Thr Val Val Asn Tyr Ser Ser
      245             250             255
Ile Asn Arg Leu Met Lys Trp Ile Met Phe Pro Val Gly Tyr Gly
      260             265             270
Val Pro Ala Val Thr Val Ala Ile Ser Ala Ala Ser Trp Pro His
      275             280             285
Leu Tyr Gly Thr Ala Asp Arg Cys Trp Leu His Leu Asp Gln Gly
      290             295             300
Phe Met Trp Ser Phe Leu Gly Pro Val Cys Ala Ile Phe Ser Ala
      305             310             315
Asn Leu Val Leu Phe Ile Leu Val Phe Trp Ile Leu Lys Arg Lys
      320             325             330
Leu Ser Ser Leu Asn Ser Glu Val Ser Thr Ile Gln Asn Thr Arg
      335             340             345
Met Leu Ala Phe Lys Ala Thr Ala Gln Leu Phe Ile Leu Gly Cys
      350             355             360
Thr Trp Cys Leu Gly Leu Leu Gln Val Gly Pro Ala Ala Gln Val
      365             370             375
Met Ala Tyr Leu Phe Thr Ile Ile Asn Ser Leu Gln Gly Phe Phe
      380             385             390
Ile Phe Leu Val Tyr Cys Leu Leu Ser Gln Gln Val Gln Lys Gln
      395             400             405
Tyr Gln Lys Trp Phe Arg Glu Ile Val Lys Ser Lys Ser Glu Ser
      410             415             420
Glu Thr Tyr Thr Leu Ser Ser Lys Met Gly Pro Asp Ser Lys Pro
      425             430             435
Ser Glu Gly Asp Val Phe Pro Gly Gln Val Lys Arg Lys Tyr
      440             445
<210> 10
<211> 126
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 959893CD1

<400> 10
Met Glu Ser Phe Leu Gly Gly Val Leu Leu Ile Leu Trp Leu Gln
  1          5          10          15
Val Asp Trp Val Lys Ser Gln Lys Ile Glu Gln Asn Ser Glu Ala

```

```

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

```

```

<210> 11
<211> 273
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1414179CD1

```

```

<400> 11
Met Gly Arg Ser Arg Ser Arg Ser Ser Ser Arg Ser Lys His Thr
  1                5                10                15
Lys Ser Ser Lys His Asn Lys Lys Arg Ser Arg Ser Arg Ser Arg
                20                25                30
Ser Arg Asp Lys Glu Arg Val Arg Lys Arg Ser Lys Ser Arg Glu
                35                40                45
Ser Lys Arg Asn Arg Arg Arg Glu Ser Arg Ser Arg Ser Arg Ser
                50                55                60
Thr Asn Thr Ala Val Ser Arg Arg Glu Arg Asp Arg Glu Arg Ala
                65                70                75
Ser Ser Pro Pro Asp Arg Ile Asp Ile Phe Gly Arg Thr Val Ser
                80                85                90
Lys Arg Ser Ser Leu Asp Glu Lys Gln Lys Arg Glu Glu Glu Glu
                95                100               105
Lys Lys Ala Glu Phe Glu Arg Gln Arg Lys Ile Arg Gln Gln Glu
                110               115               120
Ile Glu Glu Lys Leu Ile Glu Glu Glu Thr Ala Arg Arg Val Glu
                125               130               135
Glu Leu Val Ala Lys Arg Val Glu Glu Glu Leu Glu Lys Arg Lys
                140               145               150
Asp Glu Ile Glu Arg Glu Val Leu Arg Arg Val Glu Glu Ala Lys
                155               160               165
Arg Ile Met Glu Lys Gln Leu Leu Glu Glu Leu Glu Arg Gln Arg
                170               175               180
Gln Ala Glu Leu Ala Ala Gln Lys Ala Arg Glu Glu Glu Glu Arg
                185               190               195
Ala Lys Arg Glu Glu Leu Glu Arg Ile Leu Glu Glu Asn Asn Arg
                200               205               210
Lys Ile Ala Glu Ala Gln Ala Lys Leu Ala Glu Glu Gln Leu Arg
                215               220               225
Ile Val Glu Glu Gln Arg Lys Ile His Glu Glu Arg Met Lys Leu
                230               235               240
Glu Gln Glu Arg Gln Arg Gln Gln Lys Glu Glu Gln Lys Ile Ile
                245               250               255
Leu Gly Lys Gly Lys Ser Arg Pro Lys Leu Ser Phe Ser Leu Lys
                260               265               270
Thr Gln Asp

```

```

<210> 12

```

<211> 140
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2197211CD1

<400> 12
 Met Glu Lys Met Leu Glu Cys Ala Phe Ile Val Leu Trp Leu Gln
 1 5 10 15
 Leu Gly Trp Leu Ser Gly Glu Asp Gln Val Thr Gln Ser Pro Glu
 20 25 30
 Ala Leu Arg Leu Gln Glu Gly Glu Ser Ser Ser Leu Asn Cys Ser
 35 40 45
 Tyr Thr Val Ser Gly Leu Arg Gly Leu Phe Trp Tyr Arg Gln Asp
 50 55 60
 Pro Gly Lys Gly Pro Glu Phe Leu Phe Thr Leu Tyr Ser Ala Gly
 65 70 75
 Glu Glu Lys Glu Lys Glu Arg Leu Lys Ala Thr Leu Thr Lys Lys
 80 85 90
 Glu Ser Phe Leu His Ile Thr Ala Pro Lys Pro Glu Asp Ser Ala
 95 100 105
 Ser Tyr Leu Cys Ala Val Gln Gly Gly Ile Gly Asn Val Leu His
 110 115 120
 Cys Gly Ser Gly Thr Gln Val Val Val Leu Pro His Ile Arg Asp
 125 130 135
 Pro Gly Pro Ala Val
 140

<210> 13
 <211> 479
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2263653CD1

<400> 13
 Met Ala Val Leu Gly Val Gln Leu Val Val Thr Leu Leu Thr Ala
 1 5 10 15
 Thr Leu Met His Arg Leu Ala Pro His Cys Ser Phe Ala Arg Trp
 20 25 30
 Leu Leu Cys Asn Gly Ser Leu Phe Arg Tyr Lys His Pro Ser Glu
 35 40 45
 Glu Glu Leu Arg Ala Leu Ala Gly Lys Pro Arg Pro Arg Gly Arg
 50 55 60
 Lys Glu Arg Trp Ala Asn Gly Leu Ser Glu Glu Lys Pro Leu Ser
 65 70 75
 Val Pro Arg Asp Ala Pro Phe Gln Leu Glu Thr Cys Pro Leu Thr
 80 85 90
 Thr Val Asp Ala Leu Val Leu Arg Phe Phe Leu Glu Tyr Gln Trp
 95 100 105
 Phe Val Asp Phe Ala Val Tyr Ser Gly Gly Val Tyr Leu Phe Thr
 110 115 120
 Glu Ala Tyr Tyr Tyr Met Leu Gly Pro Ala Lys Glu Thr Asn Ile
 125 130 135
 Ala Val Phe Trp Cys Leu Leu Thr Val Thr Phe Ser Ile Lys Met
 140 145 150
 Phe Leu Thr Val Thr Arg Leu Tyr Phe Ser Ala Glu Glu Gly Gly
 155 160 165
 Glu Arg Ser Val Cys Leu Thr Phe Ala Phe Leu Phe Leu Leu Leu
 170 175 180
 Ala Met Leu Val Gln Val Val Arg Glu Glu Thr Leu Glu Leu Gly

185 190 195
 Leu Glu Pro Gly Leu Ala Ser Met Thr Gln Asn Leu Glu Pro Leu
 200 205 210
 Leu Lys Lys Gln Gly Trp Asp Trp Ala Leu Pro Val Ala Lys Leu
 215 220 225
 Ala Ile Arg Val Gly Leu Ala Val Val Gly Ser Val Leu Gly Ala
 230 235 240
 Phe Leu Thr Phe Pro Gly Leu Arg Leu Ala Gln Thr His Arg Asp
 245 250 255
 Ala Leu Thr Met Ser Glu Asp Arg Pro Met Leu Gln Phe Leu Leu
 260 265 270
 His Thr Ser Phe Leu Ser Pro Leu Phe Ile Leu Trp Leu Trp Thr
 275 280 285
 Lys Pro Ile Ala Arg Asp Phe Leu His Gln Pro Pro Phe Gly Glu
 290 295 300
 Thr Arg Phe Ser Leu Leu Ser Asp Ser Ala Phe Asp Ser Gly Arg
 305 310 315
 Leu Trp Leu Leu Val Val Leu Cys Leu Leu Arg Leu Ala Val Thr
 320 325 330
 Arg Pro His Leu Gln Ala Tyr Leu Cys Leu Ala Lys Ala Arg Val
 335 340 345
 Glu Gln Leu Arg Arg Glu Ala Gly Arg Ile Glu Ala Arg Glu Ile
 350 355 360
 Gln Gln Arg Val Val Arg Val Tyr Cys Tyr Val Thr Val Val Ser
 365 370 375
 Leu Gln Tyr Leu Thr Pro Leu Ile Leu Thr Leu Asn Cys Thr Leu
 380 385 390
 Leu Leu Lys Thr Leu Gly Gly Tyr Ser Trp Gly Leu Gly Pro Ala
 395 400 405
 Pro Leu Leu Ser Pro Asp Pro Ser Ser Ala Ser Ala Ala Pro Ile
 410 415 420
 Gly Ser Gly Glu Asp Glu Val Gln Gln Thr Ala Ala Arg Ile Ala
 425 430 435
 Gly Ala Leu Gly Gly Leu Leu Thr Pro Leu Phe Leu Arg Gly Val
 440 445 450
 Leu Ala Tyr Leu Ile Trp Trp Thr Ala Ala Cys Gln Leu Leu Ala
 455 460 465
 Ser Leu Phe Gly Leu Tyr Phe His Gln His Leu Ala Gly Ser
 470 475

<210> 14
 <211> 99
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2504590CD1

<400> 14
 Met Pro Arg Leu Lys Asp Pro Phe Phe Cys Tyr Gln Met Glu Ser
 1 5 10 15
 His Cys Val Pro Arg Leu Glu Cys Ser Gly Ala Ile Ser Thr His
 20 25 30
 Cys Lys Leu Cys Leu Pro Gly Ser Arg His Ser Pro Ala Ser Gly
 35 40 45
 Ser Arg Val Ala Gly Thr Thr Gly Ala Arg His His Ser Trp Leu
 50 55 60
 Ile Leu Phe Val Phe Ser Val Glu Thr Gly Tyr His His Val Ser
 65 70 75
 Gln Asp Gly Leu Asp Leu Pro Asp Leu Val Ile Arg Pro Pro Gln
 80 85 90
 Ser Pro Lys Val Leu Gly Leu Gln Ala
 95

<210> 15

<211> 349
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2529619CD1

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

<210> 16
 <211> 373
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 5467661CD1

<400> 16

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

<210> 17

<211> 353

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 229740CD1

<400> 17

Met Leu Lys Met Met Glu Val Tyr Lys Glu Pro Arg Glu Gln Pro

```

1           5           10           15
Ile Phe Thr Thr Arg Ala His Val Phe Gln Ile Asp Pro Asn Thr
20           25           30
Lys Lys Asn Trp Met Pro Ala Ser Lys Gln Ala Val Thr Val Ser
35           40           45
Tyr Phe Tyr Asp Val Thr Arg Asn Ser Tyr Arg Ile Ile Ser Val
50           55           60
Asp Gly Ala Lys Val Ile Ile Asn Ser Thr Ile Thr Pro Asn Met
65           70           75
Thr Phe Thr Asn Thr Ser Gln Thr Ser Gly Gln Trp Ala Asp Ser
80           85           90
Arg Ala Asn Thr Val Phe Gly Leu Gly Phe Ser Ser Glu Gln Gln
95           100          105
Leu Thr Lys Phe Ala Glu Lys Phe Gln Glu Val Lys Glu Ala Ala
110          115          120
Lys Ile Ala Lys Asp Lys Thr Gln Glu Lys Ile Glu Thr Ser Ser
125          130          135
Asn His Ser Gln Ala Ser Ser Val Asn Gly Thr Asp Asp Glu Lys
140          145          150
Ala Ser His Ala Gly Pro Ala Asn Thr His Leu Lys Ser Glu Asn
155          160          165
Asp Lys Leu Lys Ile Ala Leu Thr Gln Ser Ala Ala Asn Val Lys
170          175          180
Lys Trp Glu Ile Glu Leu Gln Thr Leu Arg Glu Ser Asn Ala Arg
185          190          195
Leu Thr Thr Ala Leu Gln Glu Ser Ala Ala Ser Val Glu Gln Trp
200          205          210
Lys Arg Gln Phe Ser Ile Cys His Asp Glu Asn Asp Gln Leu Arg
215          220          225
Asn Lys Ile Asp Glu Leu Glu Glu Gln Cys Ser Glu Ile Asn Arg
230          235          240
Glu Lys Glu Lys Asn Thr Gln Leu Lys Arg Arg Ile Glu Glu Leu
245          250          255
Glu Ala Glu Leu Arg Glu Lys Glu Thr Glu Leu Lys Asp Leu Arg
260          265          270
Lys Gln Ser Glu Ile Ile Pro Gln Leu Met Ser Glu Cys Glu Tyr
275          280          285
Val Ser Glu Lys Leu Glu Ala Ala Glu Arg Asp Asn Gln Asn Leu
290          295          300
Glu Asp Lys Val Arg Ser Leu Lys Thr Asp Ile Glu Glu Ser Lys
305          310          315
Tyr Arg Gln Arg His Leu Lys Val Glu Leu Lys Ser Phe Leu Glu
320          325          330
Val Leu Asp Gly Lys Ile Asp Asp Leu His Asp Phe Arg Arg Gly
335          340          345
Leu Ser Lys Leu Gly Thr Asp Asn
350
<210> 18
<211> 441
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1317467CD1

<400> 18
Met Leu Leu Pro Gly Arg Ala Arg Gln Pro Pro Thr Pro Gln Pro
1           5           10           15
Val Gln His Pro Gly Leu Arg Arg Gln Val Glu Pro Pro Gly Gln
20           25           30
Leu Leu Arg Leu Phe Tyr Cys Thr Val Leu Val Cys Ser Lys Glu
35           40           45
Ile Ser Ala Leu Thr Asp Phe Ser Gly Tyr Leu Thr Lys Leu Leu

```

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

<210> 19

<211> 310

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 2279267CD1

<400> 19

Met Gly Asp Asn Ile Thr Ser Ile Thr Glu Phe Leu Leu Leu Gly

```

1           5           10           15
Phe Pro Val Gly Pro Arg Ile Gln Met Leu Leu Phe Gly Leu Phe
20
Ser Leu Phe Tyr Val Phe Thr Leu Leu Gly Asn Gly Thr Ile Leu
35
Gly Leu Ile Ser Leu Asp Ser Arg Leu His Ala Pro Met Tyr Phe
50
Phe Leu Ser His Leu Ala Val Val Asp Ile Ala Tyr Ala Cys Asn
65
Thr Val Pro Arg Met Leu Val Asn Leu Leu His Pro Ala Lys Pro
80
Ile Ser Phe Ala Gly Arg Met Met Gln Thr Phe Leu Phe Ser Thr
95
Phe Ala Val Thr Glu Cys Leu Leu Leu Val Val Met Ser Tyr Asp
110
Leu Tyr Val Ala Ile Cys His Pro Leu Arg Tyr Leu Ala Ile Met
125
Thr Trp Arg Val Cys Ile Thr Leu Ala Val Thr Ser Trp Thr
140
Gly Val Leu Leu Ser Leu Ile His Leu Val Leu Leu Leu Pro Leu
155
Pro Phe Cys Arg Pro Gln Lys Ile Tyr His Phe Phe Cys Glu Ile
170
Leu Ala Val Leu Lys Leu Ala Cys Ala Asp Thr His Ile Asn Glu
185
Asn Met Val Leu Ala Gly Ala Ile Ser Gly Leu Val Gly Pro Leu
200
Ser Thr Ile Val Val Ser Tyr Met Cys Ile Leu Cys Ala Ile Leu
215
Gln Ile Gln Ser Arg Glu Val Gln Arg Lys Ala Phe Cys Thr Cys
230
Phe Ser His Leu Cys Val Ile Gly Leu Phe Tyr Gly Thr Ala Ile
245
Ile Met Tyr Val Gly Pro Arg Tyr Gly Asn Pro Lys Glu Gln Lys
260
Lys Tyr Leu Leu Leu Phe His Ser Leu Phe Asn Pro Met Leu Asn
275
Pro Leu Ile Cys Ser Leu Arg Asn Ser Glu Val Lys Asn Thr Leu
290
Lys Arg Val Leu Gly Val Glu Arg Ala Leu
305
<210> 20
<211> 438
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2436258CD1

<400> 20
Met Glu Val Gly Gly Asp Thr Ala Ala Pro Ala Pro Gly Gly Ala
1           5           10           15
Glu Asp Leu Glu Asp Thr Gln Phe Pro Ser Glu Glu Ala Arg Glu
20
Gly Gly Gly Val His Ala Val Pro Pro Asp Pro Glu Asp Glu Gly
35
Leu Glu Glu Thr Glu Asp His Lys Leu Val Phe Leu Gln Gln Gly
50
Pro Leu Leu Leu Val Ala Met Ser Arg Thr Ser Gln Ser Ala Ala
65
Gln Leu Arg Gly Glu Leu Leu Ala Val His Ala Gln Ile Val Ser
80
Thr Leu Thr Arg Ala Ser Val Ala Arg Ile Phe Ala His Lys Gln

```

```

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

```

```

<210> 21
<211> 357
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2681738CD1

```

```

<400> 21
Met Ala Thr Thr Val Pro Asp Gly Cys Arg Asn Gly Leu Lys Ser
  1                               5                               10                               15
Lys Tyr Tyr Arg Leu Cys Asp Lys Ala Glu Ala Trp Gly Ile Val
  20                               25                               30
Leu Glu Thr Val Ala Thr Ala Gly Val Val Thr Ser Val Ala Phe
  35                               40                               45
Met Leu Thr Leu Pro Ile Leu Val Cys Lys Val Gln Asp Ser Asn

```

```

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

```

<210> 22

<211> 1069

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 2859482CD1

<400> 22

```

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

```

				95					100				105	
Ile	Asn	Pro	Val	Pro	Leu	Val	Gly	Leu	Gln	Lys	Pro	Glu	Met	Ser
				110					115					120
Leu	Pro	Val	Lys	Pro	Gly	Gln	Gly	Asp	Ser	Glu	Ala	Ser	Ser	Pro
				125					130					135
Phe	Thr	Pro	Val	Ala	Asp	Glu	Asp	Ser	Val	Val	Phe	Ser	Lys	Leu
				140					145					150
Thr	Tyr	Leu	Gly	Cys	Ala	Ser	Val	Asn	Ala	Pro	Arg	Ser	Glu	Val
				155					160					165
Glu	Ala	Leu	Arg	Met	Met	Ser	Ile	Leu	Arg	Ser	Gln	Cys	Gln	Ile
				170					175					180
Ser	Leu	Asp	Val	Thr	Leu	Ser	Val	Pro	Asn	Val	Ser	Glu	Gly	Ile
				185					190					195
Val	Arg	Leu	Leu	Asp	Pro	Gln	Thr	Asn	Thr	Glu	Ile	Ala	Asn	Tyr
				200					205					210
Pro	Ile	Tyr	Lys	Ile	Leu	Phe	Cys	Val	Arg	Gly	His	Asp	Gly	Thr
				215					220					225
Pro	Glu	Ser	Asp	Cys	Phe	Ala	Phe	Thr	Glu	Ser	His	Tyr	Asn	Ala
				230					235					240
Glu	Leu	Phe	Arg	Ile	His	Val	Phe	Arg	Cys	Glu	Ile	Gln	Glu	Ala
				245					250					255
Val	Ser	Arg	Ile	Leu	Tyr	Ser	Phe	Ala	Thr	Ala	Phe	Arg	Arg	Ser
				260					265					270
Ala	Lys	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Ala	Thr	Ala	Ala	Pro	Gln	Thr	Pro
				275					280					285
Asp	Ser	Asp	Ile	Phe	Thr	Phe	Ser	Val	Ser	Leu	Glu	Ile	Lys	Glu
				290					295					300
Asp	Asp	Gly	Lys	Gly	Tyr	Phe	Ser	Ala	Val	Pro	Lys	Asp	Lys	Asp
				305					310					315
Arg	Gln	Cys	Phe	Lys	Leu	Arg	Gln	Gly	Ile	Asp	Lys	Lys	Ile	Val
				320					325					330
Ile	Tyr	Val	Gln	Pro	Gln	Thr	Thr	Asn	Lys	Glu	Ala	Ile	Glu	Arg
				335					340					345
Cys	Phe	Gly	Leu	Leu	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Asp	Val	Arg	Asn	Ser
				350					355					360
Asp	Met	His	Leu	Leu	Asp	Leu	Glu	Ser	Met	Gly	Lys	Ser	Ser	Asp
				365					370					375
Gly	Lys	Ser	Tyr	Val	Ile	Thr	Gly	Ser	Trp	Asn	Pro	Lys	Ser	Pro
				380					385					390
His	Phe	Gln	Val	Val	Asn	Glu	Glu	Thr	Pro	Lys	Asp	Lys	Val	Leu
				395					400					405
Phe	Met	Thr	Thr	Ala	Val	Asp	Leu	Val	Ile	Thr	Glu	Val	Gln	Glu
				410					415					420
Pro	Val	Arg	Phe	Leu	Leu	Glu	Thr	Lys	Val	Arg	Val	Cys	Ser	Pro
				425					430					435
Asn	Glu	Arg	Leu	Phe	Trp	Pro	Phe	Ser	Lys	Arg	Ser	Thr	Thr	Glu
				440					445					450
Asn	Phe	Phe	Leu	Lys	Leu	Lys	Gln	Ile	Lys	Gln	Arg	Glu	Arg	Lys
				455					460					465
Asn	Asn	Thr	Asp	Thr	Leu	Tyr	Glu	Val	Val	Cys	Leu	Glu	Ser	Glu
				470					475					480
Ser	Glu	Arg	Glu	Arg	Arg	Lys	Thr	Thr	Ala	Ser	Pro	Ser	Val	Arg
				485					490					495
Leu	Pro	Gln	Ser	Gly	Ser	Gln	Ser	Ser	Val	Ile	Pro	Ser	Pro	Pro
				500					505					510
Glu	Asp	Asp	Glu	Glu	Glu	Asp	Asn	Asp	Glu	Pro	Leu	Leu	Ser	Gly
				515					520					525
Ser	Gly	Asp	Val	Ser	Lys	Glu	Cys	Ala	Glu	Lys	Ile	Leu	Glu	Thr
				530					535					540
Trp	Gly	Glu	Leu	Leu	Ser	Lys	Trp	His	Leu	Asn	Leu	Asn	Val	Arg
				545					550					555
Pro	Lys	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Val	Arg	Asn	Gly	Val	Pro	Glu	Ala
				560					565					570
Leu	Arg	Gly	Glu	Val	Trp	Gln	Leu	Leu	Ala	Gly	Cys	His	Asn	Asn

				575					580				585	
Asp	His	Leu	Val	Glu	Lys	Tyr	Arg	Ile	Leu	Ile	Thr	Lys	Glu	Ser
				590					595					600
Pro	Gln	Asp	Ser	Ala	Ile	Thr	Arg	Asp	Ile	Asn	Arg	Thr	Phe	Pro
				605					610					615
Ala	His	Asp	Tyr	Phe	Lys	Asp	Thr	Gly	Gly	Asp	Gly	Gln	Asp	Ser
				620					625					630
Leu	Tyr	Lys	Ile	Cys	Lys	Ala	Tyr	Ser	Val	Tyr	Asp	Glu	Glu	Ile
				635					640					645
Gly	Tyr	Cys	Gln	Gly	Gln	Ser	Phe	Leu	Ala	Ala	Val	Leu	Leu	Leu
				650					655					660
His	Met	Pro	Glu	Glu	Gln	Ala	Phe	Ser	Val	Leu	Val	Lys	Ile	Met
				665					670					675
Phe	Asp	Tyr	Gly	Leu	Arg	Glu	Leu	Phe	Lys	Gln	Asn	Phe	Glu	Asp
				680					685					690
Leu	His	Cys	Lys	Phe	Tyr	Gln	Leu	Glu	Arg	Leu	Met	Gln	Glu	Tyr
				695					700					705
Ile	Pro	Asp	Leu	Tyr	Asn	His	Phe	Leu	Asp	Ile	Ser	Leu	Glu	Ala
				710					715					720
His	Met	Tyr	Ala	Ser	Gln	Trp	Phe	Leu	Thr	Leu	Phe	Thr	Ala	Lys
				725					730					735
Phe	Pro	Leu	Tyr	Met	Val	Phe	His	Ile	Ile	Asp	Leu	Leu	Leu	Cys
				740					745					750
Glu	Gly	Ile	Ser	Val	Ile	Phe	Asn	Val	Ala	Leu	Gly	Leu	Leu	Lys
				755					760					765
Thr	Ser	Lys	Asp	Asp	Leu	Leu	Leu	Thr	Asp	Phe	Glu	Gly	Ala	Leu
				770					775					780
Lys	Phe	Phe	Arg	Val	Gln	Leu	Pro	Lys	Arg	Tyr	Arg	Ser	Glu	Glu
				785					790					795
Asn	Ala	Lys	Lys	Leu	Met	Glu	Leu	Ala	Cys	Asn	Met	Lys	Ile	Ser
				800					805					810
Gln	Lys	Lys	Leu	Lys	Lys	Tyr	Glu	Lys	Glu	Tyr	His	Thr	Met	Arg
				815					820					825
Glu	Gln	Gln	Ala	Gln	Gln	Glu	Asp	Pro	Ile	Glu	Arg	Phe	Glu	Arg
				830					835					840
Glu	Asn	Arg	Arg	Leu	Gln	Glu	Ala	Asn	Met	Arg	Leu	Glu	Gln	Glu
				845					850					855
Asn	Asp	Asp	Leu	Ala	His	Glu	Leu	Val	Thr	Ser	Lys	Ile	Ala	Leu
				860					865					870
Arg	Lys	Asp	Leu	Asp	Asn	Ala	Glu	Glu	Lys	Ala	Asp	Ala	Leu	Asn
				875					880					885
Lys	Glu	Leu	Leu	Met	Thr	Lys	Gln	Lys	Leu	Ile	Asp	Ala	Glu	Glu
				890					895					900
Glu	Lys	Arg	Arg	Leu	Glu	Glu	Glu	Ser	Ala	Gln	Leu	Lys	Glu	Met
				905					910					915
Cys	Arg	Arg	Glu	Leu	Asp	Lys	Ala	Glu	Ser	Glu	Ile	Lys	Lys	Asn
				920					925					930
Ser	Ser	Ile	Ile	Gly	Asp	Tyr	Lys	Gln	Ile	Cys	Ser	Gln	Leu	Ser
				935					940					945
Glu	Arg	Leu	Glu	Lys	Gln	Gln	Thr	Ala	Asn	Lys	Val	Glu	Ile	Glu
				950					955					960
Lys	Ile	Arg	Gln	Lys	Val	Asp	Asp	Cys	Glu	Arg	Cys	Arg	Glu	Phe
				965					970					975
Phe	Asn	Lys	Glu	Gly	Arg	Val	Lys	Gly	Ile	Ser	Ser	Thr	Lys	Glu
				980					985					990
Val	Leu	Asp	Glu	Asp	Thr	Asp	Glu	Glu	Lys	Glu	Thr	Leu	Lys	Asn
				995					1000					1005
Gln	Leu	Arg	Glu	Met	Glu	Leu	Glu	Leu	Ala	Gln	Thr	Lys	Leu	Gln
				1010					1015					1020
Leu	Val	Glu	Ala	Glu	Cys	Lys	Ile	Gln	Asp	Leu	Glu	His	His	Leu
				1025					1030					1035
Gly	Leu	Ala	Leu	Asn	Glu	Val	Gln	Ala	Ala	Lys	Lys	Thr	Trp	Phe
				1040					1045					1050
Asn	Arg	Thr	Leu	Ser	Ser	Ile	Lys	Thr	Ala	Thr	Gly	Val	Gln	Gly

1055 1060 1065
 Lys Glu Thr Cys

<210> 23
 <211> 1995
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 209171CB1

<400> 23
 ggaccgtcctt cccagtcocca tcaagagaaa accacagact ctgggctcac tgaaggcata 60
 tggcagctgg tacctccatc actgtttaaa ggctcacata tcagtcaggg aaacgaggct 120
 gaggaaagag aggagccttg ggaccacact gaaaaaactg aagaggagcc ggtcctctggc 180
 agctcaggaa gctgggacca gtcaagccag ccagtgtttg agaattgtgaa cggtaaaact 240
 tttgacagat gtactggcca ctcggtgag cacacacagt gtgggaagcc acaggaaagt 300
 actgggaggg gttctgcttt tctcaaagct gtccagggta gcggggacac atctaggcac 360
 tgtctaccta ccctagcaga tgccaaaggt ctccaggaca ctgggggacac tgtgaactat 420
 ttctggggta ttccattctg ccctgatgga gttagacccta accagtatac caaggctcatt 480
 ctctgccagt tggaggttta tcaaaagagc ctgaaaatgg ctccagaggca gctccttaat 540
 aaaaaagggt ttggggaacc agtgttacct agacctcctt ctctgatcca gaatgaatgt 600
 ggccaaggag agcaggctag tgagaaaaat gaatgcatct cagaagatat gggagatgaa 660
 gacaaaagag agaggcagga gtctagggca tctgactggc actcaaaaac caaggatttc 720
 caggaaagct caattaaaag cttgaaagag aaacttttgt tggaggaaga accaacaacc 780
 agtcatggtc agtcttccca agggattgtt gaagaaactt ctgaagaggg aaactctgta 840
 cctgcttccac aaagtgttgc tgctttgacc agtaagagaa gcttagtctt tatgccagag 900
 agttctgcag aagaaatcac tgtttgcct gagaccagc taagttcctc tgaactttt 960
 gaccttgaaa gagaagtctc tccaggtagc agagatatct tggatggagt cagaataata 1020
 atggcagata aggaggttgg taacaaggaa gatgctgaga aggaagtagc tatttctacc 1080
 ttctcatcca gtaaccaggt atctgcccg ctatgtgacc aatgctttcc acccacaag 1140
 attgaacgac atgccatgta ctgcaatggc ctgatggagg aagatcacagt attgactcgg 1200
 agcaaaaaag aggccaaagc caagagtgac agtgggacag ctgccccagac ttctctagac 1260
 attgacaaga atgagaagtg ttacctctgt aaatccctgg tcccatttag agagtatcag 1320
 tgtcatgtgg actcctgtct ccagcttcca aaggctgacc aaggagatgg acctgaaggg 1380
 agtggagag catgttcaac tgtggagggg aagtggcagc agaggctgaa gaacccaaag 1440
 gaaaaaggcc acagtgaagg ccgactcctt agtttcttgg aacagtctga gcacaagact 1500
 tcagatgcag acatcaagtc ttcagaaaaa ggagccttca ggggtgccttc accagggatg 1560
 gaagaggcag gctgcagcag agagatgcag agttcttcca cacgtcgtga cttaaatgaa 1620
 tctcccgcca agtcttttgt ttccatttca gaagccacag attgcttagt ggactttaaa 1680
 aagcaagtta ctgtccagcc aggtagtctg acacggacca aagctggcag aggaagaagg 1740
 agaaaaattct gaatttctag ggtccaaaag ttgacaaaac cattagttag aggggtggc 1800
 catgttcatt aagccatagt ggtccctagt tcattgttga gcaagttta gcctgcagt 1860
 tttcaccacc agcacctacc cagcattctg gttttatgt ttttatgat ctatgcagac 1920
 aactgtgtat tctgttttat aacagtttgt ttgaatttac ttacagttaa aaaattttaa 1980
 tataaaaaaa aaaaa 1995

<210> 24
 <211> 2051
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 945430CB1

<400> 24
 tgcaccacgc gtccgtgcgt gttcactgtt tagtagtact caaaactgcc agtgtgagag 60
 gatttggaaa tcaactggatc tgctcaatac aaaaatgttt tttcagagtct ttctccattt 120
 tatcaggagt cattctgcca ctgcagtgga tttccttctt gtgatgggtc accggctccc 180
 agttttcaaa aggtacatgg gaaatactcc tcagaaaaaa gccgtctttg ggcagtgtcg 240
 gggctgtgcca tgtgttgac cgctgtgac cacagtggaa gaggctccac ggggcatctc 300
 tgctcgagtc tggggacatt ttccaaagtg gctcaatggc tctctacttc gaattggacc 360

```

tgggaaatc gagtttggga aggataagta caatcattgg tttgatggga tggcgctgct 420
tcaccagttc agaatggcaa agggcacagt gacatacagg agcaagtttc tacagagtga 480
tacataaag gccaacagtg ctaaaaaccg aat:tgatgc tcagaatttg gcacactggc 540
tctcccggat ccatgcaaga atgtttttga acgtttcatg tccaggtttg agctgcctgg 600
taaagctgca gccatgactg acaataactaa tgtcaactat gtgcggtaca agggtgatta 660
ctaccctctgc actgagacca actttatgaa taaagtggac attgaaactc tggaaaaaac 720
agaaaaggta gattggagca aattttattgc tgtgaatgga gcaactgcac atcctcatta 780
tgaccocggat ggaacagcat acaatatggg gaactccttt gggccatatg gtttctccta 840
taaggttatt cgggttcctc cagagaaggt ggaccttggg gagacaatcc atggagtcca 900
ggtgatatgt tctattgctt ctacagagaa agggaaacct tcttactacc atagctttgg 960
aatgacaagg aactatataa ttttcattga acaacctcta aagatgaacc tgtggaaaat 1020
tgccacttct aaaattcggg gaaaggcctt ttcagatggg ataagctggg aaccccagtg 1080
taatacggcg tttcatgtgg tggaaaaacg cactggacag ctcttccag ggagatacta 1140
cagcaaacct tttgttacct ttcatacaat caatgccttt gaggaccagg gctgtgttat 1200
aattgatatt tgctctcaag ataatggaag aaccctagaa gtttaccagt tacagaatct 1260
caggaaggct ggggaagggc ttgatcaggt ccataattca gcagccaaa ctttccctcg 1320
aaggtttggg ttgccttaa atgtcagttt gaatgcccc gagggagaca acctgagtc 1380
attgtcctat acttcagcca gtgctgtgaa acaggctgat ggaacgatct ggtgctctca 1440
tgaaaaatcta catcaggagg acctagaaaa ggaaggaggc attgaatttc ctcagatcta 1500
ctatgatcga ttcagtggca aaaagtatca tttcttttat ggctgtggct ttcggcattt 1560
agtgggggat tctctgatca aggttgatgt ggtgaataag acaactgaagg tttggagaga 1620
agatggcttt tatccctcag aacctgtttt tgttccagca ccaggaacca atgaagaaga 1680
tggtgggggt atctctctg tggatgatcac tcccaccagc aatgaaagca attttctcct 1740
agttttggat gccaaagaact ttgaagagct gggccgagca gaggtacctg tgcagatgcc 1800
ttatgggttc catggtaact tcataccat ctgatgggac aaccacaagg tctggaaact 1860
aggtttaaaa taagtgtgca ctggacata aagactggag aaataaacac tgaggactcc 1920
aaaagggggg caaggaggaa gaggggcagg ggttaaaaag ctacctattg aatactatgt 1980
tcctattttg ggtgatgggt tcattagaag tccaaacctc agcagcacac aatatactca 2040
tgtaacaagg g

```

```

<210> 25
<211> 2067
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1305513CB1

```

```

<400> 25
ggcaaaaagc atgcagaaaa agaagcagac gttttacatt gggaaattaat gaaagcgtgt 60
ctgctagttt tgggtaggag aactgggaag ttgttgctta aaattttata tcacctccac 120
aaacaaaact cttcggaaat ggtaaaataa gaaaatgcat gattctagag gcattcctaa 180
gcaccacagt gtcgggcttt gtggtgtctg ttggtatcatc cgaccgtttg gactggttag 240
ggcttactga gagctccatt tctggaaaagc cttacaagac tgaggaatat cagactgcga 300
atcaccggga acggttcctt tgacagcacag aagcaatctc tctcccacatc ttcgcatatt 360
ctgatggcaa aacaagtgga agaaaagagg aagcatgact gcagatcaga tcagttctct 420
ttgtggatta tattttcagt aaaatgtatg gatctatctt ttccttgttc ttatatctag 480
atcatgagac ttgactgagg ctgtatcctt atcctccatc catctatggc gaactatagc 540
catgcagctg acaacatttt gcaaaaatctc tcgcctctaa cagcctttct gaaactgact 600
tcttggggtt tcataatagg agtcagcgtg gtgggcaacc tctgtatctc cattttgcta 660
gtgaaagata agaccttgca tagagcacct tactacttcc tgttggatct ttgctgttca 720
gatatcctca gatctgcaat ttgtttccca tttgtgttca actctgtcaa aaatggctct 780
acctggactt atgggactct gacttgcaaa gtgattgcct ttctgggggt tttgtcctgt 840
ttccacactg ccttcatgct ctctgcacac agtgcacca gatacttagc tatcgcccat 900
caccgcttct atacaaagag gctgaccttt tggacgtgtc tggctgtgat ctgtatgggt 960
tggactctgt ctgtggccat ggcatttccc ccggttttag acgtgggcac ttactcttc 1020
attagggaga aagatcaatg caccttccaa caccgctcct tcagggctaa tgattcctta 1080
ggatttatgc tgcctcttgc tctatcctc ctagccacac agcttgtcta cctcaagctg 1140
atatttttctg tccacgatcg aagaaaaatg aagccagctc agttttagc agcagtcagc 1200
cagaactgga cttttcatgg tctggagcc agtggccagg cagctgccaa ttggctagca 1260
ggatttggaa ggggtcccac accaccacc ttgctgggca tcaggcaaaa tgcaaacacc 1320
acaggcagaa gaaggctatt ggtcttagac gagttcaaaa tggagaaaag aatcagcaga 1380
atgttctata taatgacttt tctgtttcta accttgtggg gcccctacct ggtggcctgt 1440

```

```

tattggagag tttttgcaag agggcctgta gtaccagggg gatttctaac agctgctgtc 1500
tggatgagtt ttgcccgaagc aggaatcaat ccttttgtct gcattttctc aaacagggag 1560
ctgaggcgct gtttcagcac aacccttcct tactgcagaa aatccaggtt accaagggaa 1620
ccttactgtg ttatatgagg gagcatctgt aaatccttag ccttgtgaaa actaaccttc 1680
tctgctgagc aattgtggcc catagccata ttttgagaag aaattcaaga atggaatcag 1740
cagttttaag gatttgggca acattctgca gtctttgcaa tagttcacct ataatcctat 1800
tttaaatetc agagtgatcc tgctgactgc cagcaaaggt ttgtaatata gaagggactg 1860
aaccactgcc ctaagtttct ttatgtggtc aaaaactaga taatgaaagt agcaggtgct 1920
aagtatcagt gctaaatgct ctgtatgtca ctacatatga aaaaacatca aaaaacaatt 1980
agcattggac atcttaataa attaaagttga catgaggtaa atgtgttgat aaaaactaat 2040
tttagaagtt tgaagacttt aaaacag 2067

```

<210> 26
<211> 1165
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1876283CB1

```

<400> 26
cttcttccgg gtggggcccc gggccgaggc gatggcgccc tgggcgctcc tcagccctgg 60
ggtcctgggt cggaccgggc acaccgtgct gacctgggga atcacgctgg tgctcttctt 120
gcacgatacc gagctgcggc aatgggagga gcagggggag ctgctcctgc cctcacctt 180
cctgctcctg gtgctgggct ccttctgct ctacctgct gtgtcactca tggaccctgg 240
ctacgtgaat gtgcagcccc agcctcagga ggagctcaaa gaggagcaga cagccatggt 300
tcctccagcc atccctcttc ggcctgcag atactgcctg gtgctgcagc cctgagggc 360
tcggcactgc cgtgagtgcc gccgttgcgt ccgccgctac gaccaccact gccctggat 420
ggagaactgt gtgggagagc gcaaccaccc actctttgtg gtctactctg cgctgcagct 480
ggtgggtgct ctgtggggcc tgtacctggc atggtcaggc ctccggttct tccagccctg 540
gggtctgtgg ttgcggtcca gcgggctcct gttcgccacc ttctgctgc tgtccctctt 600
ctcgttggtg gccagcctgc tcctcgtctc gcacctctac ctgggtggcca gcaacaccac 660
cacctgggaa ttcattctct cacaccgcat cgcttatctc cgccagcgcc ccagcaaccc 720
cttcgaccga ggcctgaccc gcaacctggc ccacttcttc tgtggatggc cctcagggtc 780
ctgggagacc ctctgggctg aggaggagga agagggcagc agcccagctg tttagggttg 840
ctggaggccg ggctaccgtc ttgtgcctga aaaccacggg gcctgtcccc agctgggggtg 900
agcgcctcaga gggcctgggg cctcactccc tgcccacgcc tcccagacc cagaacggag 960
cttcaagtca gacagatccc tgcttgggtg ggcagttctg ccttccaagg aagaagggga 1020
agaaaaggac ctgtgggtgg ctcagggcca agcagacccc gggctccacc ccagccccgc 1080
ccaggctgct gccagtgcac acttttacaa atttaataa aagcaagtcc agtcttaaaa 1140
agacaaacca taaaaataa aaaaa 1165

```

<210> 27
<211> 3523
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2470285CB1

<220>
<221> unsure
<222> 3393, 3419, 3435, 3443
<223> a, t, c, g, or other

```

<400> 27
gcggccgcag caatgccggg cccgctaggg ctgctctgct tcctcgccct ggggctgtct 60
ggctcggccg ggcccagcgg cgcggcgccg cctctctgcy cggcgccctg cagctgcgac 120
ggcgaccgtc ggggtggactg ctccgggaag gggctgacgg ccgtgccccg ggggctcagc 180
tccttcaccc aagcgtgga tatcagtatg aacaacatta ctgagttgcc agaagatgca 240
tttaagaact ttcttttct agaagagcta caattggcgg gcaacgacct ttcttttctc 300
caccctaaag ctttgtctgg gttgaaagaa ctcaaagttc taacgctcca gaataatcag 360

```

```

ttgaaaacag taccacagtga agccattcga gggctgagtg ctttgagtc tttgcgttta 420
gatgccaaac atattacctc agtccccgag gacagttttg aaggacttgt tcagttacgg 480
catctgtggc tggatgacaa cagcttgacg gaggtgcctg tgcaccccct cagcaatctg 540
cccaccttac aggcgctgac cctggctctc aacaagatct caagtatccc tgactttgca 600
tttaccaacc tttcaagcct ggtagttctg catcttcata acaataaaat tagaagcctg 660
agtcaacact gttttgatgg actagataac ctggagacct tagacttgaa ttataataac 720
ttgggggaat ttctcagge tattaaagcc ctctcagcc ttaaagagct aggatttcat 780
agtaattcta tttctgttat ccctgatgga gcatttgatg gtaatccact cttaaagaact 840
atacatttgt atgataatcc totgtctttt gtggggaaact cagcatttca caatttatct 900
gatcttcatt ccctagtcac tctgtgtgca agcatgggtg agcagttccc caatcttaca 960
ggaactgttc acctggaaa gctgactttg acaggtacaa agataagcag catacctaata 1020
aatttgtgcc aagaacaaaa gatgcttagg actttggact tgtcttaca taatataaga 1080
gaccttccaa gttttaatgg ttgccatgct ctggaagaaa tttctttaca gcgtaataca 1140
atctaccaa taaaggaagg cacctttcaa ggctgatata ctctaaggat tctagatctg 1200
agttagaaac taagacacag aattcacagt agagcttttg ccacacttgg gccaaataact 1260
aacctagatg taagtttcaa tgaattaact tcctttccta cggaaagcct gaatgggcta 1320
aatcaactga aacttgtggg caacttcaag ctgaaagaag ccttagcagc aaaagacttt 1380
gtaaacctca ggtctttatc agtaccatat gcttatcagt gctgtgcatt ttggggtgtg 1440
gactcttatg caaattttaa cacagaagat aacagcctcc aggaccacag tgtggcacag 1500
gagaaggta ctgctgatgc agcaaatgtc acaagcactc ttgaaaatga agaacatagt 1560
caataaata tccattgtac accttcaaca ggtgctttta agccctgtga atatttactg 1620
ggaagctgga tgattcgtct tactgtgtgg ttcatcttct tgggtgcatt atttttcaac 1680
ctgctgttta ttttaacaac atttgcatct tgtacatcac tgccttcgtc caaattgttt 1740
ataggcttga tttctgtgtc taacttattc atgggaaact atactggcat cctaactttt 1800
cttgatgctg tgcctggggg cagattcgtg gaatttggca tttgggtggg aactggcagt 1860
ggctgcaaa gtagctgggtt tcttgcaqtt tctcctcag aaagtgccat atttttatta 1920
atgctagcaa ctgtcgaaag aagcttatct gcaaaagata taatgaaaaa tgggaagagc 1980
aatcatctca aacagttccg ggttgcctcc cttttggcct tcctaggtgc tacagtagca 2040
ggctgttttc ccttttcca tagaggggaa tattctgcat cacccttttg tttgccaatt 2100
cctacaggtg aaacgccatc attaggattc actgtaacgt tagtgctatt aaactcacta 2160
gcatttttat taatggcgtt tatctacact aagctatact gcaacttggg aaaagaggac 2220
ctctcagaaa actcacaatc tagcatgatt aagcatgtcg cttggctaata cttcaccaat 2280
tgcacttttt tctgccctgt ggcgtttttt tcatttgcac cattgatcac tgcaatctct 2340
atcagccccg aaataatgaa gtctgttact ctgataatth ttccattgcc tgcttgctcg 2400
aatcagctcc tgtatgtttt cttcaaccca aagttaaag aagactggaa gttactgaag 2460
cgacgtgtta ccaagaaaag tggatcagtt tcagtttcca tcagtagcca aggtggtgtg 2520
ctggaacagg atttctacta cgactgtggc atgtactcac atttgcaggg caacctgact 2580
gtttgcgact gctgcgaatc gtttctttta acaagccag tatcatgcaa acacttgata 2640
aaatcacaca gctgtcctgc attggcagtg gcttcttgcc aaagacctga gggctactgg 2700
tccgactgtg gcacacagtc ggcccactct gattatgcag atgaagaaga ttctttgtc 2760
tcagacagtt ctgaccaggt gcaggcctgt ggacgagcct gcttctacca gagtagagga 2820
ttccctttgg tgcgctatgc ttacaatcta ccaagagtta aagactgaac tactgtgtgt 2880
gtaaccgttt cccccgtaa ccaaaatcag tgtttataga gtgaacccta ttctcatctt 2940
acatctggga agcactctg taactcactgc ctggtgtcac ttagaagaag gagaggtggc 3000
agtttatctc tcaaaccagt cattttcaaa gaacaggtgc ctaaattata aattgggtgaa 3060
aaatgcaatg tccaagcaat gtatgatctg tttgaaacaa atatatgact tgaaaaggat 3120
cctaggtgta gtagagcaat ataatgttag tttttctga tccataagaa gcaaatatat 3180
acctatttgt gtattaagca caagataaag aacagctggt aatatttttt aaaaatctat 3240
tttaaaatgt gattttctat aactgaagaa aatatcttgc taattttacc taatgtttca 3300
tccttaactc caggacaact tactgcaggg ccaaaaaagg gactgtccca gctagaactg 3360
tgagagtata cataggcatt actttattat gtnttcactt gccatccttg acataagang 3420
actataaatt ttgtntaagc canttataaa tctaaccctg gtagatgttt taaaccataa 3480
tacagctggt aggttaaaaa atagctggac attggtttca gtt 3523

```

<210> 28

<211> 2179

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: P2925789CB1

<400> 28

```

gtcctggcga gggcgctggc cgagaggtgc tcggcttgta gcaggtccc cactccagcc 60
tctcgctgcc agggtttgcct ctctgcttgc cctgggctga ggtgtccatg acggagtcac 120
ccaagggagga aaaaatctgt tccgggtgag cccaggccgc cccggatatg cgategctga 180
ggagcagaca ccagggacca cactgaggtt gggtttcaga ccaagacact ggattctcct 240
agttaagata aagagctttg ggtgcctgac agtgaaaatg gtgtaatctg cgtaaacagt 300
tcacagcttg aagggcatgac aattaaagaa cacacatgga cttgtggcac atggaaatgt 360
gccacagaa aaaggaatc tataattctt ttaaagtagg aaggcattct tccttgccaa 420
aatgggtaca ttctgttcgg ttatcaagtt tgaatctca caagaattaa agagactgtg 480
tcactgggggt cccatcatag cccttgggtg tataagcaata tgttctacca tggccatgat 540
tgactctgtg ttgtgttatt ggcccttaca tacaactgga ggaagtgtga atttcatcat 600
gttgataaat tggactgtca tgattcttta taattacttc aatgccatgt ttgtcggctc 660
gggctttgtc cctctggggg gaaaccgga aatttctcag gataccatgt atctccagta 720
ttgtaaagtc tgccaagcat caaaggcacc acgttcacat cactgcagaa agtgtaacag 780
atgtgtgatg aagatggacc atcactgtcc ttggatcaac aactgttgtg gttaccaaaa 840
tcactgcttcg ttcacactgt ttctcctttt agcaccactg gggtgtatcc atgctgcttt 900
catttttgtg atgactatgt acacacagct ttatcatcgg ctctcctttg ggtggaacac 960
agtgaagatc gacatgagtg cagcccggag agatcctctt ccaattgttc catttggatt 1020
agctgcattg gctaccacct tgtttgcctt gggattagct ttaggaacaa coatagctgt 1080
tgggatggtg ttttttatcc agatgaaaat aattctcaga aacaaaactt ctattgagtc 1140
atggattgaa gagaaggcta aagatcgaat tcagtattat caactagatg aagtctttgt 1200
ttttccatat gatatgggaa gtagatggag gaactttaa caggtattta cgtggtcagg 1260
ggtcocctgaa ggagatggac ttgagtggcc agtaagagaa ggctgtcacc aatacagctt 1320
aacaatagaa cagttgaaac aaaaagcaga taagagagtc agaagtgttc gctataaagt 1380
aatagaagat tatagtggtg cctgctgccc tctgaataaa ggaatcaaaa ccttcttcac 1440
aagtccctgc accgaagagc ctcgaataca gctgcaaaaa ggggaattca ttttagccac 1500
aagaggttta cgatactggt tatatggaga caaaattctt gatgattcct ttatagaagg 1560
tgtttcaaga ataaggggtt ggtccctag aaaaatgtgt gaaaagtgtc cctgtgatgc 1620
tgaaacagat caagcccag agggggagaa gaaaaataga tagctgtctg taaaacaaaa 1680
ttatccttta agtctgttta attactgaa aattgtacat attactaaag aattatgcaa 1740
tgagcctact ctggttaaga tgttcttttc ctcaaagggt ccctagtgcc atgatttaa 1800
tatttttatt accattttga aatggagaag ccattctgca tatgcctttg aattcctgcc 1860
cctctttacc acctcttctt cccctcaaaa ggaaaaacat ttcatccaag taagttaacg 1920
gcctctcttg taggattttc ttatgcaactg cacactctgg acctcaactg cagatagcag 1980
tcccccttg ccaggagcat ctgcatgtgg tacttctctt tccctcagt tgatatttct 2040
tatatgatat tctagatact atagaactca atttgtcaga ttcagtataa cctcagattt 2100
tgttacctgt cttttaaaaa tgcagatttt gtcaaatcaa ataaagatca atggatgttg 2160
ggtataaaaa aaaaaaaaaa

```

<210> 29

<211> 645

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 3099990CB1

<400> 29

```

cggccaaaga tctcagcctt cctgcccgcc cggcagctct ggaagtggtc ggggaatccc 60
acacagcggc gtggcatgaa ggggaaggcc cggaaactgt tctacaaggc catcgtgcgg 120
ggcagaggaga ccctgcgtgt cggggactgt gccgtcttcc tgtcagctgg gcggccaac 180
ctcccctaca tcggccgcat cgagagcat tgggagctgt ggggcagcaa catggtggtc 240
aaggtcaagt ggttctacca ccctgaggag accaagctgg gcaagaggca gtccgacggc 300
aagaatgccc tgtaccagtc ctgccacgag gatgagaacg acgtgcagac catctcccac 360
aagtgccagg tcgtggcggc cgagcagtat gagcagatgg cccggagccg caagtgccag 420
gaccggcagg acctctacta cctggcgggc acctacgacc ccaccaccgg gcgcctgggt 480
acggctgatg gcgtgcccat cctatgctga gccgccacc gcagatgctt cccacgtggc 540
ccagggaccc tgtgtgcgga cctggcgtcg gccaaagccac cgggcaggag gcagccccgg 600
cctcccaagg gcgcatctga gcaaatatgc aaaagccacc agggc

```

<210> 30

<211> 627

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 103561CB1

<400> 30
 cggactcaga agggacttcc ctgctcggct ggctttcggg ttctctgctc acctccggat 60
 aaatcacggg gtctcccgcg ccgctcatgg cgctcccgt cegtctcgag cgctcccttc 120
 cttcccggcg ctttcttggg ttgcttctgg cggccctggg gttgctgctg tcctccttct 180
 ccgatcaatg caatgtcccc gaatggcttc cattedgacg gcctaccaac ctaactgatg 240
 actttgagtt tcccattggg acatatctga actatgaatg ccgccctggg tattccggaa 300
 gacggttttc tatcatctgc ctaaaaaact cagtctggac aagtgctaag gacaagtgca 360
 aacgtaaatc atgtcgtaat cctccagatc ctgtgaaatg catggcacat gtgatcaaag 420
 acatccagtt cggatcccaa attaaatatt ctgtgcctaa aggataccga ctcatgggtt 480
 cctcgtctgc cacatgcatc atctcaggca acaactgtcat ttgggataat aaaacacctg 540
 tttgtgacag tgagttgaaa tatgcattcc tatttctttt accgatacat tctaattttt 600
 ctctggaata ataaaaatct taaccga 627

<210> 31
 <211> 1858
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 288709CB1

<400> 31
 ctggatgagc tgctggaggc cctggggacc tggagaccct gccccgctta cagcagcact 60
 gtgtggccag tcacctgctg gatggcctag aggatgtcct cagaggcctg agcaagaacc 120
 tttccaatgg gctgttgaac ttcagttatc ctgcaggcac agaattgtcc ctggagggtg 180
 agaagcaagt agacaggagt gtcacctga gacagaatca ggcagtgatg cagctcgact 240
 ggaatcaggc acagaaatct ggtgaccag gccttctgt ggtgggcctt gtctccattc 300
 cagggatggg caagttgctg gctgaggccc ctctggtcct ggaacctgag aagcagatgc 360
 ttctgcatga gacacaccag ggcttgctgc aggacggctc cccatcctg ctctcagatg 420
 tgatctctgc ctttctgagc aacaacgaca ccaaaacct cagctcccca gttacctca 480
 cttctcccca ccgttcagtg atcccagagc agaaggtgct ctgtgtcttc tgggagcatg 540
 gccagaatgg atgtggtcac tgggccacca caggctgcag cacaataggc accagagaca 600
 ccagcaccat ctgcccgttc acccacctga gcagcttctg cgtctctatg gccactacg 660
 atgtgcagga ggaggatccc gtgctgactg tcatcaccta catggggctg agcgtctctc 720
 tgctgtgctc cctcctggcg gccctcaett ttctcctgtg taaagccatc cagaacacca 780
 gcacctcact gcactctgag ctctcgtctt gcctcttctt ggccacctc ctcttctctg 840
 tggggattga tcgaactgaa cccaaggtgc tgtgctccat catcgcgggt gctttgact 900
 atctctacct ggccccttc acctggatgc tgctggaggg tgtgcacctc ttctcactg 960
 cacggaacct gacagtggtc aactactcaa gcatcaatag actcatgaag tggatcatgt 1020
 tcccagtcgg ctatggcggt cccgctgtga ctgtggccat ttctgcagcc tcttggcctc 1080
 acctttatgg aactgctgat cgatgctggc tccacctgga ccagggattc atgtggagt 1140
 tccttggccc agtctgtgccc attttctctg cgaatttagt attgtttatc ttggctcttt 1200
 ggattttgaa aagaaaactt tcctccctca atagtgaagt gtcaaccatc cagaacacaa 1260
 ggatgctggc tttcaaagca acagctcagc tcttcatcct gggctgcaca tgggtgtctg 1320
 gcttctctaca ggtgggtcca gctgcccagg tcatggccta cctctcacc atcatcaaca 1380
 gcctccaagg cttcttcatc ttcttggctt actgcctcct cagccagcag gtccagaaac 1440
 aatatcaaaa gtggtttaga gagatcgtaa aatcaaaatc tgagtctgag acatacacac 1500
 tttccagcaa gatgggtcct gactcaaac ccagtgaggg ggatgtttt ccaggacaag 1560
 tgaagagaaa atattaaaac tagaatatc aactccatat ggaaaatcat atccatggat 1620
 ctctttggca ttatgaagaa tgaagctaag gaaaagggaa ttcattaac atatcatcct 1680
 tggagaggaa gtaatcaacc tttacttccc aagctgtttg ttctccacaa taggctctca 1740
 acaaatgtgt gtaaatgtc atttctcttc actatggtgt attcagtcaa tgcttgtccc 1800
 tggaaaccca aagcatgacc actgcaaata tttccttgac tttttgtaaa aaaaaaaaa 1858

<210> 32
 <211> 539
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 959893CB1

<400> 32
 tttttggctg agaaggctgg gtctacattt caggccacat ttggggagac gaatggagtc 60
 attcctggga ggtgttttgc tgattttgtg gcttcaagtg gactgggtga agagccaaaa 120
 gatagaacag aattccgagg ccctgaacat tcaggagggt aaaacggcca ccttgacctg 180
 caactataca aactattccc cagcatactt acagtggtag cgacaagatc caggaagagg 240
 ccctgttttc ttgcactca tacgtgaaaa tgagaaaaga aaaaggaaaag aaagactgaa 300
 ggtcaccttt gataccacc ttaaacagag tttgtttcat atcacagcct cccagcctgc 360
 agactcagct aactacctct gtgtcttagg gggaagagga acaaaactcac ctttgggaca 420
 ggcactcagc tagaagtggg actcaatatc cagaaccctg acctgcccgt gtacaagctg 480
 agagactcta aatccagtga caagtctgtc tgccatttaa cggttttgat tctcaaaaa 539

<210> 33
 <211> 1126
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 1414179CB1

<400> 33
 tgccatctta ggggcgcctg gcgctacggg tttctcgttg gaggggcct tcgtggcagc 60
 tgtagacgcc gggaaaaggc ataaaagtcc ttggccgaca cctttctttc ctccggcctc 120
 ggtagaaccg ccagcccgcg tccgaaggcg gaggcgaggg gaactggccg cgtgaggggc 180
 ctgaggcgag cggttagagc gtctcccgga aggatgggcc ggtctcggag ccggagctcg 240
 tcccgcctca agcacaccaa gagcagcaag cacaacaaga agcgcagccg gtcccggctg 300
 cgatcccggg acaaggagcg cgtgcggaag cgttccaaat ctcgggaaaag taaacggaac 360
 cggggccggg agcgcgcctc gtccccgcc gaccgcctcg acatcttcgg gcgcacggtg 480
 agcaagcgca gcagcctgga cgagaagcag aagcgagagg aggaggagaa gaaagcggag 540
 ttcgagcggc agcgaaaaat tcgacagcaa gaaatagaag aaaaactcat cgaggaagaa 600
 acagcacgaa gagtagaaga attggtagca aaaagggtgg aggaagaact ggagaaaagg 660
 aaggatgaaa ttgaacgaga agttctccga aggggtggagg aagccaaacg catcatggaa 720
 aagcagttgc tcgaagaact cgagcgacag agacaagctg agcttgcccg acaaaaagct 780
 agagaggagg aagaacgtgc aaaacgtgag gagctagagc gaatactgga agagaataac 840
 cgaaaaattg cagaagcaca agccaaactg gccgaagaac agttgagaat tgttgaagaa 900
 caaagaaaaga ttcattgagga aaggatgaaa ctagaacaag aacgacaacg tcaacaaaaa 960
 gaagaacaaa aaattatcct gggcaagggg aagtccaggc caaaactgtc cttctcatta 1020
 aaaaccagc attaaattgc aaactctgaa ctttttaCaa agaaaaatgg aaaaactttg 1080
 tatggtagct tcattgtgaa gtggtttttt gtttttggtt ttgttt 1126

<210> 34
 <211> 490
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2197211CB1

<400> 34
 gcctctgaga aaagaagggt ggaattatcg taatttgttt ctaggctgag ataccagcat 60
 ggagaaaatg ttggagtgtg cattcatagt cttgtggctt cagcttggtt ggttgagtgg 120
 agaagaccag gtgacgcaga gtcccagggc cctgagactc caggagggag agagtagcac 180
 tctcaactgc agttacacag tcagcggttt aagagggtct ttctgggtata ggcaagatcc 240
 tgggaaaggc cctgaattcc tcttcaccct gtattcagct ggggaagaaa aggagaaaga 300
 aaggctaaaa gccacattga caaagaagga aagctttctg cacatcacag cccctaaacc 360
 tgaagactca gccagttatc tctgtgtgtg gcaggggggc attgggaatg tgctgcattg 420
 cgggtccggc actcaagtgg ttgttttacc acatattcgg gaccctggac ctgcccgtga 480
 acagctgaga

<210> 35
 <211> 1799
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2263653CB1

<400> 35
 ctaggcgggt gggtagtgac accgcgttct cgcacgcgtc atggcgggtcc tcggagtaca 60
 gctgggtggg accctgctca ctgccaccct catgcacagg ctggcgccac actgctcctt 120
 cgcgcgctgg ctgctctgta acggcagttt gttccgatac aagcaccctg ctgaggagga 180
 gcttcgggcc ctggcgggga agccgaggcc cagaggcagg aaagagcggg gggccaatgg 240
 ccttagtgag gagaagccac tgtctgtgcc ccgagatgcc ccgttccagc tggagacctg 300
 cccctcaccg accgtggatg ccctggtcct gccttctctc ctggagtacc agtggtttgt 360
 ggactttgct gtgtactcgg gcggcgtgta cctcttcaca gaggcctact actacatgct 420
 gggaccagcc aaggagacta acattgctgt gttctgggtc ctgctcacgg tgacctctc 480
 catcaagatg ttctgacag tgacacggct gtacttcagc gccgaggagg ggggtgagcg 540
 ctctgtctgc ctacaccttg ccttctctct cctgctgctg gccatgctgg tgcaagtgg 600
 gcgggaggag accctcgagc tgggcctgga gcctggtctg gccagcatga cccagaactt 660
 agagccactt ctgaagaagc agggcctggga ctgggcgctt cctgtggcca agctggctat 720
 ccgcgtggga ctggcagtg tgggctctgt gctgggtgcc ttctcacct tcccaggcct 780
 gcggctggcc cagaccacc gggacgcact gaccatgtcg gaggacagac ccatgctgca 840
 gttctctctg cacaccagct tctgtctctc cctgttcac ctgtggctct ggacaaaagc 900
 cattgcaagg gacttctctg accagccgcc gtttggggag acgcgttctt ccctgctgtc 960
 cgattctgcc ttcgactctg ggccctctg gttgctgggt gtgctgtgcc tgetgcggt 1020
 gggggtgacc cggccccacc tgcaggccta cctgtgctg gccaaaggccc ggggtggagca 1080
 gctgcgaagg gaggctggcc gcacgaagc cegtgaatc cagcagaggg tgggtccagt 1140
 ctactgctat gtgaccgtgg tgagcttgca gtacctgacg ccgctcatcc tcaccctcaa 1200
 ctgcacactt ctgctcaaga cgtctggagg ctattctctg ggctggggcc cagctcctct 1260
 actatcccc gaccatcct cagccagcgc tgccccatc ggctctgggg aggacgaagt 1320
 ccagcagact gcagcggga ttgcccgggc tctgggtggc ctgcttactc cctcttctc 1380
 ccgtggcgtc ctggcctacc tcactctgtg gacggctgcc tgccagctgc tcgccagcct 1440
 tttcggcctc tacttccacc agcacttggc aggtccttag ctgctgagc accctcctgg 1500
 ggcctgagg tctgttctct gggcagcggg acactagcct gccccctctg tttgcccacc 1560
 cgtgtcccc gctcaagggt ggggcccggc tccccggcgt tccctcacc acagtgcctg 1620
 acccggggcc ccccttgacc gccagtttc tgctcagaa ctgtctctcc tggggcccagc 1680
 agcatgaggg tcccagggcc attgtctccg aagcgtatgt gccaggtttg agtggcgagg 1740
 gtgatgctgg ctgctctctc gaacaaaata aggagcatgc cgatttttaa aaaaaaaaa 1799

<210> 36
 <211> 1435
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2504590CB1

<400> 36
 catagcgcga ggttcaccat gttggccagg ctggctctta actcctgtac cttgtgaaat 60
 gcctgctca gcctccaaa gtgctgggat tacaggcatg agccactatg cccaggctca 120
 aagatccttt tttttgttat cagatggagt ctactgtgt ccccaggctg gagtgacatg 180
 gcgcgatctc aactcactgc aagctctgcc tcccgggttc acgcaattct cctgctcag 240
 gctcccagat agctgggact acaggcacc gccaccactc ctggctaatt ttgtttgtat 300
 tttcagtaga gacgggatat caccatgta gccaggatgg tctcgatctg cctgacctcg 360
 tgatccgccc tcctcagtct cccaaagtat taggattaca ggcgtgagcc accgcccccg 420
 gcctcaaaag attgttatga gtcctcacag atgtcagagg acgatgctgt gacctatatt 480
 tgcaaacgcc cggaagactt aaagctattg ttttgcaaat gcacagataa caataataac 540
 atgatgctgt ggatgagcat gaaagtttt ctcttactcc taattataat gttttccctc 600
 ttactgcttt gccctgctga tgggaattcag taaaggaatc tctaccagca gacacttggg 660
 ttttaccctt cctaggacct ttaatagata tetttttatt actaatcttt gctctttgct 720
 tgtttaacct ccttgtaaag tttgtgtctt ccagattaca ataattccat gtaaagatga 780

```

tgctggcaca aggttttcaa cccatcccct cttctgacc agaagataaa gacatcctac 840
ctttgagcct tttagaacag gtatccaggg attttacctc tccagtgcta ggcagggtct 900
atgccataa catcagcagg aagcagttac agaagatgaa cctccgcctc tctgcaagcc 960
ccttaagatt aaggaggagt atataatctc tgatggggaa atgaggtagg agaccagaag 1020
gacttatttt ccattcccaa cccattgaa cagagcagga tctggtcaaa acagggtgca 1080
gtggagaagc ctgctgaaac cagcagatga tgatgaaagt gacctctagt tgcctcact 1140
gcttatgagc ataaagacac taccactggg accatggcca gtttacaat gtcatggcaa 1200
cacacctgg caatggcctg gaagtactt tatatggttc tggaaactcc ctgccccctt 1260
cccagaaagt tctgaataac ctacctctta attggcatgc aattaaagt ggctctaat 1320
acaactagct agtagccac aggcaccaac tctgggcaca ctgcctatag gttagccctg 1380
ctctgcaaga agtagacca gttcaataaa agttgctttc tctcaaaaaa aaaaa 1435

```

<210> 37
<211> 1792
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2529619CB1

```

<400> 37
acacgcgtcc ggagctaacc aggcacatct tcacaatgaa atcttcacaa gctcagaacc 60
atcaacttgc tacactgtgt tctccagtg cccagttcac aggaagcact caagagtagg 120
atcaattgtt atcaacctct agcagattat tgaatagacg gtcggttacc gaaactgaca 180
ctcagttctt catggtccac gatagttctt atatccagaa aacgtactta cgttatcaac 240
tctgactcca taagacaact ttgcaaaagtc ttggctcata actataaatc aaggctgaat 300
caaacaggac tactgttctg aaagaatact cagactatga gtagtgaaat ggtgaaaaat 360
cagacaatgg tcacagagtt cctcctactg ggatttctcc tgggcccagg gattcagatg 420
ctcctctttg ggtcttctc cctgttctat gtcttcaacc tgctggggaa tgggaccatc 480
ctggggctca tctcactgga ctccagactc cacaccccca tgtacttctt cctctcacac 540
ctggccctcg tcaacatcgc ctatgcctgc aacacagtgc ccagatgct ggtgaaacctc 600
ctgcateccag ccaagcccat ctctcttctg ggctgcatga caactacctt tctctttttg 660
agttttgca atactgaatg cctcctgttg gtgetgatgt cctacgatcg gtacgtggcc 720
atctgccacc ctctccgata tttcatcatc atgacctgga aagtctgcat cactctggcc 780
atcacttctc ggacatgtgg ctccctcctg gctatggtcc atgtgagcct cctcctaaga 840
ctgccccttt gtgggcctcg tgaatcaaac cacttctctt gtgaaatcct gctctgctc 900
aggctggcct gtgctgatac ctggctcaac caggtggtca tctttgcagc ctgcatgttc 960
atcctgggtg gaccactctg cctggtgctg gtctcctact cacacatcct ggcggccatc 1020
ctgaggatcc agtctgggga gggccgcaga aaggccttct ccacctgctc ctcccacctc 1080
tgcgtagtgg gactcttctt tggcagcgc atcgtcatgt acatggcccc taagtcccgc 1140
catcctgagg agcagcagaa ggtcttttt ctattttaca gttctttcaa cccgatgcta 1200
aacccccga tttacaacct gaggaatgta gaggtcaggt gcctgagga gagcactgtg 1260
caagaaaagt cattcctaag aggtgtgaca tttgactgc cagcctcagt tgtcacgtgg 1320
actcttgatg cccaattatt gcctcaatcc agaaaagttt acttctcttt atctgtgctt 1380
tactgacaga agggcaagtc ttctctcgtt ttttgagat aaaattttag atgtgttgca 1440
ttcattgggt ttctatgaga tgygttttta tcagacaatt tttcttttta tttcacaatt 1500
actttaatat ctttgaccag caaatatctc caccctccag ggagaggtag tagcttctag 1560
ggaaccatc ttggagaggg tcctgtcttc cctgaggtg ggctctgaat ccagcactct 1620
tcccctttct tggagggtca cttggaacca gtaactttt cagggctcct tcttctagt 1680
tctgctcata catctgtcat gtaacacttt agtgttctat atttgcatag ctgtatcctt 1740
ccattagttt gtagatagct gacttagtat ttttcggacg cagttggctg at 1792

```

<210> 38
<211> 1817
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5467661CB1

```

<400> 38
gacggtccgg ccgcggccca ggccgggagg tggagcgcgg ctgcccag ctgggtccact 60

```

```

gacaactgct gccagctgga aggcgcgtag ggcgagaggt ggccgcgtcct cagctttcca 120
gtctttogatt ccgcccgcctt tccgagtgag aaacgcagggc ctctctcttc cgtgaagcag 180
cgtctttgtct ctgcacctcc tctgtgctgt ctctttaaga gggctggctg ctggcgggat 240
ggacaccctg gaggaggtga cttgggcca tgggagcaca gcgctacccc caccctggc 300
accaaacatc agtgtgcctc atcgctgcct gctgctgctc tacgaagaca ttggcacctc 360
cagggtcggg tactgggacc tcttgctgct catccccaat gtgctcttc tcatctctc 420
gctctggaag ctcccatctg ctcgggcgaa gatccgcatc acctccagcc ccatttttat 480
caccttctac atcctggtgt ttgtggtggc gctggtgggc attgcccggg ccgtggtatc 540
catgacggtg agcacctcga acgctgcaac tgttgctgat aagatcctgt gggagatcac 600
ccgcttcttc ctgctggcca tcgagctgag tgtgatcatc ctgggcctgg cctttggcca 660
cctggagagt aagtcagca tcaagcgggt gctggccatc accacagtgc tgtccctggc 720
ctactctgtc acccagggga ccctggagat cctgtaccct gatgcccata tctcagctga 780
ggactttaat atctatggcc atgggggccc ccagttcttg ctggtcagct cctgctctt 840
cttctctggt tactctctgg tggcatcct tcccagacc ccgctgaagg agcgcatac 900
cctgccttct cggaggagct tctacgtgta tgcgggcatc ctggcactgc tcaacctact 960
gcaggggctg gggagtgtgc tctgtgctt cgacatcatc gaggggctct gctgtgtaga 1020
tgcacaacc ttctgtact tcagcttctt cgtccgctc atctacgtg ctttctctcc 1080
gggcttcttc ggctcggagc ccaagatctt ctctctctac aaatgccaag tggacgagac 1140
agaggagcca gatgtacacc taccacagcc ctacgctgtg gcccgcaggg agggcctgga 1200
ggctgcaggg gctgctggg cctcagctgc cagctactcg agcacgcagt tcgactctgc 1260
cggcggggtg gcctacctgg atgacatcgc ttcctatgcc tgccacactg gcagcatcaa 1320
cagcacagag agcgcgcctt ggaaggccat caatgcctga gggcagctgc cagggcctgt 1380
ggaggacagg ccagagagga ggcagcaggg cccagagtcc ccaggggagg aggaccaggt 1440
caagggacgt totgtgggca gtacccctgt gtggccctgt tcccaccatg agtctggagg 1500
ccccacctcc ctggggctcc caatcccctt tgccatctct gctctcactg gggaccctcc 1560
tccccttccc acctgctctc atactgtcga gtgacatggc ccaggcttct cttccagggc 1620
catgcttggc aaggttggct gagggcaccc tccttctctg cacccttggc acgagggcag 1680
ggctggctct cccaatgcct ccatcccatc cccatggtgc tttggcctcc tcaaaagcatc 1740
caccatggtg gatggactga agtgtgtata tttcttctgat ctatttttta ataaaaagga 1800
aaaggagcaa aaaaaaa 1817

```

```

<210> 39
<211> 1820
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 229740CB1

```

```

<400> 39
ctttgagatg ctgaagatga tggaaagtcta taaggaacct agagaacagc ccatcttcac 60
caccgcagcg catgtcttcc agattgacct caacaccaag aagaactgga tgcctgcgag 120
caagcaggcg gtcaccgttt cctacttcta tgatgtcaca aggaacagct atcggatcat 180
cagtgaggac ggagccaagg tgatcataaa cagcaccaatc acaccgaata tgaccttcac 240
caacacgtca cagacgtctg ggcagtgggc cgacagcaga gccaacacag tgtttggttt 300
ggggttttcc tctgagcagc agctgacaaa gtttgagag aaattccagg aggtgaaaga 360
agctgccaag atagccaag acaagacgca ggagaaaatc gagacctcaa gtaatcattc 420
ccaagcatcc agtgtcaacg ggacggacga tgaaggggcc tctcacgccc gtccagccaa 480
cacacacctg aagtctgaga atgacaagct gaagattgcc ttgacgcaga gcgcagccaa 540
cgtgaagaag tgggagatcg agctgcagac ccttcgggag agcaatgcac ggctgaccac 600
agcactgcag gactcggcag ccagtgtgga gcagtggaaag aggcagtctc ccactcgcca 660
tgatgagaat gaccagctcc gcaacaagat tgatgagctg gaagaacaat gcagtgagat 720
caacagagag aaggagaaga acacgcagct gaagaggagg atcgaggagc tggaggcaga 780
gctccgagaa aaggagacag agctgaaaga tctccgaaaa caaagtgaaa tcatacctca 840
gctcatgtca gactgcgaat atgtctctga gaagctagag gcggcagaga gagacaatca 900
aaacctggaa gacaaagtgc gttccttaaa gacagacatt gaggagagca aataccgaca 960
gcgccacctg aaggtggagt tgaagagctt cctggagggtg ctggacggga agattgacga 1020
cctgcatgac ttccgcccag ggctctccaa gctgggcacc gataactagg gctggcccag 1080
gccacggccc cgcccgtgag tcccagcgt tctgtcggaga ccagatagct ctaggacgtt 1140
cttctgtgtg cattgcttct gtaaattgcag gcgcagtttg tctgttttcc aaaccagttg 1200
tgccgtccac tcaactcttt tcagaataga aatctcctct cgcttctctg gccttgtgag 1260
gttgtggaca actggaagat tctgactcag gaatccagaa ctaggcttac cttcaacatt 1320
tatgacgtca gggcagggat gtttatctct ttcataaggg ctggttgcac catatgaact 1380

```

```

gaaaaaacac gcattttgta atccaaatat tgatattctt tacaccaagc catcaggctc 1440
cttttatcaa atagcattca gagtatttga atgtccacca gacaccagcc ccggggggca 1500
cagagagaac aacattcctc tctgtcaaca tcgagaggct ttaaaacaac tgttttagtg 1560
aaactttctg agagatggaa aacaagcttc tgggtgggtgc attttctggc ccggagttgc 1620
ctgcatccac gctactgccc cctgcccccc gccccccag tttgtacggt tgcaacagtg 1680
ttccttttct tggttttaat ttctgagcag atgattgtgc tgtgggaaca gcacacagtg 1740
agggtgccta gcacaatgtc tggcacaaag taggtgctta ataaatattt gttcaattaa 1800
atgtgaaaaa aaaaaaaaaa

```

```

<210> 40
<211> 1620
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1317467CB1

```

```

<400> 40
tccccgccat gtgacgccgt ccttagcctt ggcaccccc ggcgctccc ggccctgcgc 60
tccgccccgc cgcgcagcac gatgcttctg ccgggacgcg cacgccaacc gccgacgcc 120
cagccccgtgc agcatccccg cctccgcccg caggtagagc cgccggggca gctcctgcgc 180
ctcttctact gcactgtcct ggtctgctcc aaagagatct cagcgtcac cgacttctct 240
ggttaacctaa ccaaatcctt gcaaaaccac accacctatg cctgtgatgg ggactatttg 300
aatctacagt gccctcggca ttctacgata agtgccaat cggcaattta tgggcaagat 360
taccaaaatgt gtagtccca gaagcctgcc tcccagaggg aagacagctt aacctgtgtg 420
gcagccacca ccttccagaa ggtgctggac gaatgccaga accagcgggc ctgccacctc 480
ctggtcaata gccgtgtttt tggacctgac cttgtccag gaagcagtaa atacctcta 540
gtctccttta aatgcccaacc taatgaatta aaaaacaaaa ccgtgtgtga agaccaggag 600
ctgaaactgc actgccatga atccaagttc ctcaacatct actctgcgac ctacggcagg 660
aggaccagg aaaggacat ctgctcctcc aaggcagagc ggctcccccc ttctgattgc 720
ttgtcttact cagctttgca agtccatcc cgaagggtgt atgggaagca gagatgcaaa 780
atcatcgtca acaatcacca ttttggaagc ccctgtttgc caggcgtgaa aaaatactc 840
actgtgacct accgatgtgt tcccagaac atactcacag cgattgatcc agccattgct 900
aatctaaaac cttctttgaa gcagaaagat ggtgaatat gtataaactt cgacccaagc 960
ggatcgaagg ttctgaggaa agatggaatt cttgttagca actctctggc agcctttgct 1020
tacattagag cccaccggga gagagctgcc ctgctgttgc tgtccagttg ctgcatcggc 1080
ctggccctca cactgtgcgc cctggctatc agagagctct gtgccaagga ctcccgcgac 1140
ttgcagctgg ggaggagca gctgggtgcca ggaagtgaca aggtcgagga ggacagcgag 1200
gatgaagaag aggaggagga cccctctgag tctgatttcc caggggaact gtcgggggtc 1260
tgtaggactt catatcctat atacagttcc atagaagctg cagagctcgc agaaaggatt 1320
gagcgcaggg agcaaatcat tcaggaaata tggatgaaca gtggtttgga cactcgcctc 1380
ccaagaaaca tgggcccagt ctactgaaaa ccacatgcat cttgatgcca tcgcactttc 1440
tgaagaagga aggatcccaa atgcccctcc agttctggtt cacctgtacc ttctatgaag 1500
gagaattcgt catgtcattc aacactcgtg aggccaggaa gctattaaag ggatgtttca 1560
agctgtttct agcacattcc aaaaataatg aggaggggag agtctttgtt ttctgtaaaa 1620

```

```

<210> 41
<211> 974
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2279267CB1

```

```

<400> 41
atgggggaca atataacatc catcacagag ttctctctac tgggatttcc cgttgggcca 60
aggattcaga tgctcctctt tgggctcttc tccctgttct acgtcttcac cctgctgggg 120
aacgggacca tactggggct catctcactg gactccagac tgcacgcccc catgtacttc 180
ttcctctcac acctggcggg cgtcgacatc gectacgcct gcaacacggt gccccggatg 240
ctggtgaacc tcttgcattc agccaagccc atctcctttg cgggcccgat gatgcagacc 300
tttctgtttt ccacttttgc tgtcacagaa tgtctctctc tgggtggtgat gtcctatgat 360
ctgtactggt ccattctgcca ccccctccga tatttggcca tcatgacctg gagagtctgc 420

```

```

atcacccctcg cgggtgacttc ctggaccact ggagtccttt tatecctgat tcatccttgg 480
ttactttctac cttttaccctt ctgtaggccc cagaaaaattt atcacttttt ttgtgaaatc 540
ttggctgttc tcaaaactgc ctgtgcagat acccacatca atgagaacat ggtccttgcc 600
ggagcaatatt ctgggctggg gggacccttg tccacaattg tagtttcata tatgtgcatc 660
ctctgtgcta tccttcagat ccaatcaagg gaagttcaga ggaaagcctt ctgcaacctgc 720
ttctcccacc tctgtgtgat tggactcctt tatggcacag ccattatcat gtatgttggg 780
cccagatatg ggaaccccaa ggagcagaag aaatatctcc tgctgtttca cagcctcttt 840
aatcccatgc tcaatccctt tatctgtagt cttaggaact cagaagtga gaatactttg 900
aagagagtgc tgggagtaga aagggcttta tgaaggat tatggcattg tgactgacag 960
tgacctagga agtt

```

```

<210> 42
<211> 1561
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2436258CB1

```

```

<400> 42
gttaaaacag ggatgtgcag atggaggctg gaggagacac tgctgccccg gcccccgagg 60
gcgcgggagga cttggaggac acgcagttcc ccagtggagg agctagagaa ggtggaggagg 120
ttcacgcgggt cccgcccgat cccgaagacg agggcctgga ggaaacagag gaccacaagc 180
tgggtgttctt acaacagggc ccaactgttg tctgtggccat gtcacggact tctcagtcag 240
cagcccagct gcggggggag ctgctagctg tgcacgcaca gatcgtgagc acacttacac 300
gtgcaagtgt gcgccgcatc ttgcacaca agcagaacta tgacctccgc gcctgtctgg 360
ctggttcaga gcgcacactg gaccgacttc tggacagtat ggagcaggac ccaggagccc 420
tgctcctggg tgccgtgccc tgtgtgcccc ttgcccggcc gctgcgagac gcactaggtg 480
cgctcctccg acgttgcaaa gcgcttgccc tggcgctgtc agtgctggca gtaggcggtc 540
gacttataac agcagcccag gagcggaatg tgctggccga gtgcccggctg gaccagctg 600
acctgcagtt gctgctcgac tgggtgggtg caccagcctt tgcggcgggt gaggcttggg 660
cacctgtgtg cctgccccgc ttcaacctg atggtttttt ctacgcctac gtggcccggc 720
tggatgctat gcctgtctgc ctgctgctgc ttggcaccca acgtgaagcc ttccatgcca 780
tggccgcctg ccggcgctg gttgaagatg ggatgcatgc ccttggctgc atgctgtccc 840
ttggggaggc tgccagcttc tctaattgct catcagccag tgctcctgcc tacagcgtgc 900
aggctgtcgg ggcgcccggc ctccggcact tcctgtataa gccgctggac atccctgacc 960
accaccgcca actgcccagc tttaccagcc ctgagctaga ggccccctac agcagagagg 1020
aggagcggca gcggctgtcg gacctgtacc accgcctgca tgctcgtctc cacagcacct 1080
cccgaccctt gcgcctcatt taccacgtgg ctgagaagga gacactactg gcctgggtga 1140
cctccaaatt cgagctctat acctgcctca gccctctggt gaccaaggca ggtgcaatct 1200
tggtagtgac caaactcctg cgctgggtga agaaagagga ggaccggctc ttcattcgtt 1260
accaccocaa gtactccaca ccaccagcca cctctacgga ccaagctgcc cataatggct 1320
tgttactctg actctgatag ttggagctcc cagaccaggc agtgctggga gcaaccacct 1380
ttgtttttta ccttctgtct accctggaaa tgtgtgtggg ggtgtgtctg tggccagctc 1440
ttgtctccct aagcaatggg gcaaggtctg agggcccacc gatgagagag atggtggcag 1500
ccgacagggg agcaggctgc ttccctgccc cagtcatgca ccttcccctc tggggaaatt 1560
c

```

```

<210> 43
<211> 1619
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2681738CB1

```

```

<400> 43
tgcgagggcg ggatagctgt ccaaggtctc ccccagcact gaggagctcg cctgctgccc 60
tcttgccgcg ggggaagcag accaagttca cggccaacgc cttggcacta ggtccagaa 120
tggctacaac agtccctgat ggttgccgca atggcctgaa atccaagtac tacagacttt 180
gtgataaggc tgaagcttgg ggcacgtccc tagaaacggt ggccacagcc ggggttgtga 240
cctcgggtggc cttcatgctc actctcccga tcctcgtctg caaggtgcag gactccaaca 300

```

```

ggcgaaaaat gctgcctact cagtttctct tcctcctggg tgtgttgggc atctttggcc 360
tcaccttcgc cttcatcadc ggactggacg ggagcacagg gccacacgc ttcttctct 420
ttgggatccct cttttccatc tgettctect gcctgctggc tcatgctgtc agtctgacca 480
agctcgtccg ggggaggaag cccctttccc tgttgggtgat tctgggtctg gccgtgggct 540
tcagcctagt ccaggatgtt atcgctattg aatatattgt cctgaccatg aataggacca 600
acgtcaatgt cttttctgag ctttccgctc ctcgtcgcaa tgaagacttt gtctcctgc 660
tcacctacgt cctcttcttg atggcgctga ccttctctcat gtctccttc accttctgtg 720
gttccttcac gggctggaag agacatgggg cccacatcta cctcacgatg ctctctcca 780
ttgccatctg ggtggcctgg atcaccctgc tcatgcttcc tgactttgac cgcagggtgg 840
atgacacccat cctcagctcc gccttggctg ccaatggctg ggtgttctctg ttggcttatg 900
ttagtcccga gttttggctg ctcaaaaagc aacgaaaccc catggattat cctgttgagg 960
atgcttctg taaacctcaa ctcgtgaaga agagctatgg tgtggagaac agagcctact 1020
ctcaagagga aatcactcaa ggttttgaag agacagggga cacgctctat gccccctatt 1080
ccacacattt tcagctgag aaccagcctc cccaaaagga attctccatc ccacgggcc 1140
acgcttggcc gagcccttac aaagactatg aagtaaagaa agagggcagc taactctgtc 1200
ctgaagagtg ggacaaatgc agccgggctg cagatctagc gggagctcaa agggatgtgg 1260
ggcaaatctt gactcttctg agaaaactgt acaagacact acgggaacag tttgctccc 1320
tcccagcctc aaccacaatt cttccatgct ggggctgatg tgggctagta agactccagt 1380
tcttagaggg gctgtagtat ttttttttt ttttggctca tccttaggat acttctttaa 1440
agtgggagtc tcaggcaact caagtttaga ccttactct ttttgtttgt tttttgaaac 1500
aggatcttgc tctgtcacc aggcttgagt gcagtgggct gatcacagc cagtgcagcc 1560
tgaccacctc gtgctcaagc aatcctccca tctccatctc ccaaagtgtc gggatgaca 1619

```

```

<210> 44
<211> 3691
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2859482CB1

```

```

<400> 44
ggcgagcggc gggcggcgga ggaggagacg gcaggtcgga ctgaccaaat atggaagtgt 60
gcaagtcttg aacacattag tttatacaat gtggcctgaa agtttccctc ctctttcca 120
atcaaccata atattctgag gcattaaaaa atatttaatc attcatgtgt tgagactcat 180
tcttgagtta tggatgaaa ggcttctgtt ggaaaaatca gtgtctcttc agactcagta 240
tctactctta atagtgaaga ttttgtcttg gtttccaggc aaggagatga gacaccatct 300
acaaataatg aaagtgatga tgagaaaaca ggactcaaga ttgtagggaa tggaaagtga 360
cagcagctgc aaaaagagct agcagatgta ctgatggatc ctccaatgga cgaccagcca 420
ggggaaaagg agcttgtgaa aaggtcacia ctggatgggtg aaggagatgg gcctctttct 480
aatcagctct ccgcttctac caccattaac cctgtgccat tagtagggct ccaaaaacca 540
gagatgagcc taccagtga acctggacaa ggagattctg aagcttcaag tcctttcaca 600
ccagtggccg atgaggacag cgtagttttc agttaaactga ctacttagg ctgtgcctcg 660
gtaaatgctc ccaggagtga agtgaagcc ttaaggatga tgtccatctt aagaagccag 720
tgtcagatct cactagatgt taccttttca gtgccgaatg tgtctgaagg aattgtgaga 780
ctcttagatc ctgagacaaa cactgaaata gcaaaactacc ctatctacia aatcctcttc 840
tgtgtcagag ggcattgatg aactcctgag agtgactggt ttgctttcac tgaagtcat 900
tacaatgcag agctcttcag aatacacgct tcccggtgtg aaatacaaga agctgtaagc 960
cggatacttt acagttttgc cactgccttc cgccgttctg ccaagcagac cccactttca 1020
gccactgctg caccacagac tcctgacagt gacatcttta ccttctctgt gtctttagaa 1080
ataaaagaag atgatggtaa aggttatttt agtgcagttc ccaaagataa ggacagacag 1140
tgctttaaac tacgccaaag aattgataag aagattgtca tctatgtgca gcaacaact 1200
aataaagaac ttgccattga aagggttttt ggtcttctcc ttagtccagg aaaagatgta 1260
cgaaatagtg acatgcactt attagatttg gaatctatgg gcaaaagttc agatggaaa 1320
tcgtatggtt ttacggggag ctggaatcca aaatccccac attttcaagt tgtaaatgaa 1380
gaaactccta aagataaagt cctgtttatg accacagctg tagatttggg aataacagaa 1440
gtacaggagc ctgttcgatt tctcctggag acaaaaagtc gcgtttgctc acctaatgaa 1500
agattattct ggccttcag caaacgtagt actactgaaa atttcttttt gaaactaaaa 1560
cagataaagc aaagggagag aaagaataat actgacactt tatatgaagt tgtatgcttg 1620
gaaagtgaat cagaaagaga gaggaggaaa actacagcca gtccttcagt tccctgcca 1680
cagctctgat cgcaaagttc agtgatacct tctcctccag aagatgatga agaggaagat 1740
aatgatgaac ctctcctgag tggatctggt gatgtatcca aagaatgtgc agaaaaaatt 1800
cttgaaacat ggggagaact gttgtcaaaa tggcatctca acttgaatgt gagaccgaag 1860

```

cagttgtcat	ccttagtaag	aaacggtgtc	cctgaagctc	ttcgaggaga	agtctggcag	1920
ctgctagcag	gctgtcataa	caatgaccac	ctggtagaga	aataccgcat	tcttatcaca	1980
aaggagtctc	ccaggacag	tgctatcacc	cgggatatta	accgaacatt	cccagccat	2040
gactacttta	aggacacagg	aggagatgga	caagattcct	tatataaaat	atgcaaggct	2100
tattctgtgt	atgatgaaga	gattggttat	tgccagggcc	agtcatttct	tgctgctgtg	2160
ctccttctcc	atatgcctga	agaacaggca	ttcagtgttc	tggtcaagat	catgtttgac	2220
tatgggctca	gggaactttt	caagcaaaac	ttcgaagatt	tgctattgcaa	attttaccag	2280
ttggagcgcc	tcatgcagga	atacattcct	gacctgtaca	accacttctc	ggatataagc	2340
cttgaagcac	acatgtatgc	ctcccagtgg	tttcttactc	ttttcactgc	aaaattccct	2400
ctctacatgg	tcttccatat	catcgacctg	cttttatgtg	agggataaag	tgttatTTTT	2460
aatgtcgccc	ttggattatt	aaagacttcg	aaagatgacc	tgctgttgac	agactttgaa	2520
ggtgccttga	agttctttag	ggttcagctt	cctaagagat	accgctcaga	agaaaaatgca	2580
aaaaaactaa	tggaattagc	ctgcaacatg	aagattagtc	agaagaagtt	gaaaaaatac	2640
gagaaagaat	atcacacccat	gagggaacag	caggcccagc	aagaagaccc	catcgagcga	2700
tttgagcggg	agaataggcg	tctacaagaa	gctaacatga	ggttggaaaca	gaaaaacgat	2760
gacttagccc	atgagctggt	gaccagcaag	attgcactac	ggaaggacct	ggataacgct	2820
gaggaaaagg	cagatgctct	gaataaggag	ctgctgatga	ccaaacagaa	gttgattgat	2880
gcagaagaag	agaaaagacg	gctggaagaa	gagctctgctc	agttaaaaga	aatgtgccctg	2940
cgggaaactcg	acaaggcaga	atctgagatt	aaaaaaaaaca	gttctatcat	tggtgactat	3000
aagcagattt	gttctcagtt	gagtgaaaga	ttggagaagc	agcagacagc	caataagggtg	3060
gaaattgaga	aaattcggca	aaaagtggat	gactgtgagc	ggtgccggga	atTTTTcaac	3120
aaagaagggc	gtgtaaaagg	cataagctca	accaaggagg	ttttagatga	ggacacggat	3180
gaagagaaaag	agacgctcaa	gaaccagctg	agagaaatgg	agctagaact	ggcacagacc	3240
aaactccagc	tggtggaggg	cgagtgtgtaag	atacaggact	tggaacacca	tttagggctt	3300
gccctcaatg	aggtgcaggg	agccaagaag	acgtggttta	accgaacact	gagctccata	3360
aagacagcaa	cgggggttca	agggaaagag	acttgctgag	agcagctgcc	gcctcccagc	3420
accttcagaa	aacacgacac	cttttgttgc	cttctttggc	cagatgtgtg	attctgtgac	3480
ttgtcccagg	accagaatgt	acctaagtca	gatccataga	cgcattgttg	taggtcactg	3540
gaccagagct	tgtgaagcag	gcaacctctg	gggtaagact	actgatacta	acaggcctgc	3600
tagctcagcc	gacgctctgg	acactctaga	aatcactcct	cagtgtgacc	tcccaggcct	3660
cttcccogtg	tacgtcaaca	cctcaccag	c			3691

【手続補正書】**【提出日】**平成14年5月1日(2002.5.1)**【手続補正1】****【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**特許請求の範囲**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【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、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22らなる一群から選択されたアミノ酸配列と、

(b) SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22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天然のアミノ酸配列と、

(c) SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22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、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22らなる

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、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22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】 請求項2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5】 SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、およびSEQ ID NO:44からなる一群から選択された請求項4の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項6】 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7】 請求項6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8】 請求項6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9】 請求項1のポリペプチドを生産する方法であって、

(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のポリペプチドの生産方法。

【請求項10】 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11】 単離されたポリヌクレオチドであって、

(a) SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、およびSEQ ID NO:44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:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、およびSEQ ID NO:44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70%の配列同一性を有する天然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)乃至(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12】 請求項11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13】 サンプルにおいて、請求項11に記載のポリヌクレオチド配列を有する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からなる少なくとも20個の連続するヌクレオチドを含むプローブで前記サンプル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またはその断片とのハイブリダイゼーション複合体が形成される条件下で、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が存在するか否かを検出し、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13に記載の方法。

【請求項15】 サンプルにおいて、請求項11のポリヌクレオチド配列を有する標的ポリヌクレオチドを検出する方法であって、

(a) ポリメラーゼ連鎖反応増幅を用いて、前記標的ポリヌクレオチドまたはその断片を増幅するステップと、

(b) 増幅された前記標的ポリヌクレオチドまたはその断片が存在するか否かを検出し、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16】 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組成物。

【請求項17】 前記ポリペプチドが、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22からなる一群から選択されたアミノ酸配列を含むポリペプチドであることを特徴とする請求項16の医薬組成物。

【請求項18】 機能的RECAP(受容体及び関連タンパク質)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16の医薬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19】 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20】 請求項19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組成物。

【請求項21】 機能的RECAP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20の医薬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22】 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) 前記サンプルにおける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23】 請求項22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組成物。

【請求項24】 機能的RECAP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23の医薬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25】 請求項1のポリペプチドに特異的に結合する化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項1のポリペプチドを好適な条件下で少なくとも1つの試験化合物と結合させるステップと、

(b) 請求項1のポリペプチドと前記試験化合物との結合を検出して、請求項1のポリペプチドと特異的に結合する化合物を同定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26】 請求項1のポリペプチドの活性を調節する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、その活性が許容される条件下で少なくとも1つの試験化合物と結合させるステップと、

(b) 前記試験化合物の存在下での請求項1のポリペプチドの活性を評価するステップと、

(c) 前記試験化合物の存在下での請求項1のポリペプチドの活性と、前記試

験化合物の不在下での請求項1のポリペプチドの活性とを比較するステップとを含み、

前記試験化合物の存在下での請求項1のポリペプチドの活性の変化が、請求項1のポリペプチドの活性を調節する化合物の存在を示唆すること特徴とするスクリーニング方法。

【請求項27】 請求項5の配列を含む標的ポリヌクレオチドの発現を変化させ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ことを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項28】 試験化合物の毒性を評価する方法であって、

(a) 核酸を含む生体サンプルを前記試験化合物で処置するステップと、

(b) 処置した前記生体サンプルの核酸を、請求項11のポリヌクレオチドの連続する少なくとも20個のヌクレオチドを含むプローブと、前記プローブと前記生体サンプルの標的ポリヌクレオチドとの間で特異的なハイブリダイゼーション複合体が形成される条件下でハイブリダイズさせるステップであって、標的ポリヌクレオチドが請求項11のポリヌクレオチドのポリヌクレオチド配列またはその断片を含む、前記ステップと、

(c) ハイブリダイゼーション複合体の収量を測定するステップと、

(d) 前記処置した生体サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体の収量を、未処置の生体サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体の収量とを比較するステップとを含み、

前記処置した生体サンプルにおけるハイブリダイゼーション複合体の収量の差が試験化合物の毒性を示唆することを特徴とする試験化合物の毒性評価方法。

【請求項29】 請求項5の配列を含む標的ポリヌクレオチドの発現を変化させ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の発現に好適な条件下で、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、

(c) 前記化合物が様々な量で存在する条件下および前記化合物が存在しない条件下での前記標的ポリヌクレオチドの発現を比較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30】 前記SEQ ID NO:1のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項31】 前記SEQ ID NO:2のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項32】 前記SEQ ID NO:3のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項33】 前記SEQ ID NO:4のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項34】 前記SEQ ID NO:5のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項35】 前記SEQ ID NO:6のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項36】 前記SEQ ID NO:7のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項37】 前記SEQ ID NO:8のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項38】 前記SEQ ID NO:9のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項39】 前記SEQ ID NO:10のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項40】 前記SEQ ID NO:11のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項41】 前記SEQ ID NO:12のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項42】 前記SEQ ID NO:14のアミノ酸配列を含むことを特徴とする

る請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項43】 前記SEQ ID NO:15のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項44】 前記SEQ ID NO:16のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項45】 前記SEQ ID NO:17のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項46】 前記SEQ ID NO:18のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項47】 前記SEQ ID NO:19のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項48】 前記SEQ ID NO:20のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項49】 前記SEQ ID NO:22のアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項50】 前記SEQ ID NO:23のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項51】 前記SEQ ID NO:24のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項52】 前記SEQ ID NO:25のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項53】 前記SEQ ID NO:26のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項54】 前記SEQ ID NO:27のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項55】 前記SEQ ID NO:28のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項56】 前記SEQ ID NO:29のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項57】 前記SEQ ID NO:30のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項58】 前記SEQ ID NO:31のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項59】 前記SEQ ID NO:32のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項60】 前記SEQ ID NO:33のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項61】 前記SEQ ID NO:34のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項62】 前記SEQ ID NO:36のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項63】 前記SEQ ID NO:37のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項64】 前記SEQ ID NO:38のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項65】 前記SEQ ID NO:39のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項66】 前記SEQ ID NO:40のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項67】 前記SEQ ID NO:41のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項68】 前記SEQ ID NO:42のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項69】 前記SEQ ID NO:44のポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とする請求項11に記載のポリヌクレオチド。

【請求項70】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:1の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項71】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:2の配列を含むことを

特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項72】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:3の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項73】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:4の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項74】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:5の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項75】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:6の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項76】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:7の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項77】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:8の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項78】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:9の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項79】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:10の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項80】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:11の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項81】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:12の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項82】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:14の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項83】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:15の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項84】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:16の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項85】 前記ポリペチドが前記SEQ ID NO:17の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項86】 前記ポリペプチドが前記SEQ ID NO:18の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項87】 前記ポリペプチドが前記SEQ ID NO:19の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項88】 前記ポリペプチドが前記SEQ ID NO:20の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項89】 前記ポリペプチドが前記SEQ ID NO:22の配列を含むことを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項90】 生体サンプルにおけるヒト受容体及び関連タンパク質（RECAP）の発現に関連する疾患や症状の診断検査であって、

（a）前記ポリペプチドと請求項10の抗体とが結合して抗体とポリペプチドの複合体の形成に好適な条件下で、該生体サンプルと該抗体とを結合させるステップと、

（b）前記複合体を検出するステップとを含み、

前記複合体の存在が前記生体サンプルにおける前記ポリペプチドの存在と相関することを特徴とする診断検査。

【請求項91】 前記抗体が、

（a）キメラ抗体、

（b）一本鎖抗体、

（c）Fab断片、

（d）F(ab')₂断片、または

（e）ヒト化抗体であることを特徴とする請求項10に記載の抗体。

【請求項92】 請求項10の抗体及び許容できる賦形剤を含む組成物。

【請求項93】 患者に効果的な量の請求項92の組成物を投与することを含む、ヒト受容体及び関連タンパク質（RECAP）の発現に関連する疾患または症状を診断する方法。

【請求項94】 前記抗体が標識されていることを特徴とする請求項92に記載の組成物。

【請求項95】 患者に効果的な量の請求項94に記載の組成物を投与す

ることを含む、ヒト受容体及び関連タンパク質（RECAP）の発現に関連する疾患または症状を診断する方法。

【請求項96】 請求項10に記載の抗体の特異性を有するポリクローナル抗体を準備する方法であって、

(a) 抗体反応を引き出せる条件下で、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22からなる一群から選択されたアミノ酸配列を有するポリペプチドまたはその免疫原性断片で動物を免疫するステップと、

(b) 前記動物から抗体を単離するステップと、

(c) 前記単離した抗体を前記ポリペプチドでスクリーニングし、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22からなる一群から選択されたアミノ酸配列を有するポリペプチドに特異的に結合するポリクローナル抗体を同定するステップとを含むことを特徴とするポリクローナル抗体の準備方法。

【請求項97】 請求項96の方法で生産された抗体。

【請求項98】 請求項97に記載の抗体及び好適な担体を含む組成物。

【請求項99】 請求項10に記載の抗体の特異性を有するモノクローナル抗体を生産する方法であって、

(a) 抗体反応を引き出せる条件下で、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22からなる一群から選択されたアミノ酸配列を有するポリペプチドまたはその免疫原性断片で動物を免疫するステップと、

(b) 前記動物から抗体産生細胞を単離するステップと、

(c) 前記抗体産生細胞と不死化細胞とを融合してモノクローナル抗体産生ハイブリドーマ細胞を作製するステップと、

(d) 前記ハイブリドーマ細胞を培養するステップと、

(e) SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22からなる一群から選択されたアミノ酸配列を有するポリペプチドに特異的に結合するモノクローナル抗体を前記培養細胞から単離するステップとを含むことを特徴とするモノクローナル抗体の生産方法。

【請求項100】 請求項99に記載の方法で生産されたモノクローナル抗体。

【請求項101】 請求項100に記載の抗体及び好適な担体を含む組成物。

【請求項102】 Fab発現ライブラリをスクリーニングして前記抗体を得ることを特徴とする請求項10に記載の抗体。

【請求項103】 遺伝子組換え免疫グロブリンのライブラリをスクリーニングして前記抗体を得ることを特徴とする請求項10に記載の抗体。

【請求項104】 サンプルにおいて、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22からなる一群から選択されたアミノ酸配列を有するポリペプチドを検出する方法であって、

(a) 請求項10に記載の抗体と前記ポリペプチドとの特異的な結合が許容される条件下で、該抗体をサンプルと共にインキュベートするステップと、

(b) 特異的な結合を検出するステップとを含み、

前記特異的な結合が、前記サンプルにおけるSEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8

、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22からなる一群から選択されたアミノ酸配列を有するポリペプチドの存在を示唆することを特徴とする検出方法。

【請求項105】 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22からなる一群から選択されたアミノ酸配列を有するポリペプチドをサンプルから精製する方法であって、

(a) 請求項10に記載の抗体と前記ポリペプチドとの特異的な結合が許容される条件下で、該抗体をサンプルと共にインキュベートするステップと、

(b) 前記サンプルから前記抗体を分離して、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、およびSEQ ID NO:22からなる一群から選択されたアミノ酸配列を有する精製されたポリペプチドを得るステップとを含むことを特徴とする精製方法。

【請求項106】 エLEMENTの少なくとも1つが請求項12のポリヌクレオチドであることを特徴とするマイクロアレイ。

【請求項107】 ポリヌクレオチドを含むサンプルの転写イメージを生成する方法であって、

(a) 前記サンプルのポリヌクレオチドを標識するステップと、

(b) ハイブリダイゼーション複合体の形成に好適な条件下で、請求項106のマイクロアレイのエLEMENTと前記サンプルの標識したポリヌクレオチドとを接触させるステップと、

(c) 前記サンプルにおける前記ポリヌクレオチドの発現を定量するステップとを含むことを特徴とする転写イメージ生成方法。

【請求項108】 固体基板上に物理的に明確な位置に固定された種々のヌクレオチド分子を含むアレイであって、

前記ヌクレオチド分子の少なくとも1つが、請求項11の配列を有する標的ポリヌクレオチドの連続する少なくとも30個のヌクレオチドと特異的にハイブリダイズ可能な第1オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチド配列を含むことを特徴とするアレイ。

【請求項109】 前記第1オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチド配列が、前記標的ポリヌクレオチドの少なくとも30個の連続するヌクレオチドと完全に相補的であることを特徴とする請求項108に記載のアレイ。

【請求項110】 前記第1オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチド配列が、前記標的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と完全に相補的であることを特徴とする請求項108に記載のアレイ。

【請求項111】 前記アレイがマイクロアレイであることを特徴とする請求項108に記載のアレイ。

【請求項112】 前記第1オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドにハイブリダイズする前記標的ポリヌクレオチドをさらに含むことを特徴とする請求項108に記載のアレイ。

【請求項113】 リンカーが前記固体基板上に前記ヌクレオチド分子の少なくとも1つを連結することを特徴とする請求項108に記載のアレイ。

【請求項114】 前記基板上的物理的に明確なそれぞれの位置には、同一の配列を有する多数のヌクレオチド分子が含まれ、前記基板上的物理的に明確なそれぞれの位置には、前記基板上的別の物理的な位置におけるヌクレオチド分子配列とは異なった配列のヌクレオチド分子が含まれることを特徴とする請求項108に記載のアレイ。

【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		Intern. Application No PCT/US 00/20035
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7	C12N15/12 C12Q1/68	C07K14/72 A61K38/17
	C07K16/28 A61K31/00	G01N33/50 G01N33/566
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 G01N C12Q A61K		
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)		
BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE EMBL [Online] accession number U22015, 15 March 1995 (1995-03-15) SEOL W. ET AL.: "Mus musculus X receptor interacting protein (RIP110) mRNA." XP002153300 abstract & SEOL W. ET AL.: "Isolation of proteins that interact specifically with the retinoid X receptor: Two novel orphan receptors." MOLECULAR ENDOCRINOLOGY, vol. 9, no. 1, 1995, pages 72-85, XP000651076 the whole document</p> <p style="text-align: center;">---</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1,3-7,9, 11,12
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents:		
<p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>		<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"Z" document member of the same patent family</p>
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
20 November 2000		27.02.01
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 Mandl, B

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Internat'l Application No
 PCT/US 00/20035

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL [Online] accession number AI337112, 31 December 1998 (1998-12-31) STRAUSBERG R.: "Retinoid X receptor interacting protein." XP002153301 abstract ---	1,3-7,9, 11,12
X	WO 98 45437 A (GENETICS INST) 15 October 1998 (1998-10-15) SEQ.ID.822 ---	3,12
P,X	DATABASE EMBL [Online] accession number AF113538, 12 December 1999 (1999-12-12) PENG Y. ET AL.: "Homo sapiens retinoid X receptor interacting protein mRNA." XP002153302 abstract -----	1,3-7,9, 11,12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 00/20035**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

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

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claim 18 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.
2. Claims Nos.: 20,21,23,24
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. 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.:
Claims 1-28 (all partially)

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box 1.2

Claims Nos.: 20,21,23,24

Claims 20, 21, 23 and 24 refer to agonists and antagonists of the polypeptides without giving a true technical characterization. Moreover, no such specific compounds are defined in the application. In consequence, the scope of said claims is ambiguous and vague, and their subject-matter is not sufficiently disclosed and supported (Art. 5 and 6 PCT). No search can be carried out for such purely speculative claims whose wording 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.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

Invention 1: Claims 1-28 (all partially)

An isolated polypeptide as represented by SEQ.ID.1, and variants, biologically active fragments and immunologic fragments thereof, an isolated polynucleotide encoding said polypeptide, variants and fragments; a cell transformed with said polynucleotide; a transgenic organism comprising said polynucleotide; a method for producing said polypeptide, variants and fragments; and isolated antibody specific for said polypeptide; methods for detecting said polynucleotide or said polypeptide; methods for detecting agonists, antagonists or modulators of the activity of said polypeptide; pharmaceutical compositions comprising said polypeptide, agonist or antagonist; a method of screening for compounds that specifically bind to said polypeptide; a method for screening a compound for effectiveness in altering expression of said polynucleotide; and a method for assessing toxicity of a test compound comprising a hybridization probe derived from said polynucleotide.

Inventions 2-20: Claims 1-28 (all partially)

Same as subject 1 but limited to one polypeptide sequence selected from SEQ.IDs. 2-12, 14-20 and 22, wherein invention 2 is limited to SEQ.ID.2, invention 3 is limited to SEQ.ID.3, invention 12 is limited to SEQ.ID. 12, invention 13 is limited to SEQ.ID.14, invention 19 is limited to SEQ.ID.20, and invention 20 is limited to SEQ.ID.22.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/US 00/20035

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9845437 A	15-10-1998	AU 6956798 A EP 0973899 A	30-10-1998 26-01-2000

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコ-ト' (参考)
A 6 1 P 1/16		A 6 1 P 3/00	4 C 0 8 4
1/18		3/10	4 H 0 4 5
3/00		5/00	
3/10		7/06	
5/00		9/10	
7/06		11/06	
9/10		11/16	
11/06		13/12	
11/16		17/00	
13/12		19/02	
17/00		19/10	
19/02		25/00	
19/10			1 0 1
25/00		25/02	
	1 0 1	25/04	
25/02		25/06	
25/04		25/14	
25/06		25/16	
25/14		25/18	
25/16		25/20	
25/18		25/28	
25/20		31/00	
25/28		31/10	
31/00		31/18	
31/10		33/00	
31/18		35/00	
33/00		37/00	
35/00		37/02	
37/00		37/06	
37/02		37/08	
37/06		43/00	1 1 1
37/08		C 0 7 K 14/705	
43/00	1 1 1	16/28	
C 0 7 K 14/705		C 1 2 N 1/15	
16/28		1/19	
C 1 2 N 1/15		1/21	
1/19		C 1 2 P 21/02	C
1/21		C 1 2 Q 1/68	A
5/10		G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 P 21/02		33/50	Z
C 1 2 Q 1/68		33/53	D
G 0 1 N 33/15			M
33/50		33/566	
33/53		C 1 2 N 15/00	Z N A A
		5/00	A
33/566		A 6 1 K 37/02	

- (31)優先権主張番号 60/165,192
 (32)優先日 平成11年11月12日(1999.11.12)
 (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, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, 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, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW
- (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
- (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94552・
 カストロバレー・ボールダーキャニョンド
 ライブ 5518
- (72)発明者 パーフォード、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 ボーゲン、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 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 ヒルマン、ジェニファー・エル
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94040・
 マウンテンビュー・#17・モンロードライ
 ブ 230
- (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

(72)発明者 ラル、ブリーティ
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

F ターム(参考) 2G045 AA40 DA12 DA13 DA36 FB02
FB03

4B024 AA01 AA11 BA63 CA01 GA11
HA12

4B063 QA01 QA18 QQ42 QR32 QR55
QS34 QX01

4B064 AG20 CA19 CC24 DA01 DA13

4B065 AA93Y AB01 AC14 BA02
CA24 CA25 CA44 CA46

4C084 AA13 AA17 BA01 BA02 BA08
BA22 BA23 CA53 CA56 DA01
DA27 DA41 DB01 NA14 ZA01
ZA02 ZA05 ZA06 ZA07 ZA08
ZA11 ZA15 ZA16 ZA18 ZA20
ZA22 ZA24 ZA45 ZA55 ZA59
ZA60 ZA66 ZA81 ZA89 ZA94
ZA96 ZA97 ZB05 ZB07 ZB08
ZB13 ZB15 ZB26 ZB35 ZB37
ZC02 ZC03 ZC31 ZC35

4H045 AA10 AA11 AA20 BA10 DA50
EA20 EA50 FA74

专利名称(译)	受体和相关蛋白		
公开(公告)号	JP2003505083A	公开(公告)日	2003-02-12
申请号	JP2001512881	申请日	2000-07-21
[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	オウヤングジャニス バンドマンオルガ タングワイトム ユエヘンリー アジムザイヤルダ バーフォードニール ボーグンマライアアール リュデュングアイナエム ヒルマンジェニファーエル パターソンチャンドラ ラルプリーティ		
发明人	オウ-ヤング、ジャニス バンドマン、オルガ タング、ワイトム ユエ、ヘンリー アジムザイ、ヤルダ バーフォード、ニール ボーグン、マライア・アール リュ、デュング・アイナ・エム ヒルマン、ジェニファー・エル パターソン、チャンドラ ラル、プリーティ		
IPC分类号	G01N33/50 A61K38/00 A61K45/00 A61K48/00 A61P1/00 A61P1/16 A61P1/18 A61P3/00 A61P3/10 A61P5/00 A61P7/06 A61P9/10 A61P11/06 A61P11/16 A61P13/12 A61P17/00 A61P19/02 A61P19/10 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/04 A61P25/06 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/20 A61P25 /28 A61P31/00 A61P31/10 A61P31/18 A61P33/00 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C07K14/705 C07K14/72 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61K38/00 A61P1/00 A61P1/16 A61P1/18 A61P3/00 A61P11/06 A61P11/16 A61P13/12 A61P17/00 A61P19/02 A61P19/10 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/04 A61P25/06 A61P25/14 A61P25/16 A61P25 /18 A61P25/20 A61P25/28 A61P31/00 A61P31/10 A61P31/18 A61P33/00 A61P35/00 C07K14/705 C07K14/723		
FI分类号	A61K45/00 A61K48/00 A61P1/00 A61P1/16 A61P1/18 A61P3/00 A61P3/10 A61P5/00 A61P7/06 A61P9 /10 A61P11/06 A61P11/16 A61P13/12 A61P17/00 A61P19/02 A61P19/10 A61P25/00 A61P25/00.101 A61P25/02 A61P25/04 A61P25/06 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/20 A61P25/28 A61P31 /00 A61P31/10 A61P31/18 A61P33/00 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00.111 C07K14/705 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024 /AA11 4B024/BA63 4B024/CA01 4B024/GA11 4B024/HA12 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QQ42		

4B063/QR32 4B063/QR55 4B063/QS34 4B063/QX01 4B064/AG20 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA02 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/CA53 4C084/CA56 4C084/DA01 4C084/DA27 4C084/DA41 4C084/DB01 4C084/NA14 4C084/ZA01 4C084/ZA02 4C084/ZA05 4C084/ZA06 4C084/ZA07 4C084/ZA08 4C084/ZA11 4C084/ZA15 4C084/ZA16 4C084/ZA18 4C084/ZA20 4C084/ZA22 4C084/ZA24 4C084/ZA45 4C084/ZA55 4C084/ZA59 4C084/ZA60 4C084/ZA66 4C084/ZA81 4C084/ZA89 4C084/ZA94 4C084/ZA96 4C084/ZA97 4C084/ZB05 4C084/ZB07 4C084/ZB08 4C084/ZB13 4C084/ZB15 4C084/ZB26 4C084/ZB35 4C084/ZB37 4C084/ZC02 4C084/ZC03 4C084/ZC31 4C084/ZC35 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/BA10 4H045/DA50 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74

优先权
60/145232 1999-07-21 US
60/158578 1999-10-07 US
60/165192 1999-11-12 US

外部链接 Espacenet

摘要(译)

本发明提供了鉴定和编码RECAP的人受体和相关蛋白 (RECAP) 以及多核苷酸。 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, 本发明提供了一种用于诊断, 治疗和预防与RECAP表达有关的疾病的方法。

核苷酸位置	核苷酸	氨基酸	名称
1	20514	SPAINQD	255526 (HPFLDQ), 204171 (SRMNDQ), 204171 (SRMNDQ), 341726 (HPFLDQ), 607271 (SRMNDQ), 621633 (SRMNDQ)
2	44540	SRMNDQ	454414 (LQVNDQ), 454414 (LQVNDQ), 454414 (LQVNDQ), 454414 (LQVNDQ)
3	11653	SRMNDQ	116531 (SRMNDQ), 116531 (SRMNDQ), 116531 (SRMNDQ), 116531 (SRMNDQ)
4	10749	SRMNDQ	107491 (SRMNDQ), 107491 (SRMNDQ), 107491 (SRMNDQ), 107491 (SRMNDQ)
5	24706	SRMNDQ	247061 (SRMNDQ), 247061 (SRMNDQ), 247061 (SRMNDQ), 247061 (SRMNDQ)
6	29279	SRMNDQ	292791 (SRMNDQ), 292791 (SRMNDQ), 292791 (SRMNDQ), 292791 (SRMNDQ)
7	20190	SRMNDQ	201901 (SRMNDQ), 201901 (SRMNDQ), 201901 (SRMNDQ), 201901 (SRMNDQ)
8	10351	SRMNDQ	103511 (SRMNDQ), 103511 (SRMNDQ), 103511 (SRMNDQ), 103511 (SRMNDQ)
9	20819	SRMNDQ	208191 (SRMNDQ), 208191 (SRMNDQ), 208191 (SRMNDQ), 208191 (SRMNDQ)
10	95461	SRMNDQ	954611 (SRMNDQ), 954611 (SRMNDQ), 954611 (SRMNDQ), 954611 (SRMNDQ)
11	14419	SRMNDQ	144191 (SRMNDQ), 144191 (SRMNDQ), 144191 (SRMNDQ), 144191 (SRMNDQ)
12	23721	SRMNDQ	237211 (SRMNDQ), 237211 (SRMNDQ), 237211 (SRMNDQ), 237211 (SRMNDQ)
13	26343	SRMNDQ	263431 (SRMNDQ), 263431 (SRMNDQ), 263431 (SRMNDQ), 263431 (SRMNDQ)