

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコード*（参考）
C 1 2 N 9/00	ZNA	C 1 2 N 9/00	ZNA 2 G 0 4 5
A 6 1 K 38/53		A 6 1 K 45/00	4 B 0 2 4
45/00		A 6 1 P 1/00	4 B 0 5 0
A 6 1 P 1/00		1/04	4 B 0 6 3
1/04		1/16	4 B 0 6 5
審査請求 未請求 予備審査請求（全164数） 最終頁に続く			

(21)出願番号	特願2001 - 512894(P2001 - 512894)	(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
(86)(22)出願日	平成12年7月20日(2000.7.20)	(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
(85)翻訳文提出日	平成14年1月22日(2002.1.22)	(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・#12・モンロードライブ 230
(86)国際出願番号	PCT/US00/19980	(74)代理人	弁理士 大島 陽一
(87)国際公開番号	W001/007628		
(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	60/144,992		
(32)優先日	平成11年7月22日(1999.7.22)		
(33)優先権主張国	米国(US)		
(31)優先権主張番号	60/168,858		
(32)優先日	平成11年12月2日(1999.12.2)		
(33)優先権主張国	米国(US)		
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 ヒトシンセターゼ

(57)【要約】

本発明は、ヒトシンセターゼ（SYNT）と、SYNTを同定しコードするポリヌクレオチドとを提供する。本発明はまた、発現ベクター、宿主細胞、抗体、アゴニスト及びアンタゴニストを提供する。更に、本発明は、SYNTの発現に関連する疾患を診断、治療または予防する方法も提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 以下の(a)乃至(d)を有する群から選択した実質上単離されたポリペプチド。

(a) 配列番号1、配列番号2、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14を有する群から選択したアミノ酸配列

(b) 配列番号1、配列番号2、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%が同一であるようなアミノ酸配列を有する天然のアミノ酸配列

(c) 配列番号1、配列番号2、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14を有する群から選択したアミノ酸配列を有するアミノ酸配列の生物学的活性断片

(d) 配列番号1、配列番号2、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14を有する群から選択したアミノ酸配列を有する免疫抗原性断片

【請求項2】 配列番号1、配列番号2、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14を有する群から選択した請求項1に記載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】 配列番号16、配列番号17、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29を有する群から選

択した請求項 4 に記載の単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 6】 請求項 3 に記載のポリヌクレオチドに機能的に結合し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 に記載の組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞。

【請求項 8】 請求項 6 に記載の組換えポリヌクレオチドを含む遺伝形質転換体。

【請求項 9】 請求項 1 に記載のポリペプチドを製造する方法であって、
(a) 組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞を前記ポリペプチドの発現に適した条件下で培養する過程と、
(b) そのように発現した前記ポリペプチドを受容する過程とからなり、
前記組換えポリヌクレオチドが、請求項 1 に記載の前記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したプロモーター配列を有することを特徴とする方法。

【請求項 10】 請求項 1 に記載のポリペプチドと特異結合するような単離された抗体。

【請求項 11】 以下の (a) 乃至 (e) を有する群から選択した実質上単離されたポリヌクレオチド。

(a) 配列番号 16、配列番号 17、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29 を有する群から選択したポリヌクレオチド配列

(b) 配列番号 16、配列番号 17、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29 を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも 90% が同一であるような天然のポリヌクレオチド配列

(c) (a) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(d) (b) のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド

(e) (a) ~ (d) のRNA等価物

【請求項12】 請求項11に記載のポリヌクレオチドの少なくとも60の連続した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】 請求項11に記載のポリヌクレオチドの配列を有する標的ポリヌクレオチドをサンプル中から検出する方法であって、

(a) 前記サンプル中の前記標的ポリヌクレオチドに相補的な配列を有する少なくとも20の連続したヌクレオチドを含むプローブを用いて前記サンプルをハイブリダイズする過程と、

(b) 前記ハイブリダイゼーション複合体の存在・不存在を検出し、該複合体が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程からなり、

前記プローブと前記標的ポリヌクレオチドの間でハイブリダイゼーション複合体が形成されるような条件下で、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ことを特徴とする方法。

【請求項14】 前記プローブが少なくとも60の連続した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】 請求項11に記載のポリヌクレオチドの配列を有する標的ポリヌクレオチドをサンプル中から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過程と、

(b) 前記標的ポリヌクレオチドまたはその断片の存在・不存在を検出し、該標的ポリヌクレオチドまたはその断片が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項16】 有効量の請求項1のポリペプチドと、薬剤として許容できる賦形剤とを有することを特徴とする成分。

【請求項17】 前記ポリペプチドが、配列番号1、配列番号2、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14を有する群から選択したアミノ酸配列を含むことを特徴とする請求項16に記載の成分。

【請求項18】 機能性SYNTの発現低下に関連する疾患又は病状を治療す

る方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して請求項16に記載の成分を投与する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項19】 請求項1に記載のポリペプチドのアゴニストとして有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項1に記載のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝す過程と、

(b) 前記サンプル中のアゴニスト活性を検出する過程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項20】 請求項19に記載の方法によって同定したアゴニスト化合物と、薬剤として許容できる賦形剤とを含むことを特徴とする成分。

【請求項21】 機能性SYNTの発現低下に関連する疾患又は病状を治療する方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して請求項20に記載の成分を投与する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項22】 請求項1に記載のポリペプチドのアンタゴニストとして有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項1に記載のポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝す過程と、

(b) 前記サンプル中のアンタゴニスト活性を検出する過程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項23】 請求項22に記載の方法によって同定したアンタゴニスト化合物と、薬剤として許容できる賦形剤とを含むことを特徴とする成分。

【請求項24】 機能性SYNTの過剰発現に関連する疾患又は病状の治療方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して請求項23に記載の成分を投与する過程を含むことを特徴とする方法。

【請求項25】 請求項1に記載のポリペプチドに特異結合する化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 適切な条件下で請求項1に記載のポリペプチドを少なくとも1つの試験化合物に結合させる過程と、

(b) 請求項1に記載のポリペプチドの試験化合物との結合を検出し、それによって請求項1に記載のポリペプチドに特異結合する化合物を同定する過程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項26】 請求項1に記載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に記載のポリペプチドの活性が許容された条件下で、請求項1に記載のポリペプチドを少なくとも1つの試験化合物に結合させる過程と、

(b) 請求項1に記載のポリペプチドの活性を試験化合物の存在下で算定する過程と、

(c) 試験化合物の存在下での請求項1に記載のポリペプチドの活性を、試験化合物の不存在下での請求項1に記載のポリペプチドの活性と比較する過程とを含み、

試験化合物の存在下での請求項1に記載のポリペプチドの活性の変化が、請求項1に記載のポリペプチドの活性を調節する化合物を標示することを特徴とする方法。

【請求項27】 請求項5に記載の配列を有する標的ポリヌクレオチドの変異発現の有効性を確認するために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適した条件下で、該標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝す過程と、

(b) 前記標的ポリヌクレオチドの変異発現を検出する過程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項28】 試験化合物の毒性を算定する方法であって、

(a) 核酸を含む生物学的サンプルを前記試験化合物で処理する過程と、

(b) 請求項11に記載のポリヌクレオチドの少なくとも20の連続したヌクレオチドを含むプローブと、請求項11に記載のポリヌクレオチドまたはその断片のポリヌクレオチド配列を有する前記生物学的サンプルの標的ポリヌクレオチドとの間に、特定のハイブリタイゼーション複合体が形成されるような条件下で、前記処理されたサンプルの核酸を前記プローブでハイブリタイズする過程と、

(c) 前記ハイブリタイゼーション複合体の量を定量する過程と、

(d) 前記処理された生物学的サンプル中の前記ハイブリタイゼーション複合体の量を、処理されていない生物学的サンプル中の前記ハイブリタイゼーション複合体の量と比較する過程とを含み、

前記処理された生物学的サンプル中の前記ハイブリタイゼーション複合体の量の差が、前記試験化合物の毒性を標示することを特徴とする方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****(技術分野)**

本発明は、ヒトシンセターゼの核酸配列及びアミノ酸配列に関し、免疫疾患、ニューロン疾患、生殖障害及び、癌を含む細胞増殖異常の診断、治療並びに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)**

多くの細胞内生合成中間代謝プロセスが、炭素原子を含む物質（炭素物質）の細胞間輸送を伴う。このような反応の例には、クエン酸回路、脂肪酸および長鎖リン脂質の合成、アルコールおよびアルデヒドの合成、中間代謝産物の合成、およびアミノ酸分解経路がある。これらの反応の多くは、2つの基質分子間の結合を触媒するシンセターゼ（リガーゼとも呼ぶ）によって触媒される。これらの反応の中には、ATPからADP若しくはAMPとピロリン酸への変換によって得られるエネルギーを必要とするものもある。シンセターゼは、触媒する産物名から名称が付けられ、巨大分子の代謝および合成などのプロセスに関与する。

【0003】**炭素と酸素を結合するリガーゼ**

タンパク質は細胞の半分を超える乾燥重量を占める。タンパク質の合成は、細胞の維持、成長、および発達の中核である。タンパク質はリボソームで合成され、幾つかのクラスのRNA分子の協同的な相互作用に依存する。このプロセスは、DNA内に含まれている遺伝子コードの転写で始まり、メッセンジャーRNA（mRNA）が生成される。mRNAはリボソームにおいて幾つかのステップを経て、mRNAのヌクレオチド配列が対応するアミノ酸配列に翻訳され、固有のタンパク質の鎖が形成される。

【0004】

アミノアシル運搬RNA（tRNA）シンセターゼは、翻訳において機能する重要なRNA関連酵素である。タンパク質の生合成は、適正なtRNAと結合する各アミノ酸に依存する。アミノアシルtRNAシンセターゼは、アミノ酸の活性化およびアミノ酸

とそのアミノ酸に対応するtRNAとの正しい接着に関与する。20種類のアミノアシルtRNAシンセターゼ酵素が、触媒ドメインの固有のトポロジによって構造的に2つのクラスに分類される。クラスI酵素は、ヌクレオチド結合ロスマンフォルドに基づいた触媒ドメインを含む。クラスII酵素は、7本鎖逆平行 β シートモチーフからなる中央の触媒ドメイン、N末端調節ドメイン及びC末端調節ドメインを含む。クラスII酵素は、酵素の構造がヘテロ二量体のグループとホモ二量体のグループに分けられる。ホモ二量体のグループは、N末端およびC末端調節ドメインの構造によってさらに細分される (Hartlein, M. and Cusack, S. (1995) J. Mol. Evol. 40:519-530)。アミノアシルtRNAに対する自己抗体は、複雑間質性肺疾患 (ILD: complicating interstitial lung disease) に密接に関連し、皮膚筋炎や多発性筋炎の患者において生成される。これらの抗体は、ウイルス感染に応答して生成されと考えられたため、コクサッキーウイルスを用いて動物で実験的にウイルス性筋炎を引き起こした (Friedman, A.W. ら. (1996) Semin. Arthritis Rheum. 26:459-467)。シンセターゼ相同体が慢性骨髄性白血病 (CML) で発現することが確認された。フェニルアラニンtRNAシンセターゼの相同体が、急性期ヒトCML細胞株において、細胞周期段階依存的かつ細胞分化依存的に腫瘍選択的に発現されることが分かった (Sen, S. ら (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:6164-6169)。

【0005】

炭素と硫黄を結合するリガーゼ (酸 - チオールリガーゼ)

多くの場合、炭素基質は、少なくとも2つの炭素原子を有する小分子に由来する。炭素基質は、細胞内で炭素基質キャリアタンパク質として機能する巨大分子と共有結合する場合が多い。上記した生合成機構において、キャリアー分子は補酵素Aである。補酵素A (CoA) は、ヌクレオチドADPの誘導体に構造的に関連し、ホスホジエステル結合によってアデノシン3', 5'二リン酸 (adenosine 3', 5'-bisphosphate) の α リン酸基に結合した4' - ホスホパンテインからなる。4' - ホスホパンテインの末端チオール基は、炭素基質の結合部位として作用する。細胞内の生合成および中間代謝におけるキャリアー分子としてCoAを利用する主な炭素基質は、アセチル部分、スクシニル部分及びプロピオニル部分で

あり、総称してアシル基と呼ぶ。その他の炭素基質には、脂肪酸酸化中間体として働くエノイル脂質、アセチル - CoA流入調節因子 (acetyl-CoA flux regulator) / ミトコンドリアアシル基転移タンパク質として働くカルニチンがある。アシル - CoAおよびアセチル - CoAはそれぞれ、アシル - CoAシンセターゼおよびアセチル - CoAシンセターゼによって細胞内で合成される。

【0006】

脂肪酸の活性は、以下に示すアシル - CoAシンセターゼの活性の少なくとも3つの形態によって仲介される。この3つの形態は、(1) アセテートおよび幾つかの他の低分子量カルボン酸を活性化させ、筋肉ミトコンドリア及びその他の組織の細胞質に存在するアセチル - CoAシンセターゼ、(2) 4 ~ 11の炭素原子を有する脂肪酸 (主に食事によって得られる) を活性化させ、肺ミトコンドリアにのみ存在する中鎖アシル - CoAシンセターゼ、(3) 6 ~ 20の炭素原子を有する長鎖脂肪酸に特異的であって、マイクロソームおよびミトコンドリアに存在するアシル - CoAシンセターゼである。アシル - CoAシンセターゼの活性に関連するタンパク質は、細菌、酵母、植物、マウス、およびヒトを含む様々なサンプルで同定された。アシル - CoAシンセターゼの活性は、cAMP依存性プロテインキナーゼによる酵素のリン酸化によって調節されうる。アルポート症候群、橢円赤血球症、および精神薄弱の患者2人に欠損が見られるCOL4A5 (コラーゲン、IV型、 α - 5) 染色体領域は、長鎖アシル - CoAシンセターゼ4 (FACL4) を含む領域に隣接する (Piccini, M. ら (1998) Genomics 47: 350-358)。従って、FACL4の欠損は、これらの患者に見られる精神薄弱の進行およびその他のアルポート症候群に関連する表現型に関与しうる。

【0007】

炭素と窒素を結合するリガーゼ

酵素であるグルタミンシンセターゼ (グルタミン酸アンモニアリガーゼ) はアミドシンターゼのキーとなる代表例である。グルタミンシンセターゼは、ATP化水分解のエネルギーを使ってアンモニアによってグルタミン酸のグルタミンへのアミノ化を触媒する。グルタミンは、新規のピリミジンヌクレオチドの合成、プリンおよびピリミジンリボヌクレオチドの相互変換、およびアスパラギン酸のア

スパラギンへの変換に関与する種々のアミド転移反応における主な供給源である。グルタミンシンセターゼの過剰な発現は、原発性肺癌で観察された (Christa, L. ら (1994) Gastroent. 106:1312-1320)。

【0008】

シクロリガーゼ及びその他の炭素 - 窒素リガーゼには、プリン合成およびピリミジン合成の新規の経路に関与する種々の酵素や酵素複合体が含まれる。これらの経路は、RNAおよびDNAの複製におけるヌクレオチドの合成に極めて重要であるため、これらの酵素の多くは、癌や感染症などの細胞増殖異常の治療における臨床薬の標的となってきた。

【0009】

プリンの生合成は、アミノ酸であるグリシンおよびグルタミン、及びその他の小分子が起点となる。このプロセスにおいてキーとなる反応は、グリシンアミドリボヌクレオチドシンセターゼ (GARS)、アミノイミダゾールリボヌクレオチドシンセターゼ (AIRS)、およびグリシンアミドリボヌクレオチドトランスホルミラーゼ (GART) からなる3つの機能を有する酵素によって触媒される。これらの3種の酵素が一緒になってリボシルアミンリン酸 (ribosylamine phosphate) とグリシンとを結合し、それによってアデニル酸ヌクレオチド (adenylate nucleotides) およびグアニル酸ヌクレオチド (guanylate nucleotides) の双方の前駆体であるホスホリボシルアミノイミダゾールが生成される。この3つの機能を有するタンパク質は、ダウン症候群に関与する (Aimi, J. ら (1990) Nucleic Acid Res. 18:6665-6672)。アデニルコハク酸シンテターゼは、イノシン酸をアデニルコハク酸に変換するプリン生合成における後の方のステップを触媒する。このステップはATP合成経路の重要なステップである。この酵素はまた、尿素サイクルにおける類似の反応を触媒する別の炭素 - 窒素リガーゼ、即ちアルギニノコハク酸シンテターゼに類似している。

【0010】

プリンのデノボ合成合成と同様に、ピリミジンヌクレオチドウリジル酸およびピリミジンヌクレオチドシチジル酸 (pyrimidine nucleotides uridylylate and cytidylylate) のデノボ合成合成もまた共通の前駆体から始まる。この場合、ヌク

レオチドオロチジル酸 (nucleotide orotidylate) は、オロト酸およびホスホリボシルピロリン酸 (PPRP) から誘導された。ここでも、3種の炭素 - 窒素リガーゼを含む3つの機能を有する酵素が、このプロセスにおいて重要な役割を果たす。この場合、アスパラギン酸トランスカルバモイラーゼ (ATCase)、カルバミルリン酸シンテターゼII、およびジヒドロオロターゼ (DHOase) の酵素が、CADと呼ばれる1つの遺伝子からコードされる。これらの3種の酵素が一緒になってピリミジン合成における開始反応物であるグルタミン、 CO_2 、およびATPから、オロチン酸およびオロチジル酸 (orotate and orotidylate) の前駆体であるジヒドロオロチン酸が生成される (イワハラ, H. ら (1996) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 219:249-255)。次に、さらなるステップで、オロチジル酸からウリジヌクレオチドが合成される。シチジヌクレオチドは、アミノ供与体となるグルタミンと酵素CTPシンセターゼとを用いたウリジン5'-3リン酸 (UTP) のアミド化によって、UTPから誘導される。ヒトCTPシンセターゼにおける調節変異 (regulatory mutation) は、癌治療に広く用いられている薬剤に対する多薬剤耐性を与える (ヤマウチ, M. ら (1990) *EMBO J.* 9:2095-2099)。

【0011】

炭素と炭素を結合するリガーゼ

このグループのリガーゼは、カルボキシラーゼであるアセチル - CoAカルボキシラーゼおよびピルビン酸カルボキシラーゼによって代表される。アセチル - CoAは、ビオチンビオチンカルボキシルキャリアタンパク質、ビオチンカルボキシラーゼ、および2つの α サブユニットと2つの β サブユニットとからなるカルボキシルトランスフェラーゼを含む複合体である。この複合体は、ATP加水分解をエネルギーとして用いる CO_2 と H_2O とからのアセチル - CoAのカルボキシル化を触媒する (PRINTS 文献 PR 01069)。アセチル - CoAカルボキシラーゼは、長鎖脂肪酸の合成における律速段階である。アセチル - CoAカルボキシラーゼのI型およびII型の2つのアイソフォームが、ヒトにおいて組織特異的に発現される (Ha, J. ら (1994) *Eur. J. Biochem.* 219:297-306)。ピルビン酸カルボキシラーゼは、ピルビン酸のオキサロ酢酸 (クエン酸回路における重要な中間体) への変換を触媒する核コードのミトコンドリア酵素である。

【0012】

リン酸エステル結合を触媒するリガーゼ

このグループのリガーゼは、DNAの複製及び修復の両方に関与するDNAリガーゼによって代表される。DNAリガーゼは、ATP加水分解のエネルギーを用いてDNA鎖の隣接する2つのヌクレオチド間のホスホジエステル結合をシールし、あるヌクレオチドの遊離した5'リン酸を活性化して、それを隣接するヌクレオチドの3'OH基と反応させる。この再シール反応を用いて、DNAの複製および修復がされる。DNAの複製では、新規のDNAを複製するプロセスで一過性に形成される「岡崎フラグメント」と呼ばれる小さなDNA断片が連結される。DNAの修復は、酸化による損傷、加水分解による攻撃、DNAの無制限のメチル化などによる偶発的な塩基の変化を、DNAの複製や転写の前に修正するプロセスである。ブルーム症候群は、DNAの連結反応が部分的に阻害され、それによって癌の発症率が高まるヒトの遺伝性疾患である (Alberts, B. ら (1994) The Molecular Biology of the Cell, Garland Publishing Inc., New York, NY, p. 247)。

【0013】

新たなヒトシンセターゼ及びそれをコードするポリヌクレオチドの発見は、免疫疾患、ニューロン疾患、生殖障害及び、癌を含む細胞増殖異常の診断、治療並びに予防において有用である新たな組成を提供することにより、当分野における要求を満たす。

【0014】

(発明の概要)

本発明は、集合的には「SYNT」、個別には「SYNT-1」、「SYNT-2」、「SYNT-3」、「SYNT-4」、「SYNT-5」、「SYNT-6」、「SYNT-7」、「SYNT-8」、「SYNT-9」、「SYNT-10」、「SYNT-11」、「SYNT-12」、「SYNT-13」、「SYNT-14」及び「SYNT-15」と呼ばれるような、実質上精製されたポリペプチドであるヒトシンセターゼに特徴がある。或る実施態様において本発明は、(a) 配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列、(b) 配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c) 配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d) 配列番

号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含む、実質上単離されたポリペプチドを提供する。一実施態様では、配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列を含む実質上単離されたポリペプチドを提供する。

【0015】

また、本発明は(a)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドをコードするような実質上単離されたポリヌクレオチドを提供する。一実施態様では、ポリヌクレオチドは配列番号1乃至15を有する群から選択したポリペプチドをコードする。別の実施態様では、ポリヌクレオチドは配列番号16乃至30を有する群から選択される。

【0016】

本発明は更に、(a)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドをコードするような実質上単離されたポリヌクレオチドと機能的に結合したプロモーター配列を有する組換えポリヌクレオチドを提供する。一実施態様では、本発明は組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞を提供する。別の実施態様では、本発明は組換えポリヌクレオチドを含む遺伝形質転換体を提供する。

【0017】

また、本発明は(a)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至15を有

する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含む実質上単離されたポリペプチドを製造する方法を提供する。製造方法は、(a)組換えポリヌクレオチドを用いて形質転換した細胞をポリペプチドの発現に適した条件下で培養する過程と、(b)そのように発現したポリペプチドを受容する過程とを有し、組換えポリヌクレオチドは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したプロモーター配列を有する。

【0018】

本発明は更に、(a)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドに特異結合するような実質上単離された抗体を提供する。

【0019】

本発明は更に、(a)配列番号16乃至30を有する群から選択したポリヌクレオチド配列、(b)配列番号16乃至30を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のポリヌクレオチド配列、(c)(a)に相補的なポリヌクレオチド配列、(d)(b)に相補的なポリヌクレオチド配列、または(e)(a)~(d)のRNA等価物を含む実質上単離されたポリヌクレオチドを提供する。一実施態様では、ポリヌクレオチドは少なくとも60の連続したヌクレオチドを有する。

【0020】

本発明は更に、サンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出する方法を提供する。ここで、標的ポリヌクレオチドは(a)配列番号16乃至30を有する群から選択したポリヌクレオチド配列、(b)配列番号16乃至30を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のポリヌクレオチド配列、(c)(a)に相補的なポリヌクレオチド配列、(d)(b)に相補的なポリヌクレオチド配列、または(e)(a)~(d)のRNA等価物を

含む実質上単離されたポリヌクレオチドを提供する。検出方法は、(a) サンプル中の標的ポリヌクレオチドに相補的な配列からなる少なくとも20の連続したヌクレオチドを含むプローブを用いて該サンプルをハイブリダイズする過程と、(b) ハイブリダイゼーション複合体の存在・不存在を検出し、複合体が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程からなり、プローブと標的ポリヌクレオチドの間にハイブリダイゼーション複合体が形成されるような条件下で、プローブは標的ポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズする。一実施態様では、プローブは少なくとも60の連続したヌクレオチドを含む。

【0021】

本発明はまた、サンプル中の標的ポリヌクレオチドを検出する方法を提供する。ここで、標的ポリヌクレオチドは(a) 配列番号16乃至30を有する群から選択したポリヌクレオチド配列、(b) 配列番号16乃至30を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のポリヌクレオチド配列、(c) (a) に相補的なポリヌクレオチド配列、(d) (b) に相補的なポリヌクレオチド配列、または(e) (a) ~ (d) のRNA等価物を含む実質上単離されたポリヌクレオチドを提供する。検出方法は、(a) ポリメラーゼ連鎖反応増幅を用いて標的ポリヌクレオチドまたはその断片を増幅する過程と、(b) 標的ポリヌクレオチドまたはその断片の存在・不存在を検出し、該標的ポリヌクレオチドまたはその断片が存在する場合にはオプションでその量を検出する過程を含む。

【0022】

本発明は更に、有効量のポリペプチドと薬剤として許容できる賦形剤とを含む医薬品成分を提供する。有効量のポリペプチドは、(a) 配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列、(b) 配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c) 配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d) 配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含む。一実施態様では、医薬品成分は配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列を含む。更に本発明は、機能性SYNTの発現低

下に関連する疾患又は病状を治療する方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して医薬品成分を投与する過程を有する方法を提供する。

【0023】

本発明はまた、(a)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドのアゴニストとしての有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a)ポリペプチドを有するサンプルを化合物に曝す過程と、(b)サンプル中のアゴニスト活性を検出する過程とを含む。一実施態様では、本発明は機能性SYNTの発現低下に関連する疾患又は病状を治療する方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して医薬品成分を投与する過程を含む方法を提供する。

【0024】

本発明は更に、(a)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドのアンタゴニストとしての有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a)ポリペプチドを含むサンプルを化合物に曝す過程と、(b)サンプル中のアンタゴニスト活性を検出する過程とを含む。一実施態様で本発明は、この方法によって同定したアンタゴニスト化合物と薬剤として許容できる賦形剤とを含む医薬品成分を提供する。別の実施態様では、機能性SYNTの過剰発現に関連する疾患又は病状を治療する方法であって、そのような治療を必要とする患者に対して医薬品成分を投与する過程を含む方法を提供する。

【0025】

本発明は更に、(a)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片を含むポリペプチドに特異結合する化合物をスクリーニングする方法を提供する。スクリーニング方法は、(a)ポリペプチドを適切な条件下で少なくとも1つの試験化合物に結合させる過程と、(b)試験化合物とのポリペプチドの結合を検出し、それによってポリペプチドに特異結合する化合物を同定する過程とを含む。

【0026】

本発明は更に、(a)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列、(b)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のアミノ酸配列、(c)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の生物学的活性断片、または(d)配列番号1乃至15を有する群から選択したアミノ酸配列の免疫抗原性断片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。スクリーニング方法は、(a)ポリペプチドの活性が許容された条件下で、ポリペプチドを少なくとも1つの試験化合物に結合させる過程と、(b)ポリペプチドの活性を試験化合物の存在下で算定する過程と、(c)試験化合物の存在下でのポリペプチドの活性を試験化合物の不存在下でのポリペプチドの活性と比較する過程とを含み、試験化合物の存在下でのポリペプチドの活性の変化は、ポリペプチドの活性を調節する化合物を標示する。

【0027】

本発明は更に、標的ポリヌクレオチドの変異発現の有効性を確認するために化合物をスクリーニングする方法を提供する。標的ポリヌクレオチドは、配列番号16乃至30を有する群から選択した配列を含む。スクリーニング方法は、(a)標的ポリヌクレオチドを含むサンプルを化合物に曝す過程と、(b)標的ポリヌクレオチドの変異発現を検出する過程とを含む。

【0028】

本発明は更に、試験化合物の毒性を評価する方法を提供する。毒性評価方法は、(a)核酸を含む生物学的サンプルを試験化合物で処理する過程と、(b)(i)配列番号16乃至30を有する群から選択したポリヌクレオチド配列、(ii)配列番号16乃至30を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のポリヌクレオチド配列、(iii)(i)に相補的なポリヌクレオチド配列、(iv)(ii)に相補的なポリヌクレオチド配列、または(v)(i)~(iv)のRNA等価物を有する群から選択したポリヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドの少なくとも20の連続したヌクレオチドを含むプローブを用いて処理生物学的サンプルの核酸をハイブリダイズする過程とからなる。ハイブリダイゼーションは、生物学的サンプルにおいて前記プローブと標的ポリヌクレオチドの間に固有のハイブリダイゼーション複合体が形成されるような条件下で発生し、前記標的ポリヌクレオチドには、(i)配列番号16乃至30を有する群から選択したポリヌクレオチド配列、(ii)配列番号16乃至30を有する群から選択したポリヌクレオチド配列と少なくとも90%の相同性を有する天然のポリヌクレオチド配列、(iii)(i)に相補的なポリヌクレオチド配列、(iv)(ii)に相補的なポリヌクレオチド配列、及び(v)(i)~(iv)のRNA等価物が含まれる。或いは、標的ポリヌクレオチドは、上記ポリヌクレオチド配列の断片と、(c)ハイブリダイゼーション複合体の量を定量する過程と、(d)処理生物学的サンプル中のハイブリダイゼーション複合体の量を非処理生物学的サンプル中のハイブリダイゼーション複合体と比較する過程とを有し、処理生物学的サンプル中のハイブリダイゼーション複合体の量の差は試験化合物の毒性を示す。

【0029】

(発明を実施するための形態)

本発明のタンパク質、ヌクレオチド配列及び方法について説明するが、その前に、説明した特定の装置、材料及び方法に本発明が限定されるものではなく、改変し得ることを理解されたい。また、ここで使用する専門用語は特定の実施例を説明する目的で用いたものに過ぎず、特許請求の範囲にのみ限定される本発明の範囲を限定することを意図したものではないことも併せて理解されたい。

【0030】

請求の範囲及び明細書中で用いている単数形の「或る」及び「その（この）」の表記は、文脈から明らかにそうでないとされる場合を除いて複数のものを指す場合もあることに注意しなければならない。従って、例えば「或る宿主細胞」と記されている場合にはそのような宿主細胞が複数あることもあり、「或る抗体」と記されている場合には単数または複数の抗体、及び、当業者に公知の抗体の等価物等についても言及しているのである。

【0031】

本明細書中で用いる全ての専門用語及び科学用語は、特に定義されている場合を除き、当業者に一般に理解されている意味と同じ意味を有する。本明細書で説明するものと類似あるいは同等の任意の装置、材料及び方法を用いて本発明の実施または試験を行うことができるが、ここでは好適な装置、材料、方法について説明する。本発明で言及する全ての刊行物は、刊行物中で報告されていて且つ本発明に関係があるであろう細胞、プロトコル、試薬及びベクターについて説明及び開示する目的で引用しているものである。本明細書のいかなる開示内容も、本発明が先行技術の効力によってこのような開示に対して先行する権利を与えられていないことを認めるものではない。

【0032】

定義

「SYNT」は、実質上精製されたSYNTのアミノ酸配列であって、任意の種、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の種から得たもので、任意の天然物、合成物、半合成物或いは組換え物を起源とするものを指す。

【0033】

「アゴニスト」の語は、SYNTの生物学的活性を強化または擬態する分子を指す。アゴニストの例として、タンパク質、核酸、糖質、小分子その他の任意の化合物や成分を挙げることができるが、これらはSYNTと直接相互作用することによって、或いはSYNTが関与する生物学的経路の構成エレメントに作用することによって、SYNTの活性を調節する。

【0034】

「対立遺伝子変異体」は、SYNTをコードする遺伝子の別の形態である。対立遺伝子変異体は、核酸配列における少なくとも1の突然変異から作製し得る。また、変異RNAまたはポリペプチドからも作製し得る。ポリペプチドの構造または機能は、変異することもしないこともある。遺伝子は、天然の対立遺伝子変異体を全く有しないか、1若しくは数個の天然の対立遺伝子変異体を有し得る。一般に対立遺伝子変異体を生じさせる通常の突然変異性変化は、ヌクレオチドの自然欠失、付加または置換に帰するものである。これら各変化は、単独或いは他の変化と共に、所定の配列内で1若しくは数回生じ得る。

【0035】

SYNTをコードする「変異(altered)」核酸配列は、種々のヌクレオチドを欠失、挿入または置換する核酸配列を有し、SYNTと同一またはSYNTの機能的特徴を少なくとも1つ有するポリペプチドを産出する。この定義に含まれるのは、SYNT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或いは検出困難な多型現象と、SYNTをコードするポリヌクレオチド配列のための正常な染色体遺伝子座以外の遺伝子座に占めるような、対立遺伝子変異体に対する不適切或いは不測のハイブリダイゼーションである。コードされたタンパク質も「変異」し得るものであり、サイレント変化を生ぜしめて結果的に機能的に等価なSYNTとなるようなアミノ酸残基の欠失、挿入または置換を含み得る。計画的アミノ酸置換は、SYNTの生物学的または免疫学的活性が保持される限りにおいて、残基の極性、電荷、溶解度、疎水性、親水性及び/または両親媒性特性の類似性に基づき行い得る。例えば、負に帯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あり、正に帯電したアミノ酸にはリジン及びアルギニンがある。親水性値が近似している非荷電極性側鎖を有するアミノ酸には、アスパラギンとグルタミン、セリンとスレオニンがある。親水性値が近似している非荷電側鎖を有するアミノ酸には、ロイシンとイソロイシンとバリン、グリシンとアラニン、フェニルアラニンとチロシンがある。

【0036】

「アミノ酸」または「アミノ酸配列」の語は、オリゴペプチド、ペプチド、ポリペプチド若しくはタンパク質の配列またはその断片を指し、天然または合成分

子を指す。ここで、「アミノ酸配列」は天然のタンパク質分子のアミノ酸配列を指すものであり、「アミノ酸配列」及び類似の語は、アミノ酸配列を、列挙したタンパク質分子に会合する完全な本来のアミノ酸配列に限定しようとするものではない。

【0037】

「増幅」は、核酸配列の追加複製に関連する。増幅は通常、当業者によく知られたポリメラーゼ連鎖反応（PCR）技術を用いて行う。

【0038】

「アンタゴニスト」の語は、SYNTの生物学的活性を阻害或いは弱める分子を指す。アンタゴニストとしては、抗体などのタンパク質、核酸、糖質、小分子またはその他の任意の化合物や成分を挙げることができるが、これらはSYNTと直接相互作用することによって、或いはSYNTが関与する生物学的経路の構成エレメントに作用することによって、SYNTの活性を調節する。

【0039】

「抗体」の語は、無損傷免疫グロブリンやその断片、例えばFa、F(ab')₂及びFv断片を指すが、これらはエピトープの決定基と結合することができる。SYNTポリペプチドを結合する抗体は、無損傷ポリペプチドを用いるか或いは免疫抗原として感心のある小ペプチドを含む断片を用いるかして調製することができる。動物（マウス、ラット、ウサギ等）を免疫化するために用いるポリペプチドまたはオリゴペプチドは、翻訳または化学合成されたRNAに由来し得るもので、好みに応じて担体タンパク質に接合することも可能である。通常用いられる担体であってペプチドと化学結合するものは、ウシ血清アルブミン、サイログロブリン及びキーホールリンペットヘモシアニン（KLH）等がある。結合ペプチドは、動物を免疫化するために用いる。

【0040】

「抗原決定基」の語は、特定の抗体と接触している分子の領域（即ちエピトープ）を指す。タンパク質またはタンパク質断片を用いて宿主動物を免疫化する場合、タンパク質の多数の領域が、抗原決定基（タンパク質の特定の領域または3次元構造）に特異結合する抗体の産生を誘導し得る。抗原決定基は、抗体に結合

するための無損傷抗原（即ち免疫応答を誘導するために用いられる免疫原）と競合し得る。

【0041】

「アンチセンス」の語は、特定の核酸配列の「センス」鎖（コーディング鎖）と塩基対を形成することが可能な任意の成分を指す。アンチセンス成分には、DNAや、RNAや、ペプチド核酸（PNA）や、ホスホロチオ酸、メチルホスホン酸またはベンジルホスホン酸等の修飾されたバックボーン連鎖を有するオリゴヌクレオチドや、2'-メトキシエチル糖または2'-メトキシエトキシ糖等の修飾された糖類を有するオリゴヌクレオチドや、或いは5-メチルシトシン、2'-デオキシウラシルまたは7-デアザ-2'-デオキシグアノシン等の修飾された塩基を有するオリゴヌクレオチドがある。アンチセンス分子は、化学合成または転写を含む任意の方法で製造することができる。相補的アンチセンス分子は、ひとたび細胞に導入されたら、細胞が形成した天然の核酸配列と塩基対を形成し、転写または翻訳を妨害する二重鎖を形成する。「負」若しくは「マイナス（-）」の語がアンチセンス鎖を、「正」若しくは「プラス（+）」がセンス鎖を指すことがある。

【0042】

「生物学的に活性」の語は、天然分子の構造的機能、調節機能または生化学的機能を有するタンパク質を指す。同様に「免疫学的に活性」は、天然、組換えまたは合成のSYNT、或いはその任意のオリゴペプチドの能力であって、適切な動物または細胞において特定の免疫反応を誘導して特定の抗体と結合し得る能力を指す。

【0043】

「相補(的)」または「相補性」の語は、塩基対形成によりアニールする2つの一本鎖分子間の関係を説明する。例として、「5'A-G-T3'」とその相補配列「3'T-C-A5'」がある。

【0044】

「所与のポリヌクレオチド配列からなる成分」及び「所与のアミノ酸配列からなる成分」は、大まかに所与のポリヌクレオチド配列またはアミノ酸配列を有する任意の成分を指す。この成分には、乾燥製剤または水溶液が含まれ得る。SYNT

またはSYNT断片をコードするポリヌクレオチドからなる成分は、ハイブリダイゼーションプローブとして利用することができる。このプローブは凍結乾燥状態で保存し得るものであり、糖質等の安定化剤と会合し得る。ハイブリダイゼーションにおいては、塩（例えばNaCl）、洗浄剤（例えばドデシル硫酸ナトリウム；SDS）及びその他の構成エレメント（例えばデンハート液、脱脂粉乳、サケの精子のDNA等）を含む水溶液中にプローブを分散させることができる。

【0045】

「コンセンサス配列」は、不必要な塩基を分離するために再配列し、XL-PCRキット（PE Biosystems, Foster City CA）を用いて5'方向及び/または3'方向に伸長させ、更に再配列した核酸配列を指す。或いは、断片アセンブルのコンピュータプログラムを用いて、1若しくは数個のIncyteクローンの、場合によっては1若しくは数個のパブリックドメインESTの、オーバーラップした配列から組み立てた核酸配列を指す。コンピュータプログラムの例としては、GELVIEW断片アセンブルシステム（GCG, Madison WI）やPhrap（University of Washington, Seattle WA）が挙げられる。伸長及びアセンブルを共に行ってコンセンサス配列を決定する配列もある。

【0046】

「保存的なアミノ酸置換」は、置換がなされた時に元のタンパク質の特性を殆ど損なわないような置換、即ちタンパク質の構造と特に機能が保存され、そのような置換による大きな変化がない置換を指す。下表は、タンパク質中で元のアミノ酸と置換され得るアミノ酸と、保存アミノ酸置換と認められるアミノ酸を示している。

元の残基	保存的な置換
Ala	Gly, Set
Arg	His, Lys
Asn	Asp, Gln, His
Asp	Asn, Glu
Cys	Ala, Ser
Gln	Asn, Glu, His

Glu	Asp, Gln, His
Gly	Ala
His	Asn, Arg, Gln, Glu
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu
Met	Leu, Ile
Phe	His, Met, Leu, Trp, Tyr
Ser	Cys, Thr
Thr	Ser, Val
Trp	Phe, Tyr
Tyr	His, Phe, Trp
Val	Ile, Leu, Thr

保存アミノ酸置換では通常、(a)置換領域におけるポリペプチドのバックボーン構造、例えば β シートや α 螺旋構造、(b)置換部位における分子の電荷または疎水性、及び/または(c)側鎖の大部分を保持する。

【0047】

「欠失」は、結果的に1若しくは数個のアミノ酸またはヌクレオチドが失われてなくなるようなアミノ酸またはヌクレオチド配列における変化を指す。

【0048】

「誘導体」の語は、ポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列の化学修飾を指す。例えば、アルキル基、アシル基、ヒドロキシル基またはアミノ基による水素の置換は、ポリヌクレオチド配列の化学修飾に含まれ得る。ポリヌクレオチド誘導体は、天然分子の生物学的または免疫学的機能を少なくとも1つは保持しているポリペプチドをコードする。ポリペプチド誘導体は、グリコシル化、ポリエチレングリコール化(pegylation)、或いは任意の同様なプロセスであって誘導起源のポリペプチドから少なくとも1つの生物学的若しくは免疫学的機能を保持しているプロセスによって、修飾されたポリペプチドである。

【0049】

「検出可能な標識」は、測定可能な信号を生成することができ、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドに共有結合または非共有結合するようなレポーター分子または酵素を指す。

【0050】

「断片」は、SYNTまたはSYNTをコードするポリヌクレオチドの固有部分であって、親配列と同一配列であるが親配列よりも長さが短い配列を指す。断片は、画定された配列の全長から1ヌクレオチド/アミノ酸残基を差し引いた長さよりも短い長さを有し得る。例えば或る断片は、5～1000の連続したヌクレオチドまたはアミノ酸残基を有し得る。プローブ、プライマー、抗原、治療用分子として、或いはその他の目的のために用いられる断片は、少なくとも5、10、15、16、20、25、30、40、50、60、75、100、150、250若しくは少なくとも500の連続したヌクレオチド或いはアミノ酸残基長さとし得る。断片は、分子の特定領域から優先的に選択し得る。例えば、ポリペプチド断片は、所定の配列に示すような最初の250または500アミノ酸（またはポリペプチドの最初の25%または50%）から選択された或る長さの連続したアミノ酸を有し得る。これらの長さは明らかに例として挙げているものであり、本発明の実施例では、配列表、表及び図面を含む明細書に裏付けされた任意の長さであってよい。

【0051】

配列番号16乃至30の断片には、固有のポリヌクレオチド配列領域が含まれる。この領域は、配列番号16乃至30を特異的に同定するものであり、例えば同一ゲノム中の配列番号16乃至30以外の配列とは異なるものである。配列番号16乃至30の断片は、例えば、ハイブリダイゼーション及び増幅技術において、或いは関連するポリヌクレオチド配列から配列番号16乃至30を区別する類似の方法において有用である。配列番号16乃至30の断片の正確な長さ及び断片に対応する配列番号16乃至30の領域は、断片に対する意図した目的に基づき当業者が慣例的に決定することが可能である。

【0052】

配列番号1乃至15の断片は、配列番号16乃至30の断片によってコードさ

れる。配列番号1乃至15の断片には、配列番号1乃至15を特異的に同定する固有のアミノ酸配列領域が含まれている。例えば、配列番号1乃至15の断片は、配列番号1乃至15を特異認識する抗体を産出するための免疫抗原性ペプチドとして有用である。配列番号1乃至15の断片及び断片に対応する配列番号1乃至15の領域の正確な長さは、断片に対する意図した目的に基づき当業者が慣例的に決定することが可能である。

【0053】

「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）、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。

【0054】

「相同性」の語は、配列類似性即ち2つ以上のポリヌクレオチド配列または2つ以上のポリペプチド配列の配列間で互換可能な配列同一性である。

【0055】

ポリヌクレオチド配列に適用される「一致率」または「一致%」の語は、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た少なくとも2つ以上のポリヌクレオチド配列間で一致する残基の割合を意味する。このようなアルゴリズムは、両配列間のアラインメントを最適化するために比較する配列において、標準化された再現性のある方法でギャップを挿入するので、2つの配列をより有意に比較できる。

【0056】

ポリヌクレオチド配列間の一致率は、MEGALIGN version 3.12e配列アラインメントプログラムに組込まれているような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できる。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、一式の分子生物学分析プログラム（DNASTAR, Madison WI）である。CLUSTAL Vについては、Higgins, D.G. and P.M. Sharp (1989) CABIOS 5:151-153及びHiggins, D.G. ら (1992) CABIOS 8:189-191の文献に記載されている。ポリヌクレオチド配列の対をなすアラインメントの場合、デフォルトパラ

メータは、Ktuple=2、gap penalty=5、window=4、「diagonals saved」=4と設定する。デフォルトとして「重みづけされた」残基の重みづけ表を選択する。CLUSTAL Vは、アラインメントされたポリヌクレオチド配列対間の「類似率」として一致率を報告する。

【0057】

或いは、通常用いられ且つ無料で入手可能な配列比較アルゴリズム一式が米国国立バイオテクノロジー情報センター (NCBI) のBasic Local Alignment Search Tool (BLAST) から提供されている (Altschul, S.F. ら (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410)。このアルゴリズムは、メリーランド州ベセスダにあるNCBIを含めた幾つかの情報源から入手可能であり、インターネット (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) 上でも入手可能である。BLASTソフトウェア一式には様々な配列分析プログラムが含まれており、既知のポリヌクレオチド配列を種々のデータベースから得た別のポリヌクレオチド配列とアラインメントする「blastn」もその1つである。その他にも、2つのヌクレオチド配列を対で直接比較するために用いる「BLAST 2 Sequences」と称されるツールも利用可能である。「BLAST 2 Sequences」は、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/bl2.html>にアクセスして対話形式で利用することが可能である。「BLAST 2 Sequences」ツールは、blastn と blastp (後述) の両者に用いることができる。BLASTプログラムは、一般的には、ギャップ及びデフォルト設定に設定された他のパラメータと共に用いる。例えば、2つのヌクレオチド配列を比較するために、デフォルトパラメータとして設定された「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12 (2000年4月21日) を用いてblastnを実行してもよい。デフォルトパラメータの設定例を以下に示す。

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

一致率は、完全に画定された（例えば特定の配列番号で画定された）配列長さと比較して測定し得る。或いは、より短い長さ、例えばより大きな画定された配列から得られた断片（例えば少なくとも20、30、40、50、70、100または200の連続したヌクレオチドの断片）の長さと比較して一致率を測定してもよい。ここに挙げた長さは単なる例示的なものに過ぎず、表、図及び配列リストを含めた本明細書に記載された配列に裏付けられた任意の配列長さの断片を用いて、一致率を測定し得る長さを説明し得ることを理解されたい。

【0058】

高度の一致率を示さない核酸配列が、それにもかかわらず遺伝子コードの縮重が原因で類似のアミノ酸配列をコードする場合がある。この縮重を利用して核酸配列内で変化を生じさせて、全ての核酸配列が実質上同一のタンパク質をコードするような多数の核酸配列を生成し得ることを理解されたい。

【0059】

ポリペプチド配列に適用される「一致率」または「一致%」の語は、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た少なくとも2以上のポリペプチド配列間で一致する残基の割合を意味する。ポリペプチド配列アラインメントの方法は公知である。保存的アミノ酸置換を考慮するアラインメント方法もある。既に詳述したこのような保存的置換は通常、置換部位の酸性度及び疎水性を保存するので、ポリペプチドの構造を（従って機能も）保存する。

【0060】

ポリペプチド配列間の一致率は、MEGALIGN version 3.12e配列アラインメントプログラムに組込まれているようなCLUSTAL Vアルゴリズムのデフォルトのパラメータを用いて決定できる（既に説明したのでそれを参照されたい）。CLUSTAL Vを用いて、ポリペプチド配列を2つ1組でアラインメントする際のデフォルトパラメータは、Ktuple=1、gap penalty=3、window=5、「diagonals saved」=5と設定する。デフォルトの残基重み付け表としてPAM250マトリクスを選択する。ポリヌクレオチドアラインメントと同様に、CLUSTAL VIは、アラインメントされたポリペプチド配列対間の「類似率」として一致率を報告する。

【0061】

或いは、NCBI BLASTソフトウェア式を用いてもよい。例えばポリペプチド配列を2つ1組で比較をする場合、デフォルトパラメータとして設定されたblastpと共に「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.12(2000年4月21日)を使用してもよい。デフォルトパラメータの設定例を以下に示す。

Matrix: BLOSUM62

Open Gap: 11 及び Extension Gap: 1 penalties

Gap x drop-off: 50

Expect: 10

Word Size: 3

Filter: on

一致率は、完全に画定された(例えば特定の配列番号で画定された)ポリペプチド配列の長さと比較して測定し得る。一致率は、配列或いは、より短い長さ、例えばより大きな画定されたポリペプチド配列から得られた断片(例えば少なくとも15、20、30、40、50、70または150の連続した残基の断片)の長さと比較して一致率を測定してもよい。ここに挙げた長さは単なる例示的なものに過ぎず、表、図及び配列リストを含めた本明細書に記載された配列に裏付けられた任意の配列長さの断片を用いて、或る長さであってその長さに対して一致率を測定し得る長さを説明し得ることを理解されたい。

【0062】

「ヒト人工染色体」(HAC)は直鎖状の小染色体であり、6 kb ~ 10 MbのサイズのDNA配列を含み、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が含まれている。

【0063】

「ヒト化抗体」の語は、非抗体結合領域におけるアミノ酸配列はヒト抗体により近づくように変異させた抗体分子であって、本来の結合能力はそのまま保持しているような抗体分子を指す。

【0064】

「ハイブリダイゼーション」は、所定のハイブリダイゼーション条件下で塩基

対を形成することによって、一本鎖ポリヌクレオチドが相補的鎖とアニーリングするプロセスを指す。特異的ハイブリダイゼーションは、2つの核酸配列が高い相同性を共有することを示すものである。特異的ハイブリダイゼーション複合体は許容されるアニーリング条件下で形成され、「洗浄」ステップ後もハイブリダイズされたままである。洗浄ステップは、ハイブリダイゼーションプロセスのストリンジェンシーを決定する際に特に重要であり、更にストリンジェントな条件では、非特異結合（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。核酸配列のアニーリングに対する許容条件は、当分野における当業者が慣例的に決定する。許容条件はハイブリダイゼーション実験の間は一定でよいが、洗浄条件は所望のストリンジェンシーを得るように、従ってハイブリダイゼーション特異性も得るように実験中に変更することができる。アニーリング許容条件は、例えば約 $6 \times \text{SSC}$ 、約 1 % (w/v) の SDS 及び約 $100 \mu\text{g/ml}$ の変性サケ精子 DNA の存在下で温度 68°C において成立する。

【0065】

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、或る程度、洗浄ステップを実行する温度を基準にして表すことができる。このような洗浄温度は通常、所定のイオン強度及び pH における特異配列の融点 (T_m) より約 $5 \sim 20^\circ\text{C}$ 低くなるように選択する。この T_m は、所定のイオン強度及び pH の下で、完全に一致するプローブに標的配列の 50 % が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条件はよく知られており、Sambrook ら (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第2版, 1-3巻, Cold Spring Harbor Press, Plainview NY に記載されており、特に2巻の9章を参照されたい。

【0066】

本発明のポリヌクレオチド間のハイブリダイゼーションに対する高ストリンジェンシー条件には、約 $0.2 \times \text{SSC}$ 及び約 1 % の SDS 存在下で約 68°C において1時間の洗浄条件が含まれる。或いは、 65°C 、 60°C 、 55°C または 42°C の温度で行ってもよい。SSC濃度は、約 0.1 % の SDS 存在下で、約 $0.1 \sim 2 \times \text{SSC}$ の範囲で変化し得る。通常は、遮断剤を用いて非特異ハイブリダイゼーションを阻

止する。このような遮断剤には、例えば、約100～200 µg/mlの変性サケ精子DNAがある。特定条件下で、例えばRNAとDNAのハイブリダイゼーションに有機溶剤、例えば約35～50 %v/vの濃度のホルムアミドを用いることもできる。洗浄条件の有用なバリエーションは、当業者には自明であろう。ハイブリダイゼーションは、特に高ストリンジェント条件下では、ヌクレオチド間の進化的な類似性を示唆し得る。このような類似性は、ヌクレオチド及びヌクレオチドにコードされるポリペプチドに対する類似の役割を強く示唆している。

【0067】

「ハイブリダイゼーション複合体」の語は、相補的塩基対間の水素結合の形成力によって2つの核酸配列間に形成された複合体を指す。ハイブリダイゼーション複合体は、溶解状態で形成し得る(C₀tまたはR₀t解析等)。或いは、一方の核酸配列が溶解状態で存在し、もう一方の核酸配列が固体支持体(例えば紙、膜、フィルタ、チップ、ピンまたはガラススライド、或いは他の適切な基質であって細胞若しくはその核酸が固定される基質)に固定されているような2つの核酸配列間に形成され得る。

【0068】

「挿入」及び「付加」の語は、1若しくは数個のアミノ酸残基またはヌクレオチド配列を各々付加するようなアミノ酸またはヌクレオチド配列における変化を指す。

【0069】

「免疫応答」は、炎症、外傷、免疫異常症、伝染性疾患または遺伝性疾患に関連する症状を指し得る。これらの症状は、細胞及び全身の防御系に作用し得る種々の因子、例えばサイトカイン、ケモカイン、その他のシグナル伝達分子の発現によって特徴づけることができる。

【0070】

「免疫抗原性断片」とは、哺乳動物等の生命体に導入されると免疫応答を誘発し得るようなSYNTのポリペプチドまたはオリゴペプチド断片である。「免疫抗原性断片」の語には、本明細書中で開示したような或いは当分野で既知であるような任意の抗体産出方法において有用なSYNTの任意のポリペプチドまたはオリゴペ

プチド断片も含まれる。

【0071】

「マイクロアレイ」の語は、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。

【0072】

「エレメント」または「アレイエレメント」の語は、マイクロアレイの環境において、基質の表面上に配置されたハイブリダイズ可能なポリヌクレオチドを指す。

【0073】

「調節(する)」の語は、SYNTの活性の変化を指す。調節することによって例えば、SYNTのタンパク質活性、結合特性その他の生物学的、機能的または免疫学的特性が増大または低下し得る。

【0074】

「核酸」及び「核酸配列」の語は、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチドまたはこれらの断片を指す。「核酸」及び「核酸配列」の語は、ゲノム起源または合成起源のDNAまたはRNAであって一本鎖または二本鎖であるか或いはセンス鎖またはアンチセンス鎖を表し得るようなDNAまたはRNAや、ペプチド核酸(PNA)や、任意のDNA様またはRNA様物質を指すこともある。

【0075】

「機能的に結合した」は、第1核酸配列が第2核酸配列と機能的な関係があるように配置された状態を指す。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及ぼす場合には、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。同一のリーディングフレーム内で2つのタンパク質コード領域を結合する必要がある場合、一般に、機能的に結合したDNA配列は非常に近接するか、或いは連続し得る。

【0076】

「ペプチド核酸」(PNA)は、アンチセンス分子または抗遺伝子物質であって、リジンを末端とするアミノ酸残基のペプチドバックボーンに結合した、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からなるものを指す。末端の

リジンは、成分に溶解性を与える。PNAは、相補的一本鎖DNAまたはRNAに優先的に結合して転写の拡張を停止するものであり、ポリエチレングリコール化して細胞におけるPNAの寿命を延長し得る。

【0077】

SYNTの「翻訳後修飾」は、脂質化、グリコシル化、リン酸化、アセチル化、ラセミ化、タンパク分解性分割及びその他の当分野で既知の修飾を含み得る。これらのプロセスは、合成的または生化学的に発生し得る。生化学的修飾は、SYNTの酵素環境に依存し、細胞タイプによって変化し得る。

【0078】

「プローブ」は、SYNT、SYNTの相補配列またはこれらの断片をコードする核酸配列を指し、同一核酸配列、対立遺伝子核酸配列または関連する核酸配列の検出に用いられる。プローブは、単離されたオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドであって、検出可能な標識またはレポーター分子に結合したものである。典型的な標識には、放射性アイソトープ、リガンド、化学発光試薬及び酵素がある。「プライマー」は、短い核酸、通常はDNAオリゴヌクレオチドであり、相補的塩基対を形成することで標的ポリヌクレオチドにアニーリングされ得る。プライマーは次に、DNAポリメラーゼ酵素によって標的DNA鎖に延在し得る。プライマー対は、例えばポリメラーゼ連鎖反応（PCR）による核酸配列の増幅（及び同定）に用い得る。

【0079】

本発明に用いるようなプローブ及びプライマーは通常、既知の配列の少なくとも15の連続したヌクレオチドを含んでいる。特異性を高めるために長めのプローブ及びプライマー、例えば開示した核酸配列の少なくとも20、25、30、40、50、60、70、80、90、100または少なくとも150の連続したヌクレオチドからなるようなプローブ及びプライマーを用いてもよい。これよりもかなり長いプローブ及びプライマーもある。表、図面及び配列リストを含む本明細書に裏付けされた任意の長さのヌクレオチドを用いることができるものと理解されたい。

【0080】

プローブ及びプライマーの調製及び使用方法については、Sambrook, J. ら (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, 1-3巻, Cold Spring Harbor Press, Plainview NY、Ausubel, F.M. ら, (1987) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pubi. Assoc. & Wiley-Intersciences, New York NY、Innisら (1990) PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications Academic Press, San Diego CA等を参照されたい。PCRプライマー対は、その目的のためのコンピュータプログラム、例えばPrimer (Version 0.5, 1991, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge MA) を用いるなどして既知の配列から得ることができる。

【0081】

プライマーとして用いるオリゴヌクレオチドは、そのような目的のために当分野でよく知られているソフトウェアを用いて選択する。例えばOLIGO 4.06ソフトウェアは、各100ヌクレオチドまでのPCRプライマー対の選択に有用であり、オリゴヌクレオチド及び最大5,000までの大きめのポリヌクレオチドであって32キロベースまでのインプットポリヌクレオチド配列から得たものを分析するのに有用である。類似のプライマー選択プログラムには、拡張能力のための追加機能が組込まれている。例えば、PrimOUプライマー選択プログラム(テキサス州ダラスにあるテキサス大学南西部医療センターのゲノムセンターから一般向けに入手可能)は、メガベース配列から特定のプライマーを選択することが可能であり、従ってゲノム全体の範囲でプライマーを設計するのに有用である。Primer3プライマー選択プログラム(マサチューセッツ州ケンブリッジのWhitehead Institute/MITゲノム研究センターから一般向けに入手可能)ではユーザーが「ミスプライミング・ライブラリ」をインプットすることができ、ここでプライマー結合部位として避けたい配列はユーザーが指定する。Primer3は特に、マイクロアレイのためのオリゴヌクレオチドの選択に有用である(後二者のプライマー選択プログラムのソースコードは、各自のソースから得てユーザー固有のニーズを満たすように変更してもよい)。PrimerGenプログラム(英国ケンブリッジ市の英国ヒトゲノムマッピングプロジェクト-リソースセンターから一般向けに入手可能)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し、それに

よって、アラインメントされた核酸配列の最大保存領域または最小保存領域の何れかとハイブリダイズするようなプライマーの選択を可能にする。従って、このプログラムは、固有であって保存されたオリゴヌクレオチド及びポリヌクレオチドの断片の同定に有用である。上記選択方法のいずれかによって同定したオリゴヌクレオチド及びポリヌクレオチドの断片は、ハイブリダイゼーション技術において、例えばPCRまたはシーケンシングプライマーとして、マイクロアレイエレメントとして、或いは核酸のサンプルにおいて完全または部分的相補的ポリヌクレオチドを同定する特異プローブとして有用である。オリゴヌクレオチドの選択方法は、上記の方法に限定されるものではない。

【0082】

「組換え核酸」は天然配列ではない配列であるか或いは人為的に組み合わせなければ離隔しているような配列の2以上のセグメントを人為的に組み合わせで産出した配列を有する配列である。この人為的組合せはしばしば化学合成によって達成するが、より一般的には核酸の単離セグメントの人為的操作によって、例えば前出のSambrookらの文献に記載されているような遺伝子工学的手法によって達成する。組換え核酸の語は、単に核酸の一部を付加、置換または欠失した変異核酸も含む。しばしば組換え核酸には、プロモーター配列に機能的に結合した核酸配列が含まれる。このような組換え核酸は、ベクターの不可欠なエレメントであって例えばある細胞を形質転換するために用いられるようなものであり得る。

【0083】

或いはこのような組換え核酸は、ウイルスベクターの不可欠なエレメントであって例えばワクシニアウイルスに基づくものであり得る。ワクシニアウイルスは組換え核酸が発現される哺乳動物のワクチン接種に用いるもので、哺乳動物の防御免疫応答を誘導する。

【0084】

「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、翻訳またはRNA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。

【0085】

「レポーター分子」とは、核酸、アミノ酸または抗体を標識するのに用いられる化学的または生化学的成分である。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、阻害因子、磁気粒子及びその他の当分野で既知の成分がある。

【0086】

DNA配列に関する「RNA等価物」は、発生した窒素塩基チミンが全てウラシルに置換されていることと、糖のバックボーンがデオキシリボースではなくリボースから構成されていることを除いて、参照DNA配列と同一のヌクレオチド線形配列から構成されている。

【0087】

「サンプル」の語は、その最も広い意味で用いられる。SYNTをコードする核酸若しくはその断片、またはSYNT自体を含む疑いのあるサンプルは、体液や、細胞から単離された細胞、染色体、細胞小器官または膜からの抽出物や、細胞や、溶解しているか基質に結合しているゲノムDNA、RNAまたはcDNAや、組織や、組織プリント等から構成され得る。

【0088】

「特異結合」または「特異的に結合する」の語は、タンパク質またはペプチドと、アゴニスト、抗体、アンタゴニスト、小分子、任意の天然成分または合成結合成分との間の相互作用を指す。この相互作用は、タンパク質の特定の構造（例えば抗原決定基即ちエピトープ）であって結合分子が認識するものが存在するか否かに依存していることを意味している。例えば、抗体がエピトープ「A」に対して特異的であれば、エピトープA即ち遊離の非標識A及び抗体を含む反応において、遊離の非標識Aを含むポリヌクレオチドの存在が、抗体に結合する標識Aの量を低減させることになる。

【0089】

「実質上精製された」の語は、自然環境から取り除かれ、或いは単離または分離された核酸またはアミノ酸配列であって、自然に会合するその他の構成エレメントの少なくとも約60%、好ましくは少なくとも約75%、最も好ましいのは

少なくとも約90%が遊離しているものを指す。

【0090】

「置換」は、1若しくは数個のアミノ酸またはヌクレオチドを各々別のアミノ酸またはヌクレオチドに置換することを意味する。

【0091】

「基質」は、任意の好適な固体または半固体の支持体を指すものであって、膜、フィルタ、チップ、スライド、ウエハ、ファイバー、磁性非磁性ビーズ、ゲル、管、プレート、ポリマー、微細粒子、毛管が含まれる。基質は、壁、溝、ピン、チャンネル、孔等、様々な表面形態を有することができ、基質表面にはポリヌクレオチドやポリペプチドが結合する。

【0092】

「転写イメージ」は、所与の時間、条件での固有の細胞タイプまたは組織による遺伝子発現の集合的パターンを指す。

【0093】

「形質転換」は、外来性のDNAが宿主細胞に入り込み、宿主細胞を変化させるプロセスを表す。形質転換は、当分野で知られている種々の方法に従って自然条件または人工条件下で生じ得るものであり、外来性の核酸配列を原核または真核宿主細胞に挿入する任意の既知の方法を基にし得る。形質転換の方法は、形質転換する宿主細胞の種類によって選択する。限定するものではないが形質転換方法には、ウイルス感染、電気穿孔法（エレクトロポレーション）、熱ショック、リポフェクション及び微粒子照射を用いる方法がある。「形質転換された」細胞の語には、限られた時間内に挿入されたDNAやRNAを発現するような一時的に形質転換された細胞のみならず、安定的に形質転換された細胞であってその中に挿入されたDNAが自律的に複製するプラスミドとして或いは宿主の染色体の一部として複製可能であるものも含まれる。

【0094】

本明細書中で用いられる「遺伝形質転換体」とは任意の有機体であり、限定するものではないが動植物を含み、有機体の1若しくは数個の細胞が、ヒトの関与によって、例えば当分野でよく知られている形質転換技術によって導入された異

種核酸を有する。核酸の細胞への導入は、直接または間接的に、細胞の前駆物質に導入することによって、計画的な遺伝子操作によって、例えば微量注射法によって或いは組換えウイルスの導入によって行う。遺伝子操作の語は、古典的な交雑育種或いはin vitro受精を指すものではなく、組換えDNA分子の導入を指すものである。本発明に基づいて予期される遺伝形質転換体には、バクテリア、シアノバクテリア、真菌及び動植物がある。本発明の単離されたDNAは、当分野で知られている方法、例えば感染、形質移入、形質転換またはトランス接合によって宿主に導入することができる。本発明のDNAをこのような有機体に移入する技術はよく知られており、前出のSambrook ら (1989) 等の参考文献に与えられている。

【0095】

特定の核酸配列の「変異体」は、核酸配列 1 本全部の長さに対して特定の核酸配列と少なくとも 40 % の配列相同性を有する核酸配列であると定義する。その際、デフォルトパラメータに設定した「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9 (1999年5月7日) と共にblastnを用いる。このような核酸対は、所定の長さに対して、例えば少なくとも 50 %、60 %、70 %、80 %、85 %、90 %、95 %、98 % またはそれ以上の相同性を示し得る。或る変異体は、例えば「対立遺伝子」変異体 (前述)、「スプライス」変異体、「種」変異体または「多型」変異体として説明し得る。スプライス変異体は参照分子とかなりの相同性を有し得るが、mRNA プロセッシング中のエキソンの交互スプライシングによって通常多数の或いは僅かな数のポリヌクレオチドを有することになる。対応するポリペプチドは、追加機能ドメインを有するか或いは参照分子に存在するドメインが欠落していることがある。種変異体は、種相互に異なるポリヌクレオチド配列である。結果的に生じるポリペプチドは通常、相互にかなりのアミノ酸相同性を有する。多型変異体は、与えられた種の個体間で特定の遺伝子のポリヌクレオチド配列が異なる。また、多型変異体は、1 つのヌクレオチド塩基によってポリヌクレオチド配列が変化する「一塩基多型」(SNP) を含み得る。SNP の存在は、例えば特定の個体群、病状または病状性向を示し得る。

【0096】

特定のポリペプチド配列の「変異体」は、ポリペプチド配列の1本の長さ全体で特定のポリペプチド配列に対して少なくとも40%の相同性を有するポリペプチド配列として画定される。ここで、デフォルトパラメータに設定した「BLAST 2 Sequences」ツールVersion 2.0.9(1999年5月7日)を用いてblastpを実行する。このようなポリペプチド対は、所定の長さに対して、例えば少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%またはそれ以上の相同性を示し得る。

【0097】

発明

本発明は、新規なヒトシンセターゼ(SYNT)、SYNTをコードするポリヌクレオチド、及び、免疫疾患、ニューロン疾患、生殖障害及び、癌を含む細胞増殖異常の診断、治療並びに予防にこれらの配列を利用する方法の発見に基づくものである。

【0098】

表1は、SYNT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Incyteクローンを示す。列1及び列2は、ポリペプチド及びポリヌクレオチドの配列番号(SEQ ID NO)を各々示している。列3はIncyteクローンのクローンIDを示しており、各SYNTをコードする核酸はここで同定されたものである。列4はcDNAライブラリを示しており、列3のクローンはここから単離したものである。列5は、Incyteクローン及びこれに対応するcDNAライブラリを示している。cDNAライブラリが示されていないIncyteクローンは、プールされているcDNAライブラリから得られたものである。列5のIncyteクローンを用いて各SYNTのコンセンサスヌクレオチド配列を構築した。列5のIncyteクローンは、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。

【0099】

表2の列は、本発明の各ポリペプチドの様々な特性を示している。列1は配列番号(SEQ ID NO)を、列2は各ポリペプチド中のアミノ酸残基の数を、列3は潜在的リン酸化部位を、列4は潜在的グリコシル化部位を、列5はサイン(signature)配列及びモチーフを有するアミノ酸残基を、列6はBLAST分析によって同

定された相同配列、列7は分析方法と場合によってはその分析方法が利用できる検索可能なデータベースを示している。列7の分析方法を用いて、配列相同性及びタンパク質モチーフから各ポリペプチドの特徴付けを行った。

【0100】

表3の列は、組織特異性と、SYNTをコードするヌクレオチド配列に関係がある疾患、障害または症状とを示している。表3の列1はヌクレオチドの配列番号を、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、例えば配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号29及び配列番号30を同定し、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号29及び配列番号30と関連するポリヌクレオチド配列とを区別するためのハイブリダイゼーションまたは増幅の技術において有用である。これらの断片によりコードされるポリヌクレオチドは、例えば免疫抗原性ペプチドとして有用である。列3は、SYNTを発現する組織カテゴリーを組織全体に対するSYNT発現割合として示している。列4は、SYNTを発現する組織に関連する疾患、障害または症状を、SYNTを発現する組織全体に対する割合として示している。列5は、各cDNAライブラリをサブクローニングするために用いたベクターを示している。

【0101】

表4の列では、cDNAライブラリの作製に用いた組織の説明を示している。SYNTをコードするcDNAのクローンは、このcDNAライブラリから単離したものである。列1は、ヌクレオチドの配列番号を、列2はクローン単離源であるcDNAライブラリを、列3は列2のcDNAライブラリに関連する組織の採取源その他の書誌的情報を示している。

【0102】

配列番号16は、147.10～150.00センチモルガンの間隔内で染色体5にマッピングする。配列番号17は、137.60～139.20センチモルガンの間隔内で染色体10にマッピングする。この間隔には、MYCファミリーのメ

ンバーである遺伝子MXI1も含まれる。配列番号18は、228.80～230.10センチモルガンの間隔内で染色体2にマッピングする。この間隔には、チロシンプロテインキナーゼをコードする原型がん遺伝子も含まれる。配列番号21は、172.6～184.7センチモルガンの間隔内で染色体5にマッピングする。配列番号24は、118.0～127.4センチモルガンの間隔内で染色体2にマッピングする。配列番号26は、157.4～162.0センチモルガンの間隔内で染色体3にマッピングする。配列番号27は、97.1～116.6センチモルガンの間隔内で染色体12にマッピングする。配列番号28は、77.3～99.2センチモルガンの間隔内で染色体4に、79.2～92.3センチモルガン、116.3～127.9センチモルガン、157.6～163.0センチモルガンの間隔内で染色体5にマッピングする。配列番号29は、242.5～258.7センチモルガンの間隔内で染色体1に、69.9～104.9センチモルガンの間隔内で染色体19にマッピングする。配列番号30は、57.2～57.5センチモルガンの間隔内で染色体1にマッピングする。

【0103】

本発明には、SYNTの変異体も含まれる。好適なSYNTの変異体のアミノ酸配列は、SYNTアミノ酸配列と少なくとも約80%、約90%、または約95%もの一致率を有し、SYNTの機能的若しくは構造的特徴を少なくとも1つ有するような変異体である。

【0104】

本発明には、SYNTをコードするポリヌクレオチドも含まれる。一実施例では、本発明には、SYNTをコードする配列番号16乃至30を含む群から選択された配列を有するポリヌクレオチド配列が含まれている。配列表に示したような配列番号16乃至30のポリヌクレオチド配列は、配列表に示されているように等価RNA配列と同等の価値を有しているが、窒素塩基チミンの出現はウラシルに置換され、糖のバックボーンはデオキシリボースではなくリボースから構成されている。

【0105】

本発明には、SYNTをコードするポリヌクレオチド配列の変異配列も含まれる。

具体的には、そのようなポリヌクレオチド配列の変異配列は、SYNTをコードするポリヌクレオチド配列と少なくとも約70%、或いは少なくとも約85%、または少なくとも約95%もの一致率を有する。本発明の或る実施態様では、配列番号16乃至30からなる群から選択されたアミノ酸配列と少なくとも約70%、或いは少なくとも約85%、または少なくとも約95%もの一致率を有するような配列番号16乃至30からなる群から選択された配列を有するポリヌクレオチド配列の変異配列を含む。上記の任意のポリヌクレオチドの変異体は、SYNTの機能的若しくは構造的特徴を少なくとも1つ有するアミノ酸配列をコードし得る。

【0106】

当業者であれば、遺伝暗号の縮重の結果、SYNTをコードする多数のポリヌクレオチド配列（既知の遺伝子または天然の遺伝子のポリヌクレオチド配列と最低限の類似性しか有しないポリヌクレオチド配列もある）を産出し得ることは理解できよう。従って本発明には、可能コドン選択に基づく組合せの選択によって産出し得るようなありとあらゆる可能性のあるポリヌクレオチド配列変異体を網羅し得る。これらの組合せは、天然のSYNTのポリヌクレオチド配列に適用されるような標準トリプレット遺伝暗号を基に作られるものであり、このような変異は全て明確に開示されているものと考えられる。

【0107】

SYNT及びその変異体をコードするヌクレオチド配列は通常、好適に選択されたストリンジェントな条件下で天然のSYNTのヌクレオチド配列とハイブリダイズ可能であるが、SYNTまたはその誘導体であって実質上異なるコドンの使用法があるもの、例えば天然に存在しないコドンの封入があるものをコードするヌクレオチド配列を作り出すことは有益であろう。宿主が特定のコドンを利用する頻度に基づいて、特定の真核又は原核宿主に発生するペプチドの発現率を高めるようにコドンを選択することが可能である。コードされたアミノ酸配列を変えることなくSYNT及びその誘導体をコードするヌクレオチド配列を実質上変更する別の理由には、天然の配列から作製される転写物より好ましい、例えば半減期が長いなどの特性を有するRNA転写物の作製がある。

【0108】

本発明には、SYNT、SYNT誘導体及びこれらの断片をコードするDNA配列またはそれらの断片を完全に合成化学によって作製することも含まれる。作製後、当分野でよく知られている試薬を用いて、この合成配列を任意の様々な入手可能な発現ベクター及び細胞系中に挿入し得る。更に、合成化学を用いてSYNTまたはその任意の断片をコードする配列に突然変異を誘導し得る。

【0109】

更に本発明には、種々のストリンジェントな条件下で、請求項に記載のポリヌクレオチド配列、特に配列番号16乃至30で示される配列及びそれらの断片にハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド配列も含まれる (Wahl, G.M. and S.L. Berger (1987) *Methods Enzymol.* 152:399-407、Kimmel, A.R. (1987) *Methods Enzymol.* 152:507-511.等を参照)。アニーリング条件及び洗浄条件を含めたハイブリダイゼーション条件は、「定義」の項に記載されている。

【0110】

DNAシーケンシングの方法は当分野でよく知られており、DNAシーケンシング方法を用いて本発明の任意の実施例を実施し得る。DNAシーケンシング方法には酵素を用いることができ、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) を用いることができる。或いは、例えばELONGASE増幅システム (Life Technologies, Gaithersburg MD) において見られるように、ポリメラーゼと校正エキソヌクレアーゼを併用することができる。好適には、MICROLAB2200液体転移システム (Hamilton, Reno, NV)、PTC200サーマルサイクラー (MJ Research, Watertown MA) 及びABI CATALYST 800サーマルサイクラー (PE Biosystems) 等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) または当分野でよく知られている他の方法を用いてシーケンシングを行う。結果として得られた配列を当分野でよく知られている種々のアルゴリズムを用いて分析する。 (Ausubel, F.M. (1997) Short Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York N

Y, unit 7.7、Meyers, R.A. (1995) *Molecular Biology and Biotechnology*, Wiley VCH, New York NY, pp. 856-853.等を参照)。

【0111】

SYNTをコードする核酸配列を、部分的ヌクレオチド配列を利用し且つ当分野でよく知られているPCR法をベースにした種々の方法を用いて伸長させ、プロモーター及び調節要素等の上流配列を検出することができる。例えば、使用し得る方法の1つである制限部位PCR法は、ユニバーサルプライマー及びネステッドプライマーを用いてクローニングベクター内のゲノムDNAから未知の配列を増幅する方法である (Sarkar, G. (1993) *PCR Methods Applic* 2:318-322等を参照)。別の方法に逆PCR法があり、これは広範な方向に伸長させたプライマーを用いて環状化した鋳型から未知の配列を増幅する方法である。鋳型は、既知のゲノム遺伝子座及びその周辺の配列からなる制限断片から得る (Triglia, T.ら (1988) *Nucleic Acids Res* 16:8186等を参照)。第3の方法としてキャプチャPCR法があり、これ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断片をPCR増幅する方法に関与している (Lagerstrom, M.ら (1991) *PCR Methods Applic* 1:111-119等を参照)。この方法では、PCRを行う前に多重制限酵素の消化及び連結反応を用いて未知の配列領域内に組換え二本鎖配列を挿入することが可能である。また、未知の配列を検索するために用い得る別の方法については当分野で知られている。(Parker, J.D.ら (1991) *Nucleic Acids Res.* 19:3055-3060等を参照)。更に、PCR、ネステッドプライマー及びPromoterFinderライブラリ (Clontech, Palo Alto CA) を用いてゲノムDNAをウォーキングすることができる。この手順は、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/エキソン接合部を見付けるのに有用である。全てのPCRベースの方法に対して、市販されているソフトウェア、例えばOLIGO 4.06プライマー分析ソフトウェア (National Biosciences, Plymouth MN) 或いは別の好適なプログラムを用いて、長さが約22～30ヌクレオチド、GC含有率が約50%以上、温度約68～72で鋳型に対してアニーリングするようにプライマーを設計し得る。

【0112】

完全長cDNAをスクリーニングする際は、より大きなcDNAを含むようにサイズ選

択したライブラリを用いるのが好ましい。更に、ランダムに初回抗原刺激を受けたライブラリは、しばしば遺伝子の5'領域を有する配列を含み、オリゴd(T)ライブラリが完全長cDNAを作製できない状況に対して好適である。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となり得る。

【0113】

市販されている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産物のサイズを分析し、またはそのヌクレオチド配列を確認することができる。具体的には、キャピラリーシーケンシングは、電気泳動による分離のための流動性ポリマーと、4つの異なるヌクレオチドに特異的であるような、レーザーで活性化される蛍光色素と、放出された波長の検出に用いるCCDカメラとを有し得る。出力/光の強度は、適切なソフトウェア（PE Biosystems社のGENOTYPER、SEQUENCE NAVIGATOR等）を用いて電気信号に変換し得る。サンプルのロードからコンピュータ分析及び電子データ表示までの全プロセス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ようなDNA小断片のシーケンシングに特に適している。

【0114】

本発明の別の実施例では、SYNTをコードするポリヌクレオチド配列またはその断片を、適切な宿主細胞内でSYNT、SYNTの断片またはその機能的等価物を発現させるような組換えDNA分子内でクローニングし得る。遺伝暗号固有の宿重に起因して実質的同一或いは機能的等価のアミノ酸配列をコードするような別のDNA配列を作製し、SYNTの発現に利用し得る。

【0115】

種々の目的（限定するものではないが遺伝子産物のクローニング、プロセッシング、発現の調節を含む）のために、SYNTコード化配列を変えるための、当分野で通常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み換えることが可能である。遺伝子断片及び合成オリゴヌクレオチドのランダムなフラグメンテーション及びPCR再アセンブリによるDNAシャッフリングを用い、ヌクレオチド配列を組み換えることが可能である。例えば、オリゴヌクレオチド媒介定方向突然変異誘導を利用して、新規な制限部位の生成、グリコシル化パターンの変更、

コドン優先の変更、スプライス変異体の生成等を行う突然変異を導入し得る。

【0116】

本発明のヌクレオチドは、MolecularBreeding (Maxygen Inc., Santa Clara CA、米国特許第5,837,458号、Chang, C.-C.ら (1999) Nat. Biotechnol. 17:793-797、Christians, F.C.ら (1999) Nat. Biotechnol. 17:259-264、Cramer, A.ら (1996) Nat. Biotechnol. 14:315-319 に記載)等のDNAシャッフリング技術の対象となり、SYNTの生物学的特性、例えば生物活性、酵素力、或いは他の分子や化合物との結合力等を変更または向上させ得る。DNAシャッフリングは、遺伝子断片のPCR媒介再組換えを用いて遺伝子変異体のライブラリを生成するプロセスである。ライブラリはその後、その遺伝子変異体を所望の特性に同定するような選択またはスクリーニングにかける。次にこれらの好適な変異体をプールし、更に反復してDNAシャッフリング及び選択/スクリーニングを行ってもよい。このように、遺伝の多様性は「人為的」品種改良及び急速な分子の進化を経て創生される。例えば、ランダムポイント突然変異を有する単一の遺伝子の断片を再結合し、スクリーニングし、その後所望の特性が最適化されるまでシャッフリングすることができる。或いは、所定の遺伝子を同種または異種のいずれかから得た同一遺伝子ファミリーの相同遺伝子と再結合し、それによって天然に存在する複数の遺伝子の遺伝多様性を、指図された制御可能な方法で最大化させることができる。

【0117】

別の実施例によれば、当分野でよく知られている化学的方法を用いて、SYNTをコードする配列の全部或いは一部を合成し得る (Caruthers, M.H.ら (1980) Nucleic Acids Symp. Ser 7:215-223、Horn, T.ら (1980) Nucleic Acids Symp. Ser. 7:225-232等を参照)。或いは、化学的方法を用いてSYNTそれ自体またはその断片を合成し得る。例えば、種々の液相または固相技術を用いてペプチド合成を行うことができる (Creighton, T. (1984) Proteins, Structures and Molecular Properties, WH Freeman, New York NY, pp. 55-60、Roberge, J.Y. ら (1995) Science 269:202-204等を参照)。自動合成はABI 431Aペプチドシンセサイザ (Perkin Elmer) を用いて達成し得る。更にSYNTのアミノ酸配列またはその任

意の一部は、直接合成する間及び/または他のタンパク質から得た配列またはその任意の一部と結合する間に変更し、変異型ポリペプチドを生成し得る。

【0118】

ペプチドは、分離用高速液体クロマトグラフィーを用いて実質上精製し得る (Chiez, R.M. and F.Z. Regnier (1990) *Methods Enzymol.* 182:392-421等を参照)。合成ペプチドの組成は、アミノ酸分析またはシーケンシングによって確認することができる (前出のCreighton, pp.28-53等を参照)。

【0119】

生物学的に活性なSYNTを発現させるために、SYNT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とができる。好適な発現ベクターとは即ち好適な宿主内で挿入されたコーディング配列の転写及び翻訳の調節に必要な要素を含むベクターである。必要な要素には、ベクター及びSYNT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プロモーター、5'及び3'の非翻訳領域などの調節配列がある。このような要素は、長さ及び特異性が様々である。固有開始シグナルを用いて、SYNTをコードする配列をより効果的に翻訳することが可能もある。このようなシグナルには、ATG開始コドンと、コザック配列などの近傍の配列が含まれる。SYNT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るようにすべきである。外来性の翻訳要素及び開始コドンは、様々な天然物及び合成物を起源とし得る。発現の効率は、用いられる特定の宿主細胞系に好適なエンハンサーを包含することによって高めることができる (Scharf, D. ら (1994) *Results Probl. Cell Differ.* 20:125-162.等を参照)。

【0120】

当業者によく知られている方法を用いて、SYNTをコードする配列と、好適な転写及び翻訳調節要素とを含む発現ベクターを構築し得る。この方法には、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ある (Sambrook, J.

ら (1989) Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Plainview NYの4, 8, 16-17章、Ausubel, F.M. ら. (1995) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York NYの9, 13, 16章等を参照)。

【0121】

種々の発現ベクター／宿主系を利用して、SYNTをコードする配列を保持及び発現し得る。限定するものではないがこのような発現ベクター／宿主系には、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せた細菌や、酵母菌発現ベクターで形質転換させた酵母菌や、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または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）で形質転換させた植物細胞系、動物細胞系などの微生物等がある（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. ら (1987) Methods Enzymol. 153:516-544; Scorer, C.A. ら (1994) Bio/Technology 12:18 1-184; Engelhard, E.K. ら (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-3227、Sandig, V. ら (1996) Hum. Gene Ther. 7:1937-1945、タカマツ, N. (1987) EMBOJ. 6:307-311、Coruzzi, G. ら (1984) EMBOJ. 3:1671-1680、Broglie, R. ら (1984) Science 224:838-843、Winter, J. ら (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. ら (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、ポリ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. ら (1998) Cancer Gen. Ther. 5(6):350-356、Yu, M. ら (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90(13):6340-6344、Buller, R.M. ら (1985) Nature 317(6040):813-815; McGregor, D.P. ら (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、使用する宿主細胞によって限定されるものではない。

【0122】

細菌系では、SYNT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多数のクローニングベクター及び発現ベクターを選択し得る。例えば、SYNT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、サブクローニング及び増殖には、PBLUESCRIPT (Stratagene, La Jolla CA) またはPSPORT 1 プラスミド (Life Technologies) などの多機能大腸菌ベクターを用いることができる。SYNTをコードする配列の、ベクターの多数のクローニング部位への連結反応によって、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を同定する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は、クローニングされた配列における *in vitro* 転写、ジデオキシのシーケンシング、ヘルパーファージによる一本鎖の救出、入れ子状態の欠失の生成にも有用であろう (Van Heeke, G. and S.M. Schuster (1989) J. Biol. Chem. 264:5503-5509.等を参照)。多量のSYNTが必要な場合、例えば抗体を生成する場合などには、SYNT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、強力な誘導性の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し得る。

【0123】

酵母の発現系を使用してSYNTの産物を生成し得る。 α 因子、アルコールオキシダーゼ、PGHプロモーター等の構成型或いは誘導型のプロモーターを含む多数のベクターが、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を分泌或いは細胞内への保持のいずれかに誘導し、安定した増殖のために外来配列の宿主ゲノムへの組込みを可能にする (前出のAusubel (1995)、前出のBitter、前出のScorer等を参照)。

【0124】

植物系を使用してSYNTを発現することも可能である。SYNTをコードする配列の転写は、ウイルスプロモーター、例えば単独或いはTMV (タカマツ, N. (1987) E

MB0 J 6:307-311) 由来のオメガリーダー配列と組み合わせて用いられるようなCaMV由来の35S及び19Sプロモーターによって促進される。或いは、RUBISCOの小サブユニット等の植物プロモーターまたは熱ショックプロモーターを用いてもよい(前出のCoruzzi、前出のBroglie、前出のWinter等を参照)。これらの構成物は、直接DNA形質転換または病原体を媒介とする形質移入によって、植物細胞内に導入可能である(『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等を参照)。

【0125】

哺乳動物細胞においては、多数のウイルスベースの発現系を利用し得る。発現ベクターとしてアデノウイルスを用いる場合、SYNTをコードする配列は、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/翻訳複合体に連結反応され得る。可欠E1またはE3領域へウイルスのゲノムを挿入し、宿主細胞でSYNTを発現する感染ウイルスを得ることが可能である(Logan, J. and T. Shenk (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. 81:3655-3659等を参照)。更に、ラウス肉腫ウイルス(RSV) エンハンサー等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得る。SV40またはEBVをベースにしたベクターを用いてタンパク質を高レベルで発現させることもできる。

【0126】

ヒト人工染色体(HAC)を用いて、プラスミドに含まれ且つプラスミドから発現するものより大きなDNAの断片を輸送することもできる。治療目的のために約6 kb ~ 10 MbのHAC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(Harrington, J.J. ら (1997) Nat Genet. 15:345-355.等を参照)。

【0127】

長期にわたり哺乳動物系内で組換えタンパク質を産出するためには、株化細胞内でのSYNTの安定発現が望ましい。例えば、発現ベクターであって複製及び/または内在性発現因子のウイルス起源を含むものと、同一或いは別のベクター上の選択可能マーカー遺伝子とを用いて、SYNTをコードする配列を細胞株に形質転換

することが可能である。ベクターの導入後、選択培地に移す前に強化培地で約1～2日間細胞を増殖させることができる。選択可能マーカーの目的は選択培地への抵抗性を与えることであり、選択可能マーカーが存在することにより、導入された配列をうまく発現するような細胞の成長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、その細胞型に適した組織培養技術を用いて増殖可能である。

【0128】

任意の数の選択系を用いて、形質転換細胞株を回収できる。限定するものではないがこのような選択系には、 tk^{-} 単純細胞のために用いられるヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子と、 apr^{-} 細胞のために用いられるアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ遺伝子がある(Wigler, M. ら (1977) Cell 11:223-232、Lowy, I. ら (1980) Cell 22:817-823等を参照)。また、選択の基礎として代謝拮抗物質、抗生物質或いは除草剤への耐性を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 はクロルスルフロンに対する耐性を、 pat はホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼに対する耐性を各々与える(Wigler, M. ら (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:3567-3570、Colbere-Garapin, F. ら (1981) J. Mol. Biol. 150:1-14 等を参照)。その他の選択可能遺伝子、例えば、代謝のための細胞要求を変える $trpB$ 及び $hisD$ は、文献に記載されている(Hartman, S.C. and R.C. Mulligan (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:8047-8051等を参照)。可視マーカー、例えばアニトシアニン、緑色蛍光タンパク質(GFP; Clontech)、 β グルクロニダーゼ及びその基質 β グルクロニド、またはルシフェラーゼ及びその基質ルシフェリン等を用いてもよい。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(Rhodes, C.A. (1995) Methods Mol. Biol. 55:121-131等を参照)。

【0129】

マーカー遺伝子発現の存在 / 不存在によって目的の遺伝子の存在が示唆されても、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、SYNTをコー

ドする配列がマーカー遺伝子配列内に挿入された場合、SYNTをコードする配列を含む形質転換細胞は、マーカー遺伝子機能の欠落により同定することが可能である。または単一プロモーター制御下で、SYNTをコードする配列とタンデムにマーカー遺伝子を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。

【0130】

通常は、当業者によく知られている種々の方法を用いて、SYNTをコードする核酸配列を含み且つSYNTを発現する宿主細胞を同定することが可能である。限定するものではないが当業者によく知られている方法には、DNA-DNA或いはDNA-RNAハイブリダイゼーション、PCR法、核酸或いはタンパク質の検出及び/または定量を行うための膜系、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バイオアッセイまたはイムノアッセイ技術がある。

【0131】

特異的ポリクローナル抗体または特異的モノクローナル抗体を用いてSYNTの発現の検出及び計測を行うための免疫学的方法は、当分野で公知である。このような技術の例としては、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)、蛍光活性化細胞選別(FACS)などが挙げられる。SYNT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部位モノクローナルベースのイムノアッセイ(two-site, monoclonal-based immunoassay)が好ましいが、競合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これ以外のアッセイは、当分野で公知である(Hampton, R. ら (1990) Serological Methods, a Laboratory Manual, APS Press, St Paul, MN, Sect. IV, Coligan, J. E. ら (1997) Current Protocols in Immunology, Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience, New York NY, Pound, J.D. (1998) Immunochemical Protocols, Humana Press, Totowa NJ等を参照)。

【0132】

多岐にわたる標識方法及び結合方法が当業者に既知であり、これらの方法は様々な核酸アッセイおよびアミノ酸アッセイに用い得る。SYNT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プローブを産出する方法には、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法がある。或いは、SYNTをコードする配列またはその任意の断片を、mRNAプローブを産出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。このようなベクターは、当分野において知られており、市販もされており、T7、T3またはSP6等の好適なRNAポリメラーゼ及び標識されたヌクレオチドを加えて、*in vitro*でRNAプローブの合成に用いることができる。このような方法は、例えばAmersham Pharmacia Biotech、Promega (Madison WI)、U.S. Biochemical等から市販されている種々のキットを用いて実行することができる。検出を容易にする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、補助因子、インヒビター、磁気粒子のほか、放射性核種、酵素、蛍光剤、化学発光剤、発色剤等がある。

【0133】

SYNTをコードするヌクレオチド配列を用いて形質転換した宿主細胞は、細胞培地からのタンパク質の回収及び発現に適した条件下で培養し得る。形質転換細胞から製造されたタンパク質が分泌されるか細胞内に留まるかは、使用される配列、ベクター、或いはその両者に依存する。当業者であれば理解し得るように、SYNTをコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクターを、原核細胞膜または真核細胞膜を透過するSYNTの直接分泌を誘導するシグナル配列を含むように設計し得る。

【0134】

更に、宿主細胞株の選択は、挿入した配列の発現を調節する能力または発現したタンパク質を所望の形に処理する能力によって行い得る。限定するものではないが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、脂質化及びアシル化がある。タンパク質の「プレプロ」または「プロ」形を切断するような翻訳後処理を利用して、タンパク質のターゲティング、折りたたみ及び/または活性を特定することも可能である。翻訳後の活性のための固有の細胞装置及び特徴のある機構を有する種々の宿主細胞（例えばCHO、HeLa、MDCK、MEK293、WI38等）は、American Type Culture Collection (ATCC, Bethesda, VA) から入手可能であり、外来タンパク質の正しい修飾及び処理

を確実にするように選択し得る。

【0135】

本発明の別の実施例では、SYNTをコードする天然の核酸配列、修飾核酸配列または組換え核酸配列を、上記任意の宿主系において融合タンパク質の翻訳をもたらす異種配列に連結反応させることができる。例えば、市販されている抗体を用いて認識可能な異種部分を含むキメラSYNTタンパク質は、SYNT活性阻害剤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も、市販されている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。限定されるものではないが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-myc、赤血球凝集素（HA）がある。GSTは固定化グルタチオン上で、MBPはマルトース上で、Trxはフェニルアルシンオキシド上で、CBPはカルモジュリン上で、そして6-Hisは金属キレート樹脂上で、同族の融合タンパク質の精製を可能にする。FLAG、c-myc及び赤血球凝集素（HA）は、これらのエピトープ標識を特異的に認識する市販されているモノクローナル抗体及びポリクローナル抗体を用いて、融合タンパク質の免疫親和性精製を可能にする。また、融合タンパク質を遺伝子操作し、SYNTが精製後に異種部分から切断され得るように、SYNTコード配列と異種タンパク質配列の間にタンパク質分解切断部位を含めることもできる。融合タンパク質の発現及び精製方法は、前出のAusubel（1995）10章に記載されている。市販されている種々のキットを用いて融合タンパク質の発現及び精製を促進することもできる。

【0136】

本発明の更に別の実施例では、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、放射能標識したSYNTの合成がin vitroで可能である。これらの系は、T7、T3またはSP6プロモーターと機能的に結合したタンパク質コード配列の転写及び翻訳を結合する。翻訳は、例えば³⁵Sメチオニンのような放射能標識したアミノ酸前駆体の存在下で起こる。

【0137】

本発明のSYNTまたはその断片を用いて、SYNTに特異結合する化合物をスクリーニングし得る。少なくとも1個から複数個の試験化合物を用いて、SYNTへの特異結合をスクリーニングし得る。試験化合物の例としては、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。

【0138】

一実施例では、このように同定された化合物は、例えばリガンドまたはその断片などのSYNTの天然リガンド、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. ら (1991) *Current Protocols in Immunology* 1 (2) の5章等を参照）。同様にして化合物は、SYNTが結合する天然受容体に関連し得るか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断片に密接に関連し得る。いずれの場合にも、化合物は既知の技術を用いて合理的にデザインし得る。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は、分泌タンパク質としてまたは細胞膜上のいずれかでSYNTを発現する好適な細胞の生成に関与している。好適な細胞には、哺乳動物、酵母、ショウジョウバエまたは大腸菌からの細胞がある。SYNTを発現する細胞またはSYNTを含有する細胞膜断片を試験化合物と接触させ、SYNTまたは化合物のいずれかの結合、刺激または阻害を分析する。

【0139】

アッセイは、試験化合物をポリペプチドに単純に試験結合し得る。ここで、結合は、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される。例えば、アッセイは少なくとも1つの試験化合物を溶液中でSYNTと結合するか固体支持体に固定するかのいずれかのステップ及びSYNTの化合物への結合を検出するステップを有し得る。或いはアッセイは、標識された競争相手の存在下で試験化合物の結合を検出または測定し得る。更にアッセイは、細胞遊離製剤、化学ライブラリまたは天然の生成混合物を用いて実行することができ、試験化合物は、溶液中で遊離させるか固体支持体に固定し得る。

【0140】

本発明のSYNTまたはその断片を用いて、SYNTの活性を調整する化合物をスクリーニングし得る。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ある。一実施例においては、SYNTが少なくとも1つの試験化合物と結合しているような、SYNTの活性を許容する条件下でアッセイが実行され、試験化合物存在下でのSYNTの活性が試験化合物不存在下でのSYNTの活性と比較される。試験化合物存在下でのSYNTの活性の変化は、SYNTの活性を調整する化合物を示す。或いは、試験化合物はSYNTの活性に適した条件下で活性に適した条件下でSYNTを含むin vitroまたは細胞遊離系と結合し、アッセイが実行される。これらアッセイのいずれかにおいて、SYNTの活性を調整する試験化合物は間接的にそのようにすることができ、試験化合物と直接接触する必要がなくなる。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し得る。

【0141】

別の実施例では、SYNTまたはその哺乳類同族体をコードするポリヌクレオチドは、胚幹（ES）細胞において相同的組換えを用いて動物モデル系内で「ノックアウト」される。このような技術は当技術分野において公知であり、ヒト疾病の動物モデルの生成に有用である（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株化細胞等のマウスES細胞は、初期のマウス胎仔に由来し、培養液中で成長する。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等のマーカー遺伝子により分裂させた対象遺伝子（gene of interest）を含むベクターを用いて形質転換される（neo: Capecchi, M.R. (1989) Science 244:1288-1292）。ベクターは、相同的組換えにより宿主ゲノムの対応する領域に統合される。或いは、組織特異的または発達段階特異的な様式で対象遺伝子をノックアウトするCre-loxP系を用いて相同的組換えが発生する（Marth, J.D. (1996) Clin. Invest. 97:1999-2002; Wagner, K.U. ら (1997) Nucleic Acids Res. 25:4323-4330）。形質転換されたES細胞を同定し、例えばC57BL/6マウス系統から採取したマウス細胞胚盤胞に微量注入する。胚盤胞を偽妊娠種雌に外科的に導入し、結果として得られるキメラ子孫の遺伝形質を決め、これを繁殖させてヘテロ接合性系統またはホモ接合性系統を生成する。このようにして産出した遺伝子導入動物は、潜在的治療薬または毒性薬剤を用いて試験し得る。

【0142】

SYNTをコードするポリヌクレオチドは、ヒト胚盤胞由来のES細胞における in v

itroでも操作し得る。ヒトES細胞は、内胚葉、中胚葉及び外胚葉の細胞タイプを含む少なくとも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. ら (1998) Science 282:1145-1147)。

【0143】

SYNTをコードするポリヌクレオチドは、モデルヒト疾病への「ノックイン」ヒト化動物(ブタ)または遺伝子導入動物(マウスまたはラット)も生成し得る。ノックイン技術を用いて、SYNT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、注入された配列は動物細胞ゲノムに統合する。形質転換された細胞を胞胚に注入し、胞胚を上記のように移植する。ヒトの疾病の治療に関する情報を得るために、遺伝子導入子孫または近交系について研究し、強力な医薬品を用いて遺伝子導入子孫または近交系を処理する。或いは、SYNTを過剰発現させるべく例えばSYNTを乳内に分泌するなどして同系交配させた哺乳動物は、タンパク質の簡便な源としても役立ち得る(Janne, J. ら (1998) Biotechnol. Annu. Rev. 4:55-74)。

【0144】

治療

SYNTの領域と細胞内シグナル伝達分子間には、化学的及び構造的類似性、例えば配列及びモチーフとの関連における類似性が存在する。更にSYNTの発現は、造血/炎症系、神経系、胃腸系及び生殖系の癌に密接に関連している。従ってSYNTは、免疫系疾患、生殖障害、神経系疾患及び細胞シグナル伝達障害において或る役割を果たすものと考えられる。SYNTの発現または活性の増大に関連する疾患の治療においては、SYNTの発現または活性を低下させることが望ましい。また、SYNT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、SYNTの発現または活性を増大させることが望ましい。

【0145】

従って、或る実施例において、SYNT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SYNT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として免疫疾患が含ま

れ、その中には炎症、日光性角化症、後天性免疫不全症候群（AIDS）、アジソン病、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、動脈硬化、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、気管支炎、滑液包炎、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、胎児赤芽球症、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、発作性夜間ヘモグロビン尿症、肝炎、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、混合型結合組織病（MCTD）、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋または心膜の炎症、骨髄線維症、変形性関節症、骨粗しょう症、膵炎、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、全身性紅斑性狼瘡、全身性硬化症、原発性血小板増加症、血小板減少症、潰瘍性大腸炎、ブドウ膜炎、ウェルナー症候群、癌の合併症、血液透析、体外循環、外傷、ウイルス感染、細菌感染、真菌感染、寄生虫感染、原虫感染、寄生虫性感染、及びリンパ腫、白血病、骨髄腫を含む造血癌が含まれ、またニューロン疾患も含まれ、その中には静座不能、アルツハイマー病、健忘症、筋萎縮性側索硬化、双極性障害、緊張病、脳腫瘍、痴呆、鬱病、糖尿病性ニューロパシー、ダウン症候群、錐体外路性終末欠陥症候群、ジストニー、てんかん、ハンチントン病、末梢神経疾患、多発性硬化症、神経線維腫症、パーキンソン病、妄想性精神病、帯状疱疹後神経痛、分裂症、及びトゥーレット病が含まれ、また生殖障害も含まれ、その中にはプロラクチン産生異常と、卵管病、排卵異常及び子宮内膜症を含む不妊症と、発情期異常、月経周期異常、多嚢胞卵巢症候群、卵巢過剰刺激症候群、子宮内膜癌または卵巢癌、子宮筋腫、自己免疫異常、異所性妊娠及び奇形発生、乳癌、線維嚢胞性乳腺症及び乳漏症と、精子形成異常、異常精子生理機能、精巣癌、前立腺癌、良性前立腺過形成、前立腺炎、ペーロニー病、インポテンス、男性乳房癌及び女性化乳房が含まれ、細胞増殖異常も含まれ、その中には日光性角化症、動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症、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、原発性血小板血症と、腺癌、白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髄腫、肉腫、奇形癌を含む癌、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、子宮の癌等が含まれる。

【0146】

別の実施例では、SYNT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して、限定するものではないが上記した疾患を含むSYNTの発現または活性の低下に関連した疾患を治療または予防することも可能である。

【0147】

更に別の実施例では、実質的に精製されたSYNTを含む医薬品成分を好適な医薬用担体と共に患者に投与して、限定するものではないが上記した疾患を含むSYNTの発現または活性の低下に関連した疾患を治療または予防することも可能である。

【0148】

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

【0149】

更に別の実施例では、患者にSYNTのアンタゴニストを投与して、SYNTの発現または活性の増大に関連した疾患を治療または予防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、上記した免疫系疾患、生殖障害、神経系疾患及び細胞シグナル伝達障害がある。一実施態様においては、アンタゴニストとして直接的に、或いはSYNTを発現する細胞または組織に薬剤を輸送するターゲティングまたは輸送機構として間接的にSYNTと特異結合する抗体を用いることができる。

【0150】

別の実施例では、SYNTをコードするポリヌクレオチドの相補体を発現するベクターを患者に投与して、限定するものではないが上記した疾患を含むSYNTの発現または活性の増大に関連した疾患を治療または予防することも可能である。

【0151】

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、相補配列またはベクターを、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。併用療法で用いる好適な治療薬は、当業者が従来の医薬原理に従ってを選択し得る。治療薬と組み合わせることにより、上記した種々の疾患の治療または予防に相乗効果をもたらし得る。この方法を用いることにより少量の各薬剤で医薬効果をあげることが可能となり、それによって副作用の可能性を低減し得る。

【0152】

SYNTのアンタゴニストは、当分野で一般的に知られている方法を用いて製造し得る。具体的には、精製されたSYNTを用いて抗体を作るか、治療薬のライブラリをスクリーニングして、SYNTと特異結合するものを同定することが可能である。SYNTの抗体も、当分野で一般的に知られている方法を用いて製造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、一本鎖抗体、Fab断片及びFab発現ライブラリによって作られた断片が含まれ得る。中和抗体（即ち二量体の形成を阻害する抗体）は通常、治療用に好適である。

【0153】

抗体を産生するために、SYNT、またはSYNTの任意の断片またはオリゴペプチドであって免疫抗原性の特性を有するものを注入することによって、ヤギ、ウサギ、ラット、マウス、ヒト、その他を含む種々の宿主を免疫化することができる。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。限定するものではないがこのようなアジュバントには、フロイントアジュバントと、水酸化アルミニウム等のミネラルゲルアジュバントと、リゾレシチン、ブ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、ジニトロフェノール等の洗浄剤とがある。ヒトに用いられるアジュバントの中では、BCG（カルメット - ゲラン杆菌）及びコリネバクテリウム - パルヴムが特に好ましい。

【0154】

SYNTに対する抗体を誘導するために用いるオリゴペプチド、ペプチドまたは断

片は、少なくとも約5アミノ酸からなり、一般的には少なくとも約10アミノ酸からなるアミノ酸配列を有するものが好ましい。これらのオリゴペプチド、ペプチドまたは断片は、天然のタンパク質のアミノ酸配列の一部と同一であり且つ小さな天然の分子の全アミノ酸配列を含むことが望ましい。SYNTアミノ酸の短い伸長部を別のタンパク質（例えばKLH）の配列と融合し、キメラ分子に対する抗体を産生し得る。

【0155】

SYNTに対するモノクローナル抗体は、抗体分子を産生する任意の技術を用いて、培地内の連続した細胞株によって作製し得る。限定するものではないがこのような技術には、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ある（Kohler, G. ら. (1975) *Nature* 256:495-497、Kozbor, D. ら (1985) *J. Immunol. Methods* 81:31-42、Cote, R.J. ら (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80:2026-2030、Cole, S.P. ら (1984) *Mol. Cell Biol.* 62:109-120等を参照）。

【0156】

更に、「キメラ抗体」を作製するために開発した技術、例えば好適な抗原特異性及び生物学的活性を有する分子を得るためのマウス抗体遺伝子のヒト抗体遺伝子へのスプライシングを用いることが可能である（Morrison, S.L. ら. (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6851-6855、Neuberger, M.S. ら (1984) *Nature* 312:604-608、タケダ, S. ら (1985) *Nature* 314:452-454等を参照）。或いは、一本鎖抗体を産生するために説明された技術を適用し、当分野で知られている方法を用いて、SYNT特異性一本鎖抗体を産生し得る。関連特異性を有するガイディオタイプ組成が異なるような抗体を、ランダムな組合せの免疫グロブリンライブラリからチェーンシャッフリングによって産生することもできる（Burton D.R. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:10134-10137等を参照）。

【0157】

抗体の産生は、リンパ球集団における *in vivo* 産生の誘導によって、或いは免疫グロブリンライブラリのスクリーニングまたは文献に開示されているような高特異結合試薬のパネルのスクリーニングによっても行い得る（Orlandi, R. ら（

1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 3833-3837、Winter, G. ら (1991) Nature 349:293-299等を参照)。

【0158】

SYNTのための特異結合部位を有する抗体断片を産生することもできる。例えば、限定するものではないがこのような断片には、抗体分子のペプシン消化によって作製される $F(ab')_2$ 断片と、 $F(ab')_2$ 断片のジスルフィド架橋を減らすことによって作製されるFab断片とがある。或いは、Fab発現ライブラリを作製することによって、モノクローナルFab断片を所望の特異性と迅速且つ容易に同定することが可能となる(Huse, W.D. ら (1989) Science 256:1275-1281等を参照)。

【0159】

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ことができる。確立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免疫放射線アッセイまたは競合結合アッセイに対する数々のプロトコルは、当分野において公知である。このようなイムノアッセイは通常、SYNTとその特異性抗体間の複合体形成の計測に關与している。2つの非干渉性SYNTエピトープに反応するモノクローナル抗体を用いるような、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、競合結合アッセイを利用してもよい(前出のPound)。

【0160】

ラジオイムノアッセイ技術と共に様々な方法、例えばスキャッチャード分析を用いて、SYNTに対する抗体の親和性を評価し得る。親和性は結合定数 K_a で表す。 K_a は、平衡状態においてSYNT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た値であると定義する。ポリクローナル抗体は多様なSYNTエピトープに対する親和性が不均一であり、ポリクローナル抗体試薬のために決定した K_a は、SYNT抗体の平均親和性または結合活性を表す。モノクローナル抗体は特定のSYNTエピトープに対して単一特異的であり、モノクローナル抗体試薬のために決定した K_a は、親和性の真の測定値を表す。 K_a 値が約 $10^9 \sim 10^{12}$ L/molの範囲にあるような高親和性抗体試薬は、SYNT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。 K_a 値が約 $10^6 \sim 10^7$ L/molの範

囲にあるような低親和性抗体試薬は、SYNT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)。

【0161】

ポリクローナル抗体試薬の抗体価及び結合活性を更に評価して、或る下流の適用例に対するこのような試薬の品質及び適性を決定することができる。例えば、少なくとも1～2 mg/ml、好ましくは5～10 mg/mlの特異抗体を含むポリクローナル抗体試薬は、SYNT抗体複合体を沈殿させる必要がある処理において通常用いられる。抗体の特異性、抗体価、結合活性、様々な適用例における抗体の品質や使用に対する指針については、一般に入手可能である (前出のCatty、同Coliganらの文献等を参照)。

【0162】

本発明の別の実施例では、SYNTをコードするポリヌクレオチド、SYNTの任意の断片または相補配列を治療目的で 사용할 ことができる。ある実施形態では、SYNTをコードするポリヌクレオチドの相補配列がmRNAの転写を阻止するのに好適である場合にこれを使用し得る。具体的には、SYNTをコードするポリヌクレオチドに相補的な配列で細胞を形質転換し得る。従って、相補的分子または断片は、SYNT活性を調節するため、または遺伝子機能を調節するために使用し得る。このような技術は既に当分野ではよく知られており、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を、SYNTをコードする配列のコード領域または制御領域に延在する様々な位置から設計することが可能である (Agrawal, S., ed. (1996) Antisense Therapeutics, Humana Press Inc., Totawa NJ等を参照)。

【0163】

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輸送することが可能である (Slater, J.E. ら (199

8) J. Allergy Clin. Immunol. 102(3):469-475、Scanlon, K.J. ら (1995)9(13):1288-1296.等を参照)。アンチセンス配列はまた、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 (Miller, A.D. (1990) Blood 76:271、前出のAusubel、Uckert, W. and W. Walther (1994) Pharmacol. Ther. 63(3):323-347等を参照)。その他の遺伝輸送機構には、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公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.ら (1998) J. Pharm. Sci. 87(11):1308-1315、Morris, M.C. ら (1997) Nucleic Acids Res. 25(14):2730-2736. 等を参照)。

【0164】

本発明の別の実施例では、SYNT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遺伝子治療に用いることが可能である。遺伝子治療を行うことにより、(i) 遺伝子欠損症 (例えばX染色体鎖遺伝 (Cavazzana-Calvo, M. ら (2000) Science 288:669-672) により特徴付けられる重度の複合型免疫欠損(SCID)-X1の場合)、先天性アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症に関連する重度の複合型免疫欠損 (Blaese, R.M. ら (1995) Science 270:475-480、Bordignon, C. ら (1995) Science 270:470-475)、嚢胞性繊維症 (Zabner, J. ら (1993) Cell 75:207-216; Crystal, R.G. ら (1995) Hum. Gene Therapy 6:643-666、Crystal, R.G. ら. (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因子欠損に起因する血友病 (Crystal, R.G. (1995) Science 270:404-410、Verma, I.M. and Sohma, N. (1997) Nature 389:239-242) を治療し、(ii) 条件的致死性遺伝子産物を発現させ (例えば制御不能な細胞増殖に起因する癌の場合)、(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. ら (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93:11395-11399)、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、並びに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ることができる。SYNTの発現若しくは調節に必要な遺伝子の欠損が疾患

を発生させる場合、形質導入した細胞の好適な集団からSYNTを発現することにより、遺伝子欠損に起因する症状の発現を緩和し得る。

【0165】

本発明の更なる実施例では、SYNTをコードする哺乳動物発現ベクターを作製し、これらのベクターを機械的手段によってSYNT欠損細胞に導入することによって、SYNTの欠損による疾患や異常症を治療する。in vivo或いはex vitroの細胞に用いる機械的導入技術には、(i) 個々の細胞内への直接的なDNA微量注射法、(ii) バリスティック金粒子輸送 (ballistic gold particle delivery)、(iii) リボソーム媒介形質移入、(iv) 受容体媒介遺伝子導入、及び(v) DNAトランスポソンの使用 (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) がある。

【0166】

SYNT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PC DNA 3.1、EPITAG、PRCCMV2、PREP、PVAXベクター (Invitrogen, Carlsbad CA)、PCMV-SCRIPT、PCMV-TAG、PEGSH/PERV (Stratagene, La Jolla CA) 及びPTET-OFF、PTET-ON、PTRE2、PTRE2-LUC、PTK-HYG (Clontech, Palo Alto CA) がある。SYNTは、(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) またはβアクチン遺伝子)、(ii) 誘導性プロモーター (例えば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. ら (1995) Science 268:1766-1769、Rossi, F.M.V. and H.M. Blau (1998) Curr. Opin. Biotechnol. 9:451-456)、市販のInvitrogen社のT-REXプラスミドに含まれる)、エクジソン誘導性プロモーター (Invitrogen社のプラスミドPVGRXR及びPINDから得られる)、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 (前出のRossi, F.M.V. and H.M. Blau)、または(iii) 正常個体由来の、SYNT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て、発現させることができる。

【0167】

市販のリポソーム形質転換キット（例えばInvitrogen社から入手可能なPerFect Lipid 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になる。別の実施例では、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. ら (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、標準化された哺乳動物の形質移入プロトコルの修飾が必要である。

【0168】

本発明の別の実施例では、SYNT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）プロモーターまたは独立プロモーターの制御下でSYNT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ド配列を伴う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PFBNEO）は、Stratagene社から市販されており、刊行データ（Riviere, I. ら. (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。ベクターは、好適なベクター産生細胞系（VPCL）において増殖され、VPCLは、標的細胞上の受容体に対する向性を有するエンベロープ遺伝子またはVSVg等の乱交雑エンベロープタンパク質を発現する（Armentano, D. ら (1987) J. Virol. 61:1647-1650、Bender, M.A. ら (1987) J. Virol. 61:1639-1646、Adam, M.A. and A.D. Miller (1988) J. Virol. 62:3802-3806、Dull, T. ら (1998) J. Virol. 72:8463-8471、Zufferey, R. ら (1998) J. Virol. 72:9873-9880）。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"）は、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について開示しており、これを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、細胞集団（例えばCD4⁺ T細胞）の形質導入

、及び形質導入した細胞の患者への戻しは、遺伝子治療の分野では当業者に公知の方法であり、多数の文献に記載されている (Ranga, U. ら (1997) J. Virol. 71:7020-7029、Bauer, G. ら (1997) Blood 89:2259-2267、Bonyhadi, M.L. (1997) J. Virol. 71:4707-4716、Ranga, U. ら (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95:1201-1206、Su, L. (1997) Blood 89:2283-2290)。

【0169】

別の実施例では、アデノウイルス系遺伝子治療の輸送系を用いて、SYNTの発現に関連する1若しくは複数の遺伝子異常を有するような細胞にSYNTをコードするポリヌクレオチドを輸送する。アデノウイルス系ベクターの作製及びパッケージングについては、当業者に公知である。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内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. ら (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は、Armentanoに付与された米国特許第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、Antinozzi, P.A. ら (1999) Annu. Rev. Nutr. 19:511-544 及び Verma, I.M. and N. Somia (1997) Nature 389:239-242も参照されたい。両文献は、引用することをもって本明細書の一部とする。

【0170】

更に別の実施例では、ヘルペス系遺伝子治療の輸送系を用いて、SYNTの発現に関連する1若しくは複数の遺伝子異常を有する標的細胞にSYNTをコードするポリヌクレオチドを輸送する。HSVが向性を有するような中枢神経系の細胞にSYNTを導入する際には、単純ヘルペスウイルス (HSV) 系のベクターの使用は特に役立つ。ヘルペス系ベクターの作製及びパッケージングは、当業者に公知である。複製適格性単純ヘルペスウイルス (HSV) I型系のベクターは、レポーター遺伝子を霊長類の眼に輸送するために用いられてきた (Liu, X. ら (1999) Exp. Eye Res. 169:385-395)。HSV-1ウイルスベクターの作製についても、DeLucaに付与された米国特許第5,804,413号 ("Herpes simplex virus swains for gene transfer") に開示されており、該特許の引用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制御下において細胞に導入される少なくとも1つの内在性遺伝子を有するゲノムを含む組換えHSV d92についての記載がある。上記特許はまた、ICP4、ICP27及びICP22のために除去される組換えHSV系統の作製及び使用について開示している。HSVベクターについては、Goins, W.F. ら (1999) J. Virol. 73:519-532 及び Xu, H. ら (1994) Dev. Biol. 163:152-161も参照されたい。両文献は、引用をもって本明細書の一部とする。クローン化ヘルペスウイルス配列の操作、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形質移入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、当業者に公知の技術である。

【0171】

別の実施例では、アルファウイルス（正の一本鎖RNAウイルス）ベクターを用いてSYNTをコードするポリヌクレオチドを標的細胞に輸送する。プロトタイプのアルファウイルスであるセムリキ森林熱ウイルス（SFV）の生物学的研究が広範に行われており、遺伝子導入ベクターが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) Curr. Opin. Biotech. 9:464-469）。アルファウイルスのRNAを複製中に、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が産出される。このサブゲノムRNAは、完全長のゲノムRNAより高いレベルに複製されるため、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比べてカプシドタンパク質が過剰産生される。同様に、SYNTに対するコード配列をカプシドコード領域のアルファウイルスゲノムに導入することにより、ベクター導入細胞において多数のSYNTコードRNAが産生され、高レベルのSYNTが合成される。通常はアルファウイルスの感染が数日以内での細胞溶解に関係する一方で、シンドビスウイルス（SIN）の変異体を有するハムスター正常腎臓細胞（BHK-21）の持続的な感染を確立する能力は、アルファウイルスの溶解複製を遺伝子治療に適用できるように好適に変更可能であることを示唆している（Dryga, S.A. ら. (1997) Virology 228 :74-83）。アルファウイルスの宿主の範囲が広いことにより、様々な細胞タイプへのSYNTの導入が可能になる。或る集団におけるサブセットの細胞の特定形質導入は、形質導入前に

細胞の選別を必要とし得る。アルファウイルスの感染性cDNAクローンの処置方法、アルファウイルスのcDNA及びRNAの形質移入方法及びアルファウイルスの感染方法は、当業者に公知である。

【0172】

例えば開始部位から数えて約 - 10 と約 + 10 の間にある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発現を阻害することも可能である。同様に、三重らせん塩基対の形成方法を用いて阻害が可能となる。三重らせん塩基対形成は、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開くような二重らせんの能力を阻害するので、三重らせん塩基対形成は有用である。三重らせんDNAを用いる最近の治療の進歩については文献に記載がある (Gee, J.E. ら (1994) in: Huber, B.E. and B.I. Carr, *Molecular and Immunologic Approaches*, Futura Publishing Co., Mt. Kisco, NY, pp.163-177等を参照)。相補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の翻訳を阻止するべく設計することができる。

【0173】

リボザイムは、酵素性RNA分子であり、RNAの特異的切断を触媒するために用い得る。リボザイム作用のメカニズムは、ヌクレオチド鎖切断に先立つ相補的標的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に關与している。例えば、組換え型のハンマーヘッド型リボザイム分子は、SYNT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。

【0174】

任意の潜在的RNAターゲット内の特異的リボザイム切断部位は、GUA、GUU、GUC配列を含めたりボザイム切断部位に対する標的分子をスキャンすることによって先ず同定される。一度同定されると、オリゴヌクレオチドを機能不全にするような2次構造の特徴に対して切断部位を含む標的遺伝子の領域に対応する15～20リボヌクレオチドの短いRNA配列を、評価することが可能になる。候補標的の適合性の評価も、リボヌクレアーゼ保護アッセイを用いて相補的オリゴヌクレオチドとのハイブリダイゼーションの実施容易性をテストすることによって行うことができる。

【0175】

本発明の相補的リボ核酸分子及びリボザイムは、核酸分子合成のために当分野でよく知られている任意の方法を用いて作製し得る。任意の方法には、固相ホスホラミダイト化合物等のオリゴヌクレオチドを化学的に合成する方法がある。或いは、HRIPをコードするDNA配列のin vitro及びin vivo転写によってRNA分子を産出し得る。このようなDNA配列は、T7やSP6等の好適なRNAポリメラーゼプロモーターを用いて多様なベクター内に組み入れることが可能である。或いは、相補的RNAを構成的或いは誘導的に合成するようなこれらcDNA産物を、細胞系、細胞または組織内に導入することができる。

【0176】

細胞内の安定性を高め、半減期を長くするためにRNA分子を修飾し得る。限定するものではないが可能な修飾には、分子の5'末端及び/または3'末端においてフランキング配列を追加したり、分子の主鎖内においてホスホジエステラーゼ結合ではなくホスホロチオネートまたは2' Oメチルを使用したりすることが含まれる。この概念は、PNAの産出に固有のものであり、これら全ての分子に拡大することができる。それには、内在性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、及びウリジンにアセチル-、メチル-、チオ-及び同様の修飾をしたものに加えて、非従来型塩基、例えばイノシン、クエオシン (queosine)、ワイプトシン (wybutosine) 等を包含することによる。

【0177】

本発明の追加実施例には、SYNTをコードするポリヌクレオチドの変異発現に有効な化合物をスクリーニングする方法が含まれる。限定するものではないが特異ポリヌクレオチドの変異発現に有効な化合物には、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、転写因子その他のポリペプチド転写制御因子、及び特異ポリヌクレオチド配列と相互作用し得る非高分子化学的実体がある。有効な化合物は、ポリヌクレオチド発現のインヒビターまたはエンハンサーのいずれかとして作用することによりポリヌクレオチド発現を変異し得る。従って、SYNTの発現または活性の増加に関連する疾病の治

療においては、SYNT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益であり、SYNTの発現または活性の低下に関連する疾病の治療においては、SYNT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益であり得る。

【0178】

特異ポリヌクレオチドの変異発現における有効性に対して、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し得る。試験化合物は、当分野で通常知られている任意の方法により得られる。このような方法には、ポリヌクレオチドの発現を変異させる場合と、既存の、市販のまたは専売の、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と、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く化合物を合理的にデザインする場合と、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ことが知られているような化合物の化学修飾がある。SYNT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され、このように得られる。サンプルには例えば、無傷細胞、透過化処理した細胞、*in vitro*細胞遊離または再構成された生化学系を有し得る。SYNTをコードするポリヌクレオチドの発現における変化は、当分野で通常知られている任意の方法でアッセイする。通常、SYNT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、特異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量を定量し、それによって1若しく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対する基礎を形成し得る。試験化合物に曝露されるポリヌクレオチドの発現における変化の検出は、ポリヌクレオチドの発現を変異する際に試験化合物が有効であることを示している。特異ポリヌクレオチドの変異発現に有効な化合物に対して、例えば *Schizosaccharomyces pombe* 遺伝子発現系 (Atkins, D. ら (1999) 米国特許第5,932,435号、Arndt, G.M. ら (2000) *Nucleic Acids Res.* 28:E15) または HeLa細胞等のヒト細胞系 (Clarke, M.L. ら (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 268:8-13) を用いてスクリーニングを実行する。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のためのオリゴヌクレオ

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、修飾オリゴヌクレオチド）の組合せライブラリをスクリーニングすることに関与している（Bruce, T.W. ら（1997）の米国特許第5,686,242号、Bruce, T.W. ら（2000）の米国特許第6,022,691号）。

【0179】

ベクターを細胞または組織に導入する多数の方法が利用可能であり、in vivo、in vitro及びex vivoの使用に対して同程度に適している。ex vivo治療の場合、ベクターを患者から採取した肝細胞内に導入し、クローニング増殖して同一患者に自家移植で戻すことができる。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輸送は、当分野でよく知られている方法を用いて実行することができる（Goldman, C.K. ら（1997）*Nat. Biotechnol.* 15: 462-466.等を参照）。

【0180】

上記の治療方法はいずれも、例えば、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ウサギ、サル等の哺乳動物を含めて治療が必要な全ての対象に適用できる。

【0181】

本発明の追加実施例は、通常薬剤として許容できる賦形剤で処方される活性成分を有する医薬品成分の投与に関連する。賦形剤には例えば、セルロース、ゴム及びタンパク質がある。様々な処方が通常知られており、詳細はRemington's Pharmaceutical Sciences（Maack Publishing, Easton PA）の最新版に記載されている。このような医薬品成分は、SYNT、SYNTに対する抗体、擬態、アゴニスト、アンタゴニスト、またはSYNTインヒビターから構成し得る。

【0182】

本発明に用いられる医薬品成分は、任意の数の経路によって投与することができ、限定するものではないが経路には、経口、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、クモ膜下腔内、心室内、肺、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸内、局所、舌下または直腸がある。

【0183】

肺から投与する医薬品成分は、液状または乾燥粉末状で調製し得る。このよう

な医薬品成分は通常、患者が吸入する直前にエアロゾル化する。小分子（例えば伝統的な低分子重量有機薬）の場合には、速効製剤のエアロゾル輸送は当分野で公知である。高分子（例えばより大きなペプチド及びタンパク質）の場合には、当該分野において肺の肺泡領域を介しての肺輸送が最近向上したことにより、インスリン等の薬剤を実質的に血液循環へ輸送することが可能になった（Patton, J.S. らの米国特許第5,997,848号等を参照）。肺輸送は、針注射なしに投与する点で優れており、潜在的に有毒な浸透エンハンサーの必要性をなくす。

【0184】

本発明での使用に適した医薬品成分には、所定の目的を達成するために必要なだけの量の活性成分を含有する成分が含まれる。有効投与量の決定は、当業者の能力の範囲内で行う。

【0185】

医薬品成分の特殊形状は、SYNTまたはその断片を含む高分子を直接細胞内輸送するために調製される。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。或いは、SYNTまたはその断片をHIV Tat-1タンパク質から陽イオンN末端部に結合することもできる。このようにして生成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することがわかっている（Schwarze, S.R. ら（1999）Science 285:1569-1572）。

【0186】

任意の化合物に対して、細胞培養アッセイ、例えば新生物性細胞の細胞培養アッセイにおいて、或いは、動物モデル、例えばマウス、ウサギ、イヌまたはブタ等において、先ず治療の有効投与量を推定することができる。動物モデルはまた、好適な濃度範囲及び投与経路を決定するためにも用い得る。このような情報を用いて、次にヒトに対する有益な投与量及び投与経路を決定することができる。

【0187】

治療上の有効投与量は、症状や容態を回復させるような活性成分量を参考にする。そのような活性成分の例としては、SYNTまたはその断片、SYNTの抗体、SYNTのアゴニスト、アンタゴニストまたはインヒビターがある。薬用有効度及び毒性

は、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、例えば ED_{50} （集団の50%の医薬的有効量）または LD_{50} （集団の50%の致死量）を測定するなどして決定することができる。毒性効果の治療効果に対する投与量の比は、治療指数であり、 LD_{50} / ED_{50} 比として表すことができる。高い治療指数を示すような医薬品成分が望ましい。細胞培養アッセイ及び動物実験から得られたデータは、ヒトに用いるための投与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投与量は、毒性を殆ど或いは全く含まず、 ED_{50} を含むような血中濃度の範囲にあることが好ましい。用いられる投与形態、患者の感受性及び投与の経路によって、投与量はこの範囲内で様々に変わる。

【0188】

正確な投与量は、治療が必要な被験者に関する要素を考慮して、現場の医者が決定することになる。効果的なレベルの活性成分を与え、或いは所望の効果を維持するべく、投与量及び投与を調節する。被験者に関する要素としては、疾患の重症度、患者の通常健康状態、患者の年齢、体重及び性別、投与の時間及び頻度、薬剤の配合、反応感受性及び治療に対する応答等を考慮する。作用期間が長い医薬品成分は、特定の製剤の半減期及びクリアランス率によって3～4日毎に1度、1週間に1度、或いは2週間に1度の間隔で投与し得る。

【0189】

通常の投与量は、投与の経路にもよるが約0.1～100,000 μ gであり、合計で約1gまでとする。特定の投与量及び輸送方法に関するガイダンスは文献に記載されており、現場の医者は通常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に対する処方とは異なる、ヌクレオチドに対する処方を利用することになる。同様に、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの輸送は、特定の細胞、状態、位置等に特異的なものとなる。

【0190】

診断

別の実施例では、SYNTの発現によって特徴付けられる疾患の診断のために、或いはSYNTやSYNTのアゴニスト、アンタゴニストまたは阻害剤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おいて、SYNTを特異的に結合する抗体が用

いられることがある。診断目的に有用な抗体は、上記の治療の箇所で記載した方法と同じ方法で調合される。SYNTの診断アッセイには、抗体及び標識を利用してヒトの体液において或いは細胞や組織のエキスにおいてSYNTを検出する方法が含まれる。抗体は、修飾して或いは修飾しないで使用し、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し得る。多様なレポーター分子が当分野で知られており、それらを用いることができる。幾つかのレポーター分子については上記した。

【0191】

SYNTを測定するための様々なプロトコル、例えばELISA、RIA、FACS等が当分野において知られており、SYNT発現の修正レベル或いは異常レベルを診断する基準を提供する。複合体の形成に適した条件下でヒト対象等の正常な哺乳動物対象から採取した体液または細胞とSYNTに対する抗体とを結合させることにより、SYNT発現の正常値または標準値が決定される。標準複合体形成量は、種々の方法、例えば測光法で定量できる。対象内で発現したSYNTの量、制御、検体からの病変サンプルを標準値と比較する。標準値と対象との偏差が疾患を診断するパラメータとなる。

【0192】

別の実施例によれば、SYNTをコードするポリヌクレオチドを診断目的に用いることもできる。用いられることができ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RNA及びDNA分子、そしてPNAが含まれる。ポリヌクレオチドは、検体におけるSYNTの発現が疾患と相関し得るような該検体における遺伝子発現の検出及び定量に用いることができる。診断アッセイは、SYNTの不在、存在及び過剰発現を測定するために、そして治療インターベンション中にSYNTレベルの調製をモニターするために用いることができる。

【0193】

一実施形態では、SYNTをコードする核酸配列を同定するために、SYNTまたは密接に関連している分子をコードする、ゲノム配列を含むポリヌクレオチド配列を検出可能なPCRプローブとのハイブリダイゼーションを用いることができる。プローブが、5'調節領域のような高特異領域を有するにせよ、保存されたモチー

フのような低特異領域を有するにせよ、SYNT、突然変異体または関連配列をコードする天然の配列しか同定しないのかどうかは、プローブの特異性及びハイブリダイゼーション或いは増幅のストリンジェンシーが決定することになる。

【0194】

プローブは、関連する配列の検出にも用いることができ、その配列はSYNTをコードする任意の配列と少なくとも50%の相同性をも有し得る。本発明のハイブリダイゼーションプローブはDNAまたはRNAとすることができ、配列番号16乃至30の配列、或いはSYNT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。

【0195】

SYNTをコードするDNAに対する特異的ハイブリダイゼーションプローブを作製する手段には、SYNTまたはSYNT誘導体をコードするポリヌクレオチド配列を、mRNAプローブを作製するためのベクターにクローニングする方法が含まれる。mRNAプローブ作製のためのベクターは、当業者に知られており、市販されており、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得る。ハイブリダイゼーションプローブは、種々のレポーターの集団によって標識され得る。レポーター集団の例としては、 ^{32}P または ^{35}S 等の放射性核種、或いはアビジン/ビオチン結合系を介してプローブに結合されたアルカリホスファターゼ等の酵素標識などが挙げられる。

【0196】

SYNTをコードするポリヌクレオチド配列は、SYNTの発現に係る疾患の診断の為に用い得る。限定するものではないがこのような疾患の例として免疫疾患が含まれ、その中には炎症、日光性角化症、後天性免疫不全症候群(AIDS)、アジソン病、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、動脈硬化、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、気管支炎、滑液包炎、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、胎児赤芽球症、結節性紅斑、萎縮性胃炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、痛風、グレーブス病、橋本甲状腺炎、

発作性夜間ヘモグロビン尿症、肝炎、過好酸球増加症、過敏性大腸症候群、リンパ球毒素性一時性リンパ球減少症、混合型結合組織病（MCTD）、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋または心膜の炎症、骨髓線維症、変形性関節症、骨粗しょう症、膵炎、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、全身性紅斑性狼瘡、全身性硬化症、原発性血小板増加症、血小板減少症、潰瘍性大腸炎、ブドウ膜炎、ウェルナー症候群、癌の合併症、血液透析、体外循環、外傷、ウイルス感染、細菌感染、真菌感染、寄生虫感染、原虫感染、寄生虫性感染、及びリンパ腫、白血病、骨髓腫を含む造血癌が含まれ、またニューロン疾患も含まれ、その中には静座不能、アルツハイマー病、健忘症、筋萎縮性側索硬化、双極性障害、緊張病、脳腫瘍、痴呆、鬱病、糖尿病性ニューロパシー、ダウン症候群、錐体外路性終末欠陥症候群、ジストニー、てんかん、ハンチントン病、末梢神経疾患、多発性硬化症、神経線維腫症、パーキンソン病、妄想性精神病、帯状疱疹後神経痛、分裂症、及びトゥレット病が含まれ、また生殖障害も含まれ、その中にはプロラクチン産生異常と、卵管病、排卵異常及び子宮内膜症を含む不妊症と、発情期異常、月経周期異常、多嚢胞卵巢症候群、卵巢過剰刺激症候群、子宮内膜癌または卵巢癌、子宮筋腫、自己免疫異常、異所性妊娠及び奇形発生、乳癌、線維嚢胞性乳腺症及び乳漏症と、精子形成異常、異常精子生理機能、精巣癌、前立腺癌、良性前立腺過形成、前立腺炎、ペーロニー病、インポテンス、男性乳房癌及び女性化乳房が含まれ、細胞増殖異常も含まれ、その中には日光性角化症、動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症、滑液包炎、硬変、肝炎、混合型結合組織病（MCTD）、骨髓線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、真性多血症、乾癬、原発性血小板血症と、腺癌、白血病、リンパ腫、黒色腫、骨髓腫、肉腫、奇形癌を含む癌、具体的には副腎、膀胱、骨、骨髓、脳、乳房、頸部、胆嚢、神経節、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巢、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、子宮の癌等が含まれる。SYNTをコードするポリヌクレオチド配列は、サザン法、ノーザン法、ドットプロット法やその他の膜ベースの技術と、PCR法と、ディップスティック（dipstick）法、ピン及びマルチフォーマットELISA様アッセイと、変異SYNTの発現を検出するために患者から採取した体液または組織を利用するマイ

クロアレイとにおいて使用し得る。このような定性方法または定量方法は、当分野で公知である。

【0197】

或る形態では、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、SYNTをコードするヌクレオチド配列が有用であり得る。SYNT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下で、患者から採取した体液または組織のサンプルに添加することができる。好適なインキュベーション期間が経過したらサンプルを洗浄し、シグナルを定量して標準値と比較する。患者サンプルのシグナル量が制御サンプルと比べて著しく変化している場合は、サンプル内のSYNTをコードするヌクレオチド配列の変異レベルは関連する疾患の存在を示している。このようなアッセイは、動物実験、臨床試験における特定の治療効果を推定するため、或いは個々の患者の治療をモニターするために用いることもできる。

【0198】

SYNTの発現に関連する疾患の診断基準を提供するために、発現のための正常あるいは標準概要を確立する。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下で、動物或いはヒトの正常な対象から抽出した体液或いは細胞を、SYNTをコードする配列またはその断片と結合させることにより達成され得る。実質的に精製されたポリヌクレオチドを既知量用いて行った実験から得た値を正常な対象から得た値と比較することにより、標準ハイブリダイゼーションを定量することができる。このようにして得た標準値は、疾患の徴候を示す患者から得たサンプルから得た値と比較することができる。標準値からの偏差を用いて疾患の存在を証明する。

【0199】

疾患の存在が証明されて治療プロトコルが開始されると、患者の発現レベルが正常な被検者に観察されるレベルに近づき始めたかどうかを測定するため、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得る。連続アッセイから得られた結果を用いて、数日から数ヶ月の期間にわたる治療の効果を示し得る。

【0200】

癌に関しては、個体からの生体組織における異常な量の転写物（過少発現または過剰発現）の存在は、疾患の発生素質を示したり、実際に臨床的症状が現れる前に疾患を検出する方法を提供したりし得る。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または積極的な治療法を早くから利用し、それによって癌の発生または更なる進行を防止することが可能となる。

【0201】

SYNTをコードする配列から設計されたオリゴヌクレオチドを診断上追加的に利用することは、PCRの利用に關与し得る。これらのオリゴマーは、化学的に合成するか、酵素により生産するか、或いは*in vitro*で産出し得る。オリゴマーは、好ましくはSYNTをコードするポリヌクレオチドの断片、或いはSYNTをコードするポリヌクレオチドと相補的ポリヌクレオチドの断片を含み、最適条件下で特定の遺伝子や条件を識別するべく利用される。また、オリゴマーは、やや緩いストリンジェント条件下で、密接に関連している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。

【0202】

或る態様において、SYNT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、多くの場合にヒトの先天性または後天性遺伝病の原因となるような置換、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、制限酵素切断法（SSCP）及び蛍光SSCP（fSSCP）がある。SSCPでは、SYNT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、ポリメラーゼ連鎖反応法（PCR）を用いたDNAの増幅を行う。DNAは例えば、病変組織または正常組織、生検サンプル、体液その他に由来し得る。DNA内のSNPは、一本鎖形状のPCR生成物の2次及び3次構造に差異を生じさせる。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性に標識する。それによってDNAシーケンシング機などの高処理機器でアンプリマー（amplimer）の検出が可能になる。更に、インシリコSNP（*in silico* SNP, *is* SNP）と呼ばれる配列データベース分析法は、一般的なコンセンサス配列に配列されるような個々の重畳するDNA断片の配列を比較することにより、多型を同定

し得る。これらのコンピュータベースの方法は、DNAの実験室での調整及び統計モデル及びDNA配列クロマトグラムの自動分析を用いたシーケンシングのエラーに起因する配列の変異をフィルタリングして除去する。別の態様では、例えば高処理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。

【0203】

SYNTの発現を定量するために用い得る方法には、ヌクレオチドの放射標識またはビオチン標識、調節核酸の相互増幅 (coamplification) 及び標準曲線から得た結果の補間もある (Melby, P.C. ら (1993) J. Immunol. Methods, 159:235-244、Duplaa, C. ら (1993) Anal. Biochem. 212:229-236等を参照)。目的のオリゴマーが種々の希釈液中に存在し、分光光度法または非色応答によって定量が迅速になるような高処理フォーマットのアッセイを行うことによって、複数のサンプルの定量速度を加速することができる。

【0204】

更に別の実施例では、本明細書で記載した任意のポリヌクレオチド配列由来のオリゴヌクレオチドまたはより長い断片を、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。多数の遺伝子の関連発現レベルを同時にモニターする転写イメージング技術にマイクロアレイを用いることが可能である。これについては、米国特許第5,840,484号のSeilhamer, J.J. らの"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なす。マイクロアレイはまた、遺伝変異体、突然変異及び多型の同定に用いることができる。この情報を用いることで、遺伝子機能を決定し、疾患の遺伝的根拠を理解し、疾患を診断し、遺伝子発現の機能としての疾病の進行/後退をモニターし、疾病治療における薬剤の活性を開発及びモニターすることができる。特に、患者にとって最もふさわしく、有効的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開発することができる。例えば、患者の薬理ゲノムプロファイルに基づき、患者に対して高度に有効的で副作用を殆ど示さない治療薬を選択し得る。

【0205】

別の実施例では、SYNTに特異的な抗体、SYNTまたはその断片をマイクロアレイ上で要素として用い得る。マイクロアレイを用いて、上記のような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ーまたは測定し得る。

【0206】

一実施例は、組織または細胞タイプ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する。転写イメージは、特定の組織または細胞タイプによる遺伝子発現の全体的なパターンを表す。全体的な遺伝子発現パターンは、複数の発現された遺伝子及びその相対存在量を所与の条件及び時間で定量することにより分析する (Seilliamerらの米国特許第5,840,484号 "Comparative Gene Transcript Analysis" を参照。該特許の引用を以って本明細書の一部となす)。従って、特定の組織または細胞タイプの転写または逆転写の全体に本発明のポリヌクレオチドまたはその相補体をハイブリダイズすることにより転写イメージを生成し得る。一実施例では、本発明のポリヌクレオチドまたはその相補体が複数のマイクロアレイ上のエレメントのサブセットを有し、高処理フォーマットでハイブリダイゼーションが行われる。結果として生じる転写イメージは、遺伝子活性のプロフィールを提供することになる。

【0207】

転写イメージは、組織、株化細胞、生検または生物学的サンプルから単離した転写物を用いて生成し得る。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 で、株化細胞の場合には in vitro で遺伝子発現を反映し得る。

【0208】

本発明のポリヌクレオチドの発現プロファイルを作成するような転写イメージは、工業的及び天然の環境化合物の毒性試験のみならず in vitro モデルシステム及び医薬品の前臨床評価と併せて用い得る。全ての化合物は、しばしば分子フィンガープリントまたは毒物サインと名付けられるような、作用及び毒性のメカニズムを示す特性遺伝子発現パターンを誘導する (Nuwaysir, E.F. ら (1999) Mol. Carcinog. 24:153-159; Steiner, S. and N.L. Anderson (2000) Toxicol. Lett. 112-113:467-471、特別に引用を以って本明細書の一部となす)。試験化合

物が、既知の毒性を有する化合物のサインと類似のサインを有しているのであれば、毒性の特性を共有している可能性がある。これらのフィンガープリントまたはサインは、複数の遺伝子及び遺伝子ファミリーからの発現情報が含まれている場合には、最も有益且つ洗練されたものである。理想的には、発現をゲノム全体で測定することにより、最高品質のサインが与えられる。任意の試験化合物により発現が変異された遺伝子であっても、これらの遺伝子の発現レベルを用いて発現データの残りを規準化し得るので、同様に重要である。規準化手法は、異なる化合物で処理した後で発現データを比較するのに役立つ。毒物サインのエレメントに対する遺伝子機能の割当は毒性メカニズムの解釈に役立つが、毒性の予測を導くサインを統計学的に一致させるために遺伝子機能の知識は必ずしも必要ではない（例えば米国環境健康科学研究所（National Institute of Environmental Health Sciences）から2000年2月29日に発行され、<http://www.niehs.nih.gov/oc/news/toxchip.htm>で利用可能なPress Release 00-02を参照）。従って、毒物サインを用いた毒物学的スクリーニングにおいては、発現された遺伝子配列を全て含めることは重要且つ望ましいことである。

【0209】

一実施例では、試験化合物内で核酸を含有する生物学的サンプルを処理することにより、試験化合物の毒性を算定する。処理生物学的サンプル中で発現されたを、本発明のポリヌクレオチドに特異的な1若しくは数個のプロープにハイブリダイズし、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し得る。処理生物学的サンプルにおける転写レベルを非処理の生物学的サンプルのレベルと比較する。両サンプルの転写レベルの差は、処理サンプル中において試験化合物により引き起こされる毒性反応を示す。

【0210】

別の実施例は、組織または細胞タイプのプロテオームを分析するための本発明のポリペプチド配列の使用に関連する。プロテオームの語は、特定の組織または細胞タイプにおけるタンパク質発現の全体パターンを指す。プロテオームの各タンパク質成分は、更なる分析のために個別に対象にすることができる。プロテオーム発現パターン即ちプロフィールは、所与の条件下で所与の時間で発現された

タンパク質の数及びその相対存在度を定量することにより分析する。従って、特定の組織または細胞タイプのポリペプチドを分離及び分析することにより、細胞のプロテオームのプロフィールを作成し得る。一実施例では、1次元でサンプルから得たタンパク質を等電点電気泳動により分離し、次に分子量に従って2次元でsodium dodecyl sulfate slabゲル電気泳動により分離するような2次元ゲル電気泳動を用いて分離を達成し得る（前出のSteiner and Anderson）。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物質でゲルを染色することにより、ゲル中で離散して独自に位置するスポットとして可視化される。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のレベルに比例する。異なるサンプル（例えば試験化合物または治療薬で処理した生物学的サンプル或いは非処理の生物学的サンプルのいずれか）から得た同等に位置するタンパク質スポットの光学密度を比較し、処理に関連するタンパク質スポット密度における任意の変化を同定する。スポットにおけるタンパク質は、例えば化学的または酵素的開裂を利用した標準的な方法を用いて部分的に配列し、質量分析する。スポットにおけるタンパク質の同定は、その部分配列（少なくとも5つの連続するアミノ酸残基が好ましい）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、最終的なタンパク質同定のための配列データを更に得ることができる。

【0211】

SYNTに特異的な抗体を用いてプロテオームのプロフィールを生成し、SYNT発現のレベルを定量することもできる。一実施例では、マイクロアレイ上で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して各アレイエレメントとのタンパク質結合のレベルを検出することによって、タンパク質発現レベルを同定する（Lueking, A. ら (1999) Anal. Biochem. 270:103-111; Mendozze, L.G. et al. (1999) Biotechniques 27:778-788）。検出は、当分野において知られている様々な方法により実行し得る。例えば、サンプル中のタンパク質をチオール反応性またはアミノ反応性蛍光化合物に反応させて各アレイエレメントでの蛍光結合の量を検出し得る。

【0212】

プロテオームレベルでの毒性サインはまた、毒物学的スクリーニングに有益であり、転写レベルでの毒性サインと平行して分析すべきである。組織中のタンパク質には転写とタンパク質存在度との貧弱な相互関係があるものがあるので (Anderson, N.L. and J. Seilhamer (1997) Electrophoresis 18:533-537)、転写イメージに著しく影響するものではないがプロテオームのプロフィールを変化させるような化合物を分析する際には、プロテオーム毒性サインが有用であり得る。更に、mRNAの分解が速いために体液中の転写物の分析は困難であり、そのためプロテオームのプロフィールはそのような場合により信頼でき、情報価値がある。

【0213】

別の実施例では、タンパク質を含む生物学的サンプルを試験化合物で処理することにより試験化合物の毒性を算定する。処理済みの生物学的サンプル中で発現されたタンパク質を分離し、各タンパク質の量を定量できるようにする。各タンパク質の量は、非処理の生物学的サンプルにおける対応する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は、処理サンプル中の試験化合物に対する毒性反応を示す。個々のタンパク質の同定は、個々のタンパク質のアミノ酸残基をシーケンシングし、これら部分配列を本発明のポリペプチドと比較することにより行う。

【0214】

別の実施例では、タンパク質を含む生物学的サンプルを試験化合物で処理することにより試験化合物の毒性を算定する。生物学的サンプルから得たタンパク質は、本発明のポリペプチドに特異的な抗体を用いてインキュベートする。抗体により認識したタンパク質の量を定量する。処理済みの生物学的サンプルにおけるタンパク質の量を非処理の生物学的サンプルの量と比較する。両サンプルのタンパク質量の差は、処理サンプル中の試験化合物に対する毒性反応を示す。

【0215】

マイクロアレイは、当分野でよく知られている方法を用いて調製し、使用し、そして分析する (Brennan, T.M. ら (1995) の米国特許第5,474,796号、Schna, M. ら (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:10614-10619、Baldeschweiler

らの (1995) PCT出願第W095/251116号、Shalon, D.らの (1995) PCT出願第W095/35505号、Heller, R.A. ら (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:2150-2155、Heller, M.J. らの (1997) 米国特許第5,605,662号等を参照)。様々なタイプのマイクロアレイが公知であり、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。該文献は、特別に引用することを以って本明細書の一部となす。

【0216】

本発明の別の実施例では、天然のゲノム配列をマッピングする際に有効なハイブリダイゼーションプローブを産出するため、SYNTをコードする核酸配列を用いることが可能である。コード配列または非コード配列のいずれかを用いることができ、或る例では、コード配列全体で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内でのコード配列の保存により、染色体マッピング中に望ましくないクロスハイブリダイゼーションが生じる可能性がある。核酸配列は、特定の染色体、染色体の特定領域または人工形成の染色体、例えば、ヒト人工染色体 (HAC)、酵母人工染色体 (YAC)、細菌人工染色体 (BAC)、細菌P1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)。一度マッピングされた本発明の核酸配列は、例えば病状の遺伝を特定の染色体領域の遺伝または制限断片長多型 (RFLP) と関連させるような遺伝子連鎖地図を発生させるのに用い得る。

【0217】

蛍光原位置ハイブリッド形成法 (FISH) は、他の物理的及び遺伝地図データと関連し得る (前出のHeinz-Ulrich, ら (1995) in Meyers, pp. 965-968.等を参照)。遺伝地図データの例は、種々の科学雑誌あるいはOnline Mendelian Inheritance in Man (OMIM) のウェブサイトに見ることができる。物理的染色体地図上のSYNT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は、その疾患に関係するDNAの領域を画定するのに役立ち得るものであり、従って更に位置クローニングする試みとなり得る。

【0218】

確証された染色体マーカーを用いた結合分析等の物理的マッピング技術及び染色体標本原位置ハイブリッド形成法を用いて、遺伝地図を拡張することができる。例えばマウスなど別の哺乳動物の染色体上に遺伝子を配置することにより、特定のヒト染色体の数或いはアームが分かっていない場合でも関連するマーカーを明らかにし得る。この情報は、位置クローニングその他の遺伝子発見技術を用いて遺伝的疾患を調査する研究者にとって価値がある。疾患または症候群が、血管拡張性失調症の11q22-23領域等、特定の遺伝子領域への遺伝的結合によって大まかに位置決めがなされると、該領域に対するいかなるマッピングも、更なる調査のための関連遺伝子或いは調節遺伝子を表すことができる（Gatti, R.A.ら（1988）Nature 336:577-580等を参照）。転座、反転等に起因する、健常者、保有者、感染者の三者間における染色体位置の相違を発見するために、本発明のヌクレオチド配列を用いてもよい。

【0219】

本発明の別の実施例では、種々の薬剤スクリーニング技術を以って化合物のライブラリをスクリーニングするために、SYNT、SYNTの触媒作用断片、免疫原断片、またはそのオリゴペプチドを用いることができる。薬剤スクリーニングに用いる断片は、溶液中に遊離しているか、固体支持物に固定されるか、細胞表面上に保持されるか、細胞内に位置することになる。SYNTとテストされる薬剤との結合複合の形成は計測できる。

【0220】

別の薬剤スクリーニング方法は、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を高い処理能力でスクリーニングするために用いられる（Geysen, らの（1984）PCT出願第W084/03564号等を参照）。この方法においては、多数の異なる小さな試験用化合物を固体基質上で合成する。試験用化合物は、SYNT或いはその断片と反応させ、洗浄する。次に、当分野でよく知られている方法で、結合したSYNTを検出する。精製したSYNTはまた、上記した薬剤のスクリーニング技術において用いるプレート上で直接コーティングすることもできる。別の実施例では、非中和抗体を用いてペプチドを捕捉し、ペプチドを固体支持物に固定する

こともできる。

【0221】

別の実施例では、競合薬スクリーニングアッセイを用いることができる。このアッセイでは、SYNTを結合することができる中和抗体が、SYNTを結合するための試験化合物と特異的に競合する。この方法では、抗体が、1若しくは数個の抗原決定因子をSYNTと共有するペプチドの存在を検出する。

【0222】

別の実施例では、新規技術が現在知られているヌクレオチド配列の特性（限定するものではないがトリプレット遺伝暗号及び特異的塩基対の相互作用等を含む）に依存するのであれば、依然として発展すべきいかなる分子生物学技術においても、SYNTをコードするヌクレオチド配列を用いることができる。

【0223】

更に詳細に説明せずとも、当業者であれば以上の説明を以って本発明を最大限に利用できるであろう。従って、これ以下に記載する実施例は単なる例示目的にすぎず、いかようにも本発明を限定するものではない。

【0224】

本明細書において開示した全ての特許、特許出願及び刊行物、特に米国特許第60/144,992号及び60/168,858号は、言及することをもって本明細書の一部となす。

【0225】

（実施例）

1 cDNAライブラリの作製

RNAは、Clontech社から購入し、或いは表4に列記した組織から単離した。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した組織もあり、また、ホモジナイズしてフェノールまたは好適な変性剤の混合液に溶解した組織もある。変性剤の混合液は、例えばフェノールとグアニジニウムイソチオシアネートの单相溶液であるTRIZOL (Life Technologies) 等である。結果として得られた溶解物は、塩化セシウムにおいて遠心分離するかクロロホルムで抽出した。イソプロパノールか、酢酸ナトリウムとエタノールか、いずれか一方、或いは別

の方法を用いて、溶解物からRNAを沈殿させた。

【0226】

RNAの純度を高めるため、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、DNアーゼでRNAを処理した。殆どのライブラリでは、オリゴd(T)連結常磁性粒子 (Promega)、OLIGOTEXラテックス粒子 (QIAGEN, Valencia CA) または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、別のRNA単離キット、例えばPOLY(A)PURE mRNA精製キット (Ambion, Austin TX) を用いて組織溶解物からRNAを直接単離した。

【0227】

場合によってはStratagene社にRNAを提供し、対応するcDNAライブラリを同社が作製することもあった。そうでない場合は、当分野で公知の推奨方法または類似の方法を用いて、UNIZAPベクターシステム (Stratagene) またはSUPERSCRIP Tプラスミドシステム (Life Technologies) を用いてcDNAを合成し、cDNAライブラリを作製した (前出のAusubel, 1997, unit 5.1-6.6等を参照)。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に連結反応させ、好適な制限酵素でcDNAを消化した。殆どのライブラリに対して、cDNAのサイズ (300 ~ 1000 bp) 選択は、SEPHACRYL S1000、SEPHAROSE CL2BまたはSEPHAROSE CL4Bカラムクロマトグラフィー (Amersham Pharmacia Biotech)、或いは調製用アガロースゲル電気泳動法を用いて行った。cDNAは、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連結反応させた。好適なプラスミドは、例えばPBLUESCRIPTプラスミド (Stratagene)、pSPORT1プラスミド (Life Technologies) またはpINCY (Incyte Pharmaceuticals, Palo Alto CA) 等である。組換えプラスミドは、Stratagene社のXL1-Blue、XL1-BlueMRFまたはSOLR、或いはLife Technologies社のDH5 α 、DH10BまたはELECTROMAX DH10Bを含むコンピテント大腸菌細胞に形質転換した。

【0228】

2 cDNAクローンの単離

実施例1で説明したようにして得たプラスミドは、UNIZAPベクターシステム (Stratagene) を用いたin vivo切除によって、或いは細胞溶解によって宿主細胞

から回収した。MagicまたはWIZARDミニプレップDNA精製システム (Promega)、A GTCミニプレップ精製キット (Edge Biosystems, Gaithersburg MD)、QIAGEN社のQIAWELL 8 Plasmid、QIAWELL 8 Plus Plasmid及びQIAWELL 8 Ultra Plasmid 精製システム、R.E.A.L. Prep 96プラスミドキットの中から少なくとも1つを用いて、プラスミドを精製した。沈殿させた後、0.1 mlの蒸留水に再懸濁して、凍結乾燥して或いは凍結乾燥せずに、4℃で保管した。

【0229】

別の実施例では、高処理フォーマットにおいて直接結合PCR法を用い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は、単一反応混合液中で行った。サンプルを処理し、それを384穴プレート内で保管し、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 (Labsystems Oy, Helsinki, Finland) を用いて蛍光分析的に定量した。

【0230】

3 シークエンシング及び分析

実施例2で説明したようにして回収したIncyte cDNAは、以下のように配列決定した。cDNAのシーケンス反応は、標準的方法或いは高処理装置、例えばABI CATALYST 800 サーマルサイクラー (PE Biosystems) またはPTC-200 サーマルサイクラー (MJ Research) を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併用して処理した。cDNAのシーケンス反応は、Amersham Pharmacia Biotech社が提供する試薬またはABIシーケンス反応キット、例えばABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reaction kit (PE Biosystems) に与えられた試薬を用いて準備した。cDNAのシーケンス反応の電気泳動的分離及び標識したポリヌクレオチドの検出には、MEGABACE 1000 DNAシーケンスシステム (Molecular Dynamics) か、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シーケンスシステム (PE Biosystems) か、或いはその他の当分野でよく知られている配列解析システムを用いた。cDNA配列内のリーディングフ

レームは、標準的方法（前出のAusubel, 1997, unit 7.7に概説）を用いて決定した。幾つかのcDNA配列を選択して、実施例6で開示した方法を用いて配列を伸長させた。

【0231】

cDNA配列に由来するポリヌクレオチド配列を構築し、当業者によく知られたアルゴリズムを利用するソフトウェアの組合せを用いて解析した。利用したツール、プログラム及びアルゴリズムの概略、適用可能な説明、引用文献、閾値パラメータを表5に示す。用いたツール、プログラム及びアルゴリズムを表5の列1に、それらの簡単な説明を列2に示す。列3は好適な引用文献であり、全ての文献はそっくりそのまま引用を以って本明細書の一部となす。適用可能な場合には、列4は2つの配列が一致する強さを評価するために用いたスコア、確率値その他のパラメータを示す（スコアが高ければ高いほど2配列間の相同性が高くなる）。配列の解析は、MACDNASIS PROソフトウェア（日立ソフトウェアエンジニアリング, South San Francisco CA）及びLASERGENEソフトウェア（DNASTAR）を用いて行った。ポリヌクレオチド及びポリペプチド配列アラインメントは、整列させた配列間の一致率をも計算するようなMEGALIGNマルチシーケンスアラインメントプログラム（DNASTAR）に組み入れられた際に、clustalアルゴリズムにより特定されたデフォルトパラメータを用いて生成した。

【0232】

ポリヌクレオチド配列は、ベクター、リンカー及びポリA配列を除去することにより、またあいまいな塩基対をマスクすることによって有効性を確認した。その際、BLAST、動的プログラミング、及び隣接ジヌクレオチド頻度分析に基づくアルゴリズム及びプログラムを用いた。次に、BLAST、FASTA及びBLIMPSに基づくプログラムを用いて、プログラム中の注釈を得るべく、公共のデータベース、例えばGenBankの霊長類及びげっ歯類、哺乳動物、脊椎動物、真核生物のデータベースと、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM及びPFAMの選択に対する配列を問い合わせた。配列はPhred、Phrap及びConsedに基づくプログラムを用いて完全長のポリヌクレオチド配列に構築し、GenMark、BLAST及びFASTAに基づくプログラムを用いてオープンリーディングフレームに対してスクリーニングした。対応する完

全長アミノ酸配列を誘導するべく完全長ポリヌクレオチド配列を翻訳し、その後、GenBankデータベース（上記）、SwissProt、BLOCKS、PRINTS、DOMO、PRODOM及びPrositate等のデータベース、PFAM等のHidden Markov Model（HMM）ベースのタンパク質ファミリーデータベースに対する問合せによって完全長配列を分析した。HMMは、遺伝子ファミリーのコンセンサス1次構造を解析する確率的アプローチである（Eddy, S.R. (1996) Curr. Opin. Struct. Biol. 6:361-365等を参照）。

【0233】

完全長ポリヌクレオチド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、配列番号16乃至30からのポリヌクレオチド配列の断片を同定するためにも使用できる。ハイブリダイゼーション及び増幅に有用な約20～約4000のヌクレオチドの断片は、上記「発明」の項で説明した。

【0234】

4 ポリヌクレオチド発現の分析

ノーザン分析は、転写された遺伝情報の存在を検出するために用いられる実験技術であり、標識されたヌクレオチド配列の、特定の細胞種または組織からのRNAが結合される膜へのハイブリダイゼーションに関与している（前出のSambrook, 7章、同Ausubel, F.M. ら, 4章及び16章等を参照）。

【0235】

BLASTに適用する類似のコンピュータ技術を用いて、GenBankやLifeSeq（Incyte Pharmaceuticals）等のヌクレオチドデータベースにおいて同一または関連分子を検索する。ノーザン分析は、多数の膜系ハイブリダイゼーションよりも断然速い。更に、特定の同一を厳密な或いは相同的なものとして分類するか否かを決定するため、コンピュータ検索の感度を変更することができる。検索の基準はブロダクトスコアであり、次式で定義される。

【0236】

【数1】

(BLAST スコア×配列一致率)

$5 \times (\text{長さ(配列1)}, \text{長さ(配列2)}) \text{の最小値}$

【0237】

プロダクトスコアは、2つの配列間の類似度及び配列が一致する長さの両者を考慮している。プロダクトスコアは、0～100の規準化された値であり、次のようにして求める。BLASTスコアにヌクレオチドの配列一致率を乗じ、その積を2つの配列の短い方の長さの5倍で除する。高スコアリングセグメント対(HSP)に一致する各塩基に+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得る)。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プロダクトスコアを計算する。プロダクトスコアは、断片的重畳とBLASTアラインメントの質とのバランスを表す。例えばプロダクトスコア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%一致する場合のみ得られる。プロダクトスコア70は、一端が100%一致し、70%重畳しているか、他端が88%一致し、100%重畳しているかのいずれかの場合に得られる。プロダクトスコア50は、一端が100%一致し、50%重畳しているか、他端が79%一致し、100%重畳しているかのいずれかの場合に得られる。

【0238】

ノーザン分析の結果は、SYNTをコードする転写物が作出されたライブラリの分布パーセンテージとして報告される。分析は、器官/組織及び疾患によるcDNAライブラリのカテゴリー分類に関与している。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、生殖及び泌尿器がある。疾患/病状のカテゴリーには、癌、炎症、外傷、細胞増殖、神経、貯留(pooled)が含まれる。カテゴリー毎に目的の配列を発現するライブラリ数を数え、それを全カテゴリーのライブラリ数で除した。組織特異発現及び疾患/病状特異発現のパーセント値を表3に示す。

【0239】

5 ポリヌクレオチドをコードするSYNTの伸長

配列番号16乃至30の完全長の核酸配列は、完全長分子の適切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該断片を伸長させて生成した。一方のプライマーは既知の断片の5'伸長を開始するべく合成し、他方のプライマーは既知の断片の3'伸長を開始するべく合成した。開始プライマーの設計は、長さが約22～30ヌクレオチド、GC含有率が50%以上となり、約68～72の温度で標的配列にアニーリングするように、OLIGO 4.06ソフトウェア (National Biosciences) 或いは別の適切なプログラムを用いて、cDNAから設計した。ヘアピン構造及びプライマー-プライマー二量体を生ずるようなヌクレオチドの伸長は全て回避した。

【0240】

選択したヒトcDNAライブラリを用いて配列を伸長させた。2段階以上の伸長が必要または望ましい場合には、付加的プライマー或いはプライマーのネステッドセットを設計した。

【0241】

当業者によく知られている方法を利用したPCR法によって、高忠実度の増幅が得られた。PCRは、PTC-200 サーマルサイクラー (MJ Research, Inc.) を用いて96穴プレート内で行った。反応混合液には、DNA鋳型、各プライマー200 nmoIと、 Mg^{2+} 、 $(NH_4)_2SO_4$ 及び β -メルカプトエタノールを含む反応緩衝液と、Taq DNAポリメラーゼ (Amersham Pharmacia Biotech) と、ELONGASE酵素 (Life Technologies) と、Pfu DNAポリメラーゼ (Stratagene) が含まれていた。プライマー対PCI A、PCI Bに対して用いたパラメータは次の通りである。

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、4を20回繰り返す

ステップ6： 68 で5分間

ステップ7： 4 で保存

プライマー対T7、SK+に対しては、上記パラメータに代えて以下のパラメータを用いた。

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、4を20回繰り返す

ステップ6： 68 で5分間

ステップ7： 4 で保存

1X TEに溶解したPICOGREEN定量試薬(0.25%(v/v) PICOGREEN、Molecular Probes, Eugene OR) 100 μ lと、希釈していないPCR産物0.5 μ lとを不透明な蛍光光度計プレート(Coming Costar, Acton MA)の各穴に分配し、DNAを試薬と結合可能なようにさせることによって各穴内のDNA濃度の測定を行った。サンプルの蛍光を計測してDNAの濃度を定量するべくプレートをFluoroskan II (Lab systems Oy, Helsinki, Finland)でスキャンした。反応混合物のアリコート5~10 μ lを1%アガロースミニゲル上で電気泳動法によって解析し、どの反応が配列の伸長に成功したかを決定した。

【0242】

伸長させたヌクレオチドは、脱塩及び濃縮して384穴プレートに移し、CviI Iコレラウイルスエンドヌクレアーゼ(Molecular Biology Research, Madison WI)を用いて消化し、pUC 18ベクター(Amersham Pharmacia Biotech)への再連結反応前に音波処理またはせん断した。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で分離し、断片を切除し、寒天をAgar ACE(Promega)で消化した。伸長させたクローンをT4リガーゼ(New England Biolabs, Beverly MA)を用いてpUC 18ベクター(Amersham Pharmacia Biotech)に再連結し、Pfu DNAポリメラーゼ(Stratagene)で処理して制限部位のオーバーハングを満たし、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抗生物質含有培地上で選択し、個々のコロニーを選択してLB/2x carb液体培地の384穴プレート内において37 で一晩

培養した。

【0243】

細胞を溶解し、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PCRによってDNAを増幅した。その際用いたパラメータは次の通りである。

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、4を29回繰り返す

ステップ6 : 72 で5分間

ステップ7 : 4 で保存

DNAは、上記のPICOGREEN試薬 (Molecular Probes) によって定量した。DNAの回収率が低いサンプルは、上記と同一の条件を用いて再増幅した。サンプルは20%ジメチルスルホキシド (1:2, v/v) で希釈し、DYENAMIC energy transfer sequencing primer及びDYENAMIC DIRECT kit (Amersham Pharmacia Biotech) またはABI PRISM BIGDYE Terminator cycle sequencing ready reaction kit (PE Biosystems) を用いてシーケンシングした。

【0244】

同様に、伸長のために設計されたオリゴヌクレオチド及び適切なゲノムライブラリと共に上記手順を用いて5'調節配列を得るために、配列番号16乃至30のヌクレオチド配列が用いられる。

【0245】

5 ポリヌクレオチドをコードするSYNTの染色体マッピング

配列番号16乃至30を配列するために用いたcDNA配列は、BLAST及びその他のスミス - ウォーターマンアルゴリズムのインプリメンテーションを用いて、In cyte LIFESEQのデータベース及びパブリックドメインのデータベースから得た配列と比較した。配列番号16乃至30に適合するデータベースから得た配列は、Phrap (表5) 等のアセンブリアルゴリズムを用いて隣接する配列及びオーバー

ラップする配列のクラスタに配列した。スタンフォード・ヒトゲノムセンター (SHGC)、ホワイトヘッド・ゲノム研究所 (WIGR)、Genethon等の公的な情報源から入手可能な放射線ハイブリッド及び遺伝地図データを用いて、クラスタ化された配列が予めマッピングされたかを測定した。マッピングされた配列がクラスタに含まれている結果、個々の配列番号を含めてそのクラスタの全配列が地図上の位置に割り当てられた。

【0246】

配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号21、配列番号24、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29及び配列番号30の遺伝地図上の位置については、ヒト染色体の範囲または間隔として「発明」の項に記載されている。配列番号28及び配列番号29では1つ以上の遺伝地図上の位置が報告されており、配列番号28及び配列番号29に完全に一致するわけではないが類似性を有するような以前にマッピングされた配列が各クラスタにアセンブルされていることを示している。センチモルガン間隔の地図上の位置は、染色体のpアームの末端に関連して測定する(センチモルガン(cM)は、染色体マーカー間の組換え頻度に基づく計測単位である。平均すると、1cMはヒト中のDNAの1メガベース(Mb)にほぼ等しい。尤も、この値は、組換えのホットスポット及びコールドスポットに起因して広範囲に変化する)。cM距離は、配列が各クラスタ内に含まれるような放射線ハイブリッドマーカーに対して境界を提供するようなGenethonによってマッピングされた遺伝マーカーに基づく。指示された間隔内に配置された公開配列及びIncyte配列に関連する疾病は、利用可能な場合には「発明」においても報告されている。ヒトゲノム地図及びその他の公衆に利用可能な資源、例えばNCBIの「GeneMap'99」ウェブサイト(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genemap/>)を用いて、以前に同定した病変遺伝地図が上記の間隔内またはその近傍にあるかどうかを決定することができる。

【0247】

6 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

配列番号16乃至30由来のハイブリダイゼーションプローブを利用して、cDNA、ゲノムDNAまたはmRNA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載するが、より大きなヌクレオチド断片に対しても事実上同一の手順が用いられる。オリゴヌクレオチドは、OLIGO 4.06ソフトウェア (National Biosciences) 等の最新ソフトウェアを用いて設計し、50 pmolの各オリゴマーと、250 μ Ciの[γ - 32 P]アデノシン3リン酸 (Amersham Pharmacia Biotech) と、T4ポリヌクレオチドキナーゼ (DuPont NEN, Boston MA) とを結合することにより標識する。標識したオリゴヌクレオチドは、SEPHADEX G-25超細繊維分子サイズ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。Ase I、Bgl II、Eco RI、Pst I、Xba IまたはPvu II (DuPont NEN) のいずれか1つのエンドヌクレアーゼで消化されたヒトゲノム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、毎分10⁷カウントの標識されたプローブを含むアリコットを用いる。

【0248】

各消化物から得たDNAは、0.7%アガロースゲル上で分画してナイロン膜 (Nytan Plus, Schleicher & Schuell, Durham NH) に移す。ハイブリダイゼーションは、40℃で16時間行う。非特異的シグナルを除去するため、例えば0.1×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に一致する条件下で、プロットを室温で順次洗浄する。オートラジオグラフィーまたはそれに代わるイメージング手段を用いてハイブリダイゼーションパターンを視覚化し、比較する。

【0249】

7 マイクロアレイ

マイクロアレイの表面上でアレイエレメントの連鎖または合成は、フォトリソグラフィ、圧電印刷 (インクジェット印刷; 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質は、均一且つ非多孔性の固体とすべきである (Schna (1999). 前出)。推奨する基質には、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。或いは、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、熱的、紫外線の、化学的または機械的結合手順を用いて基質の表面にエレメントを配置及び結合さ

せてもよい。通常のアレイは、手作業で、または利用可能な方法や機械を用いて作製でき、任意の適正数のエレメントを有し得る (Schena, M. ら (1995) Science 270:467-470、Shalon, D. ら (1996) Genome Res. 6:639-645、Marshall, A. and J. Hodgson (1998) Nat. Biotechnol. 16:27-31.を参照)。

【0250】

完全長cDNA、発現遺伝子配列断片 (EST)、またはその断片またはオリゴマーは、マイクロアレイのエレメントを構成し得る。ハイブリダイゼーションに好適な断片またはオリゴマーを、LASERGENEソフトウェア (DNASTAR) 等の当分野で公知のソフトウェアを用いて選択することが可能である。アレイエレメントは、生物学的サンプル中でポリヌクレオチドを用いてハイブリダイズされる。生物学的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接合される。ハイブリダイゼーション後、生物学的サンプルからハイブリダイズされていないヌクレオチドを除去し、蛍光スキャナを用いて各アレイエレメントにおいてハイブリダイゼーションを検出する。或いは、レーザ脱着及び質量スペクトロメトリ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エレメントにハイブリダイズする各ポリヌクレオチドの相補性の度合及び相対存在度は、算定し得る。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。

【0251】

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)セルロース法を用いてポリ(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/μlのオリゴ(dT)プライマー (21mer)、1 × 第1鎖緩衝液、0.03 unit/μlのRNアーゼ阻害因子、500 μMのdATP、500 μMのdGTP、500 μMのdTTP、40 μMのdCTP、40 μMのdCTP-Cy3 (BDS) またはdCTP-Cy5 (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて逆転写する。逆転写反応は、GEMBRIGHTキット (Incyte) を用いてポリ(A)⁺RNA含有の25体積ml内で行う。特異制御ポリ(A)⁺RNAは、370 で2時間インキュベートした後、in vitro転写により非コード酵母ゲノムDNAから合成する。各反応サンプル (1つはCy3、もう

1つはCy5標識)は、2.5 mlの0.5 M水酸化ナトリウムで処理し、850 で20分間インキュベートし、反応を停止させてRNAを分解する。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) を用いて精製し、結合させた後に、1 mlのグリコーゲン (1 mg/ml)、60 mlの酢酸ナトリウム及び300 mlの100 %エタノールを用いて両反応サンプルをエタノール沈殿させる。次に、SpeedVAC (Savant Instruments Inc., Holbrook NY) を用いてサンプルを乾燥して仕上げ、14 μ lの5 $\times$ SSC / 0.2 % SDS中で再懸濁する。

【0252】

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成する。各アレイエレメントは、クローン化cDNAインサートによりベクター含有細菌性細胞から増幅する。PCR増幅は、cDNAインサートの側面に位置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で1 ~ 2 ngの初期量から5 μ gより大きい最終量までアレイエレメントを増幅する。増幅したアレイエレメントは、SEPHACRYL-400 (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて精製する。

【0253】

精製したアレイエレメントは、ポリマーコートされたスライドガラス上に固定する。処理中及び処理後に、大量の蒸留水洗液を用いて、0.1 %のSDS及びアセトン中で、超音波により顕微鏡スライドガラス (Corning) を洗浄する。スライドガラスは、4 %フッ化水素酸 (VWR Scientific Products Corporation (VWR), West 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 %エタノール中で0.05 %アミノプロピルシラン (Sigma) を用いてコーティングする。

【0254】

米国特許第5,807,522号で説明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。該特許は、引用を以って本明細書の一部となす。平均濃度が100 ng/ μ lのアレイエレメントDNA 1 μ lを高速ロボット装置により開口キャピラリープリントエレメントに充填する。装置はここで、ス

ライド毎に約5 nlのアレイエレメントサンプルをデポジットする。

【0255】

マイクロアレイには、STRATALINKER UV架橋剤 (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度洗浄し、蒸留水で3度洗浄する。リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (Tropix, Inc., Bedford MA) 中の0.2% カゼイン中において60 で30分間マイクロアレイをインキュベートした後、前に行ったように0.2% SDS及び蒸留水で洗浄することにより、非特異結合部位をブロックする。

【0256】

ハイブリダイゼーション

ハイブリダイゼーション反応には、5 × SSC, 0.2% SDSハイブリダイゼーション緩衝液中にCy3及びCy5標識したcDNA合成生成物を各0.2 µg含む9 µlのサンプル混合液を用いる。サンプル混合液は、65 まで5分間加熱し、マイクロアレイ表面上で等分して1.8 cm² のカバーガラスで覆う。アレイは、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行させる。チェンバーのコーナーに140 µlの5 × SSCを加えることにより、チェンバー内部を湿度100%に保持する。アレイを含むチェンバーは、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分間洗浄し、第2洗浄緩衝液中 (0.1 × SSC) において45 で10分間各々3度洗浄して乾燥させる。

【0257】

検出

レポーター標識ハイブリダイゼーション複合体は、Cy3の励起のためには488 nm、Cy3の励起のためには632 nmでスペクトル線を生成し得るInnova 70混合ガス10 Wレーザ (Coherent, Inc., Santa Clara CA) を備えた顕微鏡で検出する。20 × 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光を集中させる。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、対物レンズを通過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した。

【0258】

2つの異なるスキャンのうち、混合ガスマルチラインレーザは2つの蛍光体を連続的に励起する。放射された光は、2つの蛍光体に応じて波長に基づき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間に設置された好適なフィルタを用いて、シグナル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565 nm、Cy5では650 nmである。装置は両蛍光体からのスペクトルを同時に記録し得るが、レーザ源において好適なフィルタを用いて各アレイを通常2度スキャンし、蛍光体1つにつき1度スキャンする。

【0259】

スキャンの感度は通常、既知濃度のサンプル混合液に添加されたcDNA対照種が発す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配列が含まれ、その位置におけるシグナルの強度をハイブリダイジング種の重量比1:100,000に相関させる。異なる源からの2つのサンプル（例えば代表的な試験細胞及び制御細胞）であって各々異なる蛍光体で標識したものを単一のアレイにハイブリダイズし、他と異なって発現された遺伝子を同定する場合には、2つの蛍光体を有する較正cDNAの標識サンプルを標識し、各々等量をハイブリダイゼーション混合液に加えて較正を行う。

【0260】

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、或るイメージとして表示され、シグナル強度は、リニア20色変換を用いて、青色（低シグナル）から赤色（高シグナル）までに及ぶ擬似カラー範囲にマッピングされる。データは、定量的にも分析される。2つの異なる蛍光体の励起及び測定を同時に行う場合には、先ず、各蛍光体の発光スペクトルを用いて両蛍光体間の（重複発光スペクトルに起因する）光学クロストークにデータを補正する。

【0261】

グリッドは蛍光シグナルイメージ上に重ねられ、それによって各スポットからのシグナルはグリッドの各エレメントに集められる。各エレメント内の蛍光シグナルは統合され、シグナルの平均強度に応じた数値が得られる。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。

【0262】

8 相補的ポリヌクレオチド

SYNT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配列は、天然のSYNTの発現を検出し、低下させ、または阻害するために用いられる。約15～30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、これより小さな或いは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。Oligo4.0ソフトウェア (National Biosciences)、及びSYNTをコードする配列を用いて、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、SYNTをコードする転写物にリボソームが結合しないように相補的オリゴヌクレオチドをデザインする。

【0263】

9 SYNTの発現

SYNTの発現及び精製は、細菌またはウイルスをベースにした発現系を用いて行うことができる。細菌でSYNTを発現するために、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、これらに限定するものではない。組換えベクターを、BL21 (DE3) 等の好適な細菌宿主に形質転換する。抗生物質耐性をもつ細菌が、イソプロピルβ-Dチオガラクトピラノシド (IPTG) で誘導されるとSYNTを発現する。真核細胞でのSYNTの発現は、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) を昆虫細胞株または哺乳動物細胞株に感染させて行う。バキュロウイルスの可欠ポリヘドリン遺伝子を

、相同的組換え、或いは転移プラスミドの媒介に関与する細菌媒介遺伝子転移のどちらかによって、SYNT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ー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。(Engelhardt, E. K.ら (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3224-3227、Sandig, V.ら (1996) Hum. Gene Ther. 7:1937-1945.等を参照)。

【0264】

殆どの発現系では、融合タンパク質としてSYNTを合成するのに例えばグルタチオンSトランスフェラーゼ (GST) またはペプチドエピトープ標識、例えばFLAGや6-Hisを用いる。これらを用いることにより、未精製細胞溶解物から組換え融合タンパク質の親和性ベースの精製を迅速に1ステップで行うことができる。GSTは日本住血吸虫からの26kDaの酵素であり、タンパク質の活性及び抗原性を維持した状態で、固定化グルタチオン上で融合タンパク質の精製を可能とする (Amersham Pharmacia Biotech)。精製後、GSTの部分を特定の開発部位においてSYNTからタンパク質分解的に切断することが可能である。FLAGは8アミノ酸のペプチドであり、市販されているモノクローナル及びポリクローナル抗FLAG抗体 (Eastman Kodak) を用いて免疫親和性精製を可能にする。6ヒスチジン残基が連続して伸長した6-Hisは、金属キレート樹脂 (QIAGEN) 上での精製を可能にする。タンパク質の発現及び精製の方法は、前出のAusubel (1995) 10章、16章に記載されている。これらの方法で精製したSYNTを直接用いて実施例10及び14のアッセイを行うことができる。

【0265】

10 SYNT活性の実証

SYNTの活性のアッセイは、放射標識された基質の存在下でRNAのアミノアシル化を測定する。内因性アミノアシルtRNAシンセターゼを無細胞抽出液が枯渇した大腸菌から調製する。生化学的に精製されたSYNTまたは組換え的に産出されたSYNTのいずれかを無細胞抽出液に添加する。翻訳に都合のよい条件下で、 $[^{14}\text{C}]$ 標

識アミノ酸により無細胞抽出液をインキュベートする。酸沈殿可能アミノアシル tRNAへの $[^{14}\text{C}]$ 標識アミノ酸の組み入れは、ラジオアイソトープカウンタを用いて測定する。アミノアシルtRNAに組み入れられた $[^{14}\text{C}]$ 標識アミノ酸の量は、SYN T活性に比例する（例えばIbba, M. ら (1997) Science 278:1119-1122を参照）。

【0266】

或いは以下のようにSYNT活性をアッセイし得る。SYNTまたはその生物学的活性断片を ^{125}I ボルトマン - ハンター試薬で標識する（Bolton ら (1973) Biochem. J. 133:529を参照）。マルチウェルプレートの穴に以前にアレイされた候補分子を標識SYNTでインキュベートし、洗浄し、標識SYNT複合体を有する任意の穴をアッセイする。異なる濃度のSYNTを用いて得られたデータを用い、数、親和性及び、SYNTの候補分子との会合に対する値を計算する。

【0267】

1.1 機能的アッセイ

SYNT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SYNT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。選り抜きのベクターには、pCMV SPORTプラスミド（Life Technologies）及びpCR 3.1プラスミド（Invitrogen）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有する。リポソーム製剤或いは電気穿孔法を用いて、5 ~ 10 μg の組換えベクターをヒト細胞株、例えば内皮由来または造血由来の細胞株に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、形質移入細胞と非形質移入細胞を区別する手段が与えられる。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。標識タンパク質は、例えば緑色蛍光タンパク質（GFP；Clontech）、CD64またはCD64-GFP融合タンパク質から選択できる。自動化された、レーザ光学に基づく技術であるフローサイトメトリー（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。FCMは、細胞

死に先行するか或いは同時に発生する現象を診断する蛍光分子の取込を検出して計量する。このような現象として挙げられるのは、プロピジウムヨウ化物によるDNA染色によって計測される核DNA内容物の変化、プロモデオキシウリジンの取込量の低下によって計測されるDNA合成の下方調節、特異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におけるタンパク質の発現の変化、及び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ある。フローサイトメトリー法については、Ormerod, M. G. (1994) *Flow Cytometry Oxford, New York, NY.*に記述がある。

【0268】

遺伝子発現におけるSYNTの影響は、SYNTをコードする配列とCD64またはCD64-GFPのいずれ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) の保存領域と結合する。形質転換細胞と非形質転換細胞は、ヒトIgGまたはCD64に対する抗体 (DYNAL, Lake Success, NY) で覆われた磁気ビーズを用いて有効に分離することができる。mRNAは、当分野で公知の方法で細胞から精製することができる。SYNTその他の目的の遺伝子をコードするmRNAの発現は、ノーザン分析或いはマイクロアレイ技術で分析することができる。

【0269】

1.2 SYNT特異抗体の産生

ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (PAGE ; Harrington, M.G. (1990) *Methods Enzymol.* 182:488-495等を参照) または他の精製技術を用いて実質上精製されたSYNTを用いて、ウサギを免疫化し、標準プロトコルを用いて抗体を産出する。

【0270】

或いは、LASERGENEソフトウェア (DNASTAR) を用いてSYNTアミノ酸配列を解析し、免疫抗原性の高い領域を決定する。そして対応するオリゴペプチドを合成し、このオリゴペプチドを用いて当業者によく知られている方法で抗体を生成する。適切なエピトープ、例えばC末端付近或いは隣接する親水性領域にあるエピトープの選択については、当分野で公知である (前出のAusubel, 1995, 11章等を参照)。

【0271】

通常は、長さ約15残基のオリゴペプチドを、Fmocケミストリを用いるABI 431A ペプチドシンセサイザ (PE Biosystems) を用いて合成し、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) を用いた反応によってKLH (Sigma-Aldrich, St. Louis MO) に結合させて、免疫抗原性を高める (前出のAusubel, 1995 等を参照)。完全フロイントアジュバントにおいてオリゴペプチド-KLM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SYNT活性を検査するには、ペプチドまたはSYNTを基質に結合し、1%BSAを用いてブロックし、ウサギ抗血清と反応させて洗浄し、さらに放射性ヨウ素で標識したヤギ抗ウサギIgGと反応させる。

【0272】

1.3 特異抗体を用いた天然のSYNTの精製

天然または組換えSYNTを、SYNT特異抗体を用いた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、抗SYNT抗体を活性化クロマトグラフィー用樹脂、例えばCNBr活性化セファロース (Amersham Pharmacia Biotech) と共有結合させることにより構築する。結合後に、製造者の使用説明書に従って樹脂をブロックし、洗浄する。

【0273】

SYNTを含む培養液をイムノアフィニティークラムに通し、SYNTを優先的に吸着する条件下 (例えば洗浄剤が存在する高イオン強度緩衝液) でカラムを洗浄する。抗体とSYNTの結合を破壊する条件 (例えばpH 2 ~ 3の緩衝液、或いは尿素またはチオシアン酸塩イオン等の高濃度のカオトロップ剤) でカラムを溶出させ、SYNTを回収する。

【0274】

1.4 SYNTと相互作用する分子の同定

SYNTまたは生物学的に活性であるSYNT断片を¹²⁵Iボルトンハンター試薬で標識する (Bolton A.E. and W.M. Hunter (1973) Biochem. J. 133:529-539等を参照)。マルチウェルプレートの穴の中に予め配列しておいた候補分子を、標識したSYNTと共にインキュベートして洗浄し、標識したSYNT複合体を有する任意の穴を

アッセイする。SYNT濃度を変えて得たデータを用いて、候補分子とのSYNTの数、親和性及び会合の値を計算する。

【0275】

或いは、SYNTと相互作用する分子は、Fields, S. 及び O. Song (1989, Nature 340:245-246) に記載されているような酵母2ハイブリッドシステムを用いて分析するか、またはMATCHMAKERシステム(Clontech)等の2ハイブリッドシステムに基づく市販のキットを用いて分析する。

【0276】

高処理の方法で酵母2ハイブリッドシステムを利用し、遺伝子の2大ライブラリに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ようなPATHCALLINGプロセス(CuraGen Corp., New Haven CT)にもSYNTを用い得る(Nandabalan, K. ら (2000) 米国特許第6,057,101号)。

【0277】

当業者は、本発明の範囲及び精神から逸脱することなく本発明の記載した方法及びシステムの種々の改変を行い得る。本発明について説明するにあたり特定の好適実施例に関連して説明を行ったが、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、分子生物学または関連分野の専門家には明らかな、本明細書に記載されている本発明の実施方法の様々な改変は、特許請求の範囲内にあるものとする。

【0278】

(表の簡単な説明)

表1は、SYNTをコードする完全長の配列をアセンブルするために用いた、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(クローンID)、cDNAライブラリ及びcDNA断片を示す。

【0279】

表2は、潜在モチーフと、相同配列と、SYNT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とを含む各ポリペプチド配列の特徴を示す。

【0280】

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、異常症または症状と、各DNAのクローニング先のベクターとを示す。

【0281】

表4は、cDNAライブラリの作製に用いた組織を示す。SYNTをコードするcDNAクローンはここから単離した。

【0282】

表5は、SYNTの分析に用いたツール、プログラム、アルゴリズムを、適用可能な説明、引用文献及び閾値パラメータと共に示す。

【表1】

表1-1

ポリペプチド SEQ ID NO:	ヌクレオチド SEQ ID NO:	クローンID	ライブラリ	断片
1	16	1806212	SINTNOT13	268731R1 (HNT2NOT01), 410547R1 (BRSTNOT01), 642383F1 (BRSTNOT03), 642383R6 (BRSTNOT03), 1484778F6 (CORPNOT02), 1577276X13 (LNODNOT03), 1577276X14 (LNODNOT03), 1577276X16 (LNODNOT03), 1733808F6 (BRSTTUT08), 2057185R6 (BEPINOT01)
2	17	2083883	UTRSNOT08	1308705F1 (COLNFET02), 1337653F1 (COLNNOT13), 1430326F1 (SINTBST01), 1525049F6 (UCMCL5T01), 1525049T7 (UCMCL5T01), 1807032F6 (SINTNOT13), 2083883X31C1 (UTRSNOT08), 20838831X54C1, SAEA0191R1, SAEA00070F1
3	18	2454288	ENDANOT01	1334395F6 (COLNNOT13), 1607276F6 (LUNGNOT15), 1930074F6 (COLNTUT03), 1978977R6 (LUNGUT03), 2054860R6 (BEPINOT01), 2454288H1 (ENDANOT01), 2791177H2 (COLNTUT16), 4049241H1 (SINTNOT18), 4787755H1 (BRATNOT03)
4	19	1513539	PANCTUT01	285705F1 (EOSIHET02), 515506F1 (MMLR1DT01), 515506R1 (MMLR1DT01), 723201R1 (SYNOOAT01), 726178R1 (SYNOOAT01), 906091R1 (COLNNOT08), 1492309T1 (PROSNON01), 1513539H1 (PANCTUT01), 2632033H1 (COLNTUT15)
5	20	2148623	BRAINOT09	655968H1 (EOSINOT03), 820407T1 (KERANOT02), 1383948F1 (BRAITUT08), 1383996T6 (BRAITUT08), 1441048R1 (THYRNOT03), 1579330F6 (DUODNOT01), 2148623H1 (BRAINOT09), 3170589H1 (BRSTNOT18), 3251591H1 (SEMVNOT03), 3618285H1 (EPIPNOT01), 3637486H1 (LUNGNOT30), 91524807
6	21	2579405	KIDNTUT13	2457R1 (U937NOT01), 270182R1 (HNT2NOT01), 730115H1 (LUNGNOT03), 991450H1 (COLNNOT11), 994055T1 (COLNNOT11), 1308496H1 (COLNFET02), 1808269F6 (SINTNOT13), 1875536T6 (LEUKNOT02), 1978055H1 (LUNGUT03), 2579405H1 (KIDNTUT13), 2583944H1 (BRAITUT22)
7	22	2662427	ADRENOT08	283147F1 (CARDNOT01), 904594R2 (COLNNOT07), 2662427H1 (ADRENOT08), 2860066H1 (SININOT03), 3078653H1 (BRAIUNT01), 3852430F6 (BRAITUT12), 3852430T6 (BRAITUT12), SCDA09024V1, SCDA05143V1

【表2】

表1-2

ポリペプチド SEQ ID NO:	スクレオチド SEQ ID NO:	クローンID	ライブラリ	断片
8	23	2844928	DRGLNOT01	1466601F1 (PANCUT02), 1662986F6 (BRSTNOT09), 1732880F6 (BRSTTUT08), 1804107F6 (SINTNOT13), 2521851F6 (BRAITUT21), 2662837X303B1 (ADRENOT08), 2844928H1 (DRGLNOT01), 2967532H1 (SCORNOT04), 3774082H1 (BRSTNOT25), 5871970H1 (COLJDTIT04)
9	24	3231586	COTRNOT01	319277H1 (EOSIHET02), 920940H1 (RAIRNOT02), 1445995H1 (PLACNOT02), 1517438F1 (PANCUT01), 1963042H1 (BRSTNOT04), 2023159H1 (CONNOT01), 2932203H1 (UTRSNOT01), 3231586H1 (COTPNOT01), 3346128H1 (BRAITUT24), g1474393
10	25	3580770	293TF3T01	269986R1 (HNT2NOT01), 269986R6 (HNT2NOT01), 3580770H1 (293TF3T01), 3602575F6 (DRGTNOT01), 3602575T6 (DRGTNOT01), g1839725
11	26	3778612	BRSTNOT27	3778612F6 (BRSTNOT27), 3778612H1 (BRSTNOT27), 4063060T6 (BRAINOT21)
12	27	4574912	PROSTMT02	224714F1 (PANCNOT01), 452757F1 (TLYMNOT02), 1210705R7 (BRSTNOT02), 1437821F6 (PANCNOT08), 2700694F6 (OVARTUT10), 3963634H1 (PROSNOT14), 3964731H1 (PROSNOT14), 4574912H1 (PROSTMT02), 5035739H1 (LIVRTUT13)
13	28	5630806	PLACFER01	1649584X20C1 (PROSTTUT09), 1649855X12C1 (PROSTTUT09), 1650519X14C1 (PROSTTUT09), 2054061R6 (BEPINOT01), 2347805X304V1 (COLSUCT01), 3384595H1 (ESOGNOT04), 5630806H1 (PLACFER01)
14	29	5854855	FIBAUNT02	746434R1 (BRAITUT01), 815240R1 (OVARTUT01), 2515988F6 (LIVRTUT04), 3105953F6 (BRSTTUT15), 5854855H1 (FIBAUNT02)
15	30	5993973	FTUBTUT02	270363H1 (HNT2NOT01), 1863382F6 (PROSNOT19), 2696339F6 (UTRSNOT12), 3500696H1 (PROSTTUT13), 4247086H1 (BRABDIT01), 5195020H1 (LUNLTUT04), 5591818H1 (COLCDIT03), 6023466H1 (TESTNOT11)

【表3】

表2-1

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸残基	リン酸化可能部位	グリコシレーション 可能部位	サイン配列、モチーフ、及びドメイン	ホモログ配列	分析方法及び データベース
1	1176	T7 T238 T543 S35 S68 S167 S175 T224 S241 T379 S396 T444 S453 S518 T552 S593 S673 T749 T769 T791 S978 S1042 T1083 T26 T41 S128 S153 T293 T327 S368 T557 S697 S714 S783 T925 S1082 T1136 S1153 Y111 Y666	N33 N333 N439 N882	ロイシン-tRNAリガーゼドメイン T303-I870 アミノトランスファー-RNAシンセターゼ N36-F88 N713-N723	ロイシルtRNA シンセターゼに類似 [シロイヌナズナ] g2160156	MOTIFS BLAST-GenBank BLAST-DOMO PROFILES SCAN BLAST-PRODOM BLIMPS-BLOCKS
2	739	S28 T132 S185 S282 S288 S307 T320 T352 S451 S661 T728 S732 S116 S163 S168 S261 T398 S436 T590 S633 T714 Y173 Y349 Y725 Y734	N102 N588 N619	AMP結合ドメイン S163-V629, N294-V745 E309-I320, T321-I329 長連鎖アシル-CoAシンセターゼ P158-E280	脂防酸補酵素A リガーゼ g6174680	MOTIFS BLAST-GenBank BLAST-DOMO PROFILES SCAN BLAST-PRODOM BLIMPS-BLOCKS HMMER-PFAM BLIMPS-PRINTS
3	589	S179 T18 T20 S40 S138 T193 T256 T298 T354 S419 S485 T570 S579 S5 T114 T174	N187	フェニルアラニン-tRNA P2-Q556, N293-L589 シンセターゼb鎖 D59-L84, R355-Y374 I439-N465	フェニルアラニン tRNAシンセターゼ ペーササブユニット [ハツカネズミ] g4633656	MOTIFS BLAST-GenBank BLAST-PRODOM BLIMPS-PRODOM

【表4】

表2-2

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸残基	リン酸化可能部位	グリコシレーション 可能部位	サイン配列、モチーフ、及びドメイン	ホモログ配列	分析方法及び データベース
4	157	S26 S69 T131 T132 S108	N18	シグナルペプチド: M1-V66 アセチル-CoAカルボキシルラーゼ カルボキシル転移酵素 アルファサブユニットサイン: G128-I139	アセチル補酵素A シンセターゼ [ペニシリウム- クリンゲナム] g265229	BLAST-GenBank SPSCAN BLOCKS-PRINTS MOTIFS
5	643	T308 T337 S402 S433 T454 S34 S101 T408 S530 S621	N9 N33 N90 N104 N259 N306 N431 N571 N634	クラスIIグルタミンミアミド転移酵素 モチーフ: L27-K36, G545-F560 ($p < 0.01$) 転移酵素ノリガーゼモチーフ: R30-A224, S258-F356, P404-Q484	アスバラギン 推定シンターゼ [S. pombe] g3560144	BLAST-GenBank BLIMPS-BLOCKS BLAST-PRODOM MOTIFS
6	660	T282 S315 S329 T487 T596 S9 S276 T459 T624 Y230	N140	クラスIAアミノシルtRNA シンセターゼサイン: I74-M660, V183-L233, P201-L212, S519-N529 Arg-tRNAシンセターゼ: K193-L224, V232-F245, T374-R395, H237-M660, S78-M660	アルギニル-tRNA シンセターゼArgS [ヒト] g1217668	BLAST-GenBank HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS PROFILES-SCAN BLIMPS-PFAM BLAST-PRODOM BLAST-DOMO MOTIFS

表2-3

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸残基	リン酸化可能部位	グリコシレーション 可能部位	サイン配列、モチーフ、及びドメイン	ホモログ配列	分析方法及び データベース
7	725	S723 S80 S220 S238 T351 S371 T414 T465 S591 S641 T38 T45 T67 T165 S230 T252 T407 S413 S454 S499 S541 T554 T685 S688 T693 S719	N48 N472 N546 N552	ピオチンが必要とする酵素サイン: P652-F714, I657-R707 ピオチン付着部位: K681 アセチル-CoAピオチン カルボキシル担体 タンパク質サイン: F661-M675, V676-P689 カルバミルP04シンセターゼサイン: K51-P490, E193-K494, F333-L340, L245-P290, Y270-K494, F331-G365	3-メチル-crotonyl CoAカルボキシルラーゼ ホモログ [線虫] g3876562	BLAST-GenBank HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS PROFILES-SCAN BLIMPS-PRINTS BLAST-PRODOM BLAST-DOMO MOTIFS
8	644	S30 S253 S370 T457 T496 T593 T594 S43 T65 S207 S237 S269 S626 Y247 Y521	N282	AMP結合ドメインサイン: E79-V538, T101-V540, S240-L293, H255-L275, F262-H277, I260-K271, V570-R635 リガーゼ/シンセターゼサイン: T356-R640	長連鎖予測脂脂肪酸 CoAリガーゼ [線虫] g4262587	BLAST-GenBank HMMER-PFAM BLIMPS-BLOCKS PROFILES-SCAN BLIMPS-PRINTS BLAST-PRODOM BLAST-DOMO MOTIFS
9	504	S122 S134 S428 S111 T349	N9 N39 N209 N426	シグナルペプチド: M1-A67 アミノトランスフェラーゼ クラスIIピロリドキサルP04 付着部位: A104-R113		SFSCAN BLIMPS-BLOCKS MOTIFS

【表6】

表2-4

ポリペプチド SEQ ID NO.	アミノ酸残基	リン酸化可能部位	グリコシレーション 可能部位	サイン配列、モチーフ、及びドメイン	ホモログ配列	分析方法及び データベース
10	489	S51 T150 T220 S465 S477 T90 S200 T250 T350 S433 S467 Y83		RNAメチルトランスフェラーゼ SodUファミリー: P344-G354 CIPシンセターゼドメイン: K2-N455, M1-Y457, M335-Y457	CIPシンセターゼ ホモログ (CIPsH) [ハツカネズミ] g1654185	BLAST-GenBank BLIMPS-PFAM BLAST-PRODOM BLAST-DOMO MOTIFS
11	258	S105 S115 S139		シグナルペプチド: M1-G43 ATPシンターゼサイ: Y98-L129 S-アデノシルメチオニン シンセターゼサイ: A209-V257		SPSCAN HMMER-PFAM PROFILES SCAN MOTIFS
12	555	S22 T72 T110 S132 S165 S190 S258 S342 S363 S446 S539 S31 T179 S212 S312 T318 S339 S380 S392 T393 T407 S428 T519 Y24		アミノアシル-tRNA シンセターゼサイ: V73-A82, K305-N315 (p<1.1e-3) システイニル-tRNA シンセターゼサイ: R66-A77, I103-V112, E230-C248, D261-E282, Y67-E282, H76-A494	システイニル推定tRNA シンセターゼ [S. pombe] g1044932	BLAST-GenBank BLIMPS-BLOCKS BLIMPS-PRINTS BLAST-PRODOM BLAST-DOMO MOTIFS
13	463	S54 S79 S124 S235 T253 T295 T411 T15 S366 Y84	N52	スクシニルCoAリガーゼファミリー: I97-F111, V181-E193, L314-A343, L53-D367, D290-K442, L53-I463	ATP特異スクシニル-CoA シンセターゼペー サブユニット [ヒト] g3766196	BLAST-GenBank BLIMPS-BLOCKS BLAST-PRODOM BLAST-DOMO MOTIFS

【表7】

表2-5

ポリペプチド SEQ ID NO:	アミノ酸残基	リン酸化可能部位	グリコシレーション 可能部位	サイン配列、モチーフ、及びドメイン	ホモログ配列	分析方法及び データベース
14	399	T151 S179 S19 S72 T95 T151 S157 S191 S192 T217 T218 S260 T318 S337 S353		シグナルペプチド: M1-G42 クラスIアミノアシル-tRNA シンセターゼサイン: P54-L64		SPSCAN MOTIFS
15	339	S187 T232 T266 S9 S31 T221 T231 S274 S276 T278 S324 S31 S36 T78 S223 S317 Y265		フェニルアラニル-tRNA シンセターゼファミリー: V81-E261	フェニルアラニル-tRNA シンセターゼに類似 [綿虫] g3876233	BLAST-GenBank BLAST-PRODOM MOTIFS

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
16	153-197 600-644 1198-0242	神経 (0.240) 生殖 (0.231) 造血/免疫 (0.124)	癌 (0.488) 炎症/外傷 (0.306) 細胞増殖 (0.198)	pINCY
17	163-207 1090-1134	胃腸 (0.333) 生殖 (0.205) 造血/免疫 (0.141)	癌 (0.462) 炎症/外傷 (0.372) 細胞増殖 (0.103)	pINCY
18	601-645	生殖 (0.216) 胃腸 (0.205) 神経 (0.148)	癌 (0.477) 炎症/外傷 (0.330) 細胞増殖 (0.227)	PBLUESCRIPT
19	1-531 1634-2122	生殖 (0.224) 神経 (0.165) 胃腸 (0.153)	癌 (0.365) 炎症 (0.282) 細胞増殖 (0.176)	pINCY
20	345-418 1272-1762 2039-2357	心血管 (0.194) 生殖 (0.181) 神経 (0.153)	癌 (0.514) 細胞増殖 (0.194) 炎症 (0.181)	pINCY
21	1-109	胃腸 (0.175) 神経 (0.175) 生殖 (0.175)	癌 (0.427) 炎症 (0.252) 細胞増殖 (0.243)	pINCY
22	2045-2317	神経 (0.232) 生殖 (0.214) 心血管 (0.179)	癌 (0.411) 炎症 (0.268) 外傷 (0.161)	pINCY
23	1-508,840-1183 1656-1741 1968-2254	生殖 (0.266) 神経 (0.188) 内分泌 (0.125)	癌 (0.578) 炎症 (0.234) 細胞増殖 (0.125)	pINCY
24		生殖 (0.315) 胃腸 (0.150) 造血/免疫 (0.150)	癌 (0.433) 炎症 (0.283) 細胞増殖 (0.126)	pINCY
25	1-151	生殖 (0.333) 神経 (0.250) 造血 (0.167)	癌 (0.583) 炎症 (0.333) 細胞増殖 (0.167)	pINCY

【表9】

表 3 - 2

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
26	1-214 567-970	神経 (0.286) 生殖 (0.286) 心血管 (0.143) 内分泌 (0.143)	癌 (0.524) 炎症 (0.190) 外傷 (0.190)	pINCY
27	1-206 1129-1206	生殖 (0.243) 造血/免疫 (0.143) 心血管 (0.129) 胃腸 (0.129) 神経 (0.129)	癌 (0.457) 細胞増殖 (0.229) 炎症 (0.186)	pINCY
28		神経 (0.238) 胃腸 (0.190) 生殖 (0.190)	癌 (0.429) 炎症 (0.274) 細胞増殖 (0.131)	pINCY
29	1-234 1229-1477	生殖 (0.331) 神経 (0.204) 胃腸 (0.116)	癌 (0.508) 細胞増殖 (0.188) 炎症 (0.182)	pINCY
30	1-871 1026-1138 1356-1660	生殖 (0.378) 神経 (0.162) 胃腸 (0.135)	癌 (0.649) 細胞増殖 (0.189) 炎症 (0.189)	pINCY

【表10】

【表 1 1】

スクレオチド 配列 ID 番号	ライブラリ	ライブラリの説明
1 6	SINTN0T13	ライブラリは、25歳のアジア人女性の部分的結腸切除及び一時的回腸造瘻術の際に採取した回腸組織から単離したRNAを用いて作製した。病理学的には、遠心縁から上行結腸までの結腸粘膜を伴う中程度に活発な慢性の潰瘍性大腸炎である。家族歴には、高脂血症、悪性の頸部新生物、ウィルス性のA型肝炎、及び抑うつ障害が含まれた。
1 7	UTRSN0T08	ライブラリは、拡張及び掻爬を伴う膣式子宮摘出の際に35歳の白人女性より摘出した子宮組織より単離したRNAを用いて作製された。病理学的には、子宮内臓が直径1センチの良性子宮内膜ポリープを伴う分泌期であることを示した。頸部は軽度の慢性子宮頸管炎を示した。家族歴は、アテローム硬化型冠状動脈疾患及びII型糖尿病を示した。
1 8	ENDAN0T01	ライブラリは、ある男性の心臓移植の際に外植心臓から採取した大動脈内皮細胞組織から単離したRNAを用いて作製した。
1 9	PANCTUT01	ライブラリは、年齢65歳の白人女性から根治的脾臓重全摘除の際に採取された脾臓腫瘍組織から単離されたRNAを用いて作製した。病変は、浸潤性グレード2腺癌を示していた。患者の既往症には、II型糖尿病、変形性関節症、心血管疾患、及び大腸の良性新生物があった。以前に受けていた外科手術としては、脾臓全摘除術、胆嚢摘出術、及び膣式子宮摘出術があった。家族歴には、心血管疾患、II型糖尿病、及び胃癌があった。
2 0	BRAIN0T09	ライブラリは、妊娠期間23週間に死亡した白人の男胎児の脳組織から単離したRNAを用いて作製した。
2 1	KIDNTUT13	ライブラリは、51歳の白人女性から腎尿管切除の際に採取した腎臓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、グレード3腎細胞癌を示していた。患者の病歴には、抑うつ障害、低血糖症、及び子宮内臓症が含まれる。家族歴には、腎臓結石、結腸癌、及びII型糖尿病が含まれた。
2 2	ADREN0T08	ライブラリは、頭部外傷によって死亡した20歳の白人男性から副腎組織を採取し、その副腎組織から単離したRNAを用いて作製した。

【表 1 2】

ヌクレオチド 配列 ID 番号	ライブラリ	ライブラリの説明
2 3	DRGLN0T01	ライブラリは、急性肺水腫及び気管支肺炎、両側胸水、両側胸水、心外膜液、悪性リンパ腫（ナチュラルキラー細胞型）で死亡した 32 歳白人男性の下部胸部／高腰部領域から採取した後根神経節組織から単離した RNA を用いて作製した。患者の病歴には、推定サイトメガロウイルス感染症肝うっ血、及び脂肪症、脾腫、出血性膀胱炎、甲状腺出血、顔面麻痺があった。治療には、放射線療法が含まれた。
2 4	COTRN0T01	ライブラリは、26 歳の白人男性より摘出した病変横行結腸組織より単離した RNA を用いて作成された。病理学的には、クローン病と一致する、穿孔を有する局所的に重度の大腸炎領域を含む最小限の活性的結腸炎を示した。
2 5	293TF3T01	ライブラリは、腎臓上皮性組織より摘出した血清欠乏形質転換胚細胞 (293-EBNA) より単離した RNA を用いて作成された。細胞はアデノウイルス 5DNA で形質転換された。
2 6	BRSTN0T27	ライブラリは、57 歳白人女性より採取した乳房組織から単離した RNA を用いて作製した。関連腫瘍組織の病理学的には、残留性の顕微鏡観察浸潤性アデノカルチノーマ、及び広範囲な分泌管内癌を示した。エストロゲン及びプロゲステロン受容体に対する免疫ペルオキシダーゼ染色は陽性であった。患者の病歴には、良性高血圧及び高脂血症、心臓異常、良性結腸腫瘍、及び乳房新生物があった。家族歴には、良性高血圧及び急性白血病、原発性肝癌、肺癌があった。
2 7	PROSTM02	ライブラリは、66 歳の白人男性より摘出した病変前立腺組織単離した RNA を用いて作成された。病理学的には、アデノ線維腫過形成症を示した。関連腫瘍の病理学的には、腺癌を示した。患者は、高い前立腺特異アンチゲン (PSA) 及び硬化を示した。家族歴には、急性心筋梗塞、II 型糖尿病、高脂血症、及びヤコブ・クロイツフェルト病があった。

【表 1 3】

ヌクレオチド 配列 ID 番号	ライブラリ	ライブラリの説明
2 8	PLACFER01	ライブラリは、子宮内胎児死亡及び水頭症で、妊娠 1 6 週目に死亡した白人胎児より取り除いた胎盤組織より単離した RNA を用いて作成された。血清学的には、CMV 抗体に対して陽性だった。家族歴には、多胎妊娠及び生産、及び流産があった。
2 9	FIBAUNT02	ライブラリは、6 5 歳の白人女性より取り除かれた未処置の大動脈外膜線維芽細胞より単離した RNA を用いて作成された。
3 0	FTUBTUT02	ライブラリは、両側卵管-卵巣摘出及び子宮摘出の際に 8 5 歳の白人女性より取り除かれたフアロピー管腫瘍組織より単離した RNA を用いて作成された。病理学的には、壁に関与しない粘膜に限定された低分化混合類子宮内膜、及び漿液性腺癌を示した。in situ 子宮内膜性腫瘍も見られた。関連子宮組織の病理学的には、in situ 子宮内膜腺癌、及び子宮内膜ポリープにおける中程度に分化した浸潤腺癌を示した。転移類子宮内膜腺癌及び漿液性腺癌が見られた。患者は、骨盤腫瘍及び腹水を示した。患者の病歴には、甲状腺の髄様癌及び心筋梗塞が有った。

表5-1

プログラム名	説明	引用文献	パラメーター閾値
ABI FACTURA	核酸配列においてベクター配列を除去して不定の塩基をマスクするプログラム。	P-E Biosystems, Foster City, CA.	
ABI/PARACEL FDF	Fast Data Finder は、アミノ酸または核酸配列の比較及び注釈付け (annotation) に有用である。	P-E Biosystems, Foster City, CA; Paracel Inc., Pasadena, CA.	不一致50%
ABI AutoAssembler BLAST	核酸配列を構築するプログラム。 Basic Local Alignment Search Tool は、アミノ酸及び核酸配列の配列類似性検索に有用であり、blastp 及び blastn、blastx、tblastn、tblastx の5つのファンクションがある。	P-E Biosystems, Foster City, CA. Altschul, S.F.他 (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Altschul, S.F. 他 (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402.	ESTs: 確率値=1.0E-8 以下 完全長配列: 確率値=1.0E-10 以下
FASTA	Pearson 及び Lipman アルゴリズムは、問合せの配列と同種の配列群との類似性を検索する。FASTA は、fasta 及び tfasta、fastx、tfastx、ssearch の少なくとも5つのファンクションを含む。	Pearson, W.R. and D.J. Lipman (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. 85:2444-2448; Pearson, W.R. (1990) Methods Enzymol. 183: 63-98; Smith, T.F. and M. S. Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482-489.	ESTs: fasta E 値=1.06E-6 構築された ESTs: fasta 同一性=95%以上、一致長さ=200 塩基以上、fastx E 値=1.0E-8 以下 完全長配列: fastx スコア=100 以上
BLIMPS	Blocks Improved Searcher は、BLOCKS 及び PRINTS、DOMO、PRODOM、PFAM データベースにおける配列に対して、ある配列の一致性を調べ、遺伝子ファミリー及び配列相同性、構造的フィンガープリント領域を探索する。	Henikoff, S and J.G. Henikoff, Nucl. Acid Res., 19:6565-72, 1991. J.C.; Henikoff and S. Henikoff (1996) Methods Enzymol. 266:88-105; Artwood, T.K. 他 (1997) J. Chem. Inf. Comput. Sci. 37: 417-424.	スコア=1000 以上 スコア/強度=0.75 以上 該当する場合、確率値=1.0E-3 以下
HMMER	PFAM などのタンパク質ファミリーコンセンサス配列の隠れマルコフモデル(HMM)に基づいたデータベースに対して問合せ配列を検索するアルゴリズム。	Krogh, A. 他 (1994) J. Mol. Biol., 235:1501-1531; Sonnhammer, E.L.L. 他 (1998) Nucleic Acids Res. 26:320-322.	スコア=10-50 ビット、各タンパク質ファミリーによって異なる。

【表14】

表 5 - 2

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

【配列表】

SEQUENCE LISTING

```

<110> INCYTE GENOMICS, INC.
      TANG, Y. Tom
      HILLMAN, Jennifer L.
      BANDMAN, Olga
      YUE, Henry
      BAUGHN, Mariah R.
      LAL, Preeti
      LU, Dyung Aina M.
      SHAH, Purvi
      AZIMZAI, Yalda

<120> HUMAN SYNTHETASES

<130> PF-0721 PCT

<140> To Be Assigned
<141> Herewith

<150> 60/144,992; 60,168,858
<151> 1999-07-22; 1999-12-02

<160> 30
<170> PERL Program

<210> 1
<211> 1176
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 1806212CD1

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

```

Gly	Leu	Lys	Val	Asp	Trp	Arg	Arg	Ser	Phe	Ile	Thr	Thr	Asp	Val
				200					205					210
Asn	Pro	Tyr	Tyr	Asp	Ser	Phe	Val	Arg	Trp	Gln	Phe	Leu	Thr	Leu
				215					220					225
Arg	Glu	Arg	Asn	Lys	Ile	Lys	Phe	Gly	Lys	Arg	Tyr	Thr	Ile	Tyr
				230					235					240
Ser	Pro	Lys	Asp	Gly	Gln	Pro	Cys	Met	Asp	His	Asp	Arg	Gln	Thr
				245					250					255
Gly	Glu	Gly	Val	Gly	Pro	Gln	Glu	Tyr	Thr	Leu	Leu	Lys	Leu	Lys
				260					265					270
Val	Leu	Glu	Pro	Tyr	Pro	Ser	Lys	Leu	Ser	Gly	Leu	Lys	Gly	Lys
				275					280					285
Asn	Ile	Phe	Leu	Val	Ala	Ala	Thr	Leu	Arg	Pro	Glu	Thr	Met	Phe
				290					295					300
Gly	Gln	Thr	Asn	Cys	Trp	Val	Arg	Pro	Asp	Met	Lys	Tyr	Ile	Gly
				305					310					315
Phe	Glu	Thr	Val	Asn	Gly	Asp	Ile	Phe	Ile	Cys	Thr	Gln	Lys	Ala
				320					325					330
Ala	Arg	Asn	Met	Ser	Tyr	Gln	Gly	Phe	Thr	Lys	Asp	Asn	Gly	Val
				335					340					345
Val	Pro	Val	Val	Lys	Glu	Leu	Met	Gly	Glu	Glu	Ile	Leu	Gly	Ala
				350					355					360
Ser	Leu	Ser	Ala	Pro	Leu	Thr	Ser	Tyr	Lys	Val	Ile	Tyr	Val	Leu
				365					370					375
Pro	Met	Leu	Thr	Ile	Lys	Glu	Asp	Lys	Gly	Thr	Gly	Val	Val	Thr
				380					385					390
Ser	Val	Pro	Ser	Asp	Ser	Pro	Asp	Asp	Ile	Ala	Ala	Leu	Arg	Asp
				395					400					405
Leu	Lys	Lys	Lys	Gln	Ala	Leu	Arg	Ala	Lys	Tyr	Gly	Ile	Arg	Asp
				410					415					420
Asp	Met	Val	Leu	Pro	Phe	Glu	Pro	Val	Pro	Val	Ile	Glu	Ile	Pro
				425					430					435
Gly	Phe	Gly	Asn	Leu	Ser	Ala	Val	Thr	Ile	Cys	Asp	Glu	Leu	Lys
				440					445					450
Ile	Gln	Ser	Gln	Asn	Asp	Arg	Glu	Lys	Leu	Ala	Glu	Ala	Lys	Glu
				455					460					465
Lys	Ile	Tyr	Leu	Lys	Gly	Phe	Tyr	Glu	Gly	Ile	Met	Leu	Val	Asp
				470					475					480
Gly	Phe	Lys	Gly	Gln	Lys	Val	Gln	Asp	Val	Lys	Lys	Thr	Ile	Gln
				485					490					495
Lys	Lys	Met	Ile	Asp	Ala	Gly	Asp	Ala	Leu	Ile	Tyr	Met	Glu	Pro
				500					505					510
Glu	Lys	Gln	Val	Met	Ser	Arg	Ser	Ser	Asp	Glu	Cys	Val	Val	Ala
				515					520					525
Leu	Cys	Asp	Gln	Trp	Tyr	Leu	Asp	Tyr	Gly	Glu	Glu	Asn	Trp	Lys
				530					535					540
Lys	Gln	Thr	Ser	Gln	Cys	Leu	Lys	Asn	Leu	Glu	Thr	Phe	Cys	Glu
				545					550					555
Glu	Thr	Arg	Arg	Asn	Phe	Glu	Ala	Thr	Leu	Gly	Trp	Leu	Gln	Glu
				560					565					570
His	Ala	Cys	Ser	Arg	Thr	Tyr	Gly	Leu	Gly	Thr	His	Leu	Pro	Trp
				575					580					585
Asp	Glu	Gln	Trp	Leu	Ile	Glu	Ser	Leu	Ser	Asp	Ser	Thr	Ile	Tyr
				590					595					600
Met	Ala	Phe	Tyr	Thr	Val	Ala	His	Leu	Leu	Gln	Gly	Gly	Asn	Leu
				605					610					615
His	Gly	Gln	Ala	Glu	Ser	Pro	Leu	Gly	Ile	Arg	Pro	Gln	Gln	Met
				620					625					630
Thr	Lys	Glu	Val	Trp	Asp	Tyr	Val	Phe	Phe	Lys	Glu	Ala	Pro	Phe
				635					640					645
Pro	Lys	Thr	Gln	Ile	Ala	Lys	Glu	Lys	Leu	Asp	Gln	Leu	Lys	Gln
				650					655					660
Glu	Phe	Glu	Phe	Trp	Tyr	Pro	Val	Asp	Leu	Arg	Val	Ser	Gly	Lys
				665					670					675
Asp	Leu	Val	Pro	Asn	His	Leu	Ser	Tyr	Tyr	Leu	Tyr	Asn	His	Val

	680		685		690
Ala Met Trp Pro	Glu Gln Ser Asp Lys Trp	Pro Thr Ala Val	Arg		
	695		700		705
Ala Asn Gly His	Leu Leu Leu Asn Ser Glu	Lys Met Ser Lys Ser			
	710		715		720
Thr Gly Asn Phe	Leu Thr Leu Thr Gln Ala	Ile Asp Lys Phe Ser			
	725		730		735
Ala Asp Gly Met	Arg Leu Ala Leu Ala Asp	Ala Gly Asp Thr Val			
	740		745		750
Glu Asp Ala Asn	Phe Val Glu Ala Met Ala	Asp Ala Gly Ile Leu			
	755		760		765
Arg Leu Tyr Thr	Trp Val Glu Trp Val Lys	Glu Met Val Ala Asn			
	770		775		780
Trp Asp Ser Leu	Arg Ser Gly Pro Ala Ser	Thr Phe Asn Asp Arg			
	785		790		795
Val Phe Ala Ser	Glu Leu Asn Ala Gly Ile	Ile Lys Thr Asp Gln			
	800		805		810
Asn Tyr Glu Lys	Met Met Phe Lys Glu Ala	Leu Lys Thr Gly Phe			
	815		820		825
Phe Glu Phe Gln	Ala Ala Lys Asp Lys Tyr	Arg Glu Leu Ala Val			
	830		835		840
Glu Gly Met His	Arg Glu Leu Val Phe Arg	Phe Ile Glu Val Gln			
	845		850		855
Thr Leu Leu Leu	Ala Pro Phe Cys Pro His	Leu Cys Glu His Ile			
	860		865		870
Trp Thr Leu Leu	Gly Lys Pro Asp Ser Ile	Met Asn Ala Ser Trp			
	875		880		885
Pro Val Ala Gly	Pro Val Asn Glu Val Leu	Ile His Ser Ser Gln			
	890		895		900
Tyr Leu Met Glu	Val Thr His Asp Leu Arg	Leu Arg Leu Lys Asn			
	905		910		915
Tyr Met Met Pro	Ala Lys Gly Lys Lys Thr	Asp Lys Gln Pro Leu			
	920		925		930
Gln Lys Pro Ser	His Cys Thr Ile Tyr Val	Ala Lys Asn Tyr Pro			
	935		940		945
Pro Trp Gln His	Thr Thr Leu Ser Val Leu	Arg Lys His Phe Glu			
	950		955		960
Ala Asn Asn Gly	Lys Leu Pro Asp Asn Lys	Val Ile Ala Ser Glu			
	965		970		975
Leu Gly Ser Met	Pro Glu Leu Lys Lys Tyr	Met Lys Lys Val Met			
	980		985		990
Pro Phe Val Ala	Met Ile Lys Glu Asn Leu	Glu Lys Met Gly Pro			
	995		1000		1005
Arg Ile Leu Asp	Leu Gln Leu Glu Phe Asp	Glu Lys Ala Val Leu			
	1010		1015		1020
Met Glu Asn Ile	Val Tyr Leu Thr Asn Ser	Leu Glu Leu Glu His			
	1025		1030		1035
Ile Glu Val Lys	Phe Ala Ser Glu Ala Glu	Asp Lys Ile Arg Glu			
	1040		1045		1050
Asp Cys Cys Pro	Gly Lys Pro Leu Asn Val	Phe Arg Ile Glu Pro			
	1055		1060		1065
Gly Val Ser Val	Ser Leu Val Asn Pro Gln	Pro Ser Asn Gly His			
	1070		1075		1080
Phe Ser Thr Lys	Ile Glu Ile Arg Gln Gly	Asp Asn Cys Asp Ser			
	1085		1090		1095
Ile Ile Arg Arg	Leu Met Lys Met Asn Arg	Gly Ile Lys Asp Leu			
	1100		1105		1110
Ser Lys Val Lys	Leu Met Arg Phe Asp Asp	Pro Leu Leu Gly Pro			
	1115		1120		1125
Arg Arg Val Pro	Val Leu Gly Lys Glu Tyr	Thr Glu Lys Thr Pro			
	1130		1135		1140
Ile Ser Glu His	Ala Val Phe Asn Val Asp	Leu Met Ser Lys Lys			
	1145		1150		1155
Ile His Leu Thr	Glu Asn Gly Ile Arg Val	Asp Ile Gly Asp Thr			
	1160		1165		1170

Ile Ile Tyr Leu Val His
1175

<210> 2

<211> 739

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 2083883CD1

<400> 2

Met	Asp	Ala	Leu	Lys	Pro	Pro	Cys	Leu	Trp	Arg	Asn	His	Glu	Arg	1	5	10	15
Gly	Lys	Lys	Asp	Arg	Asp	Ser	Cys	Gly	Arg	Lys	Asn	Ser	Glu	Pro	20	25	30	35
Gly	Ser	Pro	His	Ser	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Asp	Ala	Ala	Pro	Ser	40	45	50	55
Gln	Gly	Leu	Asn	Phe	Leu	Leu	Leu	Phe	Thr	Lys	Met	Leu	Phe	Ile	60	65	70	75
Phe	Asn	Phe	Leu	Phe	Ser	Pro	Leu	Pro	Thr	Pro	Ala	Leu	Ile	Cys	80	85	90	95
Ile	Leu	Thr	Phe	Gly	Ala	Ala	Ile	Phe	Leu	Trp	Leu	Ile	Thr	Arg	100	105	110	115
Pro	Gln	Pro	Val	Leu	Pro	Leu	Leu	Asp	Leu	Asn	Asn	Gln	Ser	Val	120	125	130	135
Gly	Ile	Glu	Gly	Gly	Ala	Arg	Lys	Gly	Val	Ser	Gln	Lys	Asn	Asn	140	145	150	155
Asp	Leu	Thr	Ser	Cys	Phe	Ser	Asp	Ala	Lys	Thr	Met	Tyr	Glu		160	165	170	175
Val	Phe	Gln	Arg	Gly	Leu	Ala	Val	Ser	Asp	Asn	Gly	Pro	Cys	Leu	180	185	190	195
Gly	Tyr	Arg	Lys	Pro	Asn	Gln	Pro	Tyr	Arg	Trp	Leu	Ser	Tyr	Lys	200	205	210	215
Gln	Val	Ser	Asp	Arg	Ala	Glu	Tyr	Leu	Gly	Ser	Cys	Leu	Leu	His	220	225	230	235
Lys	Gly	Tyr	Lys	Ser	Ser	Pro	Asp	Gln	Phe	Val	Gly	Ile	Phe	Ala	240	245	250	255
Gln	Asn	Arg	Pro	Glu	Trp	Ile	Ile	Ser	Glu	Leu	Ala	Cys	Tyr	Thr	260	265	270	275
Tyr	Ser	Met	Val	Ala	Val	Pro	Leu	Tyr	Asp	Thr	Leu	Gly	Pro	Glu	280	285	290	295
Ala	Ile	Val	His	Ile	Val	Asn	Lys	Ala	Asp	Ile	Ala	Val	Val	Ile	300	305	310	315
Cys	Asp	Thr	Pro	Gln	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	Ile	Gly	Asn	Val	Glu	320	325	330	335
Lys	Gly	Phe	Thr	Pro	Ser	Leu	Lys	Val	Ile	Ile	Leu	Met	Asp	Pro	340	345	350	355
Phe	Asp	Asp	Asp	Leu	Lys	Gln	Arg	Gly	Glu	Lys	Ser	Gly	Ile	Glu	360	365	370	375
Ile	Leu	Ser	Leu	Tyr	Asp	Ala	Glu	Asn	Leu	Gly	Lys	Glu	His	Phe	380	385	390	395
Arg	Lys	Pro	Val	Pro	Ser	Pro	Glu	Asp	Leu	Ser	Val	Ile	Cys		400	405	410	415
Phe	Thr	Ser	Gly	Thr	Thr	Gly	Asp	Pro	Lys	Gly	Ala	Met	Ile	Thr	420	425	430	435
His	Gln	Asn	Ile	Val	Ser	Asn	Ala	Ala	Ala	Phe	Leu	Lys	Cys	Val	440	445	450	455
Glu	His	Ala	Tyr	Glu	Pro	Thr	Pro	Asp	Asp	Val	Ala	Ile	Ser	Tyr	460	465	470	475
Leu	Pro	Leu	Ala	His	Met	Phe	Glu	Arg	Ile	Val	Gln	Ala	Val	Val	480	485	490	495
Tyr	Ser	Cys	Gly	Ala	Arg	Val	Gly	Phe	Phe	Gln	Gly	Asp	Ile	Arg	500	505	510	515
Leu	Leu	Ala	Asp	Asp	Met	Lys	Thr	Leu	Lys	Pro	Thr	Leu	Phe	Pro	520	525	530	535

	395		400		405
Ala Val Pro Arg	Leu Leu Asn Arg Ile	Tyr Asp Lys Val Gln Asn			
	410		415		420
Glu Ala Lys Thr	Pro Leu Lys Lys Phe	Leu Leu Lys Leu Ala Val			
	425		430		435
Ser Ser Lys Phe	Lys Glu Leu Gln Lys	Gly Ile Ile Arg His Asp			
	440		445		450
Ser Phe Trp Asp	Lys Leu Ile Phe Ala	Lys Ile Gln Asp Ser Leu			
	455		460		465
Gly Gly Arg Val	Arg Val Ile Val Thr	Gly Ala Ala Pro Met Ser			
	470		475		480
Thr Ser Val Met	Thr Phe Phe Arg Ala	Ala Met Gly Cys Gln Val			
	485		490		495
Tyr Glu Ala Tyr	Gly Gln Thr Glu Cys	Thr Gly Gly Cys Thr Phe			
	500		505		510
Thr Leu Pro Gly	Asp Trp Thr Ser Gly	His Val Gly Val Pro Leu			
	515		520		525
Ala Cys Asn Tyr	Val Lys Leu Glu Asp	Val Ala Asp Met Asn Tyr			
	530		535		540
Phe Thr Val Asn	Asn Glu Gly Glu Val	Cys Ile Lys Gly Thr Asn			
	545		550		555
Val Phe Lys Gly	Tyr Leu Lys Asp Pro	Glu Lys Thr Gln Glu Ala			
	560		565		570
Leu Asp Ser Asp	Gly Trp Leu His Thr	Gly Asp Ile Gly Arg Trp			
	575		580		585
Leu Pro Asn Gly	Thr Leu Lys Ile Ile	Asp Arg Lys Lys Asn Ile			
	590		595		600
Phe Lys Leu Ala	Gln Gly Glu Tyr Ile	Ala Pro Glu Lys Ile Glu			
	605		610		615
Asn Ile Tyr Asn	Arg Ser Gln Pro Val	Leu Gln Ile Phe Val His			
	620		625		630
Gly Glu Ser Leu	Arg Ser Ser Leu Val	Gly Val Val Val Pro Asp			
	635		640		645
Thr Asp Val Leu	Pro Ser Phe Ala Ala	Lys Leu Gly Val Lys Gly			
	650		655		660
Ser Phe Glu Glu	Leu Cys Gln Asn Gln	Val Val Arg Glu Ala Ile			
	665		670		675
Leu Glu Asp Leu	Gln Lys Ile Gly Lys	Glu Ser Gly Leu Lys Thr			
	680		685		690
Phe Glu Gln Val	Lys Ala Ile Phe Leu	His Pro Glu Pro Phe Ser			
	695		700		705
Ile Glu Asn Gly	Leu Leu Thr Pro Thr	Leu Lys Ala Lys Arg Gly			
	710		715		720
Glu Leu Ser Lys	Tyr Phe Arg Thr Gln	Ile Asp Ser Leu Tyr Glu			
	725		730		735
His Ile Gln Asp					

<210> 3

<211> 589

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 2454288CD1

<400> 3

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

Val	Leu	Tyr	Lys	Ile	Asp	Val	Pro	Ala	Asn	Arg	Tyr	Asp	Leu	Leu
				65					70					75
Cys	Leu	Glu	Gly	Leu	Val	Arg	Gly	Leu	Gln	Val	Phe	Lys	Glu	Arg
				80					85					90
Ile	Lys	Ala	Pro	Val	Tyr	Lys	Arg	Val	Met	Pro	Asp	Gly	Lys	Ile
				95					100					105
Gln	Lys	Leu	Ile	Ile	Thr	Glu	Glu	Thr	Ala	Lys	Ile	Arg	Pro	Phe
				110					115					120
Ala	Val	Ala	Ala	Val	Leu	Arg	Asn	Ile	Lys	Phe	Thr	Lys	Asp	Arg
				125					130					135
Tyr	Asp	Ser	Phe	Ile	Glu	Leu	Gln	Glu	Lys	Leu	His	Gln	Asn	Ile
				140					145					150
Cys	Arg	Lys	Arg	Ala	Leu	Val	Ala	Ile	Gly	Thr	His	Asp	Leu	Asp
				155					160					165
Thr	Leu	Ser	Gly	Pro	Phe	Thr	Tyr	Thr	Ala	Lys	Arg	Pro	Ser	Asp
				170					175					180
Ile	Lys	Phe	Lys	Pro	Leu	Asn	Lys	Thr	Lys	Glu	Tyr	Thr	Ala	Cys
				185					190					195
Glu	Leu	Met	Asn	Ile	Tyr	Lys	Thr	Asp	Asn	His	Leu	Lys	His	Tyr
				200					205					210
Leu	His	Ile	Ile	Glu	Asn	Lys	Pro	Leu	Tyr	Pro	Val	Ile	Tyr	Asp
				215					220					225
Ser	Asn	Gly	Val	Val	Leu	Ser	Met	Pro	Pro	Ile	Ile	Asn	Gly	Asp
				230					235					240
His	Ser	Arg	Ile	Thr	Val	Asn	Thr	Arg	Asn	Ile	Phe	Ile	Glu	Cys
				245					250					255
Thr	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Lys	Ala	Lys	Ile	Val	Leu	Asp	Ile	Ile
				260					265					270
Val	Thr	Met	Phe	Ser	Glu	Tyr	Cys	Glu	Asn	Gln	Phe	Thr	Val	Glu
				275					280					285
Ala	Ala	Glu	Val	Val	Phe	Pro	Asn	Gly	Lys	Ser	His	Thr	Phe	Pro
				290					295					300
Glu	Leu	Ala	Tyr	Arg	Lys	Glu	Met	Val	Arg	Ala	Asp	Leu	Ile	Asn
				305					310					315
Lys	Lys	Val	Gly	Ile	Arg	Glu	Thr	Pro	Glu	Asn	Leu	Ala	Lys	Leu
				320					325					330
Leu	Thr	Arg	Met	Tyr	Leu	Lys	Ser	Glu	Val	Ile	Gly	Asp	Gly	Asn
				335					340					345
Gln	Ile	Glu	Ile	Glu	Ile	Pro	Pro	Thr	Arg	Ala	Asp	Ile	Ile	His
				350					355					360
Ala	Cys	Asp	Ile	Val	Glu	Asp	Ala	Ala	Ile	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Asn
				365					370					375
Asn	Ile	Gln	Met	Thr	Leu	Pro	Lys	Thr	Tyr	Thr	Ile	Ala	Asn	Gln
				380					385					390
Phe	Pro	Leu	Asn	Lys	Leu	Thr	Glu	Leu	Leu	Arg	His	Asp	Met	Ala
				395					400					405
Ala	Ala	Gly	Phe	Thr	Glu	Ala	Leu	Thr	Phe	Ala	Leu	Cys	Ser	Gln
				410					415					420
Glu	Asp	Ile	Ala	Asp	Lys	Leu	Gly	Val	Asp	Ile	Ser	Ala	Thr	Lys
				425					430					435
Ala	Val	His	Ile	Ser	Asn	Pro	Lys	Thr	Ala	Glu	Phe	Gln	Val	Ala
				440					445					450
Arg	Thr	Thr	Leu	Leu	Pro	Gly	Leu	Leu	Lys	Thr	Ile	Ala	Ala	Asn
				455					460					465
Arg	Lys	Met	Pro	Leu	Pro	Leu	Lys	Leu	Phe	Glu	Ile	Ser	Asp	Ile
				470					475					480
Val	Ile	Lys	Asp	Ser	Asn	Thr	Asp	Val	Gly	Ala	Lys	Asn	Tyr	Arg
				485					490					495
His	Leu	Cys	Ala	Val	Tyr	Tyr	Asn	Lys	Asn	Pro	Gly	Phe	Glu	Ile
				500					505					510
Ile	His	Gly	Leu	Leu	Asp	Arg	Ile	Met	Gln	Leu	Leu	Asp	Val	Pro
				515					520					525
Pro	Gly	Glu	Asp	Lys	Gly	Gly	Tyr	Val	Ile	Lys	Ala	Ser	Glu	Gly
				530					535					540
Pro	Ala	Phe	Phe	Pro	Gly	Arg	Cys	Ala	Glu	Ile	Phe	Ala	Arg	Gly

Gln Ser Val Gly	545	Leu Gly Val Leu	550	His Pro Asp Val Ile Thr	555
Lys Phe Glu Leu Thr	560	Met Pro Cys Ser	565	Ser Leu Glu Ile Asn Ile	570
Gly Pro Phe Leu	575		580		585

<210> 4
 <211> 157
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 1513539CD1

<400> 4
 Met Lys Leu Lys Cys Ile Phe Gly Phe Ala Thr Lys Glu Thr Ser
 1 5 10 15
 Cys Tyr Asn Val Thr Asn Ile Gly Phe Lys Ser Pro Ser Asp Phe
 20 25 30
 Trp Gln Ser Val His Ser Thr Leu Pro Arg Glu Leu Ala Pro Cys
 35 40 45
 Leu Val Phe Asn Thr Ser Pro Asn Leu Ala Leu Phe Ser Ala Ala
 50 55 60
 Phe Ala Phe Ile Val Val Lys Asp Ser Ala Gly Asp Ser Asp Val
 65 70 75
 Val Val Gln Glu Leu Lys Ser Met Val Ala Thr Lys Ile Ala Lys
 80 85 90
 Tyr Ala Val Pro Asp Glu Ile Leu Val Val Lys Arg Leu Pro Lys
 95 100 105
 Thr Arg Ser Gly Lys Val Met Arg Arg Leu Leu Arg Lys Ile Ile
 110 115 120
 Thr Ser Glu Ala Gln Glu Leu Gly Asp Thr Thr Thr Leu Glu Asp
 125 130 135
 Pro Ser Ile Ile Ala Glu Ile Leu Ser Val Tyr Gln Lys Cys Lys
 140 145 150
 Asp Lys Gln Ala Ala Lys
 155

<210> 5
 <211> 643
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2148623CD1

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

Phe	Ile	Tyr	Tyr	Gln	Ala	Ser	Ser	His	Tyr	Leu	Trp	Phe	Gly	Arg
				125					130					135
Asp	Phe	Phe	Gly	Arg	Arg	Ser	Leu	Leu	Trp	His	Phe	Ser	Asn	Leu
				140					145					150
Gly	Lys	Ser	Phe	Cys	Leu	Ser	Ser	Val	Gly	Thr	Gln	Thr	Ser	Gly
				155					160					165
Leu	Ala	Asn	Gln	Trp	Gln	Glu	Val	Pro	Ala	Ser	Gly	Leu	Phe	Arg
				170					175					180
Ile	Asp	Leu	Lys	Ser	Thr	Val	Ile	Ser	Arg	Cys	Ile	Ile	Leu	Gln
				185					190					195
Leu	Tyr	Pro	Trp	Lys	Tyr	Ile	Ser	Arg	Glu	Asn	Ile	Ile	Glu	Glu
				200					205					210
Asn	Val	Asn	Ser	Leu	Ser	Gln	Ile	Ser	Ala	Asp	Leu	Pro	Ala	Phe
				215					220					225
Val	Ser	Val	Val	Ala	Asn	Glu	Ala	Lys	Leu	Tyr	Leu	Glu	Lys	Pro
				230					235					240
Val	Val	Pro	Leu	Asn	Met	Met	Leu	Pro	Gln	Ala	Ala	Leu	Glu	Thr
				245					250					255
His	Cys	Ser	Asn	Ile	Ser	Asn	Val	Pro	Pro	Thr	Arg	Glu	Ile	Leu
				260					265					270
Gln	Val	Phe	Leu	Thr	Asp	Val	His	Met	Lys	Glu	Val	Ile	Gln	Gln
				275					280					285
Phe	Ile	Asp	Val	Leu	Ser	Val	Ala	Val	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Cys
				290					295					300
Leu	Pro	Arg	Asp	Glu	Asn	Leu	Thr	Ala	Asn	Glu	Val	Leu	Lys	Thr
				305					310					315
Cys	Asp	Arg	Lys	Ala	Asn	Val	Ala	Ile	Leu	Phe	Ser	Gly	Gly	Ile
				320					325					330
Asp	Ser	Met	Val	Ile	Ala	Thr	Leu	Ala	Asp	Arg	His	Ile	Pro	Leu
				335					340					345
Asp	Glu	Pro	Ile	Asp	Leu	Leu	Asn	Val	Ala	Phe	Ile	Ala	Glu	Glu
				350					355					360
Lys	Thr	Met	Pro	Thr	Thr	Phe	Asn	Arg	Glu	Gly	Asn	Lys	Gln	Lys
				365					370					375
Asn	Lys	Cys	Glu	Ile	Pro	Ser	Glu	Glu	Phe	Ser	Lys	Asp	Val	Ala
				380					385					390
Ala	Ala	Ala	Ala	Asp	Ser	Pro	Asn	Lys	His	Val	Ser	Val	Pro	Asp
				395					400					405
Arg	Ile	Thr	Gly	Arg	Ala	Gly	Leu	Lys	Glu	Leu	Gln	Ala	Val	Ser
				410					415					420
Pro	Ser	Arg	Ile	Trp	Asn	Phe	Val	Glu	Ile	Asn	Val	Ser	Met	Glu
				425					430					435
Glu	Leu	Gln	Lys	Leu	Arg	Arg	Thr	Arg	Ile	Cys	His	Leu	Ile	Arg
				440					445					450
Pro	Leu	Asp	Thr	Val	Leu	Asp	Asp	Ser	Ile	Gly	Cys	Ala	Val	Trp
				455					460					465
Phe	Ala	Ser	Arg	Gly	Ile	Gly	Trp	Leu	Val	Ala	Gln	Glu	Gly	Val
				470					475					480
Lys	Ser	Tyr	Gln	Ser	Asn	Ala	Lys	Val	Val	Leu	Thr	Gly	Ile	Gly
				485					490					495
Ala	Asp	Glu	Gln	Leu	Ala	Gly	Tyr	Ser	Arg	His	Arg	Val	Arg	Phe
				500					505					510
Gln	Ser	His	Gly	Leu	Glu	Gly	Leu	Asn	Lys	Glu	Ile	Met	Met	Glu
				515					520					525
Leu	Gly	Arg	Ile	Ser	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Arg	Asp	Asp	Arg	Val
				530					535					540
Ile	Gly	Asp	His	Gly	Lys	Glu	Ala	Arg	Phe	Pro	Phe	Leu	Asp	Glu
				545					550					555
Asn	Val	Val	Ser	Phe	Leu	Asn	Ser	Leu	Pro	Ile	Trp	Glu	Lys	Ala
				560					565					570
Asn	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Gly	Ile	Gly	Glu	Lys	Leu	Leu	Leu	Arg
				575					580					585
Leu	Ala	Ala	Val	Glu	Leu	Gly	Leu	Thr	Ala	Ser	Ala	Leu	Leu	Pro
				590					595					600
Lys	Arg	Ala	Met	Gln	Phe	Gly	Ser	Arg	Ile	Ala	Lys	Met	Glu	Lys

```

605      610      615
Ile Asn Glu Lys Ala Ser Asp Lys Cys Gly Arg Leu Gln Ile Met
620      625      630
Ser Leu Glu Asn Leu Ser Ile Glu Lys Glu Thr Lys Leu
635      640

<210> 6
<211> 660
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2579405CD1

<400> 6
Met Asp Ile Leu Val Ser Glu Cys Ser Ala Arg Leu Leu Gln Gln
1      5      10      15
Glu Glu Glu Ile Lys Ser Leu Thr Ala Glu Ile Asp Arg Leu Lys
20     25     30
Asn Cys Gly Cys Leu Gly Ala Ser Pro Asn Leu Glu Gln Leu Gln
35     40     45
Glu Glu Asn Leu Lys Leu Lys Tyr Arg Leu Asn Ile Leu Arg Lys
50     55     60
Ser Leu Gln Ala Glu Arg Asn Lys Pro Thr Lys Asn Met Ile Asn
65     70     75
Ile Ile Ser Arg Glu Gln Glu Val Phe Gly His Ala Ile Lys Ala
80     85     90
Ala Tyr Pro Asp Leu Glu Asn Pro Pro Leu Leu Val Thr Pro Ser
95     100    105
Gln Gln Ala Lys Phe Gly Asp Tyr Gln Cys Asn Ser Ala Met Gly
110    115    120
Ile Ser Gln Met Leu Lys Thr Lys Glu Gln Lys Val Asn Pro Arg
125    130    135
Glu Ile Ala Glu Asn Ile Thr Lys His Leu Pro Asp Asn Glu Cys
140    145    150
Ile Glu Lys Val Glu Ile Ala Gly Pro Gly Phe Ile Asn Val His
155    160    165
Leu Arg Lys Asp Phe Val Ser Glu Gln Leu Thr Ser Leu Leu Val
170    175    180
Asn Gly Val Gln Leu Pro Ala Leu Gly Glu Asn Lys Lys Val Ile
185    190    195
Val Asp Phe Ser Ser Pro Asn Ile Ala Lys Glu Met His Val Gly
200    205    210
His Leu Arg Ser Thr Ile Ile Gly Glu Ser Ile Ser Arg Leu Phe
215    220    225
Glu Phe Ala Gly Tyr Asp Val Leu Arg Leu Asn His Val Gly Asp
230    235    240
Trp Gly Thr Gln Phe Gly Met Leu Ile Ala His Leu Gln Asp Lys
245    250    255
Phe Pro Asp Tyr Leu Thr Val Ser Pro Pro Ile Gly Asp Leu Gln
260    265    270
Val Phe Tyr Lys Glu Ser Lys Lys Arg Phe Asp Thr Glu Glu Glu
275    280    285
Phe Lys Lys Arg Ala Tyr Gln Cys Val Val Leu Leu Gln Gly Lys
290    295    300
Asn Pro Asp Ile Thr Lys Ala Trp Lys Leu Ile Cys Asp Val Ser
305    310    315
Arg Gln Glu Leu Asn Lys Ile Tyr Asp Ala Leu Asp Val Ser Leu
320    325    330
Ile Glu Arg Gly Glu Ser Phe Tyr Gln Asp Arg Met Asn Asp Ile
335    340    345
Val Lys Glu Phe Glu Asp Arg Gly Phe Val Gln Val Asp Asp Gly
350    355    360
Arg Lys Ile Val Phe Val Pro Gly Cys Ser Ile Pro Leu Thr Ile
365    370    375

```

```

Val Lys Ser Asp Gly Gly Tyr Thr Tyr Asp Thr Ser Asp Leu Ala
380 385
Ala Ile Lys Gln Arg Leu Phe Glu Glu Lys Ala Asp Met Ile Ile
395 400
Tyr Val Val Asp Asn Gly Gln Ser Val His Phe Gln Thr Ile Phe
410 415
Ala Ala Ala Gln Met Ile Gly Trp Tyr Asp Pro Lys Val Thr Arg
425 430
Val Phe His Ala Gly Phe Gly Val Val Leu Gly Glu Asp Lys Lys
440 445
Lys Phe Lys Thr Arg Ser Gly Glu Thr Val Arg Leu Met Asp Leu
455 460
Leu Gly Glu Gly Leu Lys Arg Ser Met Asp Lys Leu Lys Glu Lys
470 475
Glu Arg Asp Lys Val Leu Thr Ala Glu Glu Leu Asn Ala Ala Gln
485 490
Thr Ser Val Ala Tyr Gly Cys Ile Lys Tyr Ala Asp Leu Ser His
500 505
Asn Arg Leu Asn Asp Tyr Ile Phe Ser Phe Asp Lys Met Leu Asp
515 520
Asp Arg Gly Asn Thr Ala Ala Tyr Leu Leu Tyr Ala Phe Thr Arg
530 535
Ile Arg Ser Ile Ala Arg Leu Ala Asn Ile Asp Glu Glu Met Leu
545 550
Gln Lys Ala Ala Arg Glu Thr Lys Ile Leu Leu Asp His Glu Lys
560 565
Glu Trp Lys Leu Gly Arg Cys Ile Leu Arg Phe Pro Glu Ile Leu
575 580
Gln Lys Ile Leu Asp Asp Leu Phe Leu His Thr Leu Cys Asp Tyr
590 595
Ile Tyr Glu Leu Ala Thr Ala Phe Thr Glu Phe Tyr Asp Ser Cys
605 610
Tyr Cys Val Glu Lys Asp Arg Gln Thr Gly Lys Ile Leu Lys Val
620 625
Asn Met Trp Arg Met Leu Leu Cys Glu Ala Val Ala Ala Val Met
635 640
Ala Lys Gly Phe Asp Ile Leu Gly Ile Lys Pro Val Gln Arg Met
650 655

```

```

<210> 7
<211> 725
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2662427CD1

```

```

<400> 7
Met Ala Ala Ala Ser Ala Val Ser Val Leu Leu Val Ala Ala Glu
1 5 10 15
Arg Asn Arg Trp His Arg Leu Pro Ser Leu Leu Leu Pro Pro Arg
20 25 30
Thr Trp Val Trp Arg Gln Arg Thr Met Lys Tyr Thr Thr Ala Thr
35 40 45
Gly Arg Asn Ile Thr Lys Val Leu Ile Ala Asn Arg Gly Glu Ile
50 55 60
Ala Cys Arg Val Met Arg Thr Ala Lys Lys Leu Gly Val Gln Thr
65 70 75
Val Ala Val Tyr Ser Glu Ala Asp Arg Asn Ser Met His Val Asp
80 85 90
Met Ala Asp Glu Ala Tyr Ser Ile Gly Pro Ala Pro Ser Gln Gln
95 100 105
Ser Tyr Leu Ser Met Glu Lys Ile Ile Gln Val Ala Lys Thr Ser
110 115 120

```

Ala	Ala	Gln	Ala	Ile	His	Pro	Gly	Cys	Arg	Phe	Leu	Ser	Glu	Asn
				125					130					135
Met	Glu	Phe	Ala	Glu	Leu	Cys	Lys	Gln	Glu	Gly	Ile	Ile	Phe	Ile
				140					145					150
Gly	Pro	Pro	Pro	Ser	Ala	Ile	Arg	Asp	Met	Gly	Ile	Lys	Ser	Thr
				155					160					165
Ser	Lys	Ser	Ile	Met	Ala	Ala	Ala	Gly	Val	Pro	Val	Val	Glu	Gly
				170					175					180
Tyr	His	Gly	Glu	Asp	Gln	Ser	Asp	Gln	Cys	Leu	Lys	Glu	His	Ala
				185					190					195
Arg	Arg	Ile	Gly	Tyr	Pro	Val	Met	Ile	Lys	Ala	Val	Arg	Gly	Gly
				200					205					210
Gly	Gly	Lys	Gly	Met	Arg	Ile	Val	Arg	Ser	Glu	Gln	Glu	Phe	Gln
				215					220					225
Glu	Gln	Leu	Glu	Ser	Ala	Arg	Arg	Glu	Ala	Lys	Lys	Ser	Phe	Asn
				230					235					240
Asp	Asp	Ala	Met	Leu	Ile	Glu	Lys	Phe	Val	Asp	Thr	Pro	Arg	His
				245					250					255
Val	Glu	Val	Gln	Val	Phe	Gly	Asp	His	His	Gly	Asn	Ala	Val	Tyr
				260					265					270
Leu	Phe	Glu	Arg	Asp	Cys	Ser	Val	Gln	Arg	Arg	His	Gln	Lys	Ile
				275					280					285
Ile	Glu	Glu	Ala	Pro	Ala	Pro	Gly	Ile	Lys	Ser	Glu	Val	Arg	Lys
				290					295					300
Lys	Leu	Gly	Glu	Ala	Ala	Val	Arg	Ala	Ala	Lys	Ala	Val	Asn	Tyr
				305					310					315
Val	Gly	Ala	Gly	Thr	Val	Glu	Phe	Ile	Met	Asp	Ser	Lys	His	Asn
				320					325					330
Phe	Cys	Phe	Met	Glu	Met	Asn	Thr	Arg	Leu	Gln	Val	Glu	His	Pro
				335					340					345
Val	Thr	Glu	Met	Ile	Thr	Gly	Thr	Asp	Leu	Val	Glu	Trp	Gln	Leu
				350					355					360
Arg	Ile	Ala	Ala	Gly	Glu	Lys	Ile	Pro	Leu	Ser	Gln	Glu	Glu	Ile
				365					370					375
Thr	Leu	Gln	Gly	His	Ala	Phe	Glu	Ala	Arg	Ile	Tyr	Ala	Glu	Asp
				380					385					390
Pro	Ser	Asn	Asn	Phe	Met	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Leu	Val	His	Leu
				395					400					405
Ser	Thr	Pro	Arg	Ala	Asp	Pro	Ser	Thr	Arg	Ile	Glu	Thr	Gly	Val
				410					415					420
Arg	Gln	Gly	Asp	Glu	Val	Ser	Val	His	Tyr	Asp	Pro	Met	Ile	Ala
				425					430					435
Lys	Leu	Val	Val	Trp	Ala	Ala	Asp	Arg	Gln	Ala	Ala	Leu	Thr	Lys
				440					445					450
Leu	Arg	Tyr	Ser	Leu	Arg	Gln	Tyr	Asn	Ile	Val	Gly	Leu	Pro	Thr
				455					460					465
Asn	Ile	Asp	Phe	Leu	Leu	Asn	Leu	Ser	Gly	His	Pro	Glu	Phe	Glu
				470					475					480
Ala	Gly	Asn	Val	His	Thr	Asp	Phe	Ile	Pro	Gln	His	His	Lys	Gln
				485					490					495
Leu	Leu	Leu	Ser	Arg	Lys	Ala	Ala	Ala	Lys	Glu	Ser	Leu	Cys	Gln
				500					505					510
Ala	Ala	Leu	Gly	Leu	Ile	Leu	Lys	Glu	Lys	Ala	Met	Thr	Asp	Thr
				515					520					525
Phe	Thr	Leu	Gln	Ala	His	Asp	Gln	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ser	Ser
				530					535					540
Ser	Gly	Arg	Arg	Leu	Asn	Ile	Ser	Tyr	Thr	Arg	Asn	Met	Thr	Leu
				545					550					555
Lys	Asp	Gly	Lys	Asn	Asn	Val	Ala	Ile	Ala	Val	Thr	Tyr	Asn	His
				560					565					570
Asp	Gly	Ser	Tyr	Ser	Met	Gln	Ile	Glu	Asp	Lys	Thr	Phe	Gln	Val
				575					580					585
Leu	Gly	Asn	Leu	Tyr	Ser	Glu	Gly	Asp	Cys	Thr	Tyr	Leu	Lys	Cys
				590					595					600
Ser	Val	Asn	Gly	Val	Ala	Ser	Lys	Ala	Lys	Leu	Ile	Ile	Leu	Glu

```

        605          610          615
Asn Thr Ile Tyr Leu Phe Ser Lys Glu Gly Ser Ile Glu Ile Asp
        620          625          630
Ile Pro Val Pro Lys Tyr Leu Ser Ser Val Ser Ser Gln Glu Thr
        635          640          645
Gln Gly Gly Pro Leu Ala Pro Met Thr Gly Thr Ile Glu Lys Val
        650          655          660
Phe Val Lys Ala Gly Asp Lys Val Lys Ala Gly Asp Ser Leu Met
        665          670          675
Val Met Ile Ala Met Lys Met Glu His Thr Ile Lys Ser Pro Lys
        680          685          690
Asp Gly Thr Val Lys Lys Val Phe Tyr Arg Glu Gly Ala Gln Ala
        695          700          705
Asn Arg His Thr Pro Leu Val Glu Phe Glu Glu Glu Glu Ser Asp
        710          715          720
Lys Arg Glu Ser Glu
        725

<210> 8
<211> 644
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2844928CD1

<400> 8
Met Ala Val Tyr Val Gly Met Leu Arg Leu Gly Arg Leu Cys Ala
  1          5          10          15
Gly Ser Ser Gly Val Leu Gly Ala Arg Ala Ala Leu Ser Arg Ser
  20          25          30
Trp Gln Glu Ala Arg Leu Gln Gly Val Arg Phe Leu Ser Ser Arg
  35          40          45
Glu Val Asp Arg Met Val Ser Thr Pro Ile Gly Gly Leu Ser Tyr
  50          55          60
Val Gln Gly Cys Thr Lys Lys His Leu Asn Ser Lys Thr Val Gly
  65          70          75
Gln Cys Leu Glu Thr Thr Ala Gln Arg Val Pro Glu Arg Glu Ala
  80          85          90
Leu Val Val Leu His Glu Asp Val Arg Leu Thr Phe Ala Gln Leu
  95          100         105
Lys Glu Glu Val Asp Lys Ala Ala Ser Gly Leu Leu Ser Ile Gly
  110         115         120
Leu Cys Lys Gly Asp Arg Leu Gly Met Trp Gly Pro Asn Ser Tyr
  125         130         135
Ala Trp Val Leu Met Gln Leu Ala Thr Ala Gln Ala Gly Ile Ile
  140         145         150
Leu Val Ser Val Asn Pro Ala Tyr Gln Ala Met Glu Leu Glu Tyr
  155         160         165
Val Leu Lys Lys Val Gly Cys Lys Ala Leu Val Phe Pro Lys Gln
  170         175         180
Phe Lys Thr Gln Gln Tyr Tyr Asn Val Leu Lys Gln Ile Cys Pro
  185         190         195
Glu Val Glu Asn Ala Gln Pro Gly Ala Leu Lys Ser Gln Arg Leu
  200         205         210
Pro Asp Leu Thr Thr Val Ile Ser Val Asp Ala Pro Leu Pro Gly
  215         220         225
Thr Leu Leu Leu Asp Glu Val Val Ala Ala Gly Ser Thr Arg Gln
  230         235         240
His Leu Asp Gln Leu Gln Tyr Asn Gln Gln Phe Leu Ser Cys His
  245         250         255
Asp Pro Ile Asn Ile Gln Phe Thr Ser Gly Thr Thr Gly Ser Pro
  260         265         270
Lys Gly Ala Thr Leu Ser His Tyr Asn Ile Val Asn Asn Ser Asn
  275         280         285

```

```

Ile Leu Gly Glu Arg Leu Lys Leu His Glu Lys Thr Pro Glu Gln
290 295 300
Leu Arg Met Ile Leu Pro Asn Pro Leu Tyr His Cys Leu Gly Ser
305 310 315
Val Ala Gly Thr Met Met Cys Leu Met Tyr Gly Ala Thr Leu Ile
320 325 330
Leu Ala Ser Pro Ile Phe Asn Gly Lys Lys Ala Leu Glu Ala Ile
335 340 345
Ser Arg Glu Arg Gly Thr Phe Leu Tyr Gly Thr Pro Thr Met Phe
350 355 360
Val Asp Ile Leu Asn Gln Pro Asp Phe Ser Ser Tyr Asp Ile Ser
365 370 375
Thr Met Cys Gly Gly Val Ile Ala Gly Ser Pro Ala Pro Pro Glu
380 385 390
Leu Ile Arg Ala Ile Ile Asn Lys Ile Asn Met Lys Asp Leu Val
395 400 405
Val Ala Tyr Gly Thr Thr Glu Asn Ser Pro Val Thr Phe Ala His
410 415 420
Phe Pro Glu Asp Thr Val Glu Gln Lys Ala Glu Ser Val Gly Arg
425 430 435
Ile Met Pro His Thr Glu Ala Arg Ile Met Asn Met Glu Ala Gly
440 445 450
Thr Leu Ala Lys Leu Asn Thr Pro Gly Glu Leu Cys Ile Arg Gly
455 460 465
Tyr Cys Val Met Leu Gly Tyr Trp Gly Glu Pro Gln Lys Thr Glu
470 475 480
Glu Ala Val Asp Gln Asp Lys Trp Tyr Trp Thr Gly Asp Val Ala
485 490 495
Thr Met Asn Glu Gln Gly Phe Cys Lys Ile Val Gly Arg Ser Lys
500 505 510
Asp Met Ile Ile Arg Gly Gly Glu Asn Ile Tyr Pro Ala Glu Leu
515 520 525
Glu Asp Phe Phe His Thr His Pro Lys Val Gln Glu Val Gln Val
530 535 540
Arg His Leu Ala Gln Val Ser Pro Gln Lys Gln Glu Thr His Met
545 550 555
Asn Thr Val Met Ser Asp Ile Phe Leu Trp Pro Trp Asn Val Val
560 565 570
Gly Val Lys Asp Asp Arg Met Gly Glu Glu Ile Cys Ala Cys Ile
575 580 585
Arg Leu Lys Asp Gly Glu Glu Thr Thr Val Glu Glu Ile Lys Ala
590 595 600
Phe Cys Lys Gly Lys Ile Ser His Phe Lys Ile Pro Lys Tyr Ile
605 610 615
Val Phe Val Thr Asn Tyr Pro Leu Thr Ile Ser Gly Lys Ile Gln
620 625 630
Lys Phe Lys Leu Arg Glu Gln Met Glu Arg His Leu Asn Leu
635 640
<210> 9
<211> 504
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3231586CD1

<400> 9
Met Phe Pro Arg Glu Lys Thr Trp Asn Ile Ser Phe Ala Gly Cys
1 5 10 15
Gly Phe Leu Gly Val Tyr Tyr Val Gly Val Ala Ser Cys Leu Arg
20 25 30
Glu His Ala Pro Phe Leu Val Ala Asn Ala Thr His Ile Tyr Gly
35 40 45
Ala Ser Ala Gly Ala Leu Thr Ala Thr Ala Leu Val Thr Gly Val

```

	50		55		60									
Cys	Leu	Gly	Glu	Ala	Gly	Ala	Lys	Phe	Ile	Glu	Val	Ser	Lys	Glu
	65													75
Ala	Arg	Lys	Arg	Phe	Leu	Gly	Pro	Leu	His	Pro	Ser	Phe	Asn	Leu
	80													90
Val	Lys	Ile	Ile	Arg	Ser	Phe	Leu	Leu	Lys	Val	Leu	Pro	Ala	Asp
	95													105
Ser	His	Glu	His	Ala	Ser	Gly	Arg	Leu	Gly	Ile	Ser	Leu	Thr	Arg
	110													120
Val	Ser	Asp	Gly	Glu	Asn	Val	Ile	Ile	Ser	His	Phe	Asn	Ser	Lys
	125													135
Asp	Glu	Leu	Ile	Gln	Ala	Asn	Val	Cys	Ser	Gly	Phe	Ile	Pro	Val
	140													150
Tyr	Cys	Gly	Leu	Ile	Pro	Pro	Ser	Leu	Gln	Gly	Val	Arg	Tyr	Val
	155													165
Asp	Gly	Gly	Ile	Ser	Asp	Asn	Leu	Pro	Leu	Tyr	Glu	Leu	Lys	Asn
	170													180
Thr	Ile	Thr	Val	Ser	Pro	Phe	Ser	Gly	Glu	Ser	Asp	Ile	Cys	Pro
	185													195
Gln	Asp	Ser	Ser	Thr	Asn	Ile	His	Glu	Leu	Arg	Val	Thr	Asn	Thr
	200													210
Ser	Ile	Gln	Phe	Asn	Leu	Arg	Asn	Leu	Tyr	Arg	Leu	Ser	Lys	Ala
	215													225
Leu	Phe	Pro	Pro	Glu	Pro	Leu	Val	Leu	Arg	Glu	Met	Cys	Lys	Gln
	230													240
Gly	Tyr	Arg	Asp	Gly	Leu	Arg	Phe	Leu	Gln	Arg	Asn	Gly	Leu	Leu
	245													255
Asn	Arg	Pro	Asn	Pro	Leu	Leu	Ala	Leu	Pro	Pro	Ala	Arg	Pro	His
	260													270
Gly	Pro	Glu	Asp	Lys	Asp	Gln	Ala	Val	Glu	Ser	Ala	Gln	Ala	Glu
	275													285
Asp	Tyr	Ser	Gln	Leu	Pro	Gly	Glu	Asp	His	Ile	Leu	Glu	His	Leu
	290													300
Pro	Ala	Arg	Leu	Asn	Glu	Ala	Leu	Leu	Glu	Ala	Cys	Val	Glu	Pro
	305													315
Thr	Asp	Leu	Leu	Thr	Thr	Leu	Ser	Asn	Met	Leu	Pro	Val	Arg	Leu
	320													330
Ala	Thr	Ala	Met	Met	Val	Pro	Tyr	Thr	Leu	Pro	Leu	Glu	Ser	Ala
	335													345
Leu	Ser	Phe	Thr	Ile	Arg	Leu	Leu	Glu	Trp	Leu	Pro	Asp	Val	Pro
	350													360
Glu	Asp	Ile	Arg	Trp	Met	Lys	Glu	Gln	Thr	Gly	Ser	Ile	Cys	Gln
	365													375
Tyr	Leu	Val	Met	Arg	Ala	Lys	Arg	Lys	Leu	Gly	Arg	His	Leu	Pro
	380													390
Ser	Arg	Leu	Pro	Glu	Gln	Val	Glu	Leu	Arg	Arg	Val	Gln	Ser	Leu
	395													405
Pro	Ser	Val	Pro	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Tyr	Arg	Glu	Ala	Leu	Pro
	410													420
Gly	Trp	Met	Arg	Asn	Asn	Leu	Ser	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu	Ala	Lys
	425													435
Trp	Glu	Glu	Cys	Gln	Arg	Gln	Leu	Leu	Leu	Gly	Leu	Phe	Cys	Thr
	440													450
Asn	Val	Ala	Phe	Pro	Pro	Glu	Ala	Leu	Arg	Met	Arg	Ala	Pro	Ala
	455													465
Asp	Pro	Ala	Pro	Ala	Pro	Ala	Asp	Pro	Ala	Ser	Pro	Gln	His	Gln
	470													480
Leu	Ala	Gly	Pro	Ala	Pro	Leu	Leu	Ser	Thr	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala
	485													495
Arg	Pro	Val	Ile	Gly	Ala	Leu	Gly	Leu						
	500													

<210> 10
 <211> 489
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 3580770CD1

<400> 10

Met	Lys	Tyr	Ile	Leu	Val	Thr	Gly	Gly	Val	Ile	Ser	Gly	Ile	Gly	1	5	10	15
Lys	Gly	Ile	Ile	Ala	Ser	Ser	Ile	Gly	Thr	Ile	Leu	Lys	Ser	Cys	20	25	30	35
Gly	Leu	Arg	Val	Thr	Ala	Ile	Lys	Ile	Asp	Pro	Tyr	Ile	Asn	Ile	40	45	50	55
Asp	Ala	Gly	Thr	Phe	Ser	Pro	Tyr	Glu	His	Gly	Glu	Val	Phe	Val	60	65	70	75
Leu	Asn	Asp	Gly	Gly	Glu	Val	Asp	Leu	Asp	Leu	Gly	Asp	Tyr	Glu	80	85	90	95
Arg	Phe	Leu	Asp	Ile	Asn	Leu	Tyr	Lys	Asp	Thr	Ile	Val	Thr	Thr	100	105	110	115
Gly	Lys	Ile	Tyr	Gln	His	Val	Ile	Asn	Lys	Glu	Arg	Arg	Gly	Asp	120	125	130	135
Tyr	Leu	Gly	Lys	Thr	Val	Gln	Val	Val	Pro	His	Ile	Thr	Asp	Ala	140	145	150	155
Val	Gln	Glu	Trp	Val	Met	Asn	Gln	Ala	Lys	Val	Pro	Val	Asp	Gly	160	165	170	175
Asn	Lys	Glu	Glu	Pro	Gln	Ile	Cys	Val	Ile	Glu	Leu	Gly	Gly	Thr	180	185	190	195
Ile	Gly	Asp	Ile	Glu	Gly	Met	Pro	Phe	Val	Glu	Ala	Phe	Arg	Gln	200	205	210	215
Phe	Gln	Phe	Lys	Ala	Lys	Arg	Glu	Asn	Phe	Cys	Asn	Ile	His	Val	220	225	230	235
Ser	Leu	Val	Pro	Gln	Leu	Ser	Ala	Thr	Gly	Glu	Gln	Lys	Thr	Lys	240	245	250	255
Pro	Thr	Gln	Asn	Ser	Val	Arg	Ala	Leu	Arg	Gly	Leu	Gly	Leu	Ser	260	265	270	275
Pro	Asp	Leu	Ile	Val	Cys	Arg	Ser	Ser	Thr	Pro	Ile	Glu	Met	Ala	280	285	290	295
Val	Lys	Glu	Lys	Ile	Ser	Met	Phe	Cys	His	Val	Asn	Pro	Glu	Gln	300	305	310	315
Val	Ile	Cys	Ile	His	Asp	Val	Ser	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Pro	Val	320	325	330	335
Leu	Leu	Glu	Glu	Gln	Ser	Ile	Val	Lys	Tyr	Phe	Lys	Glu	Arg	Leu	340	345	350	355
His	Leu	Pro	Ile	Gly	Asp	Ser	Ala	Ser	Asn	Leu	Leu	Phe	Lys	Trp	360	365	370	375
Arg	Asn	Met	Ala	Asp	Arg	Tyr	Glu	Arg	Leu	Gln	Lys	Ile	Cys	Ser	380	385	390	395
Ile	Ala	Leu	Val	Gly	Lys	Tyr	Thr	Lys	Leu	Arg	Asp	Cys	Tyr	Ala	400	405	410	415
Ser	Val	Phe	Lys	Ala	Leu	Glu	His	Ser	Ala	Leu	Ala	Ile	Asn	His	420	425	430	435
Lys	Leu	Asn	Leu	Met	Val	Ile	Asp	Met	Pro	Glu	His	Asn	Pro	Gly	440	445	450	

Thr Gly Asn Leu Asn Ala Tyr Leu Gln Gln Gly Cys Lys Leu Ser
 455 460 465
 Ser Ser Asp Arg Tyr Ser Asp Ala Ser Asp Asp Ser Phe Ser Glu
 470 475 480
 Pro Arg Ile Ala Glu Leu Glu Ile Ser
 485

<210> 11
 <211> 258
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 3778612CD1

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

<210> 12
 <211> 555
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 4574912CD1

<220>
 <221> unsure
 <222> 63-65
 <223> unknown or other

<400> 12

Met	Glu	Gly	Ala	Val	Leu	Glu	Ala	Gly	Gly	Ala	Arg	Cys	Phe	Cys	1	5	10	15
Arg	Phe	Gly	Cys	Glu	Leu	Ser	Lys	Tyr	Glu	Asn	Pro	Gly	Tyr	Ser	20	25	30	
Ser	Pro	Arg	Ser	Asp	Tyr	Phe	Lys	Asn	Tyr	Met	Ile	Ile	Ile	Thr	35	40	45	
Gln	Asn	Arg	Met	Ser	Phe	Leu	Ala	Asn	Met	Phe	His	Thr	Met	Asp	50	55	60	
Cys	Val	Xaa	Xaa	Xaa	Arg	Tyr	Ser	Cys	Gly	Pro	Thr	Val	Tyr	Asp	65	70	75	
His	Ala	His	Leu	Gly	His	Ala	Cys	Ser	Tyr	Val	Arg	Phe	Asp	Ile	80	85	90	
Ile	Arg	Arg	Ile	Leu	Thr	Lys	Val	Phe	Gly	Cys	Ser	Ile	Val	Met	95	100	105	
Val	Met	Gly	Ile	Thr	Asp	Val	Asp	Asp	Lys	Ile	Ile	Lys	Arg	Ala	110	115	120	
Asn	Glu	Met	Asn	Ile	Ser	Pro	Ala	Ser	Leu	Ala	Ser	Leu	Tyr	Glu	125	130	135	
Glu	Asp	Phe	Lys	Gln	Asp	Met	Ala	Ala	Leu	Lys	Val	Leu	Pro	Pro	140	145	150	
Thr	Val	Tyr	Leu	Arg	Val	Thr	Glu	Asn	Ile	Pro	Gln	Ile	Ile	Ser	155	160	165	
Phe	Ile	Glu	Gly	Ile	Ile	Ala	Arg	Gly	Asn	Ala	Tyr	Ser	Thr	Ala	170	175	180	
Lys	Gly	Asn	Val	Tyr	Phe	Asp	Leu	Lys	Ser	Arg	Gly	Asp	Lys	Tyr	185	190	195	
Gly	Lys	Leu	Val	Gly	Val	Val	Pro	Gly	Pro	Val	Gly	Glu	Pro	Ala	200	205	210	
Asp	Ser	Asp	Lys	Arg	His	Ala	Ser	Asp	Phe	Ala	Leu	Trp	Lys	Ala	215	220	225	
Ala	Lys	Pro	Gln	Glu	Val	Phe	Trp	Ala	Ser	Pro	Trp	Gly	Pro	Gly	230	235	240	
Arg	Pro	Gly	Trp	His	Ile	Glu	Cys	Ser	Ala	Ile	Ala	Ser	Met	Val	245	250	255	
Phe	Gly	Ser	Gln	Leu	Asp	Ile	His	Ser	Gly	Gly	Ile	Asp	Leu	Ala	260	265	270	
Phe	Pro	His	His	Glu	Asn	Glu	Ile	Ala	Gln	Cys	Glu	Val	Phe	His	275	280	285	
Gln	Cys	Glu	Gln	Trp	Gly	Asn	Tyr	Phe	Leu	His	Ser	Gly	His	Leu	290	295	300	
His	Ala	Lys	Gly	Lys	Glu	Glu	Lys	Met	Ser	Lys	Ser	Leu	Lys	Asn	305	310	315	
Tyr	Ile	Thr	Ile	Lys	Asp	Phe	Leu	Lys	Thr	Phe	Ser	Pro	Asp	Val	320	325	330	
Phe	Arg	Phe	Phe	Cys	Leu	Arg	Ser	Ser	Tyr	Arg	Ser	Ala	Ile	Asp	335	340	345	
Tyr	Ser	Asp	Ser	Ala	Met	Leu	Gln	Ala	Gln	Gln	Leu	Leu	Leu	Gly	350	355	360	
Leu	Gly	Ser	Phe	Leu	Glu	Asp	Ala	Arg	Ala	Tyr	Met	Lys	Gly	Gln	365	370	375	
Leu	Ala	Cys	Gly	Ser	Val	Arg	Glu	Ala	Met	Leu	Trp	Glu	Arg	Leu	380	385	390	
Ser	Ser	Thr	Lys	Arg	Ala	Val	Lys	Ala	Ala	Leu	Ala	Asp	Asp	Phe	395	400	405	
Asp	Thr	Pro	Arg	Val	Val	Asp	Ala	Ile	Leu	Gly	Leu	Ala	His	His	410	415	420	
Gly	Asn	Gly	Gln	Leu	Arg	Ala	Ser	Leu	Lys	Glu	Pro	Glu	Gly	Pro	425	430	435	
Arg	Ser	Pro	Ala	Val	Phe	Gly	Ala	Ile	Ile	Ser	Tyr	Phe	Glu	Gln	440	445	450	
Phe	Phe	Glu	Thr	Val	Gly	Ile	Ser	Leu	Ala	Asn	Gln	Gln	Tyr	Val	455	460	465	
Ser	Gly	Asp	Gly	Ser	Glu	Ala	Thr	Leu	His	Gly	Val	Val	Asp	Glu	470	475	480	

```

Leu Val Arg Phe Arg Gln Lys Val Arg Gln Phe Ala Leu Ala Met
485 490 495
Pro Glu Ala Thr Gly Asp Ala Arg Arg Gln Gln Leu Leu Glu Arg
500 505 510
Gln Pro Leu Leu Glu Ala Cys Asp Thr Leu Arg Arg Gly Leu Thr
515 520 525
Ala His Gly Ile Asn Ile Lys Asp Arg Ser Ser Thr Thr Ser Thr
530 535 540
Trp Glu Leu Leu Asp Gln Arg Thr Lys Asp Gln Lys Ser Ala Gly
545 550 555

```

```

<210> 13
<211> 463
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5630806CD1

```

```

<400> 13
Met Ala Ala Ser Met Phe Tyr Gly Arg Leu Val Ala Val Ala Thr
1 5 10 15
Leu Arg Asn His Arg Pro Arg Thr Ala Gln Arg Ala Ala Ala Gln
20 25 30
Val Leu Gly Ser Ser Gly Leu Phe Asn Asn His Gly Leu Gln Val
35 40 45
Gln Gln Gln Gln Gln Arg Asn Leu Ser Leu His Glu Tyr Met Ser
50 55 60
Met Glu Leu Leu Gln Glu Ala Gly Val Ser Val Pro Lys Gly Tyr
65 70 75
Val Ala Lys Ser Pro Asp Glu Ala Tyr Ala Ile Ala Lys Lys Leu
80 85 90
Gly Ser Lys Asp Val Val Ile Lys Ala Gln Val Leu Ala Gly Gly
95 100 105
Arg Gly Lys Gly Thr Phe Glu Ser Gly Leu Lys Gly Gly Val Lys
110 115 120
Ile Val Phe Ser Pro Glu Glu Ala Lys Ala Val Ser Ser Gln Met
125 130 135
Ile Gly Lys Lys Leu Phe Thr Lys Gln Thr Gly Glu Lys Gly Arg
140 145 150
Ile Cys Asn Gln Val Leu Val Cys Glu Arg Lys Tyr Pro Arg Arg
155 160 165
Glu Tyr Tyr Phe Ala Ile Thr Met Glu Arg Ser Phe Gln Gly Pro
170 175 180
Val Leu Ile Gly Ser Ser His Gly Gly Val Asn Ile Glu Asp Val
185 190 195
Ala Ala Glu Thr Pro Glu Ala Ile Ile Lys Glu Pro Ile Asp Ile
200 205 210
Glu Glu Gly Ile Lys Lys Glu Gln Ala Leu Gln Leu Ala Gln Lys
215 220 225
Met Gly Phe Pro Pro Asn Ile Val Glu Ser Ala Ala Glu Asn Met
230 235 240
Val Lys Leu Tyr Ser Leu Phe Leu Lys Tyr Asp Ala Thr Met Ile
245 250 255
Glu Ile Asn Pro Met Val Glu Asp Ser Asp Gly Ala Val Leu Cys
260 265 270
Met Asp Ala Lys Ile Asn Phe Asp Ser Asn Ser Ala Tyr Arg Gln
275 280 285
Lys Lys Ile Phe Asp Leu Gln Asp Trp Thr Gln Glu Asp Glu Arg
290 295 300
Asp Lys Asp Ala Ala Lys Ala Asn Leu Asn Tyr Ile Gly Leu Asp
305 310 315
Gly Asn Ile Gly Cys Leu Val Asn Gly Ala Gly Leu Ala Met Ala
320 325 330

```

```

Thr Met Asp Ile Ile Lys Leu His Gly Gly Thr Pro Ala Asn Phe
335 340 345
Leu Asp Val Gly Gly Gly Ala Thr Val His Gln Val Thr Glu Ala
350 355 360
Phe Lys Leu Ile Thr Ser Asp Lys Lys Val Leu Ala Ile Leu Val
365 370 375
Asn Ile Phe Gly Gly Ile Met Arg Cys Asp Val Ile Ala Gln Gly
380 385 390
Ile Val Met Ala Val Lys Asp Leu Glu Ile Lys Ile Pro Val Val
395 400 405
Val Arg Leu Gln Gly Thr Arg Val Asp Asp Ala Lys Ala Leu Ile
410 415 420
Ala Asp Ser Gly Leu Lys Ile Leu Ala Cys Asp Asp Leu Asp Glu
425 430 435
Ala Ala Arg Met Val Val Lys Leu Ser Glu Ile Val Thr Leu Ala
440 445 450
Lys Gln Ala His Val Asp Val Lys Phe Gln Leu Pro Ile
455 460

<210> 14
<211> 399
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5854855CD1

<400> 14
Met Tyr Phe Gly Ala Val Ser Trp Leu Cys Gly Pro Arg Ala Pro
1 5 10 15
Asp Glu Val Ser Arg Arg Pro Asp Pro Arg Lys Gly Gln Leu Gly
20 25 30
Val Ala Phe Val Leu Leu Pro Pro His Ser Glu Gly Ala Arg Val
35 40 45
Phe Gly Ala Leu Gly Pro Ile Gly Pro Ser Ser Pro Gly Leu Thr
50 55 60
Leu Gly Gly Leu Ala Val Ser Glu His Arg Leu Ser Asn Lys Leu
65 70 75
Leu Ala Trp Ser Gly Val Leu Glu Trp Gln Glu Lys Arg Arg Pro
80 85 90
Tyr Ser Asp Ser Thr Ala Lys Leu Lys Arg Thr Leu Pro Cys Gln
95 100 105
Ala Tyr Val Asn Gln Gly Glu Asn Leu Glu Thr Asp Gln Trp Pro
110 115 120
Gln Lys Leu Ile Met Gln Leu Ile Pro Gln Gln Leu Leu Thr Thr
125 130 135
Leu Gly Pro Leu Phe Arg Asn Ser Gln Leu Ala Gln Phe His Phe
140 145 150
Thr Asn Arg Asp Cys Asp Ser Leu Lys Gly Leu Cys Arg Ile Met
155 160 165
Gly Asn Gly Phe Ala Gly Cys Met Leu Phe Pro His Ile Ser Pro
170 175 180
Cys Glu Val Arg Val Leu Met Leu Leu Tyr Ser Ser Lys Lys Lys
185 190 195
Ile Phe Met Gly Leu Ile Pro Tyr Asp Gln Ser Gly Phe Val Ser
200 205 210
Ala Ile Arg Gln Val Ile Thr Thr Arg Lys Gln Ala Val Gly Pro
215 220 225
Gly Gly Val Asn Ser Gly Pro Val Gln Ile Val Asn Asn Lys Phe
230 235 240
Leu Ala Trp Ser Gly Val Met Glu Trp Gln Glu Pro Arg Pro Glu
245 250 255
Pro Asn Ser Arg Ser Lys Arg Trp Leu Pro Ser His Val Tyr Val
260 265 270
Asn Gln Gly Glu Ile Leu Arg Thr Glu Gln Trp Pro Arg Lys Leu

```

```

275      280      285
Tyr Met Gln Leu Ile Pro Gln Gln Leu Leu Thr Thr Leu Val Pro
290      295      300
Leu Phe Arg Asn Ser Arg Leu Val Gln Phe His Phe Thr Lys Asp
305      310      315
Leu Glu Thr Leu Lys Ser Leu Cys Arg Ile Met Asp Asn Gly Phe
320      325      330
Ala Gly Cys Val His Phe Ser Tyr Lys Ala Ser Cys Glu Ile Arg
335      340      345
Val Leu Met Leu Leu Tyr Ser Ser Glu Lys Lys Ile Phe Ile Gly
350      355      360
Leu Ile Pro His Asp Gln Gly Asn Phe Val Asn Gly Ile Arg Arg
365      370      375
Val Ile Ala Asn Gln Gln Gln Val Leu Gln Arg Asn Leu Glu Gln
380      385      390
Glu Gln Gln Gln Arg Gly Met Gly Gly
395

<210> 15
<211> 339
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5993973CD1

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

```

Gln Leu Pro Asp Pro Thr Thr Asn Pro Ser Ala Gly Lys Asp Gly
 290 295 300
 Pro Ser Leu Leu Val Val Glu Gln Val Arg Val Val Asp Leu Glu
 305 310 315
 Gly Ser Leu Lys Val Val Tyr Pro Ser Lys Ala Asp Leu Ala Thr
 320 325 330
 Ala Pro Pro His Val Thr Val Val Arg
 335

<210> 16

<211> 3902

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 1806212CB1

<400> 16

```

ggatgattgc ctcagcaggt gtgaagcgtg tgcttttagtt tcgtgggagg cctggcatcc 60
ccgagagggg ggggaaaggt aaccactcct ttgtggaggt cgccagggtc attgtcgtgg 120
atattgcacag tcggctgggc ggtgcaatgg cggaaagaaa aggaacagcc aaagtggact 180
ttttgaagaa gattgagaaa gaaatccaac agaaatggga tactgagaga gtgtttgagg 240
tcaatgcacg taatttagag aaacagacca gcaagggcaa gtattttgta accttcccat 300
acccatatat gaatggacgc cttcatttgg gacacacggt ttcttttatcc aaatgtgagt 360
ttgctgtagg gtaccagcga ttgaaaggaa aatgttgtct gtttcccttt ggcctgacct 420
gtacttgaat gcctattaag gcatgtgctg ataagttgaa aagagaaata gagctgtatg 480
gtttcccccc tgattttcca gatgaagaag aggaagagga agaaaccagt gtaaaacag 540
aagatataat aattaaggat aaagctaaag gaaaaaagag taaagctgct gctaaagctg 600
gatcttctaa ataccagtgg ggcattatga aatcccttgg cctgtctgat gaagagatag 660
taaaattttc tgaagcagaa cattggcttg attatttccc gccactggct attcaggatt 720
taaaaagaat ggggttgaag gtagactggc gtcgttccct catcaccact gatgttaatc 780
cttactatga ttcatttgtc agatggcaat ttttaacatt aagagaaaaga aacaaaatta 840
aatttgggaa gcggtataca atttactctc cgaaagatgg acagccttgc atggatcatg 900
atagacaaac tggagagggg gttggacctc aggaatatac tttactcaaa ttgaaggtgc 960
ttgagccata cccatctaaa ttaagtggcc tgaaggttaa aaatatcttc ttggtggctg 1020
ctactctcag acctgagacc atgtttgggc agacaaattg ttgggttcgt cctgatatga 1080
agtacattgg atttgagacg gtgaatgggt atatatcat ctgtacccaa aaagcagcca 1140
ggaatatgtc ataccagggc tttaccaaag acaatggcgt ggtgcctgtt gttaaggaat 1200
taatggggga ggaattcttt ggtgcatcac tttctgcacc tttaacatca tacaaggtga 1260
tctatgtttc cccaatgcta actattaagg aggataaagg cactgggtgtg gttacaagtg 1320
ttccttccga ctcccctgat gatattgctg ccctcagaga cttgaagaaa aagcaagcct 1380
tacgagcaaa atattggaatt agagatgaca tggctcttgc atttgagccg gtgccagtca 1440
ttgaaatccc aggttttggg aatctttctg ctgtaacctt ttgtgatgag ttgaaaattc 1500
agagccagaa tgaccgggaa aaacttgcag aagcaaagga gaagatatac ctaaaaggat 1560
tttatgaggg tatcatgttg gtggatggat ttaaaaggaca gaagggtcaa gatgtaaaga 1620
agactattca gaaaaagatg attgacgctg gagatgcact tatttacatg gaaccagaga 1680
aacaagtgat gtccaggctg tcagatgaat gtgtgtggc tctgtgtgac cagtgggtact 1740
tggattatgg agaagagaat tggaaagaaac agacatctca gtgcttgaag aacctggaaa 1800
cattctgtga ggagaccagg aggaattttg aagccacctt aggttggcta caagaacatg 1860
cttgtctcaag aacttatggc ctaggcactc acctgccttg ggatgagcag tggctgattg 1920
aatcactttc tgactccact atttacatgg cattttacac agttgcacac ctattgcagg 1980
ggggttaactt gcatggacag gcagagtctc cgctgggcat tagaccgcaa cagatgacca 2040
aggaagtttg ggattatggt ttcttcaagg aggtccattt tcctaagact cagattgcaa 2100
aggaaaaatt agatcagtta aagcaggagt ttgaattctg gtatcctgtt gatcttccgcg 2160
tctctggcaa ggatcttgtt ccaaatcatc ttcatatta cctttataat catgtggcta 2220
tgtggccgga acaaagtgc aatggccta cagctgtgag agcaaagga catctctccc 2280
tgaactctga gaagatgtca aaatccacag gcaacttcct cactttgacc caagctattg 2340
acaaattttc agcagatgga atgcgttttg ctctggctga tgctgggtgac actgtagaag 2400
atgccaaact tgtggaagcc atggcagatg cagggtattct ccgtctgtac acctgggtag 2460
agtgggtgaa agaaatggtt gccaaactgg acagcctaag aagtggctct gccagcactt 2520
tcaatgatag agtttttggc agtgaattga atgcaggaat tataaaaaa gatcaaaact 2580
atgaaaagat gatgtttaa gaagcttttg aaacagggtt ttttgagttt caggccgcaa 2640
aagataagta ccgtgaattg gctgtggaag gtagtcacag agaacttgtg ttccgggtta 2700
ttgaagtcca gacacttctc ctgcctccat tctgtccaca tttgtgtgag cacatctgga 2760
cactcctggg aaagcctgac tcaattatga atgcttcatg gcctgtggca ggtcctgtta 2820

```

```

atgaagtttt aatacactcc tcacagtatc ttatgggaagt aacacatgac cttagactac 2880
gactcaagaa ctatatgatg ccagctaaag ggaagaagac tgacaaacaa cccctgcaga 2940
agccctcaca ttgcaccatc tatgtggcaa agaactatcc accttggcaa cataccaccc 3000
tgtctgttct acgtaaacac tttgaggcca ataacggaaa actgcctgac aacaaagtca 3060
ttgctagtga actaggcagt atgccagaac tgaagaaata catgaagaaa gtcctgcat 3120
ttgttgccat gattaaggaa aatctggaga agatggggcc tcgtattctg gatttgcaat 3180
tagaatttga tgaaaaggct gtgcttatgg agaataatag ctatctgact aattcgcttg 3240
agctagaaca catagaagtc aagtttgccct ccgaagcaga agataaaatc aggggaagact 3300
gctgtcctgg gaaaccactt aatgttttta gaatagaacc tgggtgtgtcc gtttctctgg 3360
tgaatcccca gccatccaat ggccacttct caaccaaaat tgaatccagg caaggagata 3420
actgtgatcc cataatccagg cgttttaatga aaatgaatcg aggaattaaa gacctttcca 3480
aagtgaacct gatgagattt gatgatccac tgttggggcc tcgacgagtt cctgtcctgg 3540
gaaaggagta caccgagaag acccccattt ctgagcatgc tgttttcaat gtggacctca 3600
tgagcaagaa aattcatctg actgagaatg ggataagggt ggataattgg gatacaataa 3660
tctatctggt tcattaaact catgcacatt ggagatttat cctggtttct taggaatact 3720
actactctga ttgtgtctac tgattggcta tcagaacctt aggcctggacc taaatagatt 3780
gatttcattt ctaaccatcc aattctgcat gtattcataa ttctatcaag tcatctttga 3840
ttcctggacc taataaattt tttttccctg ttctttgggt gtccaagaaa aaaaaaaaaa 3900
aa

```

```

<210> 17
<211> 3317
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 2083883CB1

```

```

<400> 17
catggcctga ctccggacag ctccagagcag ggcagaactg gggacactct gggccggcct 60
tctgcttga tggacgctct gaagccaccc tgtctcttga ggaaccacga gcgagggaa 120
aaggacaggg actcgtgtgg caggaagaac tcagagcccg gaagccccc ttactagaa 180
gcactgagag atgcggcccc ctccgagggt ctgaatttcc tgcgtctgtt cacaagatg 240
ctttttatct ttaacttttt gttttcccca ctcccgaccc cggcgcttga ctgcatcctg 300
acatttggag ctgccatctt ctgtgtggctg atcaccagac ctcaaccctg cttacctctt 360
cttgacctga acaatcagtc tgtgggaatt gagggaggag cacggaaggg ggtttcccag 420
aagaacaatg acctacaacg ttgctgcttc tcagatgcca agactatgta tgaggttttc 480
caaagaggac tcgctgtgtc tgacaatggg ccctgcttgg gatatagaaa accaaaccag 540
ccctacagat ggctatctta caaacagggt tctgatagag cagagtacct gggttcctgt 600
ctcttgcata aagggttata atcatcacca gaccagtttg tcggcatctt tgctcagaat 660
aggccagagt ggatcatctc cgaattggct tgttacacgt actctatggt agctgtacct 720
ctgtatgaca ccttgggacc agaagccatc gtacatattg tcaacaaggc tgatactgac 780
gtgggtgatc gtgacacacc ccaaaaggca ttggtgctga tagggaatgt agagaaaggc 840
ttcaccocga gcctgaaggt gatcatcctt atggacccct ttgatgatga cctgaagcaa 900
agaggggaga agagtggaa tggatcttta tccctatatg atgctgagaa cctaggcaaa 960
gagcacttca gaaaacctgt gcctcctagc ccagaagacc tgagcgtcat ctgcttcacc 1020
agtgggacca cagggtgaccc caaaggagcc atgataaccc atcaaaatat tgtttcaa 1080
gctgtgcctt ttctcaaatg tgtggagcat gcttatgagc ccactcctga tgatgtggcc 1140
atatcctacc tccctctggc tcatatgttt gagaggattg tacaggctgt tgtgtacagc 1200
tgtggagcca gagttggatt ctccaagggt gatattcggg tgcgtggctg cgacatgaag 1260
actttgaagc ccacattggt tcccgcggtg cctcgactcc ttaacaggat ctacgataag 1320
gtacaaaatg aggccaaagc acccttgaag aagttcttgt tgaagctggc tgtttccagt 1380
aaattcaaa agcttcaaaa gggatcatc aggcattgata gtttctggga caagctcatc 1440
tttgcaagaa tccaggacag cctgggcgga agggttcgtg taattgtcac tggagctgcc 1500
cccatgtcca cttcagtcac gacattcttc cgggcagcaa tgggatgtca ggtgtatgaa 1560
gcttatggtc aaacagaatg cacagggtggc tgtacattta cattacctgg ggaactggaca 1620
tcaggtcacg ttgggtgtgc cctggcttgc aattacgtga agctggaaga tgtggctgac 1680
atgaactact ttacagtga taatgaagga gaggtctgca tcaagggtac aaactgttct 1740
aaaggatacc tgaaggacc tggagaagaca cagggaagcc tggacagtga tggctggctt 1800
cacacaggag acattggtcg ctggctcccg aatggaaact tgaagatcat cgaccgtaaa 1860
aagaacattt tcaagctggc ccaaggagaa tacattgcac cagagaagat agaaaatatc 1920
tacaacagga gtcaaccagt gttacaaatt tttgtacacg gggagagctt acggtcatcc 1980
ttagtaggag tgggtggttc tgacacagat gtacttccct catttgcagc caagcttggg 2040
gtgaagggtc cctttgagga actgtgcca aaccaagttg taagggaagc catttttaga 2100

```

```

gacttgacaga aaattgggaa agaaagtggc cttaaaactt ttgaacaggt caaagccatt 2160
ttttttcattc cagagccatt ttccattgaa aatgggctct tgacaccaac attgaaagca 2220
aagcgaggag agctttccaa atactttcgg acccaaatg acagcctgta tgagcacatc 2280
caggattagg ataaggtact taagtacctg ccggccctact gtgactgctc tggtagaaaa 2340
tggattaaaaa actattctta catttggttt gctttcctc ctattttttt ttaacctgtt 2400
aaactctaaa gccatagctt ttgttttata ttgagacata taatgtgtaa acttagttcc 2460
caataaaatc aatcctgtct ttcccatctt cgatgttgct aatattaagg cttcagggct 2520
acttttatca acatgcctgt cttcaagatc ccagtttatg ttctgtgtcc ttccctcatga 2580
tttccaacct taatactatt agtaaccaca agttcaaggg tcaaagggac cctctgtgcc 2640
ttcttctttg ttttgtgata aacataactt gccaacagtc tctatgctta tttacatctt 2700
ctactgttca aactaagaga tttttaaatt ctgaaaaact gcttacaatt catgttttct 2760
agccactcca caaaccacta aaattttagt tttagcctat cactcatgtc aatcatatct 2820
atgagacaaa tgtctccgat gctcttctgc gtaaatataa ttgtgtactg aagggaaaag 2880
tttgatcata ccaaacattt cctaaactct ctagttagat atctgacttg gtagtattaa 2940
aaattgggtc tatgacatgc tgtccaaaag gaatgctgtt cttaaagcat tattacagt 3000
aggaactggg gagtaaatct gttccctaca gtttgcgtct gagctgggag ctgtggggga 3060
aggagttagc agtgggggcc agtgaacttt tcagtaaat gaagcaagca ctgaataaaa 3120
acctcctgaa ctgggaacaa agatctacag gcaagcaaga tccccacaca acaggcttat 3180
tttctgtgaa ggaaccaact gatctcccc acccttggat tagagtccct gctctacctt 3240
accacacagat aacacatgtt gtttctactt gtaaatgtaa agtcttttaa ataaactatt 3300
acagataaaa aaaaaaa 3317

```

<210> 18

<211> 1928

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 2454288CB1

<400> 18

```

ccacgcgtc cgcgacacac catgccgact gtcagcgtga agcgtgatct gctcttccaa 60
gccttgggccc gcacctacac tgacgaagaa tttgatgaac tatgttttga atttgggtctg 120
gagcttgatg aaattacatc tgagaaggaa ataataagta aagaacaagg taatgtaaag 180
gcagcaggag cctctgatgt tgttctttac aaaattgacg tccttgccaa tagatatgat 240
ctcctgtgtc tggaggattt ggttcgagga cttcaggtct tcaaagaaag gataaaggct 300
ccagtgtata aacgggtaat gcctgatgga aaaatccaga aattgattat cacagaagag 360
acagctaaga tacgtccttt tgcggtagca gcagttctcc gtaataataa gtttactaaa 420
gatcgatatg acagcttcat tgaacttcag gagaatttac atcagaatat ttgcaggaaa 480
agagcactgg ttgccattgg taccatgat ttggacactt tgtcggggccc atttacttat 540
actgcaaagc gtccttcaga tatcaaatc aagcctctaa ataagaccaa ggagtataca 600
gcctgtgaac tgaatgaacat atacaagact gacaatcacc tgaaacatta tttacatctc 660
attgaaaaca aacctctgta tccagttatc tatgatagca atgggtgctg cctttcaatg 720
ctccccatca tcaatgggga tcattccaga ataacagtaa atactagaaa tatttttatt 780
gaatgcacgg gaactgactt tactaaggca aaaatagttc ttgatattat tgtcaccatg 840
ttcagtgaaat attgtgagaa tcaatttacg gtcgaaagct ctgaagtggt ttttcctaatt 900
ggaaaatcac atacctttcc agaattagct taccgaaagg agatggtgag agctgaacct 960
attaacaaaa aagttggaat cagagaaact ccagaaaatc ttgccaaact tctgaccagg 1020
atgtatttaa aatcagaagt cataggtgat gggaatcaga ttgagattga aatccctcca 1080
accagagctg acattatcca tgcattgatg attgtagaag atgcagctat tgccttatgga 1140
tataacaaca ttcagatgac tctcccgaaa acttacacca tagctaatca atttctctct 1200
aataagctca ctgaacttct ccgacatgac atggcagccg ctggcttcac tgaagcactt 1260
acctttgccc tgtgtctcca agaagatatt gctgataaac taggtgtgga tatctctgca 1320
acaaaggcag tccacataag taatcctaaa acagctgaat ttcaggtggc acgcactacc 1380
cttcttctctg cctctctgaa gacctatgca gcaaatcgta agatgcccct tccactgaaa 1440
ctgttttgaat tctctgacat tgtaataaaa gatttctaata cagatgtagg tgcaaaaaac 1500
tacagacatc tctgtgctgt ttattacaac aagaatcctg ggtttgagat cattcatggg 1560
ctgctgggaa gaattatgca gttgtctgat gtgcctcctg gtgaagacaa ggggggatat 1620
gtgatcaaaag catcagaagg gctgtcttct tccccgggc gatgtgcaga gatctttgac 1680
aggggtcaaa gcgtcgggaa gcttgggggt cttcatcctg acgttatcac caaatttgag 1740
ctgacctatg cctgtctctc cctagaaatc aatattggac ccttttttgt aagattgggt 1800
tctgtggtgt gattctcttc ccaggtgtgc ctttctcttc ccctagtgtc cttaaagtcct 1860
cctccacagg gaacatctat ttgggctttg atgtttaata aagtagaaag cactgtcaaa 1920
aaaaaaaaa 1928

```

<210> 19
 <211> 2122
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 1513539CB1

<400> 19
 cagggtcacac gcagccagtc agcattagag ctgagatgcc aagctctcag ccacacatgt 60
 gcactcacct ggaacatctg tggagctgtt agaatcgctg ccacttttca tgaactgaa 120
 gtgcatcttt gggtttgcaa ctaaagaaac cagctgctac aatgtcacta acataggatt 180
 caaaagccct tcggatttct ggcagctctgt gcatagcacc ctgcctcggg agttggctcc 240
 ttgtctagta tttaatacat ccccaaaactt ggctttatct tcagctgcct ttgccttcat 300
 tgttggtgaaa gatagtgcgg gtgactcaga tgtggtggtg caggagctca agtccatggt 360
 ggccaccaag atcgccaaat atgctgtgcc tgatgagatc ctggtggtga aacgtcttcc 420
 aaaaaccagg tctgggaagg tcatgcggcg gctcctgagg aagatcatca ctagtgaggc 480
 ccaggagctg ggagacacta ccactttgga ggacccagc atcatcgag agatcctgag 540
 tgtctaccag aagtgcagg acaagcaggc tgctgctaag tgagctggca ccttggtggg 600
 ctcttgggat gggcgggcac ccaagccctg gcttgtctt cccagaagg acccctgagg 660
 ttggcgtctt cctacgtccc agaagcagcc cccacccac acatgaccca caccgccc 720
 acgtgaagct gggctgagag ccttttctcc catccattgg aggtcccagg agtgtcacc 780
 atggagagcc tatgagacat ggctagggtc ggttctgcca tctgagttg gtttctgga 840
 atgaaaagcc attgccatct ccattcctct gccctcttga gccagcacag gaaggtgagg 900
 ccctgggata gcgcgcctgc tcagataaca cagagctagt tagctagtag caaccgtgtt 960
 ttctccagat ctgtctagat acaaaggcca gaaatcttat ttttatactt ttatatattg 1020
 gaagaacagc atgcaacact cacatgtagt gtgtggattt acttgaacat gttcttttta 1080
 acatgtagtt atgaaaatct ccttttttgc ctctactggt gaggaaacat gaggatcaga 1140
 ggccacatct ttaattattg ttagtgtatt tggaggtctg aattggagat gtttgtacct 1200
 ctgtctaaac agttcccttg agaacttcca agcctccggc atcttttctt ggtgagtgtt 1260
 tctcctgtgc ttggttgtgt ataattggag taactcctaa gcggtggggg gaattgtggc 1320
 gccttagttc tgaagctact ccagttatgt tctgtttctt caagctgtga tccagaaaga 1380
 tttttgtgcc ccagatgcc tcttgatagg agaggcaaca tactccaaat agttgggttc 1440
 ttcagggaag ctattagaaa ctccaggtgac ttgttagagc actaacttgg tcagagccaa 1500
 atcttggaac acgtgcctg accttcactc tgtgggtggg gcagtgagaa ccactgaggt 1560
 ccaatgatga gacttggagg tctggatcca gtctctctt gttttaatgt gacttaggtg 1620
 ctgtcaacat tagcaagata atggaaatca cgacgccagt ggggtgcttac ctccctgcta 1680
 ggcatgcagg ggctggcggt tggcagggga aggaggccca gtgagccggg tcccttaggg 1740
 gaggggagag ttgtcctctt tgcctccacag tctacccctt agggccttgt ggcagtgcga 1800
 gtgttcgggg ggtgtctggg ccactgagta cccactcggg cgtgggtgtg ctggcctctt 1860
 ggggtgagtga acctgtgaag ccaggaggt ggtgttggt gcagggtaca caaatactga 1920
 gtggtggtct ttgtttacag gcttagcaac aaagctgtgc cctgggcatg gggggctgta 1980
 gtgtagctac agttgtgcgt ttgtgaaatg gcttagcttt ccatgttgct gagaggaaac 2040
 tggacatggt cccgggcac tcgaatgatct gtaggggagg gagttcaaat aaagctttat 2100
 ttgtttcatt ttcaaaaaaa aa 2122

<210> 20
 <211> 2357
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2148623CB1

<400> 20
 gctctttcag ggctgagcca tctgcgtgt cttgcgctcg gtggaaatgc ccagccgagg 60
 gacgcgacca gagacagct ctgtgctgat cccaccgac aattcgaccc cacacaagga 120
 ggatctaagc agcaagatta aagaacaaaa aattgtggtg gatgaacttt ctaaccttaa 180
 gaagaatagg accgaacaga aatgctgtct gagagcaaga atatattgga tgaactgaaa 240
 aaagaatacc aagaaataga aaacttagac aagacaaaa tcaagaaata gtcaacctga 300
 ttccacataa caatgtgtgg catttgttgt tctgtaaact tttctgctga gcatttcagt 360
 caagatttaa aagaggactt actatataat cttaaacagc ggggacccaa tagtagtaaa 420
 caattgttaa agtctgatgt taactaccag tgtttatctt ctgctcacgt cctacacttg 480

```

aggggtgttt tgactacca gctgtggaa gatgaaagag gcaatgtgtt tctatggaat 540
ggagaaattt ttagtggaat aaaggttgaa gctgaagaga atgacactca aattttgttt 600
aattatcttt cctcctgtaa gaatgaatct gagattttgt cactcttctc agaagtacaa 660
gggtccctggt catttatata ttatcaagca tctagtcatt atttatgggt tggtagggat 720
ttttttgggt gccgtagctt gctttggcat tttagtaatt tgggcaagag tttctgcctc 780
tcttcagttg gcacccaaac atctggattg gcaaatcagt ggcaagaagt tccagcatct 840
ggacttttca gaattgatct taagtctact gtcatttcca gatgcattat tttacaactg 900
tatccttgga aatatatttc tagggagaat attattgaag aaaatgttaa tagcctgagt 960
caaatttcag cagacttacc agcatttgta tcagtggtag caaatgaagc caaactgtat 1020
cttgaaaaac ctgttggttc tttaaatatg atgttgccac aagctgcatt ggagactcat 1080
tgcagtaata tttccaatgt gccacctaca agagagatac ttcaagtcct tcttactgat 1140
gtacacatga aggaagtaat tcagcagttc attgatgtcc tgagtgtagc agtcaagaaa 1200
cgtgtcttgt gtttacctag ggatgaaaac ctgacagcaa atgaagtttt gaaaacgtgt 1260
gataggaaaag caaatgtgtc aatcctgttt tctgggggca ttgattccat ggttatttga 1320
acccttgctg accgtcatat tctcttagat gaaccaattg atcttcttaa tgtagcttct 1380
atagctgaag aaaaagccat gccaaactacc tttaacagag aagggaataa acagaaaaat 1440
aaatgtgaaa taccttcaga agaattctct aaagatgttg ctgctgctgc tgcagcagt 1500
cctaataaac atgtcagtgt accagatcga atcacaggaa gggcgggact aaaggaacta 1560
caagctgtta gcccttcccg aatttggaat tttgttgaaa ttaatgttct tatggaagaa 1620
ctgcagaaat taagaagaac tcgaatatgt cacttaattc ggccattgga tacagttttg 1680
gatgatagca ttgctgtgtc agtctgtgtt gcttctagag gaattggttg gttagtggcc 1740
caggaaggag tgaatccta tcagagcaat gcaaaggtag ttctcactgg aattggttga 1800
gatgagcaac ttgcaggtta ttctcgtcat ctgctcgcgt ttcaagtcga tgggctggaa 1860
ggattgaata aggaataat gatggaactg ggtcgaattt ctcttagaaa tcttggtcgt 1920
gatgacagag ttattgggtg tcatggaaaa gaagcaagat ttcttctcct ggatgaaaaa 1980
gttgctctct ttttaatttc tctgcgatt tgggaaaaag caaacttgac ttaccctga 2040
ggaattgggt aaaaattact tttacgcctt gcagctgtgg aacttggctc tacagcctct 2100
gctctctctc ccaaacgggc catgcagttt ggatcaagaa ttgcaaaaat gaaaaaatt 2160
aatgaaaagg catctgataa atgtggacgg ctccaaatca tgcctttaga aaatctttct 2220
attgaaaagg agactaaatt gtaattgtgat tcacaatgta acaatataaa ataagtttt 2280
tatataatta tataaaagta agatactctg ctgctttact attgtataat atagtagttt 2340
taaagttcaa aaaaaa 2357

```

<210> 21
 <211> 2136
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2579405CB1

```

<400> 21
ccgtccactt ggcgagtgag acgctgatgg gaggatggac atactggtgt ctgagtgtct 60
cgcgcggtct ctgcagcagg aagaagagat taaatctctg actgctgaaa ttgaccggtt 120
gaaaaactgt ggctgttttag gagcttctcc aaatttgtag cagttacaag aagaaaaatt 180
aaaattaaag tatcgactga atattctctc aaagagtctt caggcagaaa ggaacaaacc 240
aactaaaaat atgattaaca ttattagccg cctacaagag gtctttggtc atgcaattaa 300
ggctgcatac ccagattttg aaaatcctcc tctgctagtg acaccaagtc agcaggccaa 360
gtttggggac tatcagtgta atagtgtat ggtattttct cagatgtctc aaaccaagga 420
acagaaaagt aatccaagag aaattgctga aaacattacc aaacacctcc cagacaatga 480
atgtattgaa aaagttgaaa ttgctgtgtc ttgttttatt aatgtccact taagaaagga 540
ttttgtatca gaacaattga ccagtcttct agtgaatgga gttcaactac ctgctctggg 600
agagaataaa aaggttatag ttgacttttc ctccccta atagctaaag agatgcatgt 660
aggccacctg aggtcaacta tcataggaga gagtataagc cgcctctttg aatttgcagg 720
gtatgacgtg ctacaggttaa atcatgtagg agactggggg acccagtttg gcatgctcat 780
cgctcacctg caagacaaat ttccagatta tctaacagtt tcacctccta ttggggatct 840
tcagggtctt tataaggaat ctaagaagag gtttgatact gaggagggaat ttaagaagcg 900
agcatatcag tgtgtagttc tgctccaggg taaaaaccca gatattacaa aagcttggaa 960
gcttatctgt gatgtctccc gccaaagatt aaataaaatc tatgatgcat tggacgtctc 1020
tttaatatag agagggaat ccttctatca agataggatg aatgatattg taaaggaatt 1080
tgaagataga ggatttgtgc aggtggatga tggcagaaag attgtatttg tcccagggtg 1140
ttccatacca ttaaccatag taaaatcaga tggaggttat acctatgata catctgacct 1200
ggctgctatt aaacaaagac tatttgagga aaaagcagat atgattatct atgttgttga 1260
caatggacaa tctgtgcact tccagacaat atttgctgct gctcaaatga ttggttggtg 1320

```

```

tgaccctaaa gtaactcgag ttttccatgc tggatttggg gtggtgctag gggaagacaa 1380
gaaaaagttt aaaaacagtt cgggtgaaac agtgcgcctc atggatcttc tgggagaagg 1440
actaaacgga tccatggaca agttgaagga aaaagaaaga gacaaggctc taactgcaga 1500
ggaattgaat gctgctcaga catccgttgc atatggctgc atcaaatatg ctgaccttcc 1560
ccataaccgg ttgaatgact acatcttctc ctttgacaaa atgctagatg acagaggaaa 1620
tacagctgct tacttgttgt atgccttcac tagaatcagg tctattgcac gtctggccaa 1680
tattgatgaa gaaatgctcc aaaaagctgc tcgagaaacc aagattcttt tggatcatga 1740
gaaggaaatg aaactaggcc ggtgcatttt acggttcctc gagattctgc aaaagatttt 1800
agatgactta tttctccaca ctctctgtga ttatatatat gagctggcaa ctgctttcac 1860
agagtcttat gatagctgct actgtgtgga gaaagataga cagactggaa aaattattgaa 1920
ggtgaacatg tggcgtatgc tgctatgtga agcagtagct gctgtcatgg ccaaggggtc 1980
tgatatcctg ggaataaaac ctgtccaaag gatgtaatcc ttcatagggt tgaacactgt 2040
gtgtttttac caaagtggcc attggcactg tttgcttttt tacaatcatg tggacacaag 2100
cataagtaaa gaaaatttgt caaccacaaa aaaaaa 2136

```

<210> 22

<211> 2480

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 2662427CB1

<400> 22

```

ggaacggggt ttggcgtgtgg gacgcagctg cctctgtact ggggagtcac ggagtggccg 60
ggctccaggg acatggcggc ggccctctgc gtgtcgggtg tgetgggtgg ggcgagagg 120
aaccggtggc atcgtctccc gagcctgctc ctgccgccga ggacatgggt gtggaggcaa 180
agaaccatga agtacacaac agccacagga agaaacatta ccaaggctcc cattgcaaac 240
agaggagaaa ttgcttgccg ggtgatgcgc acagccaaaa aactgggtgt acagactgtg 300
gcggtttata gtgaggctga cagaaattcc atgcatgtag atatggcaga tgaagcatat 360
tccatcgccc ccgctccctc ccagcagagc tacctatcta tggagaaaat cattcaagtg 420
gccaagacct ctgctgcaca ggctatccat ccaggatgcc gttttcttcc agaaaacatg 480
gaatttgctg aactttgtaa gcaagaagga attattttta taggcctccc tccatctgca 540
attagagaca tgggtataaa gagcacatcc aaatccataa tggctgctgc tggagtacct 600
gttgtggagg gttatcatgg tgaggaccaa tcagaccagt gcctgaagga acacgccagg 660
agaattggct atcctgtcat gattaaagcc gtccggggtg gaggaggaaa aggaatgagg 720
attgttagat cagaacaaga atttcaagaa cagttagagt cagcaccggg agaagctaag 780
aagtccttca atgatgatgc tatgtgatc gagaagtttg tagacacacc gaggcatgta 840
gaagtcaggg tgtttgttga tcacctggc aatgctgtgt acttgtttga aagagactgt 900
agtgtgcaga ggcgacatca gaagatcatt gaggaggccc cagcgcttgg tattaatatc 960
gaagtaagaa aaaagctggg agaagctgca gtccagagct ctaaagctgt aaattatgtt 1020
ggagcagggg ctgtggagtt tattatggac tcaaaacata atttctgttt catggagatg 1080
aatacaaggg tgcaagtggg acatcctggt actgagatga tcacaggaa tgacttgggt 1140
gagtggcagc ttagaattgc agcaggagag aagattcctt tgagccagga agaaataact 1200
ctgcaggggc atgccttcga agctagaata tatgcagaag atcctagcaa taacttcatg 1260
cctgtggcag gcccattagt gcacctctct actcctcgag cagacccttc caccaggatt 1320
gaaactggag tacggcaagg agacgaagtt tccgtgcatt atgaccccat gattgccaag 1380
ctggctcgtg gggcagcaga tcgccaggcg gcattgacaa aactgaggta cagccttctg 1440
cagtacaata ttgttggaact gccaccaaac attgacttct tactcaacct gtctggccac 1500
ccagagtttg aagctgggaa cgtgcacact gatttcatcc ctcaacacca caaacagttg 1560
ttgctcagtc ggaaggctgc agccaaagag tctttatgcc aggcagccct ggtctctcct 1620
ctcaaggagg aagccatgac cgacactttc actcttcagg cacatgatca attctctcca 1680
ttttcgtcta gcagtggaa gaaactgaat atctcgtata ccagaaacat gactcttaaa 1740
gatggtaaaa acaatgtagc catagctgta acgtataacc atgatgggtc ttatagcatg 1800
cagattgaag ataaaaacttt ccaagtcctt ggtaatcttt acagcgaggg agactgcact 1860
tacctgaaat ttctctgttaa tggagtgtgt agtaaagcga agctgattat cctggaaaac 1920
actatttacc tattttccaa ggaagggaag attgagattg acattccagt ccccaaatac 1980
ttatcttctg tgagctcaca agaaactcag ggcgccctct tagctcctat gactgggaac 2040
attgaaaaag tgtttgtcaa agctggagac aaagtgaag cgggagattc cctcatggtt 2100
atgatcgcca tgaagatgga gcataccata aagtcctcaa aggatggcac agtaaaagaa 2160
gtgttctaca gagaagggtg tcaggccaac agacacactc ctttagtcga gtttgaggag 2220
gaagaatcag acaaaaggga atcggaataa actccagcaa ggaatggcc agttaagtag 2280
tgtcttctct cttccacaaa aagaggaagt gcctccagct tttctggggg tctcataaag 2340
agcagtttta ctaaatgatt gtatgcttat gctgaacacc tttcatattg gagaatcatg 2400

```

catttgggtc actaattatc tcaaaatatt tcatactaataaagtgaat tatttttttat 2460
 tggaaagccaa aaaaaaaaaa 2480

<210> 23
 <211> 2254
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 2844928CB1

<400> 23
 ggccgggacg cagggcaaaag cgagccatgg ctgtctacgt cgggatgctg cgccctgggga 60
 ggctgtgctg cgggagctcg ggggtgctgg gggcccgggc cgccctctct cggagttggc 120
 aggaagccag gttgcagggt gtccgcttcc tcagttccag agaggtggat cgcattggtt 180
 ccacgcccac cggaggcctc agctacgttc aggggtgcac caaaaagcat cttaacagca 240
 agactgtggg ccagtgcctg gagaccacag cacagagggt cccagaacga gaggccttgg 300
 tcgtcctcca tgaagacgtc aggttgacct ttgcccact caaggaggag gtggacaaaag 360
 ctgcttctgg cctcctgagc attggcctct gcaaagggtga ccgctgggc atgtggggac 420
 ctaactccta tgcattgggtg ctcatgcagt tggccaccgc ccaggcgggc atcattctgg 480
 tgtctgtgaa cccagcctac caggctatgg aactggagta tgtcctcaag aaggtgggct 540
 gcaaggccct tgtgttcccc aagcaattca agaccagca atactacaac gtctgaaac 600
 agatctgttc agaagtggag aatgcccagc caggggcctt gaagagtcag aggcctccag 660
 atctgaccac agtcatctcg gtggatggcc ctttgccggg gacctgctc ctggatgaag 720
 tgggtggcggc tggcagcaca cggcagcctc tggaccagct ccaatacaac cagcagttcc 780
 tgtcctgcca tgaccccatc aacatccagt tcacctcggy gacaacaggc agcccaagg 840
 gggccaccct ctcccactac aacattgtca acaactccaa catttttagga gagcgcctga 900
 aactgcatga gaagacacca gagcagttgc ggatgatcct gcccaacccc ctgtaccatt 960
 gcctgggttc cgtggcaggc acaatgatgt gtctgatgta cggtgccacc ctcatcctgg 1020
 cctctcccat cttcaatggc aagaaggcac tggaggccat cagcagagag agaggcacct 1080
 toctgtatgg tacccccacg atgttcctgg acattctgaa ccagccagac ttctccagtt 1140
 atgacatctc gaccatgtgt ggaggtgtca ttgtgggtc ccctgcacct ccagagttga 1200
 tccgagccat catcaacaag ataaatatga aggacctggg ggttgcttat ggaaccacag 1260
 agaacagtcc cgtgacattc gcgcacttcc ctgaggacac tgtggagcag aaggcagaaa 1320
 gcgtgggcag aattatgcct cacacggagg cccggatcat gaacatggag gcagggacgc 1380
 tggcaaaagt gaacacgccc ggggagctgt gcatccgagg gtactgcgtc atgctgggct 1440
 actgggtgta gcctcagaag acagagggaag cagtggatca ggacaagtgg tattggacag 1500
 gagatgtcgc cacaatgaat gagcagggtc tctgcaagat cgtgggccgc tctaaggata 1560
 tgatcatccg ggggtggtag aacatctacc ccgcagagct caggagcttc ttccacacac 1620
 accgaaaggt gcaggaaagt caggtgaggc acttggctca ggtgagcccc cagaacaacg 1680
 aaacacacat gaacacgggt atgtctgata ttttctttt gccctggaac gtggtgggag 1740
 tgaaggacga tcggatgggg gaagagattt gtgcctgcat tcggctgaag gacggggagg 1800
 agaccacggt ggaggagata aaagctttct gcaaagggaa gatctctcac ttcaagattc 1860
 cgaagtacat cgtgtttgtc acaaaactacc cctcaccat ttcaggaaaag atccagaaat 1920
 tcaaaactcg agagcagatg gaacgacatc taaatctgtg aataaagcag caggcctgtc 1980
 ctggccgggt ggcttgactc tctcctgtca gaatgcaacc tggctttatg cactagatg 2040
 tcccagcac ccagttctga gccaggcaca tcaaatgtca aggaattgac tgaacgaact 2100
 aagagctcct ggatgggtcc gggaaactcg ctgggcacaa ggtgccaaaa ggcaggcagc 2160
 ctgccagggc cctcctctct gtccatcccc cacattcccc tgtctgtcct tgtgatttgg 2220
 cataaagagc ttctgttttc aaaaaaaaaa aaaa 2254

<210> 24
 <211> 1954
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Incyte ID No: 3231586CB1

<400> 24
 atccgggtacc acggccagtg caagctaaaa ttaaccctca ctaaagggaa taagcttggc 60
 ccccgccgag atgtttcccc gcgagaagac gtggaacatc tcgttcgcgg gctgcccgtt 120
 cctcggcgct tactacgtcg gcgtggcctc ctgcctccgc gagcacgcgc ccttctcgtt 180

```

ggccaacgcc acgcacatct acggcgccctc ggccggggcg ctcacggcca cggcgctggt 240
caccgggggtc tgccctgggtg aggcctgggtc caagttcatt gaggtatcta aagaggcccg 300
gaagcgggttc ctggggccccc tgaccccttc cttcaacctg gtaaagatca tccgcagtct 360
cctgctgaag gtccctgcttg ctgatatgcca tgagcatgcc agtggggcgcc tgggcatctc 420
cctgacccgc gtgtcagacg gcgagaatgt cattatatcc cacttcaact ccaaggacga 480
gctcatccag gccaatgtct gcagcgggtt catcccccgt tactgtgggc tcatccctcc 540
ctccctccag ggggtgctgt acgtggatgg tggcatttca gacaacctgc cactctatga 600
gtttaagaac accatcacag tgccccctt ctggggcgag agtgacatct gtccgcagga 660
cagctccacc aacatccacg agctgcgggt caccaacacc agcatccagt tcaacctgcg 720
caacctctac cgctcttcca aggccccctt cccgcgggag cccctggtgc tgcgagagat 780
gtgcaagcag ggataccggg atggcctgcg cttctctgag cggaaacggc tcctgaaccg 840
ggccaacccc ttgctggcgt tgccccccgc cggccccac ggcccagagg acaaggacca 900
ggcagtggaag agcgcccaag cggaggatta ctgcagctg ccgggagaag atcacatcct 960
ggagcacctg cccgcccggc tcaatgaggc cctgctggag gcctgctggt agcccacgga 1020
cctgctgacc accctctcca acatgctgcc tgtgctgtg gccacggcca tgatggtgcc 1080
ctacacgctg ccgctggaga gcgctctgtc cttcaccatc cgcttgctgg agtggctgcc 1140
cgacgttccc gaggacatcc ggtggatgaa ggagcagacg ggacgcatct gccagtacct 1200
ggtgatgcgc gccaaaggga agctgggcag gcacctgccc tcaggctgc cggagcaggt 1260
ggagctgcgc cgcgtccagt cgtgcccgtc cgtgcccgtg tcctgcccgc cctacagaga 1320
ggcactgccc ggctggatgc gcaacaacct ctgctggggg gacgcgctgg ccaagtggga 1380
ggagtgcacg cgcacgctgc tgctcggcct cttctgcacc aacgtggcct tcccgccgga 1440
agctctgcgc atgcgcgcac ccgcccagcc ggctcccgc cccgcggacc cagcatcccc 1500
gcagcaccag ctggccgggc ctgccccttt gctgagcacc cctgctcccg aggcccggcc 1560
cgtgatccgg gccctggggc tgtgagaccc cgacctctc gaggaacctt gcttgagacg 1620
cctccattac cactgcgcag tgagatgagg ggaactcacg ttgccaagag ggttctttgc 1680
cgtgggcccc ctgcgcagcc actcaccagc tgcatgcact gagaggggag gtttccacac 1740
ccctcccctg ggccgctgag gccccgcgca cctgtgcctt aatcttccct cccctgtgct 1800
gcccgagcac ctccccgcc cctttactcc tgggaacttt gcagctgccc ttccctcccc 1860
gtttttcatg gctgtgtgaa atatgtgtgt gaagaattat ttattttcgc caaagcacat 1920
gtaataaatg ctgcagccca aaaaaaaaaa aaaa

```

<210> 25

<211> 1937

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 3580770CB1

<400> 25

```

gcagttcctg gggcgtagta ggggatccac aagcgtttgt gaccagtga gttctttaca 60
agggtagagt ctgcacggga ggacccgagc gagggctctg gcttgccagg aagccggggt 120
tccccgggaa agcgtggagt caccgcgcga ctggaagtgc ctttgcaaaa ttatatctgg 180
gtgttggcac ccagccacta ttctgccaat gaagtacatc ctggtcacgg gtgggggtcat 240
ctcaggcatt ggtaaaggga tcattgccag cagcattgga acgattctaa aatcatgtgg 300
actccgagtt actgccataa aaatcgaccc ctatattaac atcgatgctg gcactttttc 360
accttatgaa cagcgtgaag tcttcgtctt aaatgatggt ggagaagttg atttagacct 420
tgagatttat gaaagatttt tggatattaa tctttataaa gacacaatag tcaccacggg 480
gaagatatat cagcatgtga tcaataaaga gaggcgtggt gattacctgg ggaaaaacagt 540
gcaagttgtc cctcacatta ctgatgctgt ccaggagtgg gttatgaatc aagccaaggt 600
gcccgtggat ggtataaagg aagagcccca aatattgcgt attgagctgg gaggcaccat 660
tgagacatc gaaggaaatgc cgttttgtag ggcgtttaga caattccagt ttaaggcgaa 720
aagagagaat ttctgtaata tccacgttag ccttgctcca cagctcagtg ctaccggaga 780
acaaaaaacc aaaccacccc aaacacgcgt ccgcgcactg aggggttttag gcctgtctcc 840
agatctgatt gtctgcccga gttcaacgcc cattgagatg gccgtgaagg agaagatttc 900
tatgttttgt cagctgaacc ctgaacaggt catatgtatc catgatgttt cttccacata 960
ccgagttcct gtgcttttag aggaacaaag cattgtgaaa tattttaagg agagattgca 1020
cctgcccata ggtgattctg caagtaattt gctttttaag tggagaaata tggctgacag 1080
gtatgaaagg ttacagaaaa tatgctccat agccctgggt ggcaaatata ccaagctcag 1140
agactgctac gcctctgtgt tcaaaagccct ggaacactca gccctggcca tcaaccacaa 1200
gttgaatctg atggtgattg atatgcccga gcacaacctt ggcaatttgg gaggaacaa 1260
gagactggga ataagaagaa ctgttttcaa aactgaaaat tcaatattaa ggaaacttta 1320
tggtagtggt ccttttatag aagaaagaca cagacatcgg ttcgaggtaa accctaacct 1380
gatcaaacaa tttgagcaga atgacttaag ttttgtaggt caggatgttg atggagacag 1440

```

```

gatggaaatc attgaaactgg caaatcatoc ttatttttgtt ggtgtccagt tccatcctga 1500
gttttcttct aggcgatga agccttcccc tccgtatctg gggctgttac ttgcagcaac 1560
tgggaacctg aatgcctact tgcaacaggg ttgcaactg tcttccagt atagatacag 1620
tgatgccagt gatgacagct ttccagagcc aaggatagct gaggttgaaa taagctgaaa 1680
tgaatacatg actgggaata atggggactg cctgtgaggc ctctgaaata attgaaggca 1740
agatgaagga actatctgaa gaaatcacta cactcttaga gaatccctct gttctccagc 1800
aaacatggga tgtaaagcct cacagggaat ctgataatac atacttctgt caaccagaac 1860
cagaggggta gttttctttt cctccagag gcaacctttg atacttaaaa tatctgtagc 1920
tgattaaatt tcgcccc

```

```

<210> 26
<211> 970
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 3778612CB1

```

```

<400> 26
taataataat aacgtaatca tacctctagt catagcatac catttatcgg gctcggcgca 60
ggcccgcggg gagcgagcc cggcgagag actgatggag aggcagaaac ggaaggcgga 120
catcgagaaa gggctgcagt tcattcagtc gacactaccc cttaaagcaag aagaatatga 180
ggcctttctg ctcaagctgg tgcagaatct gtttgctgag ggcaatgatc tgttccggga 240
gaaggactat aagcaggctc tgggtgcagta catggaaggg ctgaacgtgg ccgactacgc 300
tgctcttgac caggtggccc tgccccggga gctgctgtgc aagctgcatg tcaatagggc 360
cgctgctac ttcacatgg gctgtatga gaaggcgctg gaggacagcg agaaggcgct 420
gggcccctgac agtgagagta tccgggctgt gttccgcaaa gcacgcgctc tcaatgaact 480
gggacgccac aaggaggcct acgagtgcag cagccggtgt tccctcgccc tgccccacga 540
tgaaagcgtg actcagcttg gtcagggacc cttgggatct ggggcttccct ggccctggcca 600
gagctggagc cccacaggg taaggagag agagtgggag gcagagtgtg atggggagga 660
gggacagaaa gaccctttta atgatgaggg taactatttc agttgtgagc cttctagggc 720
cccaggctgg gaggtcaga ggaactgaatc tgggacctgt gtcccccccg gcaggcaggg 780
acaagatggc atggcaagca tgggggcggg gtgggtgggg agggatgctg catttctcag 840
ctgggcagta atcaatttaa tggtccttta aaatgtctgt gtattaaaaa tttaagaata 900
ccacacttta atattaaata ttcataaggt ctagtatctt gataataatg tagatgtttt 960
ataacaatt
970

```

```

<210> 27
<211> 1810
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 4574912CB1

```

```

<220>
<221> unsure
<222> 193, 196-198
<223> a, t, c, g, or other

```

```

<400> 27
gctgcatgga gggcgccgtt ctagaagctg ggggtgcgag gtgcttttgc aggtttgggt 60
gtgaattgag caagtatgaa aaccccggct attcatcccc cagaagtgat tactttaaaa 120
atttatatgat cattataact cagaatcgaa tgtcctttct tgcaaatatg ttccacacga 180
tggactgtgt tgnatgnnncc aggtatagct gtggaccaac tgtatatgat catgcgcacc 240
ttggccatgc ttgctcatat gttagatttg atatcattcg aaggatccta accaagggtt 300
ttggatgcag catagtcatg gtgatgggta ttacagatgt agatgataaa atcatcaaaa 360
gagccaatga gatgaatatt tccccgcctt ccttcgccag tctttatgag gaagacttca 420
agcaggacat ggcagccctg aagggttctc caccacgggt gtacctgagg gtaaccgaaa 480
atattcctca gataatttct ttcattgaag gaatcattgc tcgtgggaac gcttattcaa 540
cggcaaaagg caatgtctac ttcgatctga agtctagagg agacaagtat ggcaaatggg 600
tcggcgctgg cctgggtcca gtccgagagc cagcggactc tgacaagcgt catgcagtg 660
acttcgcctt gtggaaggcg gccaaacccc agggagtggt ctgggcctct cctgggggac 720

```

```

ccgggaggcc gggctggcac atcgagtgc ctgccatgc tagtatggta tttggaagtc 780
aactggalat ccattcaggt gggatagatt tagcttttcc acatcatgag aacgaaattg 840
cacagtgcga agtctttcat cagtgcgagc agtggggaaa ttattttctg cattctgggc 900
atttgcacgc caaaggcaaa gaagaaaaaa tgtccaaatc attaaagaac tacattacta 960
ttaaggactt tctgaagacc ttttcccccg atgtcttccg gttcttctgc ctgaggagca 1020
gctaccgctc agccatcgac tacagtgcga gcgccatgct ccaagctcag cagctgctcc 1080
tggggctggg ctcttttctg gaggacgcac gtgcctacat gaaggggcag ctggcctgcg 1140
gctccgtccg ggaagcgatg ctgtgggaga ggctctccag caccagaggg gccgtgaagg 1200
cggccttggc agatgacttt gacacacca ggggtggtga tgccatcctg ggccctgcac 1260
accacgggaa tggacagctc agggcgtccc tgaaggaaac tgaaggggcg agaagctctg 1320
ctgtgttttg tgccatcatc tcttactttg aacagttttt tgaaactggt ggaatttctc 1380
tggcaaatca acagtacgtt tcaggagacg gcagcgaggc taccttgcat ggtgtggtgg 1440
acgagctggg gcggttcccg cagaaggtcc ggcatgttgc gctggccatg cccgaggcca 1500
cgggggacgc cggcgggcag cagctcctag aaaggcgacc cctgtggaa gcatgcgaca 1560
ccctgcgccc gggcctgact gccacggcca tcaacatcaa ggacagaagc agtacaacat 1620
ccacgtggga actgctggat caaaggacaa aagaccaaaa atcagcgggc tgaggatgga 1680
gcacagccat gaacctgctc acgacaagac gcacccatgc ttctcagggc caaggcttta 1740
tgttaaaagt tcctgtcggg gctgtcaggt cagcattaaa gtaaggcaac caacagtga 1800
aaaaaaaaa 1810

```

<210> 28

<211> 2162

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Incyte ID No: 5630806CB1

<400> 28

```

gaccgtgcgc gcggcacgag gggacggggt ccgactcaga aatggcgggc tccatgttct 60
acggcaggct agtggccgtg gccacccttc ggaaccaccg gcctcggacg gcccagcggy 120
ctgctgtctca ggttctggga agttctggat tgtttaataa ccattggactc caagtacagc 180
agcaacagca aaggaatctc tcactacatg aatacatgag tatggaatta ttgcaagaag 240
ctgggtgtctc cgttcccaaa ggatatgtgg caaagtcacc agatgaagct tatgcaattg 300
ccaaaaaatt aggttcaaaa gatgtcgtga taaaggcaca ggttttagct ggtggtagag 360
gaaaagggaac atttgaaagt ggcctcaaa gaggagtga gtagtatttc tctccagaag 420
aagcaaaagc tgtttcttca caaatgattg ggaaaaaatt gtttaccag caaacgggag 480
aaaaggcgag aatatgcaat caagtattgg tctgtgagcg aaaatatccc agggagagaat 540
actactttgc aataacaatt gaaaggatc ttcaagggtc tgtattaata ggaagtccac 600
atgggtggtg caacattgaa gatgttgctg ctgagactcc tgaagcaata attaaagaac 660
ctattgatata tgaagaaggc atcaaaaagg aacaagctct ccagcttgca cagaagatgg 720
gattttccacc taatatgtgt gaatcagcag cagaaaaacat ggtcaagctt tacagccttt 780
ttctgaaata cgatgcaacc atgatagaaa taaatccaat ggtggaagat tcagatggag 840
ctgtattgtg tatggatgca aagatcaatt ttgactctaa ttcagcctat cgccaaaaga 900
aaatctttga tctacaggac tggacccagg aagatgaaag ggacaaagat gctgctaagg 960
caaatctcaa ctacattggc ctcgatggaa atataggctg cctagtaaat ggtgctggtt 1020
tggctatggc cacaatggat ataataaaac ttcatggagg gactccagcc aacttccttg 1080
atgttggtgg tgggtgtaca gtccatcaag taacagaagc atttaagctt atcacttcag 1140
ataaaaaggc actggctatt ctggtcaaca tttttggagg aatcatgcgc tgtgatgta 1200
ttgcacaggg tatagtcatt gcagtaaaag acttggaat taaaatacct gttgtggtac 1260
ggttacaagg tacacgagtc gatgatgcta aggcactgat agcggacagt ggacttaaaa 1320
tacttgcttg tgatgacttg gatgaagctg ctagaatggt tgaagctc tctgaaatag 1380
tgaccttagc gaagcaagca catgtggatg tgaaatttca gttgccaata tgatctgaaa 1440
acccagtgga tggctgaagg tgttaaatgt gctataatca ttaagaatac tgtgttctgt 1500
gttatgttgc tttttctttt tagtgtgtgg agattgtaat tgccatctag gcacacaaac 1560
atttaaaagg abttggactg catttaattg taccattcag aatggactgt ttgtacgaag 1620
catgtataat gcagttatct tctttctttc gtgcgagcca gtcttttttg cttctcttac 1680
aaaacgtaac ttgcaatttg ccagtttatt attgttggat acaaaagttct tcattgataa 1740
gagtcctata aataagataa atacgaagat aaagctttat tcttttagtgt taaaatacag 1800
tatatctaat aactagcctc attagtagag cagtatatta aaacaatggt ttatgtaaaa 1860
agtgtttatc ttcagacca aatacatgat aaatgtatca atcactatct ataaacagag 1920
ctttcaaaaca ctccctcagaa tattcttcta agtattttga tgaagtaact ttgtaattat 1980
ttgaacattg ttttaatcat taggaaacac tgattaaact caagctctca tgattctgtc 2040
atattaagaa acacctgtag gtttgcctta aataaaggca tatataccaa ggacttacag 2100

```

acaaaatttaa gaatgtcaat ttaagttaat aaaaatctcc caatatgaaa aaaaaaaaaa 2160
aa 2162

<210> 29
<211> 1477
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5854855CB1

<400> 29
gcaatccgta cccctcagtgg gttccctttc agtgggttcc tttgtcccca ggccattat 60
tccgtctccc cctcttccct gatgtatttt ggccggtctt cctggctctg cgggcccagg 120
gctccggatg aggtctcccg ccgtcccgac ccccgcaagg gccagcttgg tgtcgcttc 180
gttcttctgc caccocattc ggaagggtgt cgggtcttcc ggccactggg tcccatcgtt 240
ccctcctcac ctgggctcac cctcgggggt ctggccgtga gcgagcaccg gctcagcaac 300
aagctgctgg cttggagcgg cgtcctcgag tggcaggaga agcgcagacc ctactctgac 360
tccactgcaa agctgaagcg gaccctgccc tgccaagcct acgtgaacca aggcgagAAC 420
ctggagaccg accagtggcc gcagaagctg atcatgcagc tgatcccgcA gcagctgctg 480
accaccctgg gccccctggt ccggaactcc cagttggcac agttccactt caccaacaga 540
gactgcgact cgctcaaggg gctctgccgc atcatgggca acggcttctc gggctgcatg 600
ctgttcccc acatctcccc ctgtgaggtg cgcgtgctca tgctcctgta ctcttccaag 660
aagaagatct tcatgggctt catccctac gaccagagcg gcttcgtcag tgccatccgg 720
caggctcatca ccaccgcgaa gcaggcagtg ggacctggtg gtgtcaactc aggccagtc 780
cagatcgtca acaacaagtt tctggcatgg agtgggtgtca tggagtggca ggagcccagg 840
cctgagccca acagtccgtc caagaggtgg ctgccatccc acgtctacgt gaaccagggg 900
gagatcctga ggaccgagca gtggccaagg aagctgtaca tgcaactcat cccgcagcag 960
ctgctgacca ccctagtgcc gctgttccgg aactcgccgc tggctcagtt ccacttccc 1020
aaggacctgg agacactgaa gagcctgtgc cggatcatgg acaatggctt cgcggctgc 1080
gtgcactttt cctacaaagc atcgtgtgag atccgctgct tlatgtctct gtactcttca 1140
gagaagaaaa tcttcattgg cctcatcccc catgaccagg gcaactttgt caacggcatc 1200
cggcgtgtca ttgccaacca gcagcaggtc ctgcagcggA acctggagca ggagcaacag 1260
caacgagggA tgggggggta gtggttaccC cgggctgggc cctccagga gtacagatg 1320
aggccccgc agagactggg gacacgcttc tgagcagggg cccctgggga cttcaactgc 1380
ccagcaacat ggaggtgggt gtcctgaggc ctccaaggac ggtccccacc cctctacgtt 1440
tcccaataa agccttttaa aaacctgaaa aaaaaaa 1477

<210> 30
<211> 1660
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> Incyte ID No: 5993973CB1

<400> 30
gggccttccg cagctgcaga gctcaacct cagcggcaac cggctgcgcg agccgccagc 60
cgacctggcg cgtgcgccc cgcgcctgca gagcctcaac ctcaccggca attgcctaga 120
ctcctttccc gccgagctct ttcccccgg cgcgtgccc ctgctcagtg aactggcggc 180
tgctgacaac tgcctccgag aactcagccc cgacatcgcc cacttgccct cgtcaagac 240
gttggaacct tcgaacaacc agctgagcga gatccctgca gagcttgcgg actgcccAA 300
gctcaaggag atcaatttcc gtgggaacaa gctgagggac aagcgcctgg agaagatggt 360
cagcggctgc cagaccagat ccatectgga gtacctgccc gtcggaggcc gtggtggcgg 420
gaagggcAag ggcgtgccc agggctcgga gaaggaagag agccggaggA agaggaggga 480
gagggaagcag aggcgggaag gtggtgatgg ggaggagcag gacgtgggag atgccggccg 540
gctgctgctc agggctctgc acgtctctga aaaccccgtA cctctgacag tcagagtgg 600
ccccgaggtc cgggatgtgc ggccctacat tgtgggggccc gtggtgagag gcatggacct 660
gcagccaggg aatgcactca agcgttctct cactcgcag accaagctcc acgaagatct 720
ctgtgagaag aggacggctg ccacccttgc caccacagag ctccgtgccc tcaaaaggcc 780
cctgctgtac tgcgcccggc cccacagga cctcaagatt gtccccctgg ggcggaaaga 840
agccaaggcc aaggagctgg tgcggcagct gcagctggag gccgaggagc agaggaaagca 900
gaagaagcgg cagagtgtgt cgggcctgca cagatacctt cacttgctgg atggaaatga 960

```

aaattacccg tgtcttgtgg atgcagacgg tgaatgtgatt tccttcccac caataaccaa 1020
cagtgaagaag acaaaagggtta agaaaacgac ttctgatttg tttttggaag taacaagtgc 1080
caccagtctg cagatttgca aggatgtcat ggatgccctc attctgaaaa tggcagaaat 1140
gaaaaagtac actttagaaa ataaagagga aggatcactc tcagatactg aagccgatgc 1200
agtctctgga caacttcag atcccacaac gaatcccagt gctggaagg acgggccctc 1260
ccttctgggt gtggagcagg tccgggtggt ggatctggaa gggagcctga aggtggtgta 1320
cccgccaag gccgacctgg ccactgcccc tcccacgtg actgtcgtgc gctgacgcca 1380
gggcccctg tccgcgtttg tttggccggt tttgcggagg tttctatgcg gcaatgctga 1440
attatccgtt agattttcac ccagttttt ttgttgggtt tttttttttg agatggagtc 1500
tcgctctgtc gccaggctgg agtgacgtgg cgtgatctcg agtcactgca gcctgtgtct 1560
cctgggttca agcgattctc ctgcctcagc ctccaagta gctgggacta caggtgtgtg 1620
ccactaagct cagctaattt ttgtattttt agtagagacg 1660

```

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter national Application No. PCT/US 00/19980		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12N15/52 C12N9/00 C07K16/40 C12Q1/68 A61K38/43 A61K48/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C12N C07K C12Q 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) STRAND, EPO-Internal, PAJ, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	NAGASE T ET AL: "PREDICTION OF THE CODING SEQUENCES OF UNIDENTIFIED HUMAN GENES. XVITHE COMPLETE SEQUENCES OF 150 NEW CDNA CLONES FROM BRAIN WHICH CODEFOR LARGE PROTEINS IN VITRO" DNA RESEARCH, UNIVERSAL ACADEMY PRESS, JP, vol. 7, 2000, pages 65-73, XP000949814 ISSN: 1340-2838 SEQUENCE KIAA1352	1-17
P,X	--- DATABASE EBI [Online] SEQUENCE AC D84223, 15 May 2000 (2000-05-15) H. MOTEGI ET AL.: "Cloning and sequence determination of a human cytoplasmic leucyl-tRNA synthetase gene." XP002152778 sequence data ---	1-17
-/-		
☒ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 14 November 2000		Date of mailing of the international search report 19. 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 Hix, R

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter: nal Application No

PCT/US 00/19980

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 98 16648 A (BALDWIN JACK EDWARD ;CLIFTON IAN (GB); ISIS INNOVATION (GB); ROACH) 23 April 1998 (1998-04-23) the whole document ---	
A	WO 97 40174 A (LEUKOSITE INC) 30 October 1997 (1997-10-30) the whole document ---	
A	US 5 759 833 A (SHIBA KIYOTAKA ET AL) 2 June 1998 (1998-06-02) the whole document -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Int. application No.
PCT/US 00/19980
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

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

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 18, 21 and 24 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
invention 1: claims 1 to 27 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

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

Invention 1: Claims 1 to 27 partially

Isolated polypeptide comprising an amino acid sequence of SEQ ID NO:1 and polynucleotide of SEQ ID NO: 16, biologically active and immunogenic fragments thereof, antibodies which specifically bind thereto, composition comprising said polypeptide and methods of using said polynucleotides and polypeptides

Inventions 2 to 12: Claims 1 to 27 partially

Isolated polypeptide comprising an amino acid sequences of SEQ ID NO:2 and 4 to 14 and polynucleotides of SEQ ID NO: 17 and 19 to 29, biologically active and immunogenic fragments thereof, antibodies which specifically bind thereto, composition comprising said polypeptide and methods of using said polynucleotides and polypeptides

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 00/19980

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9816648 A	23-04-1998	EP 0932685 A	04-08-1999
WO 9740174 A	30-10-1997	NONE	
US 5759833 A	02-06-1998	NONE	

 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		A 6 1 P	
1/16		1/18	4 C 0 8 4
1/18		5/14	4 C 0 8 6
5/14		7/00	4 C 0 8 7
7/00		7/06	4 H 0 4 5
7/06		7/08	
7/08		9/10	
9/10			1 0 1
	1 0 1	11/00	
11/00		11/06	
11/06		11/16	
11/16		13/02	
13/02		13/08	
13/08		13/12	
13/12		15/00	
15/00		15/08	
15/08		15/10	
15/10		15/14	
15/14		17/00	
17/00		17/02	
17/02		17/06	
17/06		19/00	
19/00		19/02	
19/02		19/04	
19/04		19/06	
19/06		19/10	
19/10		21/02	
21/02		21/04	
21/04		25/00	
25/00		25/02	
25/02		25/08	
25/08		25/14	
25/14		25/16	
25/16		25/18	
25/18		25/24	
25/24		25/28	
25/28		27/02	
27/02		29/00	
29/00			1 0 1
	1 0 1	31/04	
31/04		31/10	
31/10		31/12	
31/12		33/00	
33/00		35/00	
35/00		35/02	
35/02		37/02	
37/02		37/08	

	37/08			43/00	1 1 1
	43/00	1 1 1		C 0 7 K	16/40
C 0 7 K	16/40			C 1 2 N	1/15
C 1 2 N	1/15				1/19
	1/19				1/21
	1/21			C 1 2 Q	1/68
	5/10			G 0 1 N	33/15
	15/09				33/50
C 1 2 Q	1/68				33/53
G 0 1 N	33/15				
	33/50				33/566
	33/53			A 6 1 K	31/7115
					31/7125
	33/566				35/76
// A 6 1 K	31/7115				48/00
	31/7125			C 1 2 N	15/00
	35/76				5/00
	48/00			A 6 1 K	37/60

(81)指定国 E P (A T , B E , C H , C Y ,
D E , D K , E S , F I , F R , G B , G R , I E , I
T , L U , M C , N L , P T , S E) , O A (B F , B J
, C F , C G , C I , C M , G A , G N , G W , M L ,
M R , N E , S N , T D , T G) , A P (G H , G M , K
E , L S , M W , M Z , S D , S L , S Z , T Z , U G
, Z W) , E A (A M , A Z , B Y , K G , K Z , M D ,
R U , T J , T M) , A E , A L , A M , A T , A U ,
A Z , B A , B B , B G , B R , B Y , C A , C H , C
N , C R , C U , C Z , D E , D K , D M , E E , E S
, F I , G B , G D , G E , G H , G M , H R , H U ,
I D , I L , I N , I S , J P , K E , K G , K P , K
R , K Z , L C , L K , L R , L S , L T , L U , L V
, M A , M D , M G , M K , M N , M W , M X , N O ,
N Z , P L , P T , R O , R U , S D , S E , S G , S
I , S K , S L , T J , T M , T R , T T , T Z , U A
, U G , U S , U Z , V N , Y U , Z A , Z W

(72)発明者 バンドマン、オルガ

アメリカ合衆国カリフォルニア州94043・
マウンテンビュー・アンナアベニュー
366

(72)発明者 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 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 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

- (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 シャー、パルビ
アメリカ合衆国カリフォルニア州94087・
サニーバイル・# 5 ・クイーンシャルロット
ドライブ 1608
- (72)発明者 アジムザイ、ヤルダ
アメリカ合衆国カリフォルニア州94545・
ハイワード・ロックスプリングスドライブ
2045

F ターム(参考) 2G045 AA40 DA12 DA13 DA36 FB02
FB03
4B024 AA01 AA11 BA07 CA01 CA12
GA11 HA12
4B050 CC03 DD11 EE10 LL01
4B063 QA05 QA19 QQ01 QQ42 QQ53
QR08 QR32 QR42 QR55 QR62
QS25 QS34 QX01
4B065 AA93Y AB01 AC14 BA02
CA27 CA44 CA46
4C084 AA02 AA03 AA07 AA17 BA44
DC28 DC32 MA13 MA16 MA24
MA28 MA31 MA43 MA52 MA57
MA59 MA60 MA63 MA66 NA14
ZA022 ZA062 ZA122 ZA152
ZA162 ZA182 ZA202 ZA222
ZA232 ZA332 ZA362 ZA452
ZA522 ZA552 ZA592 ZA602
ZA662 ZA682 ZA752 ZA812
ZA862 ZA892 ZA942 ZA962
ZA972 ZB072 ZB262 ZB272
ZB322 ZB332 ZB352 ZB372
ZC062 ZC192 ZC202
4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA16
MA24 MA31 MA43 MA56 MA57
MA59 MA60 MA66 NA14 ZA02
ZA06 ZA12 ZA15 ZA16 ZA18
ZA22 ZA23 ZA33 ZA36 ZA45
ZA51 ZA52 ZA55 ZA59 ZA66
ZA68 ZA75 ZA81 ZA86 ZA94
ZA96 ZA97 ZB07 ZB11 ZB26
ZB27 ZB32 ZB33 ZB35 ZB37
ZC06 ZC19 ZC20
4C087 AA01 AA02 BC83 CA09 CA12
CA20 MA13 MA16 MA24 MA31
MA43 MA52 MA56 MA59 MA60
MA63 NA14 ZA02 ZA06 ZA12
ZA16 ZA18 ZA20 ZA22 ZA23
ZA33 ZA36 ZA51 ZA52 ZA55
ZA59 ZA66 ZA75 ZA81 ZA86
ZA89 ZA94 ZA96 ZB07 ZB27
ZB32 ZB33 ZB37 ZC20
4H045 AA11 CA40 EA21 EA22 EA50
EA51 FA74

专利名称(译)	人体合成酶		
公开(公告)号	JP2003533967A	公开(公告)日	2003-11-18
申请号	JP2001512894	申请日	2000-07-20
[标]申请(专利权)人(译)	洞察Genomics公司		
申请(专利权)人(译)	洞察基因组公司		
[标]发明人	タングワイトム ヒルマンジェニファーエル バンドマンオルガ ユエヘンリー ボーグンマライアアール ラルプリーティ リュデュングアイナエム シャーパルビ アジムザイヤルダ		
发明人	タング、ワイ・トム ヒルマン、ジェニファー・エル バンドマン、オルガ ユエ、ヘンリー ボーグン、マライア・アール ラル、プリーティ リュ、デュング・アイナ・エム シャー、パルビ アジムザイ、ヤルダ		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/7115 A61K31/7125 A61K35/76 A61K38/00 A61K38/53 A61K45/00 A61K48/00 A61P1/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P1/18 A61P5/14 A61P7/00 A61P7/06 A61P7/08 A61P9/10 A61P11 /00 A61P11/06 A61P11/16 A61P13/02 A61P13/08 A61P13/12 A61P15/00 A61P15/08 A61P15/10 A61P15/14 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/00 A61P19/02 A61P19/04 A61P19/06 A61P19 /10 A61P21/02 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/24 A61P25/28 A61P27/02 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P33/00 A61P35 /00 A61P35/02 A61P37/02 A61P37/08 A61P43/00 C07K16/40 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5 /10 C12N9/00 C12N15/09 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61K38/00 A61K48/00 A61P1/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P1/18 A61P5/14 A61P7/00 A61P7/06 A61P7 /08 A61P9/10 A61P11/00 A61P11/06 A61P11/16 A61P13/02 A61P13/08 A61P13/12 A61P15/00 A61P15/08 A61P15/10 A61P15/14 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/00 A61P19/02 A61P19 /04 A61P19/06 A61P19/10 A61P21/02 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/24 A61P25/28 A61P27/02 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31 /12 A61P33/00 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61P37/08 A61P43/00 C12N9/93		
FI分类号	C12N9/00.ZNA A61K45/00 A61P1/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P1/18 A61P5/14 A61P7/00 A61P7/06 A61P7/08 A61P9/10 A61P9/10.101 A61P11/00 A61P11/06 A61P11/16 A61P13/02 A61P13/08 A61P13 /12 A61P15/00 A61P15/08 A61P15/10 A61P15/14 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/00 A61P19/02 A61P19/04 A61P19/06 A61P19/10 A61P21/02 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/02 A61P25 /08 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/24 A61P25/28 A61P27/02 A61P29/00 A61P29/00.101 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P33/00 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61P37/08 A61P43 /00.111 C07K16/40 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33 /53.D G01N33/53.M G01N33/566 A61K31/7115 A61K31/7125 A61K35/76 A61K48/00 C12N15/00.A C12N5/00.A A61K37/60		

2G045/AA40 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/DB02 2G045/DB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA07 4B024/CA01 4B024/CA12 4B024/GA11 4B024/HA12 4B050/CC03 4B050/DD11 4B050/EE10 4B050/LL01 4B063/QA05 4B063/QA19 4B063/QQ01 4B063/QQ42 4B063/QQ53 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR42 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX01 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA27 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084/AA07 4C084/AA17 4C084/BA44 4C084/DC28 4C084/DC32 4C084/MA13 4C084/MA16 4C084/MA24 4C084/MA28 4C084/MA31 4C084/MA43 4C084/MA52 4C084/MA57 4C084/MA59 4C084/MA60 4C084/MA63 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZA022 4C084/ZA062 4C084/ZA122 4C084/ZA152 4C084/ZA162 4C084/ZA182 4C084/ZA202 4C084/ZA222 4C084/ZA232 4C084/ZA332 4C084/ZA362 4C084/ZA452 4C084/ZA522 4C084/ZA552 4C084/ZA592 4C084/ZA602 4C084/ZA662 4C084/ZA682 4C084/ZA752 4C084/ZA812 4C084/ZA862 4C084/ZA892 4C084/ZA942 4C084/ZA962 4C084/ZA972 4C084/ZB072 4C084/ZB262 4C084/ZB272 4C084/ZB322 4C084/ZB332 4C084/ZB352 4C084/ZB372 4C084/ZC062 4C084/ZC192 4C084/ZC202 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/AA03 4C086/EA16 4C086/MA16 4C086/MA24 4C086/MA31 4C086/MA43 4C086/MA56 4C086/MA57 4C086/MA59 4C086/MA60 4C086/MA66 4C086/NA14 4C086/ZA02 4C086/ZA06 4C086/ZA12 4C086/ZA15 4C086/ZA16 4C086/ZA18 4C086/ZA22 4C086/ZA23 4C086/ZA33 4C086/ZA36 4C086/ZA45 4C086/ZA51 4C086/ZA52 4C086/ZA55 4C086/ZA59 4C086/ZA66 4C086/ZA68 4C086/ZA75 4C086/ZA81 4C086/ZA86 4C086/ZA94 4C086/ZA96 4C086/ZA97 4C086/ZB07 4C086/ZB11 4C086/ZB26 4C086/ZB27 4C086/ZB32 4C086/ZB33 4C086/ZB35 4C086/ZB37 4C086/ZC06 4C086/ZC19 4C086/ZC20 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BC83 4C087/CA09 4C087/CA12 4C087/CA20 4C087/MA13 4C087/MA16 4C087/MA24 4C087/MA31 4C087/MA43 4C087/MA52 4C087/MA56 4C087/MA59 4C087/MA60 4C087/MA63 4C087/NA14 4C087/ZA02 4C087/ZA06 4C087/ZA12 4C087/ZA16 4C087/ZA18 4C087/ZA20 4C087/ZA22 4C087/ZA23 4C087/ZA33 4C087/ZA36 4C087/ZA51 4C087/ZA52 4C087/ZA55 4C087/ZA59 4C087/ZA66 4C087/ZA75 4C087/ZA81 4C087/ZA86 4C087/ZA89 4C087/ZA94 4C087/ZA96 4C087/ZB07 4C087/ZB27 4C087/ZB32 4C087/ZB33 4C087/ZB37 4C087/ZC20 4H045/AA11 4H045/CA40 4H045/EA21 4H045/EA22 4H045/EA50 4H045/EA51 4H045/FA74

优先权
60/144992 1999-07-22 US
60/168858 1999-12-02 US

外部链接
[Espacenet](#)

摘要(译)

本发明提供了人合成酶 (SYNT) 和鉴定并编码SYNT的多核苷酸。 本发明还提供表达载体，宿主细胞，抗体，激动剂和拮抗剂。 此外，本发明还提供了一种用于诊断，治疗或预防与SYNT表达有关的疾病的方法。

核苷酸 位置	核苷酸 位置	核苷酸 位置	核苷酸 位置	核苷酸 位置	核苷酸 位置
1	16	31	46	61	76
2	17	32	47	62	77
3	18	33	48	63	78
4	19	34	49	64	79
5	20	35	50	65	80
6	21	36	51	66	81
7	22	37	52	67	82