(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2004-147653
(P2004-147653A)
(43)公開日　平成16年5月27日(2004.5.27)

(51)Int.Cl.[7]		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09		C12N	15/00	ZNAA	2G045
A61K 39/395		A61K	39/395	D	4B024
A61K 45/00		A61K	39/395	N	4B063
A61P 25/00		A61K	45/00		4B064
A61P 25/08		A61P	25/00		4B065

審査請求 有　請求項の数 19　ＯＬ　（全 82 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2003-362046(P2003-362046)
(22)出願日　平成15年10月22日(2003.10.22)
(62)分割の表示　特願平7-501975の分割
原出願日　平成6年6月3日(1994.6.3)
(31)優先権主張番号　08/072,574
(32)優先日　平成5年6月4日(1993.6.4)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　500019948
シビア・ニューロサイエンシーズ・インコーポレイテッド
アメリカ合衆国９２０３７－４６４１カリフォルニア州ラ・ホラ、コースト・ブールバード・サウス５０５番、スウィート３００
(74)代理人　100066692
弁理士　浅村　皓
(74)代理人　100072040
弁理士　浅村　肇
(74)代理人　100088926
弁理士　長沼　暉夫
(74)代理人　100102897
弁理士　池田　幸弘

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体、これをコードする核酸およびその用途

(57)【要約】　（修正有）
【課題】ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体蛋白サブタイプをコードする核酸、およびこれにコードされる蛋白を提供する。
【解決手段】ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体のｍＧｌｕＲ１、ｍＧｌｕＲ２、ｍＧｌｕＲ３およびｍＧｌｕＲ５サブタイプをコードする。これらの核酸はメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプの産生に有用である以外に、プローブとしても有用であり、従って当業者は不要な実験をすることなく、関連する受容体サブユニットを同定し単離することが可能である。新規のメタボトロピックグルタミン酸受容体蛋白サブタイプを開示する以外に、このような受容体の機能に影響を与える化合物（例えば、グルタミン酸受容体機能のアゴニスト、アンタゴニスト、およびモジュレーター（活性調節因子））を同定し性状解析するための、このような受容体サブタイプの使用方法を包含する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
以下の（ａ）または（ｂ）から選択されることを特徴とする単離されたＤＮＡ：
（ａ）配列番号３に記載の全コード領域を有するＤＮＡ、
（ｂ）配列番号３に記載の全コード領域を有するＤＮＡと相補的な塩基配列からなるＤＮＡと、高緊縮性条件下でハイブリダイズし、かつヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプ２（ヒトｍＧｌｕＲ２）としての活性を有する蛋白をコードするＤＮＡ。
【請求項２】
以下の（ａ）または（ｂ）の蛋白をコードすることを特徴とする単離されたＤＮＡ：
（ａ）配列番号４に記載のアミノ酸配列を有する蛋白、
（ｂ）配列番号４に記載のアミノ酸配列において、１または数個のアミノ酸を欠失、置換および／または付加して（ａ）の蛋白から得られ、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプ２（ヒトｍＧｌｕＲ２）としての活性を有する蛋白。
【請求項３】
以下の（ａ）または（ｂ）から選択されることを特徴とする単離されたＤＮＡ：
（ａ）配列番号５に記載の全コード領域を有するＤＮＡ、
（ｂ）配列番号５に記載の全コード領域を有するＤＮＡと相補的な塩基配列からなるＤＮＡと、高緊縮性条件下でハイブリダイズし、かつヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプ３（ヒトｍＧｌｕＲ３）としての活性を有する蛋白をコードするＤＮＡ。
【請求項４】
以下の（ａ）または（ｂ）の蛋白をコードすることを特徴とする単離されたＤＮＡ：
（ａ）配列番号６に記載のアミノ酸配列を有する蛋白、
（ｂ）配列番号６に記載のアミノ酸配列において、１または数個のアミノ酸を欠失、置換および／または付加して（ａ）の蛋白から得られ、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプ３（ヒトｍＧｌｕＲ３）としての活性を有する蛋白。
【請求項５】
以下の（ａ）または（ｂ）から選択されることを特徴とする単離されたＤＮＡ：
（ａ）配列番号７に記載の全コード領域を有するＤＮＡ
（ｂ）配列番号７に記載の全コード領域を有するＤＮＡと相補的な塩基配列からなるＤＮＡと、高緊縮性条件下でハイブリダイズし、かつヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプ５（ヒトｍＧｌｕＲ５）としての活性を有する蛋白をコードするＤＮＡ。
【請求項６】
以下の（ａ）または（ｂ）の蛋白をコードすることを特徴とする単離されたＤＮＡ：
（ａ）配列番号８に記載のアミノ酸配列からなる蛋白
（ｂ）配列番号８に記載のアミノ酸配列において、１または数個のアミノ酸を欠失、置換および／または付加して（ａ）の蛋白から得られ、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプ５（ヒトｍＧｌｕＲ５）としての活性を有する蛋白。
【請求項７】
請求項１から６のいずれか１項に記載のＤＮＡによりコードされる単離された蛋白。
【請求項８】
請求項１から６のいずれか１項に記載のＤＮＡのうち、少なくとも１４の連続する塩基、またはその相補的な塩基よりなる、核酸プローブ。
【請求項９】
請求項１から６のいずれか１項に記載のＤＮＡに相補的な単離されたｍＲＮＡ。
【請求項１０】
請求項１から６のいずれか１項に記載のＤＮＡを含有する真核細胞。
【請求項１１】
請求項１から６のいずれか１項に記載のＤＮＡを発現する真核細胞。
【請求項１２】
請求項９に記載のｍＲＮＡを発現する両生類卵母細胞。

【請求項１３】
ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体蛋白サブタイプをコードするＤＮＡの同定方法であって、
請求項８に記載の核酸プローブと、ヒトＤＮＡを、該核酸プローブがポリ核酸断片の時は低緊縮性ハイブリダイゼーション条件から中緊縮性ハイブリダイゼーション条件下で、該核酸プローブがオリゴヌクレオチドの時は高緊縮性ハイブリダイゼーション条件下で、接触させて、該プローブにハイブリダイズするＤＮＡを同定することを特徴とするＤＮＡの同定方法。
【請求項１４】
競合的結合測定法において、請求項７に記載の蛋白を用いることを特徴とする、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプに結合する化合物の同定方法。
【請求項１５】
ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプの活性を調節する化合物を同定するための生物学的測定法であって、
（ａ）請求項１１に記載の真核細胞を、受容体サブタイプの第二メッセンジャー活性の調節能力を測定すべき少なくとも１つの化合物に暴露させ、
（ｂ）その後、該第二メッセンジャー活性の変化について該真核細胞を追跡することを特徴とする生物学的測定法。
【請求項１６】
ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体を、請求の範囲第１５項に記載の生物測定法により同定される少なくとも１つの化合物に、該化合物が有効量存在する状態で接触させることを特徴とする、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプの第二メッセンジャー活性の調節方法。
【請求項１７】
請求項７に記載の蛋白またはその免疫原性を発現する部位に対する抗体。
【請求項１８】
該抗体はモノクローナル抗体である、請求項１７に記載の抗体。
【請求項１９】
ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体を、請求項１８項に記載のモノクロナール抗体に、該抗体が有効量存在する状態で接触させることよりなる、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプの第二メッセンジャー活性の調節方法。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、核酸とこれによりコードされる受容体蛋白に関する。本発明の核酸は、新規のヒトメタボトロピック（metabotropic）グルタミン酸受容体サブタイプをコードする核酸に関する。本発明はまたこのような受容体サブタイプの作成方法、およびこのような受容体の機能に影響を与える化合物（例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、およびヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体のアロステリックモジュレーター）の同定および性状解析のための受容体蛋白の使用方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
アミノ酸のＬ－グルタミン酸は、哺乳動物の中枢神経系の主要な興奮性神経伝達物質である。解剖学的、生化学的および電気生理学的分析は、グルタミン酸産生系が広範囲のニューロン作用過程（例えば、急速な興奮性シナプス伝達、神経伝達物質放出の制御、長期増強、学習および記憶、成長性シナプス可塑性、低酸素性虚血傷害およびニューロン細胞の死、てんかん様発作、およびいくつかの神経変性障害の病変性）に関与していることを示唆している。一般的には、モナガン（Monaghan）ら、Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., ２９：３６５－４０２（１９８０）を参照。この広範囲の機能（特に学習、神経毒性お

よび神経病理に関する機能）のために、近年グルタミン酸の作用機構を説明し規定しようという研究が始まった。

【０００３】

現在グルタミン酸受容体の分類の概要は、薬理学的基準に基づいている。グルタミン酸は、２つの主要な受容体（イオノトロピック（ionotropic）受容体とメタボトロピック（metabotropic）受容体）に分類されている受容体を介してその作用を媒介することが認められている。イオノトロピックグルタミン酸受容体は、完全な陽イオン特異的、リガンドゲート（ligand-gated）のイオンチャネルを含有し、メタボトロピックグルタミン酸受容体は、細胞内第二メッセンジャー系の活性化を介して細胞外シグナルを変換するＧ蛋白結合受容体である。イオノトロピック受容体は、受容体の薬理学的および機能的性質に基づきさらに少なくとも２つの範疇に分類されている。その２つの主要な型のイオノトロピック受容体は、ＮＭＤＡ（Ｎ－メチル－Ｄ－アスパラギン酸）受容体とカイニン酸（ＫＡ）／ＡＭＰＡ（α－アミノ－３－ヒドロキシ－５－メチル－４－イソキサゾールプロピオン酸）（以前はキスカル酸、すなわちＱＵＩＳと呼ばれていた）受容体である。メタボトロピック受容体はイオノトロピックグルタミン酸受容体が結合するリガンドと同じリガンドのいくつかに結合するが、メタボトロピック受容体はＧＴＰ－結合蛋白および第二メッセンジャー（例えば、サイクリックＡＭＰ、サイクリックＧＭＰ、ジアシルグリセロール、イノシトール１，４，５－三リン酸およびカルシウム）を介してシナプスの生理機能を変更させる［例えば、グンデルセン（Gundersen）ら、Proc. R. Soc. London Ser. ２２１：１２７（１９８４）；スラデツェック（Sladeczek）ら、Nature ３１７：７１７（１９８５）；ニコレッティ（Nicoletti）ら、J. Neurosci. ６：１９０５（１９８６）；スギヤマ（Sugiyama）ら、Nature ３２５：５３１（１９８７）］。

【０００４】

メタボトロピックグルタミン酸受容体の電気生理学的および薬理学的性質は、受容体供給源として動物組織や細胞株、および非ヒト組換え受容体を用いて研究されている。ヒトの治療薬開発へのそのような研究の意義は、ヒトでない受容体サブユニットのみしか入手できないことにより限定されている。さらに、メタボトロピックグルタミン酸受容体の特性や構造が分子レベルで研究され出したのはつい最近である。しかしこのような研究は、ヒト以外の種でのみ行われている。メタボトロピックグルタミン酸受容体の生理学的および病理学的重要性の可能性により、グルタミン酸受容体の種々のクラスの代表的メンバーをコードするヒトの配列（すなわち、ＤＮＡ、ＲＮＡ、蛋白）が利用（例えば、薬剤スクリーニング測定法のために）できることが必要である。そのようなヒトの配列が入手できれば、ヒトでの受容体の分布の研究、特定の受容体の修飾と種々の疾患の発生の関係の研究も可能になるであろう。

【非特許文献１】グンデルセン（Gundersen）ら、Proc. R. Soc. London Ser. ２２１：１２７（１９８４）

【非特許文献２】スラデツェック（Sladeczek）ら、Nature ３１７：７１７（１９８５）

【非特許文献３】ニコレッティ（Nicoletti）ら、J. Neurosci. ６：１９０５（１９８６）

【非特許文献４】スギヤマ（Sugiyama）ら、Nature ３２５：５３１（１９８７）

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【０００５】

（本発明の概要）

本発明は、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体蛋白サブタイプをコードする新規の核酸、およびこれにコードされる蛋白を開示する。具体的な実施態様において、新規の核酸は、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体の全長ｍＧｌｕＲ１、ｍＧｌｕＲ２、ｍＧｌｕＲ３およびｍＧｌｕＲ５サブタイプまたはその一部をコードする。これらの核酸はメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプ蛋白の産生に有用である以外に、プロ

ーブとしても有用であり、従って当業者は不要な実験をすることなく、関連する受容体サブタイプをコードする核酸を同定し単離することが可能である。

【０００６】

本発明は、新規のメタボトロピックグルタミン酸受容体蛋白サブタイプを開示する以外に、このような受容体に影響を与える化合物（例えば、グルタミン酸受容体機能のアゴニスト、アンタゴニスト、およびモジュレーター（活性調節因子））を同定し性状解析するための、このような受容体サブタイプの使用方法を包含する。また本発明は、未知の蛋白がメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプとして機能するか否かを測定する方法を包含する。

【０００７】

（本発明の詳細な説明）

本発明において、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードする単離された核酸が提供される。本発明の１つの面において、ｍＧｌｕＲ１サブタイプのヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードする核酸が提供される。別の面において、ｍＧｌｕＲ２サブタイプのメタボトロピックグルタミン酸受容体の少なくとも１部分をコードする核酸が提供される。さらに別の面において、ｍＧｌｕＲ３サブタイプのメタボトロピックグルタミン酸受容体をコードする核酸が提供される。さらなる面において、ｍＧｌｕＲ５サブタイプのメタボトロピックグルタミン酸受容体をコードする核酸が提供される。さらに別の面において、そのような核酸を含有する真核細胞、およびそのような核酸を発現する真核細胞が提供される。

【０００８】

また前述の核酸によりコードされる蛋白、および該蛋白に対して産生される抗体が提供される。本発明の別の面において、上記核酸のメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプ－選択性部分よりなる核酸プローブが提供される。

【０００９】

本明細書において、「ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプ」とは、グルタミン酸産生リガンドに対する細胞のＧ－蛋白結合応答に参加する、単離されたおよび／または精製された蛋白を意味する。このような受容体サブタイプは、他のメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードしない別々の遺伝子により個々にコードされる（すなわち、各サブタイプはユニークな遺伝子によりコードされる）。このような受容体サブタイプの典型的な特徴は、７つの推定されるトランスメンブレンドメインと、その前に大きな推定される細胞外アミノ末端ドメインと、その後に大きな推定される細胞内カルボキシ末端ドメインを有することである。メタボトロピックグルタミン酸受容体は、基本的にメタボトロピックグルタミン酸受容体でない他のＧ蛋白結合受容体と全くアミノ酸配列相同性を有さない。

【００１０】

メタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプの各々の間の関係に関して、ｍＧｌｕＲ１受容体サブタイプのアミノ酸配列は一般に、他のヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプのアミノ酸配列との同一性は約７０％未満であり、典型的に観察される同一性は４５％未満である。ｍＧｌｕＲ２受容体サブタイプのアミノ酸配列は一般に、他のヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプのアミノ酸配列との同一性は約６０％未満であり、典型的に観察される同一性は４５％未満である。ｍＧｌｕＲ３受容体サブタイプのアミノ酸配列は一般に、他のヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプのアミノ酸配列との同一性は約６０％未満であり、典型的に観察される同一性は４５％未満である。ｍＧｌｕＲ５受容体サブタイプのアミノ酸配列は一般に、他のヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプのアミノ酸配列との同一性は約７０％未満であり、典型的に観察される同一性は４５％未満である。

【００１１】

上記定義に含まれるものは、一次転写体の別のスプライシングにより産生されるｍＲＮＡによりコードされる変種、および上記の生理学的および／または物理的性質の１つまた

はそれ以上を有するその断片である。

【００１２】

本明細書および請求の範囲において、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ポリペプチドまたは蛋白の修飾物質としての「単離される」、「純粋な」という用語は、このように呼ばれるＤＮＡ、ＲＮＡ、ポリペプチドまたは蛋白はヒトの手によりそのような形で産生され、従ってその本来のインビボの細胞環境からは分離されていることを示す。このヒトの介入による結果、本発明の組換えＤＮＡ、ＲＮＡ、ポリペプチドおよび蛋白は、天然に存在するＤＮＡ、ＲＮＡ、ポリペプチドまたは蛋白では役に立たないような方法（例えば、選択的薬剤または化合物の同定）において有用である。

【００１３】

本発明の受容体蛋白の修飾物質として使用される時、「機能性」とは、グルタミン酸産生関連リガンド（例えばＡＣＰＤまたはＡＣＰＤ様リガンド、ＱＵＩＳ、ＡＰ４など）に受容体蛋白に結合すると、Ｇ蛋白との受容体の相互作用を修飾し、これは細胞内第２メッセンジャーのレベルに影響を与え、種々の生理学的作用を引き起こす。言い換えると「機能性」とは、受容体蛋白のアゴニスト活性化の結果として応答が産生されることを意味する。

【００１４】

本明細書においてスプライス変種とは、ゲノムＤＮＡの一次転写体の差別的処理により産生され、その結果２つ以上の型のｍＲＮＡの産生に至る、変種メタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードする核酸を意味する。差別的に処理された一次転写体から得られるｃＤＮＡは、アミノ酸が完全に同一の領域と、異なるアミノ酸配列を有する領域を有する、メタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードするであろう。すなわち同じゲノム配列から、多数の関連するｍＲＮＡや蛋白が得られる。得られるｍＲＮＡや蛋白はいずれも本明細書では「スプライス変種」と呼ぶ。

【００１５】

従って、前記で定義したメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードするが、遺伝コードの縮重のため特定のハイブリダイゼーション条件下で開示された核酸に必ずしもハイブリダイズしない核酸も、本発明の範囲内にあると考えられる。本明細書に記載の方法または当業者に公知の方法により評価すると、そのようなサブタイプもまた、機能性受容体を形成する。典型的には、メタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプが代替スプライシングにより得られるＲＮＡにコードされない（すなわち、スプライス変種）なら、メタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードする核酸とこれによりコードされるメタボトロピックグルタミン酸受容体蛋白は、本明細書に記載の少なくとも１つのメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプ核酸（およびこれによりコードされる蛋白）と実質的な配列相同性を有する。スプライス変種をコードするＤＮＡまたはＲＮＡは、本明細書で提供されるＤＮＡまたはＲＮＡとの配列全体の相同性は９０％未満であるが、本明細書中のＤＮＡ断片とほとんど１００％の相同性を有する領域を含有し、開始コドンおよび停止コドンを含むオープンリーディングフレームをコードし、機能性メタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードすることを理解すべきである。

【００１６】

ヒトｍＧｌｕＲ１サブタイプをコードするＤＮＡ配列の例は、配列番号２に記載されるものと実質的に同じアミノ酸配列をコードするヌクレオチドにより示される。現在好適な配列は、配列番号２に示されるアミノ酸配列をコードする。

【００１７】

別のＤＮＡの例は、ヒトｍＧｌｕＲ１サブタイプをコードし、高緊縮性条件下で配列番号１の実質的に配列全体、またはその大部分（すなわち、典型的には少なくともその２５－３０個の隣接ヌクレオチド）にハイブリダイズするヌクレオチドであることが特徴である。

【００１８】

本明細書において、ハイブリダイゼーションの緊縮性とは、ポリ核酸ハイブリッドが安

定である条件を意味する。当業者に公知なように、ハイブリッドの安定性はハイブリッドの融点（Ｔｍ）に反映される。

【００１９】

Ｔｍは、

式：　$81.5℃-16.6(\log_{10}[Na^{+}])+0.41(\%G+C)-600/l$

（式中、ｌはヌクレオチド中のハイブリッドの長さである）により近似的に表される。

【００２０】

配列の相同性が１％減少する毎に、Ｔｍは約１－１．５℃低下する。一般にハイブリッドの安定性は、ナトリウムイオン濃度と温度の関数である。典型的には、ハイブリダイゼーション反応を低緊縮性条件下で行い、次に種々の（ただし、より高い緊縮性の）条件下で洗浄する。ハイブリダイゼーション緊縮性は、このような洗浄条件に関する。

【００２１】

すなわち、本明細書において、

（１）断片のハイブリダイゼーションに関して、高緊縮性条件とは、６５℃で０．０１８ＭのＮａＣｌ中で安定なハイブリッドを形成する核酸配列のみのハイブリダイゼーションを可能にする条件を意味する（すなわち、本明細書で企図されるように、もしハイブリッドが６５℃で０．０１８ＭのＮａＣｌ中で安定でない場合、高緊縮性条件下で安定ではないであろう）。高緊縮性条件は、例えば５０％ホルムアミド、５×デンハルツ（Denhart's）溶液、５×ＳＳＰＥ、０．２％ＳＤＳ中で４２℃でハイブリダイゼーションし、次に６５℃で０．１×ＳＳＰＥ、そして０．１％ＳＤＳによる洗浄により提供される。

（２）断片のハイブリダイゼーションに関して、中緊縮性条件とは、４２℃で５０％ホルムアミド、５×デンハルツ溶液、５×ＳＳＰＥ、０．２％ＳＤＳ中でハイブリダイゼーションし、次に６５℃で０．２×ＳＳＰＥ、そして０．２％ＳＤＳによる洗浄と同等の条件を意味する。

（３）断片のハイブリダイゼーションに関して、低緊縮性条件とは、４２℃で１０％ホルムアミド、５×デンハルツ溶液、６×ＳＳＰＥ、０．２％ＳＤＳ中でハイブリダイゼーションし、次に５０℃で１×ＳＳＰＥ、そして０．２％ＳＤＳによる洗浄と同等の条件を意味する。そして、

（４）オリゴヌクレオチド（すなわち、長さが約３０ヌクレオチド以下の合成ＤＮＡ）に関して、高緊縮性条件とは、４２℃で１０％ホルムアミド、５×デンハルツ溶液、６×ＳＳＰＥ、０．２％ＳＤＳ中でハイブリダイゼーションし、次に５０℃で１×ＳＳＰＥ、そして０．２％ＳＤＳによる洗浄に等しい条件を意味する。

【００２２】

種々の緩衝液や温度を用いてこれらの条件を再現することができ、これらは必ずしも正確である必要はないことを理解すべきである。

【００２３】

デンハルツ溶液およびＳＳＰＥ（例えば、サムブルーク、フリッチ、およびマニアチス（Sambrook, Fritsch, and Maniatis）、モレキュラークローニング、実験室マニュアル（Molecular Cloning、A Laboratory Manual）、コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス（Cold Spring Harbor Laboratory Press）、１９８９）は、他の適当なハイブリダイゼーション緩衝液と同様に、当業者に公知である。例えば、ＳＳＰＥはpH７．４のリン酸緩衝化された０．１８ＭのＮａＣｌである。ＳＳＰＥは例えば、１７５．３ｇのＮａＣｌ、２７．６ｇのNaH_2PO_4および７．４ｇのＥＤＴＡを８００mlの水に溶解しpHを７．４に調整して、次に１リットルになるように水を加えて２０×保存溶液として調製することができる。デンハルツ溶液（デンハルト（Denhart）（１９６６）Biochem. Biophys. Res. Commun.２３：６４１を参照）は、例えば５ｇのFicoll（タイプ４００、ファルマシアＬＫＢバイオテクノロジー社（Pharmacia LKBBiotechnology、INC.）、ピスカタウェイ（Piscataway）、ニュージャージー州）、５ｇのポリビニルピロリドン、５ｇのウシ血清アルブミン（第５画分；シグマ（Sigma）、セントルイス、ミズーリ州）、そして水を５００mlになるように加え、濾過して粒状物質を除去することにより、５

０×保存溶液として調製することができる。

【００２４】

ヒトｍＧｌｕＲ１サブタイプをコードする特に好適な配列は、配列番号１と実質的に同じヌクレオチド配列を有するものであり、配列番号１のコーディング配列と実質的に同じ配列を有するポリ核酸が特に好ましい。

【００２５】

本明細書において、「実質的な配列相同性」とは、少なくとも約９０％の相同性を有するヌクレオチド配列、そして典型的には９５％以上のアミノ酸の同一性を有するヌクレオチド配列を意味する。しかし、スプライス変種であること、または保存的アミノ酸置換（または縮重コドンの置換）により修飾されているため、前記レベルより低い相同性を有する蛋白（およびこのような蛋白をコードするＤＮＡまたはｍＲＮＡ）は、本発明の範囲内にあることを理解すべきである。

【００２６】

本明細書において、「実質的に同じ」とは、本明細書に記載の実際の配列とはわずかに異なるかまたは重大でない配列の変化を有する、ＤＮＡのヌクレオチド配列、ＲＮＡのリボヌクレオチド配列、または蛋白のアミノ酸配列を意味する。実質的に同じ分子種は、開示された配列と同等であると考えられ、従って本発明の請求の範囲に包含されると考えられる。この点で「わずかに異なるかまたは重大でない配列の変化」は、開示され、特許請求のされているＤＮＡ、ＲＮＡ、または蛋白と実質的に同じ配列が、開示され特許請求のされているヒト由来の配列と機能的に同等であることを意味する。機能的に同等の配列は、実質的に同じ方法で機能して、ヒト由来の核酸および本明細書に開示され特許請求されているアミノ酸組成物と実質的に同じ組成物を産生する。特に機能的に同じＤＮＡは、本明細書に開示されたものと同じであるか、または保存性のアミノ酸変化（例えば非極性残基を別の非極性残基で置換、または荷電残基を類似の荷電残基で置換）を有するものと実質的に同じヒト由来の蛋白をコードする。これらの変化には、当業者に認識される、蛋白の３次元構造を実質的に変化させないものが含まれる。

【００２７】

ヒトｍＧｌｕＲ２受容体サブタイプの一部をコードするＤＮＡ配列の例は、配列番号４に記載のものと実質的に同じアミノ酸配列をコードするヌクレオチド（随時、配列番号１３に記載の３’非翻訳配列の３４３ヌクレオチドの一部またはすべてを含む）、またはクローンＭＥＴＡＢ４０（１９９３年５月４日に整理番号７５４６５でアメリカンタイプカルチャーコレクション（ＡＴＣＣ）に寄託された）のヒトｍＧｌｕＲ２をコードする部分によりコードされるものと実質的に同じアミノ酸配列をコードするヌクレオチドにより示される。

【００２８】

寄託されたクローンは、１９９３年５月４日に「特許手続上の微生物の寄託の国際的承認に関するブダペスト条約」（the Budapest Treaty on the International Recognition of Deposits of Microorganisms for Purposes of Patent Procedure）の条件と、この条約の名のもとに公布された規則に従い、アメリカンタイプカルチャーコレクション（ＡＴＣＣ）（１２３０１　パークローンドライブ（Parklawn Drive）、ロックヴィル（Rockville）、メリーランド州、アメリカ合衆国　２０８５２）に寄託されている。この条約と規則の条件下で、およびさもなくばアメリカ合衆国の特許法や規則に従い受領する法的資格のある工業所有権事務所および他の個人、または本出願または本出願の優先権を主張する出願が提出されたかまたはこのような出願に対して何らかの特許権が与えられた国または国際組織は、寄託された物質の試料を入手することができる。特にこれに基づきまたはこの優先権を主張する出願またはこれに関する出願を取り込んでいる出願に基づき米国特許の与えられた時点で、本寄託物質の入手に関するすべての規制は永久に取り消されるであろう。

【００２９】

ヒトｍＧｌｕＲ２受容体サブタイプの一部をコードする好適なポリ核酸配列は、配列番

号４に記載のものと同じアミノ酸配列、またはクローンＭＥＴＡＢ４０（１９９３年５月４日に整理番号７５４６５でアメリカンタイプカルチャーコレクション（ＡＴＣＣ）に寄託された）のヒトｍＧｌｕＲ２をコードする部分によりコードされるものと実質的に同じアミノ酸配列をコードするものである。

【００３０】

あるいはＤＮＡの例は、ヒトｍＧｌｕＲ２受容体サブタイプをコードするヌクレオチド配列であり、高緊縮性条件下で配列番号３またはその大部分（すなわち、典型的にはその少なくとも２５－３０個の隣接ヌクレオチド）、またはクローンＭＥＴＡＢ４０（ＡＴＣＣ整理番号７５４６５）のヒトｍＧｌｕＲ２をコードする部分とまたはその大部分とハイブリダイズするヌクレオチド配列として特徴付けられる。ヒトｍＧｌｕＲ２受容体サブタイプの部分をコードする特に好適な配列は、配列番号３のコーディング配列と同じヌクレオチド配列、またはクローンＭＥＴＡＢ４０のヒトｍＧｌｕＲ２コーディング部分中のコーディング配列のヌクレオチド配列を有するポリ核酸により示される。

【００３１】

ヒトｍＧｌｕＲ３受容体サブタイプをコードするＤＮＡ配列の例は、配列番号６に記載のアミノ酸配列と実質的に同じアミノ酸配列をコードするヌクレオチドにより示される。好適なポリ核酸配列は、配列番号６と同じ配列をコードするものである。

【００３２】

あるいはＤＮＡの例は、ヒトｍＧｌｕＲ３受容体サブタイプをコードするヌクレオチド配列であり、高緊縮性条件下で配列番号５またはその大部分（すなわち、典型的にはその少なくとも２５－３０個の隣接ヌクレオチド）とハイブリダイズするヌクレオチド配列として特徴付けられる。ヒトｍＧｌｕＲ３サブタイプの部分をコードする特に好適な配列は、配列番号５のコーディング配列と実質的に同じヌクレオチド配列を有するものであり、配列番号５のコーディング配列と同じヌクレオチド配列を有するポリ核酸が最も好ましい。

【００３３】

ＤＮＡの例は、ヒトｍＧｌｕＲ３受容体サブタイプまたはその部分をコードするヌクレオチド配列であり、配列番号８、１０または１２のアミノ酸配列と実質的に同じアミノ酸配列をコードするヌクレオチドにより示される。好適なポリ核酸配列は、配列番号８、１０または１２と同じ配列をコードするものである。

【００３４】

あるいはＤＮＡの例は、ヒトｍＧｌｕＲ５受容体サブタイプをコードするヌクレオチド配列であり、高緊縮性条件下で配列番号７、９または１１の実質的に全配列、またはそれらの大部分（すなわち、典型的には少なくとも２５－３０個の隣接ヌクレオチド）にハイブリダイズするヌクレオチドとして特徴付けられる。ヒトｍＧｌｕＲ５サブタイプをコードする特に好適な配列は、配列番号７、９または１１のコーディング配列と実質的に同じヌクレオチド配列を有するものであり、配列番号７、９または１１のコーディング配列と同じ配列を有するポリ核酸が最も好ましい。

【００３５】

ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードするＤＮＡは、本明細書に開示したＤＮＡ（配列番号１、３、５、７、９または１１の任意のものより得られるヌクレオチドを含む）により、適当なハイブリダイゼーション条件下で適当なヒトｃＤＮＡまたはヒトゲノムライブラリーをスクリーニングすることにより単離される。適当なライブラリーは、神経組織試料（例えば、海馬や小脳組織、細胞株など）から調製される。例えばライブラリーは、その実質的に全ての受容体サブタイプコーディング配列を含むＤＮＡの一部を用いてスクリーニングされるか、あるいはそのＤＮＡの一部に基づく適当なオリゴヌクレオチドプローブでスクリーニングされる。

【００３６】

本明細書においてプローブは、配列番号１、３、５、７、９または１１に記載の任意のものの２５またはそれ以上の隣接する塩基と同じであるか少なくとも約２５－３０個の隣

接する塩基（またはその相補物）を含む、ヌクレオチドの配列を有する１本鎖ＤＮＡまたはＲＮＡである。プローブを作成するのに好適な領域は、５’および／または３’コーディング配列、トランスメンブレンドメインをコードすると予測される配列、細胞質ループをコードすると予測される配列、シグナル配列、リガンド結合部位などがある。

【００３７】

全長ｃＤＮＡクローン、その断片、またはそのＤＮＡの部分に基づくオリゴヌクレオチドはプローブとして使用され、好ましくは容易に検出するために適当な標識物で標識される。断片がプローブとして使用される時、そのプローブのＤＮＡ配列は好ましくはＤＮＡのカルボキシ末端をコードする部分由来であり、最も好ましくはＤＮＡ配列の予測されるトランスメンブレンドメインをコードする部分を含む（ドメインは、例えばカイトとドーリトル（Kyte and Doolittle）（１９８２）、J. Mol. Biol. 第１５７巻：１０５の方法を用いて、推定されるアミノ酸配列のハイドロパシー解析に基づき予測される）。これらのプローブは例えば、グルタミン酸受容体ファミリーの追加メンバーの同定と単離のために使用される。

【００３８】

本発明の配列の特定の応用として、本発明のヌクレオチド配列をプローブとして使用して遺伝子スクリーニングを実施することができる。すなわち、任意の内因性グルタミン酸受容体に異常が存在するか否かを測定するために、グルタミン酸受容体の任意の１つまたはそれ以上の変化／修飾が関与していることが疑われる神経病理的症状を有する患者の核酸試料を、適当なプローブでスクリーニングすることができる。同様に、グルタミン酸受容体の機能不全に関連する疾患の家族歴がある患者をスクリーニングして、このような疾患に罹りやすい体質であるか否かを決定することができる。

【００３９】

本発明の別の実施態様において、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体蛋白サブタイプをコードするＤＮＡの同定方法が提供され、この方法は、ヒトＤＮＡを上記の核酸プローブと接触させ（使用されるプローブがポリ核酸断片の時は低緊縮性または中緊縮性条件下で接触させ、または使用されるプローブがオリゴヌクレオチドの時は高緊縮性条件下で接触させる）、そして該プローブにハイブリダイズするＤＮＡを同定することよりなる。

【００４０】

ライブラリーのスクリーニング後、ハイブリダイゼーションシグナルを検出して陽性クローンを同定する。同定されたクローンを制限酵素マッピングおよび／またはＤＮＡ配列解析により性状解析し、次にこれらが完全なメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードするＤＮＡを含有するか否か（すなわち、これらが翻訳開始コドンおよび停止コドンを含有するか否か）を確認するために本明細書に記載の配列と比較することにより試験する。選択された配列が不完全な場合はこれらを用いて、同じかまたは異なるライブラリーを再スクリーニングして重複するクローンを得ることができる。もしライブラリーがゲノム性の場合は、重複クローンはエクソンとイントロンを含有してもよい。もしライブラリーがｃＤＮＡライブラリーの場合は、重複クローンはオープンリーディングフレームを含有するであろう。いずれの場合も完全なクローンは、本明細書で提供されるＤＮＡおよび推定されるアミノ酸配列と比較して同定される。

【００４１】

種々のヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプ（例えば、ｍＧｌｕＲ１、ｍＧｌｕＲ２、ｍＧｌｕＲ３、ｍＧｌｕＲ５）をコードする、相補的なＤＮＡクローンが単離されている。各サブタイプは、異なる遺伝子にコードされているようである。本明細書に記載されるＤＮＡクローンは、各サブタイプをコードするゲノムクローンを単離し、異なる神経組織から調製されたライブラリーをスクリーニングすることにより、スプライス変種を単離するために使用できる。当業者に公知の核酸増幅法を使用して、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプのスプライス変種をコードするＤＮＡを見つけることができる。これは、公知のまたは予測される互いに異なる配列を取り囲むＤＮＡ配

列に基づくオリゴヌクレオチドを、ヒトＲＮＡまたはゲノムＤＮＡを増幅するためのプライマーとして用いることにより達成される。増幅生成物のサイズと配列の測定により、スプライス変種の存在が明らかになる。さらにハイブリダイゼーションによるヒトゲノムＤＮＡ配列の単離により、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードする転写体の異なるスプライス変種に対応する、イントロンにより分離された多数のエクソンを含有するＤＮＡが得られる。

【００４２】

必ずしもすべてのメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプ（およびその変種）がすべての神経組織または脳のすべての部分に発現されているのではないことは、わかっている。すなわち特定のサブタイプ（またはそのスプライス変種）をコードするｃＤＮＡを単離するためには、異なるニューロンまたは神経組織または細胞から調製されるライブラリーをスクリーニングすることが好ましい。各サブユニットをコードするＤＮＡを得るために好適なライブラリーは：ヒトｍＧｌｕＲ１をコードするＤＮＡを単離するための小脳；ｍＧｌｕＲ２をコードするＤＮＡを単離するための海馬；ｍＧｌｕＲ３をコードするＤＮＡを単離するための海馬と小脳；ｍＧｌｕＲ５をコードするＤＮＡを単離するための海馬と小脳などがある。

【００４３】

特定の受容体サブタイプをコードするＤＮＡが一旦単離されると、そのようなサブタイプ（またはそのスプライス変種）をコードするｍＲＮＡを発現する組織を決定するために、リボヌクレアーゼ（ＲＮａｓｅ）保護測定法が実施される。この測定法は、全細胞性ＲＮＡの複雑な混合物中の１つのＲＮＡ種を検出し定量するための高感度の手段を与える。サブタイプＤＮＡは標識され、細胞性ＲＮＡとハイブリダイズされる。もし細胞性ＲＮＡ中に相補的なｍＲＮＡが存在する場合、ＤＮＡ－ＲＮＡハイブリッドが得られる。次にＲＮＡ試料をＲＮａｓｅで処理する（これは１本鎖ＲＮＡを分解する）。ＲＮＡ－ＤＮＡハイブリッドは、ＲＮａｓｅ分解から保護され、ゲル電気泳動やオートラジオグラフィーにより肉眼で見ることができる。特定のメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードするｍＲＮＡを発現する組織を決定するために、ｉｎ　ｓｉｔｕ　ハイブリダイゼーションを使用することができる。こうして、標識されたサブタイプＤＮＡは異なる脳の領域のスライスとハイブリダイズして、サブタイプｍＲＮＡ発現が肉眼で見えるようになる。

【００４４】

いくつかのヒトのメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプの発現の分布は、この受容体のラットでの分布とは異なる。例えばラットのｍＧｌｕＲ５サブタイプをコードするＲＮＡはラットの海馬に多く存在し、ラットの小脳にはあまり存在しない［例えば、アベ（Abe）ら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６７：１３３６１－１３３６８（１９９２）を参照］が、ヒトの小脳ライブラリーからは無数のヒトｍＧｌｕＲ５をコードするｃＤＮＡが得られている。すなわちヒトとラットではいくつかのメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプの分布が異なっているようである。

【００４５】

前述のヌクレオチド配列はベクターに取り込んでさらに操作することができる。本明細書においてベクター（またはプラスミド）とは、異種ＤＮＡを細胞に取り込んでそれを発現または複製をさせるのに使用される、独立した成分である。このような担体（vehicle）の選択と使用は、当業者には公知である。

【００４６】

発現ベクターとは、ＤＮＡ断片の発現を制御することができる制御配列（例えばプロモーター領域）に機能的に結合したＤＮＡを発現することができるベクターを含む。すなわち発現ベクターとは、適当な宿主細胞内に取り込まれるとクローン化ＤＮＡを発現する、組換えＤＮＡまたはＲＮＡ作成体（例えば、プラスミド、ファージ、組換えウイルスまたは他のベクター）を意味する。適当な発現ベクターは当業者に公知であり、真核細胞および／または原核細胞中で複製されるもの、およびエピソームとしてとどまるか宿主細胞ゲ

ノム内に取り込まれるものも含まれる。真核生物の宿主細胞（特に哺乳動物細胞）中での本発明のメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプの発現のために好適なプラスミドには、例えば、ｐＣＭＶ－Ｔ７－２、ｐＣＭＶ－Ｔ７－３（図１を参照）、ｐｃＤＮＡ１などのサイトメガロウイルス（ＣＭＶ）プロモーター含有ベクター、そして、ＳＶ４０プロモーター含有ベクター、およびｐＭＭＴＶＴ７（＋）またはｐＭＭＴＶＴ７（－）（本明細書に記載のように調製されたｐＭＡＭｎｅｏ（クロンテク（Clontek）、パロアルト（Palo Alto）、カリホルニア州）を修飾したもの）などのＭＭＴＶＬＴＲプロモーター含有ベクターがある。

【００４７】

本明細書において、プロモーター領域とは、そこに機能的に結合したＤＮＡの転写を調節するＤＮＡのセグメントを意味する。プロモーター領域は、ＲＮＡポリメラーゼによる認識、結合および転写の開始に充分な特異的配列を含有する。このプロモーター領域の部分をプロモーターと呼ぶ。さらにこのプロモーター領域は、このＲＮＡポリメラーゼの認識、結合および転写開始を調節する配列を含む。これらの配列はｃｉｓ作用性であるか、またはｔｒａｎｓ活性化因子に対して応答する。制御の性質により、プロモーターは構成性（constitutive）であるかまたは制御されている。本発明の実施において使用されるプロモーターの例には、ＳＶ４０早期プロモーター、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）プロモーター、マウス乳癌ウイルス（ＭＭＴＶ）ステロイド誘導性プロモーター、モロニー（Moloney）マウス白血病ウイルス（ＭＭＬＶ）プロモーターなどがある。

【００４８】

本明細書において、「機能的に結合している」とは、ＤＮＡとヌクレオチドの制御配列やエフェクター配列（例えばプロモーター、エンハンサー、転写および翻訳停止部位、および他のシグナル配列）との機能的関係を意味する。例えば、ＤＮＡとプロモーターの機能的結合は、ＤＮＡの転写はプロモーターを特異的に認識してこれに結合し、ＤＮＡを転写するＲＮＡポリメラーゼによりプロモーターから開始されるような、ＤＮＡとプロモーターの間の物理的および機能的結合を意味する。発現および／またはインビトロの転写を最適化するために、転写または翻訳のレベルで発現を妨害するかまたは低下させる、不適当な代替翻訳開始コドンまたは他の配列を除去するために、クローンの５’および／または３’非翻訳部分を除去、付加または変更することが必要なこともある。あるいはコンセンサスリボゾーム結合部位（例えば、コザック（Kozak））（１９９１）J. Biol.Chem. ２６６：１９８６７－１９８７０）を開始コドンの５’のすぐ近くに挿入して、発現を増強させることもできる。同様に、転写を増強するために、メタボトロピックグルタミン酸受容体サブユニットのコーディング配列の代わりに同じアミノ酸をコードする代替コドンを用いることができる（例えば、宿主細胞のコドンの選択性が採用され、Ｇ－Ｃの豊富なドメインを減少させるなど）。さらに両生類の卵母細胞中のメタボトロピックグルタミン酸受容体サブユニットの発現増強の可能性のために、サブユニットコーディング配列を随時発現作成体中に取り込むことができる（ここではコーディング配列の５’末端と３’末端は、それぞれツメガエル（Xenopus）のβ－グロビン遺伝子の５’と３’の非翻訳配列に隣接している）。例えば、メタボトロピックグルタミン酸受容体サブユニットコーディング配列は、ｐＳＰ６４（プロメガ（Promega）、マジソン、ウィスコンシン州、より入手できる）の修飾型であるベクターｐＳＰ６４Ｔに取り組むことができる（クリーグとメルトン（Krieg and Melton）（１９８４）Nucleic Acids Research １２：７０５７－７０７０を参照）。このコーディング配列は、β－グロビン遺伝子の５’末端とＳＰ６プロモーターの下流に位置する３’非翻訳配列の間に挿入される。次に得られるベクターから、インビトロの転写体が作成される。このような修飾の好ましい点（またはニーズ）は実験的に決定されている。

本明細書において、発現とはポリ核酸がｍＲＮＡに転写され、ペプチド、ポリペプチドまたは蛋白に翻訳される過程を意味する。ポリ核酸がゲノムＤＮＡから得られる場合、適当な真核生物宿主細胞または微生物が選択されるなら、発現にはｍＲＮＡのスプライシングを含む。

【００４９】
哺乳動物細胞のトランスフェクションのための、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体をコードするＤＮＡに結合した制御成分を含有する特に好適な基礎ベクターは、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）プロモーターをベースにしたベクター（例えば、ｐＣＭＶ－Ｔ７－２およびｐＣＭＶ－Ｔ７－３（本明細書に記載）、またはｐｃＤＮＡ１（インビトロゲン（Invitrogen）、サンジエゴ、カリホルニア州））、およびＭＭＴＶプロモーターをベースにしたベクター（例えば、ｐＭＭＴＶＴ７（＋）またはｐＭＭＴＶＴ７（－）（本明細書中に記載））、およびＳＶ４０プロモーターをベースにしたベクター（例えば、ｐＳＶβ（クロンテック（Clontech）、パロアルト（Palo Alto）、カリホルニア州））である。

【００５０】
ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードする全長ＤＮＡは、ベクターｐＭＭＴＶＴ７（＋）、ｐＭＭＴＶＴ７（－）、ｐＣＭＶ－Ｔ７－２またはｐＣＭＶ－Ｔ７－３に挿入されている。ｐＣＭＶ－Ｔ７－２（およびｐＣＭＶ－Ｔ７－３）は、ＣＭＶプロモーター／エンハンサー、プロモーターのすぐ下流に存在するＳＶ４０スプライス／ドナー部位、スプライス部位の下流に位置するＴ７バクテリオファージＲＮＡポリメラーゼプロモーター、その後にＳＶ４０ポリアデニル化シグナル、そしてＴ７プロモーターとポリアデニル化シグナルの間にポリリンカーを有する、ｐＵＣ１９をベースにした哺乳動物細胞発現ベクターである。ＣＭＶプロモーターとＳＶ４０ポリアデニル化シグナルの間にメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプを配置させると、この作成体によりトランスフェクションされた哺乳動物の宿主細胞中で外来ＤＮＡの構成的発現（constitutive expression）が与えられる。

【００５１】
ベクターｐＭＭＴＶＴ７（＋）とｐＭＭＴＶＴ７（－）はベクターｐＭＡＭｎｅｏ（クロンテック（Clontech）、パロアルト（Palo Alto）、カリホルニア州）を修飾することにより調製された。ｐＭＡＭｎｅｏは、デキサメタゾン誘導性マウス乳癌ウイルス（ＭＭＴＶ）－ＬＴＲプロモーターに結合した（この後にＳＶ４０スプライス部位とポリアデニル化部位が続く）ラウス肉腫ウイルス（ＲＳＶ）の長い末端反復配列（ＬＴＲ）を含有する、哺乳動物の発現ベクターである。ｐＭＡＭｎｅｏはまた、大腸菌の増殖のためのβ－ラクタマーゼ遺伝子（アンピシリン耐性を与える蛋白をコードする）と同様に、形質転換体の選択のための大腸菌ｎｅｏ遺伝子を含有する。

【００５２】
ベクターｐＭＭＴＶＴ７（＋）は、ｐＭＡＭｎｅｏからｎｅｏ遺伝子を除去し、ｐＢｌｕｅｓｃｒｉｐｔ（ストラタジーン（Stratagene）、ラホイア（La Jolla）、カリホルニア州）からのマルチプルクローニング部位とＴ７およびＴ３プロモーターを挿入することにより作成される。従ってｐＭＭＴＶＴ７（＋）はＭＭＴＶ－ＬＴＲプロモーターに結合したＲＳＶ－ＬＴＲエンハンサー、ＭＭＴＶ－ＬＴＲプロモーターの下流に位置するＴ７バクテリオファージＲＮＡポリメラーゼプロモーター、Ｔ７プロモーターの下流に位置するポリリンカー、Ｔ７プロモーターの下流に位置するＴ３バクテリオファージＲＮＡポリメラーゼプロモーター、そしてＴ３プロモーターの下流に位置するＳＶ４０スプライシング部位とポリアデニル化部位を含有する。ｐＭＡＭｎｅｏからのβ－ラクタマーゼ遺伝子（アンピシリン耐性を与える蛋白をコードする）はｐＭＭＴＶＴ７（＋）中で保持されるが、ｐＭＡＭｎｅｏ中の配向に対して配向は逆転している。

【００５３】
ベクターｐＭＭＴＶＴ７（－）はｐＭＭＴＶＴ７（＋）と同じであるが、Ｔ７プロモーターとＴ３プロモーターの位置が逆転しており、ｐＭＭＴＶＴ７（－）中のＴ３プロモーターはｐＭＭＴＶＴ７（＋）中のＴ７プロモーターがある場所に位置しており、ｐＭＭＴＶＴ７（－）中のＴ７プロモーターはｐＭＭＴＶＴ７（＋）中のＴ３プロモーターがある場所に位置している。従ってｐＭＭＴＶＴ７（＋）とｐＭＭＴＶＴ７（－）ベクターは、哺乳動物宿主細胞中で異種ＤＮＡ（ここで異種ＤＮＡはポリリンカーでベクター内に取り

込まれている）が発現するのに必要な制御成分のすべてを含有している。さらにＴ７プロモーターとＴ３プロモーターはポリリンカーのどちらかの側に位置しているため、これらのプラスミドはポリリンカーでベクター内にサブクローニングされている異種ＤＮＡのインビトロ転写体の合成に使用することができる。

【００５４】

哺乳動物細胞中のヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードするＤＮＡの誘導性発現のために、ＤＮＡをｐＭＭＴＶＴ７（＋）またはｐＭＭＴＶＴ７（－）のようなプラスミド中に挿入することができる。これらのプラスミドは、機能的に関連する外来ＤＮＡのステロイド誘導性発現のためのマウス乳癌ウイルス（ＭＭＴＶ）ＬＴＲプロモーターを含有する。宿主細胞が細胞内への糖質コルチコイド（すなわちＭＭＴＶＬＴＲプロモーターの誘導物質）の摂取に必要な内因性糖質コルチコイド受容体を発現しない場合は、糖質コルチコイド受容体をコードするＤＮＡ（ＡＴＣＣ整理番号６７２００）で細胞を追加的にトランスフェクションする必要がある。インビトロ転写体の合成のために、ヒトｍＧｌｕＲ１、ｍＧｌｕＲ３、およびｍＧｌｕＲ５をコードする全長ヒトＤＮＡクローンを、ｐＩＢＩ２４（インターナショナル・バイオテクノロジーズ社（International Biotechnologies, Inc.）、ニューヘーブン、コネチカット州）、ｐＣＭＶ－Ｔ７－２、ｐＣＭＶ－Ｔ７－３（図１参照）、ｐＭＭＴＶＴ７（＋）、ｐＭＭＴＶＴ７（－）、ｐＢｌｕｅｓｃｒｉｐｔ（ストラタジーン（Stratagene)、ラホイア（La Jolla）、カリホルニア州）またはｐＧＥＭ７Ｚ（プロメガ（Promega）、マジソン、ウィスコンシン州）などの中にサブクローニングすることもできる。

【００５５】

本発明の別の実施態様において、前述のポリ核酸（すなわちＤＮＡまたはｍＲＮＡ）を含有する細胞が提供される。細菌、酵母および哺乳動物のような宿主細胞は、ＤＮＡを複製しメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプを産生するために使用することができる。本発明に記載の発現ベクターの作成、インビトロ転写体の調製、哺乳動物細胞へのＤＮＡのトランスフェクション、卵母細胞の注入の方法、および受容体の発現と機能の評価のための電気生理的および他の分析方法は、ＰＣＴ出願ＰＣＴ／ＵＳ９１／０５６２５とＰＣＴ／ＵＳ９２／１１０９０、および同時係属出願米国特許出願第０７／５６３，７５１号と０７／８１２，２５４号にも記載されている。これらの文献の主題はその全体が参考のため本明細書中に引用されている。

【００５６】

適当な発現ベクターへのクローン化ＤＮＡの導入法、１つのプラスミドベクターまたはプラスミドベクターの組合せ（それぞれが１つまたはそれ以上の異なる遺伝子をコードする）または線状ＤＮＡによる真核細胞のトランスフェクション、そしてトランスフェクションした細胞の選択法は公知である（例えば、サムブルーク（Sambrook）ら、（１９８９）分子クローニング：実験室マニュアル（Molecular Cloning：A Laboratory Manual）、第２版、コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス（Cold Spring Harbor Laboratory Press）を参照）。異種ＤＮＡは、当業者に公知の任意の方法により宿主細胞に導入される：例えば、$CaPO_4$ 沈殿法（例えば、ウィグラー（Wigler）ら、（１９７９）、Proc. Natl. Acad. Sci.７６：１３７３－１３７６）を用いる、異種ＤＮＡをコードするベクターによるトランスフェクション。次に組換え細胞は、ＤＮＡによりコードされたサブタイプが発現される条件下で培養することができる。好適な細胞は哺乳動物細胞（例えば、ＨＥＫ２９３、ＣＨＯ、およびＬｔｋ$^-$細胞）、酵母細胞（例えば、ピキア・パストリス（Pichia Pastoris）のようなメチル親和性（methilotrophic）酵母細胞）、細菌細胞（例えば大腸菌）などがある。

【００５７】

本明細書で提供されるＤＮＡは任意の真核細胞（例えば、ピキア・パストリス（Pichia Pastoris）（米国特許第４，８８２，２７９号、４，８３７，１４８号、４，９２９，５５５号および４，８５５，２３１号を参照）、サッカロミセス・セレビッシェ（Saccharomyces cerevisiae）、カンジダ・トロピカリス（Candida tropicalis）、ハンゼヌラ・

ポリモルファ（Hansenula polymorpha）などの酵母細胞）中で発現されるが、本明細書で提供されるヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードするＤＮＡの発現のためには、Ｇ蛋白を発現する（内因性にまたは組換えで）市販の発現系や当業者に公知の他の発現系を含む哺乳動物発現系が好ましい。ＰＩ加水分解／Ca^{++}シグナル経路に結合したヒトメタボトロピック受容体サブタイプをコードするＤＮＡのインビトロｍＲＮＡ転写体の発現にはツノガエル（Xenopus）卵母細胞が好適である。卵母細胞中の内因性イノシトール３’末端リン酸第二メッセンジャー介在経路は、これらの細胞におけるヒトメタボトロピック受容体の機能性発現を可能にする。組換えヒトメタボトロピック受容体を発現する卵母細胞は、卵母細胞Ｇ蛋白結合IP_3生成経路を介してアゴニストに応答し、内部の貯蔵状態からCa^{++}を放出し、電圧固定記録法により遅延振動電流として検出される塩素チャネルを活性化すると報告されている。

【００５８】

ヒトメタボトロピック受容体の機能性組換え発現のための宿主細胞は、好ましくは内因性または組換えグアニンヌクレオチド結合蛋白（すなわちＧ蛋白）を発現する。Ｇ蛋白はα、βおよびγサブユニットよりなる高度に保存された膜関連蛋白のファミリーの１つである。αサブユニットはＧＤＰとＧＴＰに結合し、異なるＧ蛋白毎に異なる。結合した対のβおよびγサブユニットはユニークであることもそうでないこともあり、異なるα鎖が同じβγ対または異なる対に結合している［リンダーとギルマン（Linder and Gilman）、Sci. Am.２６７：５６－６５（１９９２）］。Ｇ蛋白α鎖をコードする３０以上の異なるｃＤＮＡがクローン化されている［サイモン（Simon）ら、Science ２５２：８０２（１９９１）］。４つの異なるβポリペプチドが知られている［サイモン（Simon）ら、Science ２５２：８０２（１９９１）］。同定された５つのγｃＤＮＡのうち３つがクローン化されている［ハーレー（Hurley）ら、PNAS U.S.A. ８１：６９４８（１９８４）：ガウタム（Gautam）ら、Science ２４４：９７１（１９８９）：ガウタム（Gautam）ら、PNAS U.S.A. ８７：７９７３（１９９０）：］。４番目のγｃＤＮＡ［クレウス（Kleus）ら、Science ２５９：８３２（１９９３）］と５番目のγｃＤＮＡ［フィッシャーとアロンソン（Fischer and Aronson）、Mol. Cell. Bio. １２：１５８５（１９９２）］の配列は確立されており、さらに追加のγサブユニットが存在するかも知れない［タミール（Tamir）ら、Biochemistry ３０：３９２９（１９９１）］。グアニンヌクレオチド交換とＧＴＰ加水分解により、Ｇ蛋白は活性状態と不活性状態の間で変化する。不活性Ｇ蛋白は、リガンド活性化受容体により刺激されてＧＤＰをＧＴＰに交換する。活性型では、ＧＴＰに結合したαサブユニットはβγ複合体から解離し、次にサブユニットは細胞性エフェクター分子と特異的に相互作用して細胞性応答を引き出す。異なるＧ蛋白は異なるエフェクター系（例えば、ホスホリパーゼＣ、アデニルサイクラーゼ系）や異なる受容体と相互作用することができるため、異なる組換えヒトメタ受容体サブタイプの発現のための異なる宿主細胞を研究することは有用である。あるいは宿主細胞は、異なるＧ蛋白の異種発現のためにＧ蛋白サブユニットをコードするＤＮＡでトランスフェクションすることができる。

【００５９】

好適な実施態様において、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードするＤＮＡは、ベクターに結合され、適当な宿主細胞中に導入されて、特異的なヒトメタボトロピックルグルタミン酸受容体サブタイプまたはサブタイプの特異的な組合せを発現する、形質転換された細胞株を産生する。得られる細胞株は次に、公知の薬剤または可能性のある薬剤の受容体機能への影響の再現性のある定量的解析のために大量に産生される。他の実施態様においては、各サブタイプをコードするＤＮＡのインビトロ転写によりｍＲＮＡが産生される。このｍＲＮＡ（単一のサブタイプクローンからであってもまたはクローンの組合せからであっても）は、ツノガエル（Xenopus）卵母細胞に注入され、ここでｍＲＮＡはヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプの合成を指令する。あるいは機能性ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプの発現のために、サブタイプをコードするＤＮＡは卵母細胞に直接注入される。次にトランスフェクションさ

れた哺乳動物細胞または注入された卵母細胞は、本明細書に記載の薬剤スクリーニング法に使用される。

【００６０】

ＤＮＡまたはＲＮＡが導入される真核細胞は、このようなＤＮＡまたはＲＮＡによりトランスフェクションされることができる細胞、またはこのようなＤＮＡまたはＲＮＡを注入されてＧ蛋白を（内因性にまたは組換えにより）発現することができる細胞である。好適な細胞は、内因性メタボトロピックグルタミン酸受容体を（あったとしても）ほんの少ししか発現せず、かつ一時的または安定にトランスフェクションされ、また本発明のＤＮＡやＲＮＡを発現するものである。最も好適な細胞は、異種ＤＮＡによりコードされる１つまたはそれ以上のサブタイプよりなる組換えまたは異種ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体を形成することができるものである。このような細胞は経験的に同定されるか、または容易にトランスフェクションまたは注入されることが知られているものの中から選択される。

【００６１】

ＤＮＡを導入するための細胞の例は、哺乳動物起源の細胞（例えば、ＣＯＳ細胞、マウスＬ細胞、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、ヒト胎児性腎（ＨＥＫ）細胞、アフリカミドリザル（African green monkey）細胞および当業者に公知の他の細胞）、両生類の細胞（例えば、ゼノプス・ラエビス（Xenopus laevis）卵母細胞）、酵母細胞（例えば、サッカロミセス・セレビッシェ（Saccharomyces cerevisiae）、ピキア・パストリス（Pichia Pastoris））などがある。注入されたＲＮＡ転写体を発現するための細胞の例は、ゼノプス・ラエビス（Xenopus laevis）卵母細胞がある。ＤＮＡのトランスフェクションに好適な細胞は、当業者に公知であるかまたは経験的に同定され、ＨＥＫ２９３細胞（整理番号＃ＣＲＬ１５７３でＡＴＣＣより入手できる）；Ｌｔｋ－細胞（整理番号＃ＣＣＬ１．３でＡＴＣＣより入手できる）；ＣＯＳ－７細胞（整理番号＃ＣＲＬ１６５１でＡＴＣＣより入手できる）；ＣＨＯ細胞（整理番号＃ＣＲＬ９６１８、ＣＣＬ６１またはＣＲＬ９０９６でＡＴＣＣより入手できる）；ＤＧ４４細胞（ｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞；例えば、ウーラウプ（Urlaub）ら（１９８６）Cell. Molec. Genet. １２：５５５を参照）；そしてＢＨＫ細胞（ウェクターとバセルガ（Waechter and Baserga）、PNAS U.S.A. ７９：１１０６－１１１０（１９８２）；整理番号＃ＣＲＬ１０３１４でＡＴＣＣより入手できる）を参照）がある。好適な細胞には、ＣＨＯ細胞とＨＥＫ２９３細胞があり、特に液体窒素中で凍結され次に融解されて再増殖されるＨＥＫ２９３細胞（例えば、ゴーマン（Gorman）の米国特許第５，０２４，９３９号（またスティルマン（Stillman）ら、（１９８５）Mol. Cell. Biol. ５：２０５１－２０６０も参照）に記載のもの）、ＤＧ４４細胞、ＬＴＫ－細胞などがある。使用される宿主細胞にかかわらず、使用されるリガンドに誘導されるグルタミン酸産生のバックグランドレベルの測定、またはリガンドの非存在下での宿主細胞中に存在するグルタミン酸のバックグランドレベルの測定のために、比較実験を実施すべきであることは、当業者は理解できるであろう。

【００６２】

ＤＮＡは当業者に公知の方法を用いて細胞内に安定に取り込まれるか、または一時的に発現される。安定にトランスフェクションされる哺乳動物細胞は、選択マーカー遺伝子（例えば、チミジンキナーゼ、ジヒドロ葉酸還元酵素、ネオマイシン耐性などの遺伝子）を有する発現ベクターで細胞をトランスフェクションし、トランスフェクションした細胞をマーカー遺伝子を発現する細胞に選択的な条件下で増殖させることにより調製される。一時的トランスフェクション体を調製するためには、哺乳動物細胞をレポーター遺伝子（例えば大腸菌β－ガラクトシダーゼ遺伝子）でトランスフェクションしてトランスフェクション効率を追跡する。

【００６３】

トランスフェクション体は典型的には選択性条件下では増殖せず、普通トランスフェクション後数日以内に分析されるため、選択マーカー遺伝子は一時的トランスフェクション体には含有されない。

【００６４】
このような安定トランスフェクション細胞または一時的トランスフェクション細胞を産生するために、細胞を充分な濃度のサブタイプをコードする核酸でトランスフェクションして、異種ＤＮＡにコードされるヒトサブタイプを示すヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体を形成させる。サブタイプをコードするＤＮＡの正確な量は経験的に決定されるか、または特定のサブタイプ、細胞および測定条件について最適化される。異種ＤＮＡまたはＲＮＡのみにコードされるサブタイプを含有するメタボトロピックグルタミン酸受容体を発現する組換え細胞が特に好適である。
【００６５】
異種ＤＮＡは細胞中でエピソーム成分として維持されるか、または細胞の染色体ＤＮＡに取り込まれる。次に得られる組換え細胞を培養し、この培養物またはサブ培養物からサブ培養（または、哺乳動物細胞の場合は継代する）する。組換え細胞のトランスフェクション、注入および培養法は当業者に公知である。同様に当業者に公知の蛋白精製法を用いて、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプが精製される。例えば１つまたはそれ以上のサブタイプに特異的に結合する抗体または他のリガンドが、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体の親和性精製に使用される。
【００６６】
本明細書において、異種ＤＮＡまたは外来ＤＮＡおよびＲＮＡは、互いに交換して使用することができ、細胞のゲノムの一部としては天然には存在しないか、または天然に存在するものとは異なるゲノム中の位置に見いだされるＤＮＡまたはＲＮＡを意味する。典型的には異種または外来ＤＮＡおよびＲＮＡは、宿主細胞に内因性ではなく人工的に細胞に取り込まれたＤＮＡまたはＲＮＡを意味する。異種ＤＮＡの例としては、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードするＤＮＡ、転写、翻訳または他の制御可能な生化学過程などに影響を与えることにより内因性ＤＮＡの発現を媒介または変更するＲＮＡまたは蛋白をコードするＤＮＡなどがある。異種ＤＮＡを発現する細胞は、同じであるかまたは異なる発現生成物をコードするＤＮＡを含有する。異種ＤＮＡは発現される必要はなく、宿主細胞ゲノム中に取り込まれるかまたはエピソーム的に維持される。
【００６７】
機能性ｍＧｌｕＲの発現を検出するために使用する種々の測定法を当業者は容易に見いだすことができる。その例としては、ＰＩターンオーバー測定法［例えば、ナカジマ（Nakajima）ら、J. Biol. Chem.２６７：２４３７－２４４２（１９９２）および実施例３．Ｃ．２を参照］、ｃＡＭＰ測定法［例えば、ナカジマ（Nakajima）ら、前述、および実施例３．Ｃ．４を参照］、カルシウムイオン流入測定法［例えば、イトウ（Ito）ら、J. Neurochem. ５６：５３１－５４０（１９９１）、および実施例３．Ｃ．１を参照］、ｃＧＭＰ測定法［例えば、スタイナー（Steiner）ら、J. Biol. Chem.２４７：１１０６－１１１３（１９７２）］、アラキドン酸放出測定法［例えば、フェルダー（Felder）ら、J. Biol.Chem.２６４：２０３５６－２０３６２（１９８９）を参照］などがある。さらに、陽イオンをベースにした測定法（本明細書に記載）を、細胞内サイクリックヌクレオチドレベルの受容体誘導変化を追跡するために使用することができる。そのような測定法は、サイクリックヌクレオチドゲートのイオンチャネルを発現する宿主細胞を使用する。例えば桿状光受容体細胞、嗅覚細胞およびウシ腎細胞中に存在するこれらのチャネル（例えば、カウプ（Kaupp）ら、Nature ３４２：７６２－７６６（１９８９）、ダレン（Dallen）ら、Nature ３４７：１８４－１８７（１９９０）、およびビエル（Biel）ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA ９１：３５０５－３５０９（１９９４））は、ｃＡＭＰまたはｃＧＭＰの結合による活性化により陽イオンに対して透過性となる。すなわち本発明の測定法において、内因性または組換えサイクリックヌクレオチドゲートのチャネルを発現する宿主細胞は、サイクリックヌクレオチドレベルに影響を与えることが疑われる受容体をコードする核酸（例えば、メタボトロピックグルタミン酸受容体をコードするＤＮＡ）でトランスフェクション（または注入）され、次にチャネルのサイクリックヌクレオチド活性化の量の変化を追跡する。チャネルのサイクリックヌクレオチドの活性化の変化を追跡

すると、活性化された時ｃＡＭＰまたはｃＧＭＰの変化を引き起こす受容体を機能性であるとして間接的に同定することができる。サイクリックヌクレオチドゲートのチャネルの活性化の量の変化は、チャネルを介するイオンの流入を測定するか、または電流の電気生理学的測定または細胞内陽イオンレベルの変化を測定（例えば、細胞内カルシウムの蛍光測定）することにより、決定することができる。

【００６８】

活性化によりサイクリックヌクレオチドの低下を引き起こす受容体（例えば、メタボトロピックグルタミン酸受容体）を発現する細胞の測定法において、受容体活性化化合物を測定物内の細胞に添加する前に、サイクリックヌクレオチドの細胞内レベルを上昇させる物質（例えば、フォルスコリンやＩＢＭＸ）に細胞を暴露させることが好ましい。

【００６９】

上記の測定法での使用に適した宿主細胞は、検討される受容体の発現に適した宿主細胞を含む（例えば、メタボトロピックグルタミン酸受容体の測定のためのＬ細胞、ＨＥＫ２９３細胞、ＣＨＯ細胞またはツノガエル（Xenopus）卵母細胞）。細胞は、サイクリックヌクレオチドゲートのチャネルをコードする核酸と受容体をコードする核酸で連続的にトランスフェクション（または注入）されるか、または細胞は２つの核酸で同時トランスフェクションされる。実施例３Ａと３Ｂに記載の一時的または安定なトランスフェクションを実施することができる。

【００７０】

サイクリックヌクレオチドゲートのチャネルでトランスフェクション（または注入）された細胞は、機能の測定の前にインキュベートされる（典型的には約２４－４８時間）。チャネルの活性は、トランスフェクションされた細胞からの引き剥がした裏返した膜パッチを用いて測定される（こうして細胞質面に達するｃＡＭＰの濃度が調節される）。トランスフェクション体はまた、内部カルシウムレベル（$[Ca^{++}]_i$）の単細胞ビデオイメージングにより分析される。この方法は、細胞内カルシウムレベル（これはチャネルのサイクリックヌクレオチド活性化により制御される、チャネルを介するカルシウムの流入量とともに変化する）の測定によるサイクリックヌクレオチドゲートのチャネルの分析を可能にする。イメジーング測定法は、基本的に実施例３．Ｃ．４．ｂに記載のように実施される。

【００７１】

本明細書に記載のＤＮＡ、ｍＲＮＡ、ベクター、受容体サブタイプおよび細胞により、選択されたメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプやその受容体サブタイプに対する抗体の産生が可能である。これは、その存在が単一のメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプの分析を妨害する多くの他の受容体蛋白の汚染が実質的にない、合成または組換え受容体および受容体サブタイプを調製する手段を与える。目的の受容体サブタイプが利用できることが、特定の受容体サブタイプまたはメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプの組合せへの薬剤の影響を観察し、従ってヒトに特異的でありヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプまたはメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプの組合せに特異的な試験系で、薬剤の初期のインビトロスクリーニングを行うことを可能にする。特異的抗体が利用できることは、インビボで発現されるサブタイプの組合せを同定することを可能にする。すなわち、このような特異的組合せは、薬剤スクリーニングの好適な標的として使用される。

【００７２】

特異的な受容体組成物への薬剤の影響を測定するためにインビトロで薬剤物質をスクリーニングすることができることは、受容体サブタイプ特異的または疾患特異的薬剤の開発とスクリーニングを可能にするはずである。また単一の受容体サブタイプまたは種々の受容体サブタイプと種々のアゴニストまたはアンタゴニストの可能性のある物質との特定の組合せを試験することにより、個々のサブタイプの機能と活性に関する追加情報が得られ、１つまたはそれ以上の受容体サブタイプと非常に特異的に相互作用することができる化合物の同定と設計を可能にするであろう。得られる薬剤は、種々の受容体サブタイプを発

現する細胞を用いてスクリーニングすることにより同定される薬剤より、不要な副作用はより少ないであろう。

【００７３】

さらに種々の疾患の薬剤開発と治療法に関して、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードするＤＮＡが利用できることは、ある種の疾患の発症に相関する遺伝子の変化（例えば、突然変異）の同定を可能にする。さらに、このような突然変異を合成ＤＮＡ配列に特異的に導入し、次にこれを実験室動物に導入するかまたはその効果を測定するためのインビトロ測定系により、そのような疾患の動物モデルの作成が可能になる。

【００７４】

別の面において、本発明は本発明のＤＮＡによりコードされる機能性ペプチド断片およびその機能性組合せよりなる。ペプチドがグルタミン酸受容体として機能するのに必須ではない配列中のアミノ酸の一部またはすべてを排除することにより、不要な実験をすることなく当業者はこのような機能性ペプチド断片を産生することができる。グルタミン酸受容体機能に必須のアミノ酸は、例えばペプチドをコードするＤＮＡの体系的消化および／またはＤＮＡへの欠失の導入により決定することができる。修飾（例えば欠失または消化）ＤＮＡは、例えばＤＮＡを転写し、次に得られるｍＲＮＡをツノガエル（Xenopus）卵母細胞に導入して、ｍＲＮＡを翻訳させることにより発現することができる。卵母細胞中のこうして発現された蛋白の機能的分析は、グルタミン酸受容体に結合しこれを機能的に活性化することが公知のリガンドに卵母細胞を暴露して、次に内因性チャネルが活性化されるか否かについて卵母細胞を追跡することにより、行われる。電流が検出されるなら、断片はグルタミン酸受容体として機能する。

【００７５】

本発明の別の実施態様において、競合的結合測定法で本発明の受容体蛋白を使用することよりなる、メタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプに結合する化合物の同定方法が提供される。この測定法は多数の化合物を迅速にスクリーニングして、どの化合物（もし、あるとすれば）が、特異的に結合した[^{3} Ｈ]グルタミン酸を排除することができる（すなわち、メタボトロピックグルタミン酸受容体に結合することができる）かを調べることができる。結合することが見いだされた化合物を用いて、このような化合物が本発明の受容体のモジュレーター、アゴニストまたはアンタゴニストとして作用するのか否かをさらに調べるために、さらに詳しい測定法が実施される。

【００７６】

本発明の結合測定法の別の応用は、本発明の受容体の存在の有無に関する試料（例えば生物学的液体）の測定である。例えばグルタミン酸産生経路の機能不全に関連する症状を示す患者の血清を測定して、観察される症状がこのような受容体の型の産生過剰または不足により引き起こされるのかを決めることができる。

【００７７】

本発明において企図される結合測定法は、当業者は容易に判定できるように種種の方法で実施することができる。例えばラジオリセプター測定法などの競合的結合測定法を使用することができる。

【００７８】

本発明のさらなる実施態様において、本発明のヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプの活性を調節する化合物を同定するための生物測定法が提供され、該方法は：

（ａ）ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプをコードするＤＮＡを含有する細胞（この細胞は機能性メタボトロピックグルタミン酸受容体を発現する）を、受容体の活性の調節能力を測定すべき少なくとも１つの化合物に暴露させて、

（ｂ）第二メッセンジャー活性の変化について細胞を追跡する

ことよりなる。

【００７９】

上記の生物測定法はヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体のアゴニストやアンタゴニストおよびアロステリックモジュレーターの同定を可能にする。この方法では組換えメタボトロピックグルタミン酸受容体に「未知の」すなわち試験物質と（アンタゴニスト活性が試験される時は、さらに公知のメタボトロピックグルタミン酸アゴニストの存在下で）接触させ、この「未知の」すなわち試験物質との接触後、公知のグルタミン酸受容体の第二メッセンジャー活性を追跡し、公知のグルタミン酸受容体の活性を追跡し、公知のグルタミン酸受容体の第二メッセンジャー応答を増加または減少させる物質は、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体の機能性リガンド（すなわち、モジュレーター、アゴニストまたはアンタゴニスト）として同定される。追跡することができる第二メッセンジャー活性には、細胞内カルシウムイオンの濃度、IP_3、cAMPレベルの変化、またはアラキドン酸放出またはイオン電流の活性または阻害の追跡（細胞が卵母細胞の場合）がある。

【００８０】

本発明の特定の実施態様において、組換えヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体を発現する哺乳動物細胞または卵母細胞を試験化合物と接触させて、次に試験化合物がある場合またはない場合のメタボトロピックグルタミン酸受容体介在応答を比較し、化合物の存在に対する試験細胞または対照細胞（すなわち、メタボトロピックグルタミン酸受容体を発現しない細胞）のメタボトロピックグルタミン酸受容体介在応答を比較して、その調節作用を評価することができる。

【００８１】

本明細書において、「メタボトロピックグルタミン酸受容体の活性を調節する」化合物またはシグナルとは、メタボトロピックグルタミン酸受容体の活性を変化させ、化合物またはシグナルの存在下ではこれらが存在しない場合とはメタボトロピックグルタミン酸受容体の活性が異なるようになる化合物またはシグナルを意味する。特にこのような化合物またはシグナルはアゴニストやアンタゴニストを含む。アゴニストという用語は、受容体機能を活性化するグルタミン酸またはＡＣＰＤのような物質またはシグナルを意味し；アンタゴニストという用語は、アゴニストに誘導される受容体活性化を妨害する物質を意味する。アンタゴニストには競合的および非競合的アンタゴニストがある。競合的アンタゴニスト（または競合的ブロッカー）は、アゴニスト（例えば、リガンドまたは神経伝達物質）の近傍または特異的な部位と、その同じ部位または近傍に対して相互作用する。非競合的アンタゴニストまたはブロッカーは、アゴニストと相互作用する部位とは異なる部位と相互作用することにより、受容体の機能を不活性化する。

【００８２】

当業者は理解できるように、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体活性を調節する化合物（例えば、アゴニストおよびアンタゴニスト）の同定方法には、一般に対照との比較が必要である。「対照」細胞または「対照」培養物の１つのタイプは、試験化合物に暴露された細胞または培養物と実質的に同様に処理された細胞または培養物である（ただし、対照培養物は試験化合物に暴露されない）。例えば、電圧固定電気生理学的方法を用いる方法では、細胞を浸漬している外部溶液を単に交換することにより、試験化合物の存在下または非存在下で同じ細胞を試験することができる。別のタイプの「対照」細胞または「対照」培養物は、トランスフェクションされた細胞と同一の細胞または細胞の培養物である（ただし、対照培養物に使用される細胞は、トランスフェクションされた細胞に発現される組換えヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプを発現しない）。この場合、細胞または各タイプの細胞の培養物が、測定される化合物の存在下と実質的に同じ反応条件下に暴露される時、試験化合物に対する試験細胞の応答は、受容体のない（対照）細胞の試験化合物に対する応答（または応答の欠如）と比較される。

【００８３】

本発明のさらに別の実施態様において、ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体の第二メッセンジャー活性は、この受容体を、上記生物測定法により同定される少なくとも１つの化合物の有効量と接触させることにより調節される。

【００８４】
本発明のさらに別の実施態様において、上記の受容体蛋白に対して産生された抗体が提供される。この抗体は、受容体組織局在化、サブタイプ組成、機能性ドメインの構造の研究用、受容体の精製、および診断応用治療応用などに使用することができる。好ましくは治療用途では、使用される抗体はモノクローナル抗体である。
【００８５】
本発明の受容体蛋白またはその部分を抗体産生の抗原として用いることにより、上記の抗体は当業者に公知の標準的方法を使用して産生することができる。抗ペプチドおよび抗融合蛋白抗体ともに使用することができる［例えば、バホウト（Bahouth）ら、（１９９１）Trends Parmacol Sci. 第１２巻：３３８－３４３;Current Protocols in Molecular Biology（アウスベル（Ausubel）ら編、ジョン・ワイリー・アンド・サンズ（John Wiley and Sons）、ニューヨーク（１９８９）］。免疫原として（合成ペプチドまたは組換え産生細菌融合蛋白として）使用するためのメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプの部分を選択する場合に考慮すべき因子は、抗原性、入手し易さ（すなわち、細胞外ドメインおよび細胞質ドメイン）、特定のサブタイプに特異的であるかなどである。
【００８６】
サブタイプ特異的抗体が利用できることは、（例えば、正常の脳組織対疾患の脳組織中の）種々のサブタイプの分布と発現密度を追跡するのに免疫組織学的方法を使用することを可能にする。このような抗体はまた、診断および治療応用に利用できる。
【００８７】
本発明のさらに別の実施態様において、有効量の上記の抗体に本発明の受容体を接触させることにより、該受容体のイオンチャネル活性を調節する方法が提供される。
【００８８】
本発明の抗体は、標準的方法（例えば、腹腔内投与、筋肉内投与、静脈内投与、または皮下注射、移植または経皮的投与法など）により、対象者に投与することができる。当業者は、使用される投与法により、投与型、治療処方などを容易に決定することができる。
【００８９】
本発明のさらなる実施態様において、細胞内サイクリックヌクレオチドレベルの受容体に誘導される変化を追跡するための、陽イオンベースの生物測定法が提供され、該生物測定法は：
内因性または組換えサイクリックヌクレオチドゲートのチャネルを発現する宿主細胞に、細胞内サイクリックヌクレオチドレベルに影響を与えることが疑われる受容体をコードする核酸を導入し、そして
細胞内サイクリックヌクレオチドレベルに影響を与えることが疑われる、該受容体に対するリガンドの存在下または非存在下で、サイクリックヌクレオチドゲートのチャネルのサイクリックヌクレオチド活性化の量の変化を追跡することよりなる。
【００９０】
以下の非限定的実施例を参照して本発明をさらに詳細に説明する。
【実施例１】
【００９１】
ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体をコードするＤＮＡの単離
Ａ．ｍＧｌｕＲ５受容体ｃＤＮＡ
ｃＤＮＡライブラリースクリーニング
【００９２】
ヒト海馬組織から単離したＲＮＡを、標準的方法［例えば、グブラーとホフマン（Gubler and Hoffman）、（１９８３）Gene ２５：２６３－２６９］に従い、オリゴｄＴ－プライムした１本鎖ｃＤＮＡの合成のための鋳型として使用した。１本鎖ｃＤＮＡを２本鎖ｃＤＮＡに変換し、そのｃＤＮＡの末端にＥｃｏＲＩ／ＳｎａＢＩ／ＸｈｏＩアダプターを付け加えた。アガロースゲル電気泳動を用いてサイズによりｃＤＮＡを分離し、＞２．５kbのものをＥｃｏＲＩ消化したλｇｔ１０バクテリオファージベクターに結合させた。

得られる一次ヒト海馬ｃＤＮＡライブラリー（約２×１０^{5}組換え体）を、ラットｍＧｌｕＲ１受容体（ヌクレオチド１から１７２３＋５’非翻訳配列；マス（Masu）ら、（１９９１）Nature ３４９：７６０－７６５を参照）をコードするＤＮＡの断片に対するハイブリダイゼーションについてスクリーニングした。ハイブリダイゼーションは、４２℃で５×ＳＳＰＥ、５×デンハルツ（Denhart's）溶液、５０％ホルムアミド、０．２％ＳＤＳおよび２００μｇ／mlの変性した超音波処理したニシン精子ＤＮＡ中で行ない、洗浄は６５℃で１×ＳＳＰＥと０．２％ＳＤＳ中で行なった。３２７３塩基対を含有するハイブリダイズする１つのプラーク（ＭＥＴＡＢ１）を同定した。

【００９３】

追加のヒトｍＧｌｕＲ５コーディングクローンを得るために、ＭＥＴＡＢ１を放射標識し、以下のように調製した２つのヒト小脳ｃＤＮＡライブラリーをスクリーニングするのに使用した。ランダムプライマーを使用して、ヒト小脳組織から単離したＲＮＡから最初のｃＤＮＡ合成をプライムしてｃＤＮＡを合成した。長さを基準にしてｃＤＮＡをプールし、２つのライブラリーを作成した：１つは２．８kb以上の長さの挿入体を有し（すなわち、大挿入体ライブラリー）、もう１つは１－２．８kbの長さの挿入体を有する（すなわち、中挿入体ライブラリー）。ラットｍＧｌｕＲ１ＤＮＡ断片へのハイブリダイゼーションに対して海馬ライブラリーをスクリーニングするために使用したのと同じハイブリダイゼーション条件を用いて、ＭＥＴＡＢ１に対するハイブリダイゼーションについてライブラリーをスクリーニングした。洗浄は５５℃で１×ＳＳＰＥ、０．２％ＳＤＳ中で行なった。大挿入体ライブラリー中に１つのハイブリダイズするプラーク（ＭＥＴＡＢ２）を同定し、中挿入体ライブラリー中に４つのハイブリダイズするプラーク（ＭＥＴＡＢ３－ＭＥＴＡＢ６）を同定した。

【００９４】

ヒトｍＧｌｕＲ５をコードするＤＮＡの別のスクリーニングで、ＭＥＴＡＢ１により大挿入体または中挿入体小脳ライブラリーをスクリーニングするのに使用した条件と同じ条件を用いて、サイズが１－２kbの範囲の挿入体を含有するランダムにプライムしたヒト海馬ｃＤＮＡライブラリー（２×１０^{6}組換え体）および中挿入体小脳ｃＤＮＡライブラリーを、放射能標識したＭＥＴＡＢ５へのハイブリダイゼーションについてスクリーニングした。海馬ライブラリーに３つのハイブリダイズするプラーク（ＭＥＴＡＢ１０－ＭＥＴＡＢ１２）が同定され、小脳ライブラリーの別の一次スクリーニングで５つの追加のハイブリダイズするプラーク（ＭＥＴＡＢ１３－ＭＥＴＡＢ１７）が同定された。選択されたプラークを精製した。

【００９５】

単離されたクローンの性状解析

制限酵素マッピングとＤＮＡ配列解析による精製したプラークの挿入体の性状解析から、単離されたクローンによりヒトｍＧｌｕＲ５転写体の少なくとも３つの明らかなスプライス変種が表されていることが判明した。ＭＥＴＡＢ１の分析により、これは翻訳開始コドンを含有するが翻訳停止コドンは含有しないことが示された。推測されるアミノ酸配列は、ラットのｍＧｌｕＲ１の推測されるアミノ酸配列に約７０％同一であり、ラットのｍＧｌｕＲ５の推測されるアミノ酸配列とは＞９０％の同一性を有している［アベ（Abe）ら、（１９９２）J. Biol. Bhem. ２６７：１３３６１－１３３６８］。

【００９６】

ＭＥＴＡＢ５のＤＮＡ配列解析は、ＭＥＴＡＢ５は５’末端でＭＥＴＡＢ１の３’末端と重複し、３’方向へ追加の３４３ヌクレオチドが続いていることを示した。ＭＥＴＡＢ１とＭＥＴＡＢ５の重複領域を比較すると、ＭＥＴＡＢ１はＭＥＴＡＢ５に存在しない９６ヌクレオチドを有していた（すなわち、ＭＥＴＡＢ１はＭＥＴＡＢ５に対して９６ヌクレオチド挿入を含有する）。ＭＥＴＡＢ５はまた、翻訳停止コドンを持っていない。ＭＥＴＡＢ１２挿入体は５’末端でＭＥＴＡＢ５の３’末端と重複するが、さらに３’末端方向に延長して翻訳停止コドンを有する。

【００９７】

ＭＥＴＡＢ２のＤＮＡ配列解析により、５’末端の最初の８６９ヌクレオチドはＭＥＴＡＢ１の３’末端の一部と重複し、同じであった。しかし、ＭＥＴＡＢ１とＭＥＴＡＢ２の配列はＭＥＴＡＢ１の９６ヌクレオチド挿入の最初で分岐していた。ＭＥＴＡＢ２は３’末端方向に約２７００ヌクレオチド延長し、ＭＥＴＡＢ１との分岐点の４ヌクレオチドだけ３’方向に推定翻訳停止コドンを有する。

【００９８】

ＭＥＴＡＢ４の部分的ＤＮＡ配列解析は、これが別のヒトメタボトロピック受容体であるｍＧｌｕＲ１の一部を含有することを示していた（実施例１．Ｂ．を参照）。

【００９９】

全長ｍＧｌｕＲ５　ｃＤＮＡ作成体の調製

ｃＤＮＡのインビトロ転写体の調製および／または哺乳動物細胞でのｃＤＮＡの発現に使用するために、ヒトｍＧｌｕＲ５転写体の３つの推定スプライス変種を表す全長作成体（ｍＧｌｕＲ５ａ、ｍＧｌｕＲ５ｂそしてｍＧｌｕＲ５ｃと呼ぶ）を作成し、発現ベクター中に取り込むことができる。典型的に使用される基礎となる発現ベクターは、ｐＣＭＶ－Ｔ７－３またはｐＣＭＶ－Ｔ７－２である（図１を参照）。プラスミドｐＣＭＶ－Ｔ７－３はｐＵＣ１９ベースのベクターであり、ＣＭＶ（ＣＭＶ）プロモーター／エンハンサー、プロモーターのすぐ下流に位置するＳＶ４０スプライスドナー／スプライスアクセプター部位、ＳＶ４０スプライス部位のすぐ下流に位置するＴ７バクテリオファージＲＮＡポリメラーゼプロモーター、Ｔ７プロモーターの下流のＳＶ４０ポリアデニル化シグナル、およびＴ７プロモーターとポリアデニル化シグナルの間のポリリンカーを含有する。すなわちこのベクターは、哺乳動物宿主細胞中での異種ＤＮＡの発現に必要なすべての制御成分を含有する（異種ＤＮＡはポリリンカーでベクターに取り込まれる）。さらにＴ７プロモーターはポリリンカーのすぐ上流に位置するため、このプラスミドは、ポリリンカーでベクターにサブクローニングされた異種ＤＮＡのインビトロ転写体の合成に使用される。ｐＣＭＶ－Ｔ７－３とｐＣＭＶ－Ｔ７－２は、ポリリンカー中の制限酵素部位の配向のみが異なる。

【０１００】

全長ｍＧｌｕＲ５ａ作成体（配列番号７を参照）を調製するために、クローンＭＥＴＡＢ１、ＭＥＴＡＢ５およびＭＥＴＡＢ１２の部分を一緒に結合させた。まず操作を容易にするために、ＭＥＴＡＢ１、ＭＥＴＡＢ５およびＭＥＴＡＢ１２の挿入体をＥｃｏＲＩ断片としてλｇｔ１０から別々に、ＥｃｏＲＩ消化ｐＧＥＭ－７Ｚｆ（プロメガ（Promega）、マジソン、ウィスコンシン州）に移した。ＭＥＴＡＢ１挿入体を含有するｐＧＥＭ－７ＺｆベクターをＳｃａＩ／ＮｈｅＩで消化して、アンピシリン耐性遺伝子の５’半分とＭＥＴＡＢ１挿入体の５’部分（配列番号７のヌクレオチド１－２７２４）を含有する３．８kb断片を放出させた。ＭＥＴＡＢ５の挿入体を含有するｐＧＥＭ－７Ｚｆベクターを ＳｃａＩ／ＮｈｅＩで消化して、アンピシリン耐性遺伝子の３’半分とＭＥＴＡＢ５挿入体の３’部分（配列番号７のヌクレオチド２７２５－３４６９）を含有する２．６kb断片を放出させ、この断片を、ＭＥＴＡＢ１を含有するｐＧＥＭ－７Ｚｆベクターからの３．８kb断片に結合させてｐＧＥＭ－ＭＥＴＡＢ１＋５を作成した。ｐＧＥＭ－ＭＥＴＡＢ１＋５をＳｃａＩ／ＮｈｅＩで消化して、アンピシリン耐性遺伝子の５’半分と配列番号７のヌクレオチド１－３３１６を含有する４．４kb断片を放出させた。次にこの４．４kb断片を、ＭＥＴＡＢ１２挿入体を含有するｐＧＥＭ－７ＺｆベクターのＳｃａＩ／ＮｈｅＩ（部分）消化により得られた２．６kb断片［この２．６kb断片はアンピシリン耐性遺伝子の３’半分とＭＥＴＡＢ１２の３’部分（配列番号７のヌクレオチド３３１７－４０８５）を含有する］に結合させた。得られたベクターはｐＧＥＭ－７Ｚｆ中に完全なｍＧｌｕＲ５ａコーディング配列を含有していた。全長ｍＧｌｕＲ５ａ　ｃＤＮＡを、Ａａｔ　II（平滑末端）－Ｈｉｎｄ　III断片としてベクターから単離し、ＮｏｔＩ（平滑末端）／Ｈｉｎｄ　III消化ｐＣＭＶ－Ｔ７－３にサブクローニングして、作成体ｍＧｌｕＲ５ａ１を作成した。

【０１０１】

要約すると、作成体ｍＧｌｕＲ５ａ１は、ＭＥＴＡＢ１からの５’非翻訳配列の３６９塩基対（配列番号７のヌクレオチド１－３６９）と、ｍＧｌｕＲ５受容体のｍＧｌｕＲ５ａ変種の完全なコーディング配列（配列番号７のヌクレオチド３７０－３９１２）、および３’非翻訳配列の１７３塩基対（配列番号７のヌクレオチド３９１３－４０８５）を含有する。ｍＧｌｕＲ５ａをコードする配列は、哺乳動物宿主細胞中で受容体を発現するために、そしてツノガエル（Xenopus）卵母細胞で発現されるＤＮＡのインビトロ転写体を作成するのに使用するために、ｐＣＭＶ－Ｔ７－３中の制御成分に機能的に結合している。

【０１０２】

２つの追加のｍＧｌｕＲ５ａ作成体（ｍＧｌｕＲ５ａ２とｍＧｌｕＲ５ａ３）を、最初のｍＧｌｕＲ５ａ作成体の５’非翻訳領域を修飾して調製した。上記のｍＧｌｕＲ５ａ作成体は、提唱されている翻訳開始コドン（配列番号７のヌクレオチド３７０から３７２）に先行する５’非翻訳領域中に７つのおそらく不適切なＡＴＧコドンを含有する。ｍＧｌｕＲ５ａ１作成体をＢＡｌ３１で消化して、以下を行う：（１）配列の２５５ヌクレオチド（配列番号７のヌクレオチド１－２５５であり、上流のＡＴＧトリプレット７つのうち６つを含有する）を除去して、ｍＧｌｕＲ５ａ２を作成する、そして（２）配列の３４８ヌクレオチド（配列番号７のヌクレオチド１－３４８であり、上流のＡＴＧトリプレットのすべてを含有する）を除去して、ｍＧｌｕＲ５ａ３を作成する。すなわち、ｍＧｌｕＲ５ａ２は、５’非翻訳配列の一部が欠如していること以外はｍＧｌｕＲ５ａ１と同じであり、従って提唱される翻訳開始コドンの上流に１つのみのＡＴＧトリプレットを含有する。同様に、ｍＧｌｕＲ５ａ３は、提唱される翻訳開始コドンの上流のすべてのＡＴＧトリプレットが欠如していること以外はｍＧｌｕＲ５ａ１と同じであり、５’非翻訳配列の２１ヌクレオチドのみを含有する。

【０１０３】

３つ目のｍＧｌｕＲ５ａ作成体（ＭＭＴＶ－ｈｍＧｌｕＲ５ａ）は、以下のようにｍＧｌｕＲ５ａのＭＭＴＶプロモーター制御発現に使用するために調製した。ｍＧｌｕＲ５ａ３をＸｂａＩで消化した。ＳＶ４０スプライス部位、全長ｍＧｌｕＲ５ａコーディング配列（および５’非翻訳配列の２１ヌクレオチドと３’非翻訳配列の１７３ヌクレオチド）、およびポリアデニル化シグナルを含有する４．１kb断片を単離し、平滑末端とし、ｐＢＲ３２２の２kbのＥｃｏＲＩ－ＮｄｅＩ（平滑末端）断片に結合させて、ｐＢＲ－ｈｍＧｌｕＲ５を作成した。ＭＭＴＶＬＴＲプロモーターとアンピシリンおよびネオマイシン耐性遺伝子を含有するベクターｐＭＡＭｎｅｏ（クロンテック（Clontech）、パロアルト（Palo Alto）、カリホルニア州）をＢａｍＨＩで消化して、ネオマイシン耐性遺伝子を除去し、再結合させた。次にこのベクターをＥｃｏＲＩで消化し、アンピシリン耐性遺伝子を含有する断片を逆配向で大きい方のベクター断片に再結合させてｐＭＡＭｎｅｏ　ａｍｐｏｐｐを作成した。このベクターをＰｓｔＩ／ＮｈｅＩで消化して、アンピシリン耐性遺伝子の５’部分とＭＭＴＶ－ＬＴＲを含有する２．３kbの断片を単離した。プラスミドｐＢＲ－ｈｍＧｌｕＲ５をＰｓｔＩ／ＸｂａＩで消化し、アンピシリン耐性遺伝子の３’部分とｍＧｌｕＲ５ａ配列（ＳＶ４０スプライス部位とポリアデニル化シグナルとともに）を含有する５．３kbの断片を、ｐＭＡＭｎｅｏ　ａｍｐｏｐｐの２．３kbのＰｓｔ／ＮｈｅＩ断片に結合させてＭＭＴＶ－ｈｍＧｌｕＲ５ａを作成した。

【０１０４】

すなわち、ｐＭＭＴＶ－ｈｍＧｌｕＲ５ａは、ＭＭＴＶ－ＬＴＲを含有し、ｍＧｌｕＲ５ａ　ＤＮＡ（配列番号７のヌクレオチド３４９－４０８５を含有する）と機能的に結合したＳＶ４０スプライス部位が続き、この後にポリアデニル化シグナルが続く。

【０１０５】

４つ目のｍＧｌｕＲ５ａ作成体（ｐＳＶ－ｈｍＧｌｕＲ５）は、以下のようにｍＧｌｕＲ５ａのＳＶ４０プロモーター制御発現に使用するために調製した。ｍＧｌｕＲ５ａ３をＸｈｏＩで部分的に消化し、クレノウ（Klenow）で処理し、自身と再結合させ、こうしてｍＧｌｕＲ５ａ　ＤＮＡの３’に位置するＸｈｏＩ部位を破壊した。次にプラスミドをＳ

ｃａＩ／ＸｈｏＩで消化し、ＳＶ４０スプライス部位、全長ｍＧｌｕＲ５ａコーディング配列（および５’非翻訳配列の２１ヌクレオチドと３’非翻訳配列の１７３ヌクレオチド）、ポリアデニル化シグナルおよびアンピシリン耐性遺伝子の３’部分を含有する断片を作成した。プラスミドｐＳＶβ（クロンテック（Clontech）、パロアルト（Palo Alto）、カリホルニア州）をＳｃａＩ／ＸｈｏＩで消化し、アンピシリン耐性遺伝子とＳＶ４０早期プロモーターを含有する断片を、ｍＧｌｕＲ５ａ　ＤＮＡを含有するＳｃａＩ／ＸｈｏＩ断片に結合させて、ｐＳＶ－ｈｍＧｌｕＲ５を作成した。すなわち、ｐＳＶ－ｈｍＧｌｕＲ５は、ＳＶ４０早期プロモーターを含有し、ｍＧｌｕＲ５ａ　ＤＮＡ（配列番号７のヌクレオチド３４９－４０８５を含有する）と機能的に結合したＳＶ４０スプライス部位が続き、この後にポリアデニル化シグナルが続く。

【０１０６】

全長ｍＧｌｕＲ５ｂ作成体を調製するために、ｍＧｌｕＲ５ａ作成体（ｍＧｌｕＲ１ａ１、ｍＧｌｕＲ５ａ２またはｍＧｌｕＲ５ａ３）をＮｈｅＩ／ＰｍｌＩで消化し、配列番号７のヌクレオチド２７２５－３０２０を含有する断片を放出させる。次に残りのベクター断片を、ＭＥＴＡＢ１からの単離したＮｈｅＩ／ＰｍｌＩ断片に結合させる。得られるベクター（ｍＧｌｕＲ５ｂ）は、配列番号７のヌクレオチド２９９９と３０００の間に位置する９６塩基対の挿入体（配列番号９のヌクレオチド３０００－３０９５）を含有する以外は、これが得られたｍＧｌｕＲ５ａ作成体と同じである。配列番号９は、ベクターｍＧｌｕＲ５ａ１から調製した全長ｍＧｌｕＲ５ｂ　ｃＤＮＡの完全なヌクレオチド配列である。

【０１０７】

全長ｍＧｌｕＲ５ｃ作成体を調製するために、ｍＧｌｕＲ５ａ作成体（ｍＧｌｕＲ１ａ１、ｍＧｌｕＲ５ａ２またはｍＧｌｕＲ５ａ３）をＮｈｅＩ／ＨｉｎｄIII（Ｈｉｎｄ　III部位は、ｍＧｌｕＲ５ａベクターのｐＣＭＶ－Ｔ７－３部分のポリリンカー内に存在する）で消化し、配列番号７のヌクレオチド２７２５－４０８５を含有する断片を放出させる。次に残りのベクター断片を、ＭＥＴＡＢ２から単離したＮｈｅＩ／Ｈｉｎｄ　III断片に結合させる。得られる全長ｃＤＮＡ（ｍＧｌｕＲ５ｃ）（配列番号１１）は、コーディング配列の最初の２６３０ヌクレオチドについては、これが調製されたｍＧｌｕＲ５ａ作成体と同じであるが、コーディング配列のヌクレオチド２６３１で、ｍＧｌｕＲ５ｃとｍＧｌｕＲ５ａのコーディング配列は分岐（例えば、配列番号７のヌクレオチド３０００で始まる）し、ｍＧｌｕＲ５ｃコーディング配列はコーディング配列のヌクレオチド２６３１としてグアニンヌクレオチドを有し、その後に翻訳停止コドン（配列番号１１のヌクレオチド３００１－３００３）が続く。

【０１０８】

Ｂ．ｍＧｌｕＲ１受容体ｃＤＮＡ

ｃＤＮＡライブラリースクリーニング

中挿入体小脳ライブラリーを、ラットのｍＧｌｕＲ１受容体（ヌクレオチド１から３０３１および５’非翻訳配列：マス（Masu）ら、（１９９１）Nature　３４９：７６０－７６５）をコードするＤＮＡの断片へのハイブリダイゼーションについてスクリーニングした。ハイブリダイゼーションは、４２℃で５×ＳＳＰＥ、５×デンハルツ（Denhart's）溶液、５０％ホルムアルミド、０．２％ＳＤＳおよび２００μｇ／mlの変性した超音波処理したニシン精子ＤＮＡ中で行ない、洗浄は５５℃で１×ＳＳＰＥと０．２％ＳＤＳ中で行なった。３つのハイブリダイズするクローン（ＭＥＴＡＢ７－ＭＥＴＡＢ９）が同定された。

【０１０９】

次のスクリーニングで、ヒト中挿入体小脳ｃＤＮＡライブラリーの1×10^{6}組換え体の各平板を、追加のヒトｍＧｌｕＲ１クローンとプローブ結合させた。この平板をまず、ラットのｍＧｌｕＲ１　ｃＤＮＡのヌクレオチド１－１２５６（および５’非翻訳配列）を含有するＤＮＡ断片（すなわち、５’プローブ）とハイブリダイゼーションさせ、次にクローンＭＥＴＡＢ７－ＭＥＴＡＢ９を同定したこの前のスクリーニングで使用したもの

と同じハイブリダイゼーション条件と洗浄条件を用いて、ラットｍＧｌｕＲ１ａ　ｃＤＮＡのヌクレオチド２０７５－３３１０を含有するＤＮＡ断片（すなわち、３’プローブ）に連続してハイブリダイズさせた。５’プローブへのハイブリダイゼーションにより３つのクローン（ＭＥＴＡＢ１８、ＭＥＴＡＢ２１およびＭＥＴＡＢ２２）が同定され、そして３’プローブへのハイブリダイゼーションにより４つのクローン（ＭＥＴＡＢ１４、ＭＥＴＡＢ２０、ＭＥＴＡＢ３２およびＭＥＴＡＢ３５）が同定された。

【０１１０】

このラットのｍＧｌｕＲ１断片をプローブとして使用して、さらなるｍＧｌｕＲ１クローンのために大挿入体ヒト小脳ｃＤＮＡライブラリーをスクリーニングした。ハイブリダイゼーションと洗浄条件は、中挿入体小脳ライブラリーから６つのｍＧｌｕＲ１クローンを単離した時に使用したものと同じである（例えば、ハイブリダイゼーション溶液では２０％ホルムアルデヒドを使用した）。３つのプラーク（ＭＥＴＡＢ５８、ＭＥＴＡＢ５９およびＭＥＴＡＢ６０）がプローブにハイブリダイズした。

【０１１１】

単離されたクローンの性状解析

精製したプラークの挿入体を制限酵素マッピングとＤＮＡ配列解析により性状解析した。ＭＥＴＡＢ５８は、約２．８kbであり、５’非翻訳配列、翻訳開始コドンおよび約２．３kbのコーディング配列を含有する。ＭＥＴＡＢ５８の３’末端は、ＭＥＴＡＢ１４の５’末端と重複する。ＭＥＴＡＢ１４は３’方向へ約７００塩基対延長し、翻訳停止コドンを含有する。すなわち、ＭＥＴＡＢ５８とＭＥＴＡＢ１４は重複して、全長ｍＧｌｕＲ１受容体をコードする（配列番号１を参照）。他のクローンも、翻訳開始コドンと翻訳停止コドンの間に位置するｍＧｌｕＲ１コーディング配列の部分からのヌクレオチド配列を含有する、部分ｍＧｌｕＲ１　ｃＤＮＡである。

【０１１２】

ヒトｍＧｌｕＲ１転写体の３’末端をコードする追加のクローンがヒトｃＤＮＡライブラリー中に存在するか否かを測定するために、海馬／脳幹神経節および小脳ライブラリーからのｃＤＮＡの核酸増幅を行なった。５’プライマーは配列番号１のヌクレオチド２２１８から２２４０よりなり、３’プライマーは、ラットのｍＧｌｕＲ１ａコーディング配列のアミノ酸８９０－８９７に基づく縮重オリゴヌクレオチドであった（ピン（Pin）ら、（１９９２）Neurobiology　８９：１０３３１－１０３３５を参照）。増幅生成物をゲル電気泳動で解析した。海馬／脳幹神経節中にのみ１つの生成物（すなわち、５００塩基対断片）が検出された。

【０１１３】

ｍＧｌｕＲ１転写体の３’末端を示す追加のクローンを得るために、海馬および小脳ｃＤＮＡライブラリーを、前述のヒトｍＧｌｕＲ１　ｃＤＮＡを得るのに使用した条件と同様の条件を使用してラットのｍＧｌｕＲ１ａ　ｃＤＮＡの３’末端からの断片（例えば、ラットのｍＧｌｕＲ１ａ　ｃＤＮＡの約２kbのＮｃｏＩ／ＣｌａＩ断片）でスクリーニングすることができる。このプローブは、択一的にスプライスされるようではないｍＧｌｕＲ１　ｃＤＮＡの３’部分に対応する。次にハイブリダイズするクローンを制限酵素マッピングとＤＮＡ配列決定により解析して、異なる３’末端が示されるか否かを決定する。

【０１１４】

全長ｍＧｌｕＲ１　ｃＤＮＡ作成体の調製

ヒトｍＧｌｕＲ１受容体のＢ型をコードする全長作成体を調製するために、クローンＭＥＴＡＢ５８とＭＥＴＡＢ１４の一部を結合させた。ＭＥＴＡＢ５８をＥｃｏＲＩ／ＡｃｃＩで消化し、配列番号１のヌクレオチド１５４－２６１２を含有する２４５９塩基対の断片を単離する。ＭＥＴＡＢ１４の７０４塩基対断片（配列番号１のヌクレオチド２６１３－３３２１を含有する）を、ＭＥＴＡＢ１４のＡｃｃＩ／ＸｈｏＩ消化により単離する。次にこの断片をＭＥＴＡＢ５８の２４５９塩基対に結合させて、ＥｃｏＲＩ／ＳａｌＩ消化ベクターｐＣＭＶ－Ｔ７－３に結合させる。ヒトｍＧｌｕＲ１Ｂをコードする得られた作成体は、５’非翻訳配列の２３４ヌクレオチド（配列番号１のヌクレオチド１５４－

３８７）、全ｍＧｌｕＲ１Ｂコーディング配列（配列番号１のヌクレオチド３８８－３１０８）、および３’非翻訳配列の２１３ヌクレオチド（配列番号１のヌクレオチド３１０９－３３２１）を含有する。ｍＧｌｕＲ１Ｂをコードする配列は、哺乳動物細胞中での発現のためのｐＣＭＶ－Ｔ７－３中の制御成分に機能的に結合している。

【０１１５】

種々のヒト組織中で実際に発現されるｍＧｌｕＲ５およびｍＧｌｕＲ１受容体を決定するために、種々の方法が使用できる。例えば、本明細書に記載のｍＧｌｕＲ転写体の挿入／欠失（すなわち、分岐の領域）の５’と３’に位置するヌクレオチド配列に特異的なオリゴヌクレオチドを用いて、種々の組織から単離されたＲＮＡおよび／または種々の組織から調製されたｃＤＮＡライブラリーの核酸増幅をプライムすることができる。増幅生成物の有無および生成物のサイズは、組織中で発現される変種を示す。生成物はまた、ＤＮＡ配列解析により詳細に性状解析される。

【０１１６】

ＲＮａｓｅ保護測定法を用いて、種々の組織中で発現される変種転写体を決定することもできる。これらの測定法は、総細胞性ＲＮＡの複雑な混合物中のＲＮＡ種を検出し定量するための感度の良い方法である。ｍＧｌｕＲＤＮＡの一部を標識し、細胞性ＲＮＡとハイブリダイズさせる。細胞性ＲＮＡ中に相補的なｍＲＮＡが存在する場合は、ＤＮＡ－ＲＮＡハイブリッドが形成する。次にこのＲＮＡ試料をＲＮａｓｅで処理して、１本鎖ＲＮＡを分解させる。ＲＮＡ－ＤＮＡはＲＮａｓｅ分解から保護され、ゲル電気泳動やオートラジオグラフィーにより目視できるようにされる。

【０１１７】

例えばヒトｍＧｌｕＲ　ｃＤＮＡへのハイブリダイゼーションによるヒトメタボトロピック受容体をコードする配列を含有するゲノムクローンの単離と、引き続くクローンの性状解析は、ｍＧｌｕＲ一次転写体の可能なスプライス変種に関してさらなる情報を与える。

【０１１８】

Ｃ．ｍＧｌｕＲ３受容体ｃＤＮＡ

ｃＤＮＡライブラリースクリーニング

ヒト海馬ｃＤＮＡライブラリー（ランダムプライマーを用いてｃＤＮＡ合成をプライムさせ、次にλｇｔ１０ベクターへの結合について１．０－２．８kbのｃＤＮＡを選択することにより作成された）を、ラットｍＧｌｕＲ２　ｃＤＮＡの５００塩基対のＳｍａＩ／ＸｂａＩ断片とラットｍＧｌｕＲ３　ｃＤＮＡの３kbのＡｃｃＩ／ＢａｍＨＩ断片へのハイブリダイゼーションについて選択した［タナベ（Tanabe）ら、（１９９２）Neuron　８：１６９－１７９］。ハイブリダイゼーションは、４２℃で５×ＳＳＰＥ、５×デンハルツ（Denhart's）溶液、５０％ホルムアミド、０．２％ＳＤＳおよび２００μｇ／mlの変性した超音波処理したニシン精子ＤＮＡ中で行ない、洗浄は６５℃で０．５×ＳＳＰＥと０．２％ＳＤＳ中で行なった。３つのハイブリダイズするクローン（ＭＥＴＡＢ４０、ＭＥＴＡＢ４１、およびＭＥＴＡＢ４５）が同定された。

【０１１９】

次にＭＥＴＡＢ４５の５’末端の一部（すなわち、最初の２４４塩基対；配列番号５のヌクレオチド２６３４－２８７７）を用いて、増幅した小脳ライブラリー（ランダムプライマーを用いてｃＤＮＡ合成をプライムし、次にλｇｔ１０ベクターへの結合について＞２．８kbのｃＤＮＡを選択することにより作成される）、そして増幅した海馬ｃＤＮＡライブラリー（ランダムプライマーを用いてｃＤＮＡ合成をプライムし、次にλｇｔ１０ベクターへの結合について＞２．０kbのｃＤＮＡを選択することにより作成される）を追加のｍＧｌｕＲ３についてスクリーニングした。各ライブラリーから１００万のクローンがスクリーニングされた。ハイブリダイゼーション条件と洗浄条件は、海馬ライブラリーからのＭＥＴＡＢ４０、ＭＥＴＡＢ４１およびＭＥＴＡＢ４５を単離するのに使用したものと同じである。３つのハイブリダイズするクローンが各ライブラリーで同定された（小脳ライブラリーではＭＥＴＡＢ４６、ＭＥＴＡＢ４９およびＭＥＴＡＢ５０、そして海馬ラ

イブラリーではＭＥＴＡＢ４７、ＭＥＴＡＢ４８およびＭＥＴＡＢ５１Ｂ）。

【０１２０】

単離したクローンの性状解析

精製したプラークの挿入体を、制限酵素マッピングとＤＮＡ配列解析により性状解析した。単離したクローンのおのおのは、ヒトｍＧｌｕＲ２受容体の一部をコードするクローンメタボトロピック４０（例えば実施例１．Ｄ．を参照）を除いて、ヒトｍＧｌｕＲ３受容体の一部である。クローンＭＥＴＡＢ４１、ＭＥＴＡＢ４５、ＭＥＴＡＢ４７－４９は、ｍＧｌｕＲ３コーディング配列の３’からの配列および翻訳停止コドンを含有する。クローンＭＥＴＡＢ４６、ＭＥＴＡＢ５０およびＭＥＴＡＢ５１Ｂは、ｍＧｌｕＲ３　ｃＤＮＡの５’末端からの配列（翻訳開始コドンと種々の量の５’非翻訳配列を含む）を含有する。

【０１２１】

全長ｍＧｌｕＲ３　ｃＤＮＡ作成体の調製

ＭＥＴＡＢ４８とＭＥＴＡＢ４６またはＭＥＴＡＢ５１Ｂの一部を結合させて、全長ヒトｍＧｌｕＲ３コーディング配列を含有する４つの作成体を調製した。この全長コーディング配列は配列番号５（ヌクレオチド１０６４－３７０３）に与えられる。クローンＭＥＴＡＢ４６とＭＥＴＡＢ５１Ｂの挿入体は、ＥｃｏＲＩ断片としてｐＣＭＶ－Ｔ７－３中に別々にサブクローニングされた。クローンＭＥＴＡＢ４８の挿入体は、ＥｃｏＲＩ断片としてｐＣＭＶ－Ｔ７－２にサブクローニングされた。

【０１２２】

作成体ｍＧｌｕＲ３Ｂを作成するために、ＭＥＴＡＢ５１Ｂ挿入体を含有するｐＣＭＶ－Ｔ７－３プラスミドをＳｃａＩ／Ｂｇｌ　IIで消化し、アンピシリン耐性遺伝子の５’半分とＭＥＴＡＢ５１Ｂ挿入体の５’部分（配列番号５のヌクレオチド７４８－１６７１）を含有する２．６kbの断片を単離した。この断片を、ＭＥＴＡＢ４８の挿入体を有するｐＣＭＶ－Ｔ７－２プラスミドのＳｃａＩ／Ｂｇｌ　II消化物から単離した４．３kbの断片［この４．３kbの断片はアンピシリン耐性遺伝子の３’半分とＭＥＴＡＢ４８の３’部分を有する（配列番号５のヌクレオチド１６７２－３９１９）］に結合させた。得られた作成体（ｍＧｌｕＲ３Ｂ）は、３１６ヌクレオチドの５’非翻訳配列（配列番号５のヌクレオチド７４８－１０６３）、全ｍＧｌｕＲ３コーディング配列（配列番号５のヌクレオチド１０６４－３７０３）、および２１６ヌクレオチドの３’非翻訳配列（配列番号５のヌクレオチド３７０４－３９１９）を含有する。ｍＧｌｕＲ３Ｂをコードする配列は、哺乳動物細胞中での発現のためにベクターｐＣＭＶ－Ｔ７－３とｐＣＭＶ－Ｔ７－２からの制御成分に機能的に結合している。

【０１２３】

作成体ｍＧｌｕＲ３Ｃを作成するために、ＭＥＴＡＢ４６の挿入体を有するｐＣＭＶ－Ｔ７－３プラスミドを、ＳｃａＩ／Ｂｇｌ　IIで消化し、アンピシリン耐性遺伝子の５’半分とＭＥＴＡＢ４６の５’部分を含有する３．４kbの断片（配列番号５のヌクレオチド１－１６７１）を単離した。この断片を、ＭＥＴＡＢ４８の作成体ｍＧｌｕＲ３Ｂで使用したものと同じＳｃａＩ／Ｂｇｌ　II断片に結合させた。得られた作成体（ｍＧｌｕＲ３Ｃ）は、５’非翻訳配列の１０６３ヌクレオチド（配列番号５のヌクレオチド１－１０６３）、全ｍＧｌｕＲ３コーディング配列（配列番号５のヌクレオチド１０６４－３７０３）、および３’非翻訳配列の２１６ヌクレオチド（配列番号５のヌクレオチド３７０４－３９１９）を含有する。このｍＧｌｕＲ３Ｃをコードする配列は、哺乳動物細胞中での発現のためにベクターｐＣＭＶ－Ｔ７－２とｐＣＭＶ－Ｔ７－３からの制御成分に機能的に結合している。

【０１２４】

作成体ｍＧｌｕＲ３Ａは、ｍＧｌｕＲ３ＣをＥｃｏＲＶとＮｏｔＩで消化して、配列番号５のヌクレオチド１－１０３５を含有する断片を除去して、ＮｏｔＩ部位を平滑末端として、次に大きい方のベクター断片を再結合させることにより作成した。作成体ｍＧｌｕＲ３Ａは、２８ヌクレオチドの５’非翻訳配列（配列番号５のヌクレオチド１０３６－１

０６３）、全ｍＧｌｕＲ３コーディング配列（配列番号５のヌクレオチド１０６４－３７０３）、および２１６ヌクレオチドの３’非翻訳配列（配列番号５のヌクレオチド３７０４－３９１９）を含有する。このｍＧｌｕＲ３Ａをコードする配列は、哺乳動物細胞中での発現のためにベクターｐＣＭＶ－Ｔ７－３とｐＣＭＶ－Ｔ７－２からの制御成分に機能的に結合している。

【０１２５】

作成体ｐＳＶ－ｈｍＧｌｕＲ３Ｃ（ｍＧｌｕＲ３のＳＶ４０プロモーター制御発現に使用するため）を作成するために、ＭＥＴＡＢ４６の挿入体を有するｐＣＭＶ－Ｔ７－３プラスミドをＳｃａＩ／ＮｏｔＩで消化し、アンピシリン耐性遺伝子の３’部分と全ＭＥＴＡＢ４６挿入体を含有する断片を単離した。プラスミドｐＳＶβをＳｃａＩ／ＮｏｔＩで消化し、アンピシリン耐性遺伝子５’部分とＳＶ４０早期プロモーターおよびスプライス部位を含有する断片を、ＭＥＴＡＢ４６を有するｐＣＭＶ－Ｔ７－３ベクターからのＳｃａＩ／ＮｏｔＩ断片に結合させて、ｐＳＶ－ＭＥＴＡＢ４６を作成した。プラスミドｐＳＶ－ＭＥＴＡＢ４６をＳｃａＩ／Ｂｇｌ　IIで消化し、アンピシリン耐性遺伝子の５’部分、ＳＶ４０早期プロモーターおよびスプライス部位そしてＭＥＴＡＢ４６の５’部分（配列番号５のヌクレオチド１－１６７１）を含有する断片を単離した。この断片を、作成体ｍＧｌｕＲ３ＢやｍＧｌｕＲ３Ｃで使用したものと同じＭＥＴＡＢ４８のＳｃａＩ／Ｂｇｌ　II断片に結合させた。得られた作成体（ｐＳＶ－ｈｍＧｌｕＲ３Ｃ）は、ＳＶ４０プロモーターを含有し、ｍＧｌｕＲ３　ＤＮＡ（配列番号５のヌクレオチド１－３９１９を含有する）と機能的に結合したＳＶ４０スプライス部位が続き、この後にポリアデニル化シグナルが続く。

【０１２６】

Ｄ．ｍＧｌｕＲ２受容体ｃＤＮＡ

実施例１．Ｃ．に記載したようにヒト海馬ｃＤＮＡライブラリーからクローンＭＥＴＡＢ４０を単離した。このＭＥＴＡＢ４０の挿入体ｃＤＮＡは長さが１１００塩基対であり、ヒトｍＧｌｕＲ２受容体の３’末端（翻訳停止コドンと３’末端非翻訳配列を含む）をコードする。ＭＥＴＡＢ４０の最初の３５５ヌクレオチドは配列番号３に提供され、ＭＥＴＡＢ４０の最後の３４３ヌクレオチド（すべて３’非翻訳配列からである）は配列番号１３に提供される。

【０１２７】

ｍＧｌｕＲ２転写体の５’部分を示すＤＮＡを含有するクローンを単離するために、ＭＥＴＡＢ４０の５’末端に対応するオリゴヌクレオチドへのハイブリダイゼーションについて、ヒト海馬ｃＤＮＡライブラリーをスクリーニングすることができる。ハイブリダイズするクローンを精製し、ＤＮＡ配列解析により性状解析する。ＭＥＴＡＢ４０に重複し翻訳開始コドンを含有するクローンを、適当な制限部位でＭＥＴＡＢ４０に結合させて、全長ｍＧｌｕＲ２をコードするｃＤＮＡ作成体を作成することができる。

【実施例２】

【０１２８】

卵母細胞中の組換えヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体の発現

ヒトメタボトロピック受容体をコードするＤＮＡを含有する作成体から調製したインビトロ転写体を、ツノガエル（Xenopus）卵母細胞に注入した。２電極の電位固定法（例えば、スツマー（Stuhmer）（1992）Meth. Enzymol. ２０７：３１９－３３９を参照）を用いて、卵母細胞トランスメンブレン電流の電気生理的測定を行なった。

【０１２９】

Ａ．インビトロ転写体の調製

作成体ｍＧｌｕＲ５ａ３中に含有されるメタボトロピック受容体ｃＤＮＡのキャップされた組換え転写体を、メガスクリプト（Megascript）キット（カタログ番号＃１３３４、アンビオン社（Ambion Inc.）、オースチン、テキサス州）を用いて、線状化したプラスミドから合成した。各合成転写体の質量を紫外吸光度法により測定し、各転写体の完全性をアガロースゲルの電気泳動により測定した。

【０１３０】
Ｂ．電気生理学
卵母細胞１つにつき、１０－５０ngのメタボトロピック受容体転写体を、ツノガエル（Xenopus）卵母細胞に注入した。卵母細胞の調製と注入は、ダスカル（Dascal）の方法［（１９８７）Crit. Rev. Biochem. ２２：３１７－３８７］に従って行なった。ｍＲＮＡ注入の２から６日後、２電極電位固定法を用いて卵母細胞を試験した。細胞はリンゲル溶液（１１５mM ＮａＣｌ、２．５mM ＫＣｌ、１．８mM $CaCl_2$、１０mM ＨＥＰＥＳ、pH７．３）浴に浸漬し、膜電位は－８０から－１００mVに固定した。薬剤含有溶液の６０μｌずつをピペットで直接浴に入れた。アクソテープ（AXOTAPE）バージョン１．２ソフトウェア（アクソン・インスツルメンツ（Axon Instruments）、フォスターシティ、カリホルニア州）を用いてＰＣ－３８６中のラボマスター（Labmaster）データ採取ボードを用いて２－５Hzでデータをサンプリングした。データをレーザープリンターに取り出すか、またはシグマプロット（Sigmaplot）バージョン５．０を用いてプロットした。

【０１３１】
メタボトロピック受容体調節化合物（すなわち、０．００１－０．１μMキスカル酸、０．１－１０μMグルタミン酸および０．１－３００μM １Ｓ，３Ｒ－ＡＣＰＤ（１－アミノ－シクロペンチル－１，３－ジカルボン酸）を浴に適用し、トランスメンブレン電流を記録した。化合物の適用後相当の電流が検出された。種々の量の各化合物を適用後の電流を比較する用量応答試験で、電流の大きさは各化合物の濃度の上昇に伴い増加することが明らかになった。これらのデータを解析した結果、各化合物のEC_{50}を計算することができ、これを化合物の相対電位の測定に使用した。

【実施例３】
【０１３２】
哺乳動物細胞におけるヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体サブユニットの組換え発現
ヒト胎児性腎（ＨＥＫ）細胞とチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞（すなわち、ＤＧ４４細胞；ウーラウプ（Urlaub）ら（１９８６）Som. Cell. Molec. Genet. １２：５５５を参照）を、ヒトメタボトロピック受容体をコードするＤＮＡでトランスフェクションさせた。種々の方法（例えば、イノシオトールリン酸（IP_1）測定法、Ca^{++}－感受性蛍光指示薬ベースの測定法、および[^{3}Ｈ]－グルタミン酸結合測定法）を用いて、メタボトロピック受容体の発現について解析した。

【０１３３】
Ａ．ＨＥＫ２９３細胞の一時的トランスフェクション
ＨＥＫ２９３細胞を、ｍＧｌｕＲ５ａ（作成体ｍＧｌｕＲ５ａ２とｍＧｌｕＲ５ａ３および作成体ＭＭＴＶ－ｈｍＧｌｕＲ５ａ）受容体をコードするＤＮＡで一時的トランスフェクションを行なった。約2×10^6のＨＥＫ２９３細胞を標準的$CaPO_4$トランスフェクション法［ウィグラー（Wigler）ら、（１９７９）Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A ７６：１３７３－１３７６を参照］に従い、目的のプラスミドの５－１８μg（あるトランスフェクション体においては０．１８μg、実施例３．Ｃ．２．を参照）で一時的にトランスフェクションした。さらにＣＭＶプロモーターに融合した大腸菌β－ガラクトシダーゼ遺伝子を含有する、プラスミドｐＣＭＶβｇａｌ（クロンテック・ラボラトリーズ（Clontech Laboratories）、パロアルト（Palo Alto）、カリホルニア州）０．５－２μgを、レポーター遺伝子として同時トランスフェクションして、トランスフェクションの効率を追跡した。β－ガラクトシダーゼとＸ－ｇａｌ基質を含む反応の生成物の直接染色により、β－ガラクトシダーゼ発現についてトランスフェクション体を解析した［ジョーンズ（Jones）（１９８６）EMBO ５：３１３３－３１４２］。トランスフェクション体はまた、β－ガラクトシダーゼ活性の測定によるβ－ガラクトシダーゼ発現について解析することもできる［ミラー（Miller）（１９７２）分子遺伝子学実験（Experiments in Molecular Genetics）のPP. ３５２－３５５，コールド・スプリング・ハーバー・プレス（Cold Spring Harbor Press）］。

【０１３４】
５μgのＭＭＴＶ－ｈｍＧｌｕＲ５Ａで一時的トランスフェクションを行なったＨＥＫ２９３細胞は、ラウス肉腫ウイルス（ＲＳＶ）ＬＴＲプロモーターに機能的に結合した糖質コルチコイド受容体をコードするＤＮＡを含有するｐＲＳｈＧＲ（ＡＴＣＣ整理番号６７２００）５μgと同時トランスフェクションをした。これらの細胞における糖質コルチコイド受容体の同時トランスフェクションは、細胞への糖質コルチコイド（例えば、デキサメタゾン）の添加によるＭＭＴＶプロモーター－ｍＧｌｕＲ５ａＤＮＡの発現の誘導を確実にする。
【０１３５】
ＨＥＫ細胞のこれらのトランスフェクションの効率は、標準的効率に典型的なものであった（すなわち、約５０％）。
【０１３６】
Ｂ．哺乳動物細胞の安定なトランスフェクション
ＨＥＫ２９３細胞、Ｌｔｋ$^-$細胞およびＣＨＯ細胞のような哺乳動物細胞は、リン酸カルシウムトランスフェクション法を用いて安定にトランスフェクションすることができる［Current Protocols in Molecular Biology, Vol.１, ワイリー・インターサイエンス（Wiley Inter-Science）、増刊１４号、単元９．１．１．－９．１．９（１９９０）］。ＣＨＯ細胞を宿主として使用するときは、ヒトメタボトロピック受容体をコードするｃＤＮＡの発現を制御するにはＳＶ４０プロモーターの使用が一般に好ましい。それぞれ１－２×１０^{6}細胞を含有する１０cmのプレートを、メタボトロピック受容体をコードするＤＮＡ約５－１０μgと選択マーカー（例えば、ネオマイシン－耐性遺伝子（すなわち、ＨＥＫ２９３形質転換体の選択にはネオマイシン耐性遺伝子（すなわち、ｐＳＶ２ｎｅｏ）、Ｌｔｋ$^-$細胞トランスフェクション体にはチミジンキナーゼ遺伝子、またはＤＧ４４細胞形質転換体の選択にはジヒドロ葉酸還元酵素（ｄｈｆｒ）遺伝子））をコードするＤＮＡ　０．５－１μgを含有するＤＮＡ／リン酸カルシウム沈殿物でトランスフェクションする。適当な培地中で約１４日間の増殖の後、コロニーが形成され、クローニングシリンダーを用いて個々に単離される。次に単離物を限界希釈を行いスクリーニングして、例えば後述の方法を用いてメタボトロピック受容体を発現するものを同定する。
【０１３７】
Ｃ．トランスフェクション体の解析
１．蛍光指示薬に基づく測定
アゴニストによるＧ蛋白結合メタボトロピック受容体の活性化により、ホスファチジルイノシトール（ＰＩ）加水分解／細胞内Ｃａ$^{++}$シグナル化経路および／または阻害性ｃＡＭＰカスケードが刺激される。細胞内カルシウム濃度の一時的上昇の検出法は、ＰＩ加水分解／Ｃａ$^{++}$動員（mobilization）経路またはＰＩ加水分解／Ｃａ$^{++}$動員（mobilization）経路と阻害性ｃＡＭＰカスケードの両方にカップリングしたメタボトロピック受容体の機能性発現の解析に適用できる。細胞内カルシウムレベルを測定する１つの方法は、カルシウム感受性蛍光指示薬を用いる。
【０１３８】
フルオ－３（fluo－３）やフラ－２（fura－２）（モレキュラー・プローブズ社（Molecular Probes Inc.）、ユージーン（Eugene）、オレゴン州）のようなカルシウム感受性指示薬は、膜透過性であるアセトキシメチルエステルとして入手できる。アセトキシメチルエステル型の指示薬が細胞内に入ると、サイトゾル性エステラーゼによりエステル基は除去され、このため遊離の指示薬はサイトゾル内に捕捉される。遊離の指示薬とカルシウムが相互作用すると、指示薬の蛍光強度が増加する。従って、指示薬を含有する細胞の細胞内Ｃａ$^{++}$濃度の上昇は直接蛍光の増強（または、フラ－２を使用する時は、２つの波長での蛍光の比率の増強）として発現される。メタボトロピック受容体を測定するための自動蛍光検出装置が、本出願人の係属中の米国特許出願第０７／８１２，２５４号およびその対応するＰＣＴ特許出願ＵＳ９２／１１０９０号（参考のためその全体が本明細書中に引用される）に記載されている。さらに細胞内Ｃａ$^{++}$振動を目視できるようにするた

めに蛍光イメージング法を使用することができる。

【０１３９】

ヒトｍＧｌｕＲ５ａ受容体をコードするＤＮＡで一時的トランスフェクションを行なったＨＥＫ細胞を、自動蛍光指示薬ベースの測定法と蛍光イメージング測定法を用いて、機能性組換えメタボトロピック受容体の発現について解析した。同様に、メタボトロピック受容体ＤＮＡで安定にトランスフェクションした細胞も、これらの測定法系を用いて機能性メタボトロピック受容体について解析した。

【０１４０】

ａ．自動蛍光測定法

2×10^5細胞／ウェルの濃度でポリ－Ｌ－リジンでプレコーティングし、２０μＭフルオ－３、０．２％プルロニック（Pluronic）Ｆ－１２７をＨＢＳ（１２５ｍＭ ＮａＣｌ、５ｍＭ ＫＣｌ、１．８ｍＭ $CaCl_2$、０．６２ｍＭ $MgCl_2$、２０ｍＭグルコース、２０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、pH７．４）中に含有する培地中で、２０℃で２時間インキュベートしてフルオ－３を充填した９６ウェルマイクロタイタープレート（ヌンク（Nunc）、カタログ番号１－６７０８、アラメダ・インダストリーズ（Alameda Industries）、エスコンジド（Escondido）、カリホルニア州）に、トランスフェクションしていないＨＥＫ２９３細胞（またはｐＣＭＶ－Ｔ７－３で一時的にトランスフェクションしたＨＥＫ２９３細胞）およびｍＧｌｕＲ５ａをコードするＤＮＡでトランスフェクションしたＨＥＫ２９３細胞を広げた。次に細胞を測定緩衝液（すなわち、ＨＢＳ）で洗浄した。次にマイクロタイタープレートを蛍光プレートリーダー（例えば、フルオロスカン（Fluoroskan）II、ラボ・プロダクツ・インターナショナル社（Lab Products International, Ltd.）、ラレー（Raleigh）、ノースカロライナ州）に入れ、各ウェルの基礎蛍光を測定し記録してから、ウェルにキスカル酸、グルタミン酸、トランス－ＡＣＰＤ（１－アミノ－シクロペンタン－１，３－ジカルボン酸）、１Ｓ，３Ｒ－ＡＣＰＤ、ＡＰ３（２－アミノ－３－ホスホノプロピオン酸）、ＡＰ５（２－アミノ－５－ホスホノペンタノン酸）、およびＣＮＱＸ（６－シアノ－７－ニトロキノキサリン－２，３－ジオン）を添加した。アゴニストの添加後ウェルの蛍光を繰り返し（０．６３秒間隔で７５回読む）追跡する。

【０１４１】

一般に、トランスフェクションしていないＨＥＫ２９３細胞の蛍光は、これらの化合物のどれを添加しても変化しなかった。ｍＧｌｕＲ５ａ３またはＭＭＴＶ－ｈｍＧｌｕＲ５ａ作成体のいずれかで一時的にトランスフェクションしたＨＥＫ２９３細胞の蛍光は、グルタミン酸、キスカル酸、トランス－ＡＣＰＤ、または１Ｓ，３Ｒ－ＡＣＰＤの添加に応答して上昇した。蛍光はピーク値まで増加し、次に時間とともに化合物の添加前の細胞の基礎レベルまで低下した。ｍＧｌｕＲ５ａ２でトランスフェクションした細胞について、グルタミン酸、キスカル酸またはトランス－ＡＣＰＤ刺激蛍光の増強に対するＡＰ３、ＡＰ５またはＣＮＱＸの影響を調べた。これらの化合物（ＡＰ３、ＡＰ５、またはＣＮＱＸ）のいずれも、これらの細胞中のアゴニスト誘導蛍光増強を阻害しなかった。

【０１４２】

種々の量のグルタミン酸、キスカル酸または１Ｓ，３Ｒ－ＡＣＰＤを添加後に測定したピーク蛍光値を比較する用量応答試験で、ピーク蛍光の大きさは各化合物の濃度の上昇に伴い増加することが明らかになった。これらのデータを解析した結果、各化合物のEC_{50}を計算することができ、これを化合物の相対電位の測定に使用した。

【０１４３】

ＭＭＴＶ－ｈｍＧｌｕＲ５ａおよびｐＲＳｈｇＧＲ（糖質コルチコイド受容体作成体）で一時的に同時トランスフェクションしたＨＥＫ２９３細胞も、この蛍光測定法で解析した。これらの細胞の蛍光は１００μＭのキスカル酸に応答して増加し、測定前に細胞をデキサメタゾン（約１Ｍ）で３７℃で１６時間プレインキュベートするとピーク応答は大きかった。

【０１４４】

ｂ．蛍光イメージング測定法

細胞内Ca^{++}濃度のメタボトロピック受容体介在変化を目視できるようにするために、mGluR5a3で一時的にトランスフェクションしたHEK293細胞とトランスフェクションしていないHEK293細胞（対照）を、デジタルビデオイメージングで解析した。暗所中で室温で25分間細胞を1μMのフラー2（アセトキシメチルエステル）に暴露することにより、トランスフェクション体（ガラス挿入底を有する35mm培養皿あたり4×10^{5}細胞）をフラー2で充填した。次に細胞をDMEMで3回そしてリンゲル溶液（160mM NaCl、5mM KCl、2mM $CaCl_2$、1mM $MgCl_2$、11mMグルコース、5mM HEPES、pH7.3）で4回洗浄した。

【0145】

次にトランスフェクション体と非トランスフェクション細胞を、紫外光源として150Wのキセノンランプを有するアキシオベルト（Axiovert）100TV倒立顕微鏡（ツァイス（Zeiss）、オーベルコフレン（Oberkochren）、ドイツ）のステージの上に広げた。40×1.3N.A.油浸対物レンズを介して細胞を340nmと380nmで交互励起するのに、イメージ1フルオル（Fluor）システム（ユニバーサル・イメージング（Univeersal Imaging）、ウェストチェスター、ペンシルバニア州）を使用した。510nmより長い波長で出る光を、CCD72強化CCDカメラ（エム・ティー・アイ ダーゲ（MTI Dage）、ミシガン・シティ、インディアナ州）により集め、デジタル化した。340nmと380nmの励起イメージからバックグランドの蛍光を差し引いた。補正値を使用して340／380強度比を計算した。較正していないフラー2比は、細胞内Ca^{++}濃度の変化の信頼できる指標である。

【0146】

較正していないフラー2比を用いて、休止細胞内Ca^{++}濃度（約100nM）を紫色で、高細胞内Ca^{++}濃度（約1μM）を赤色で疑色イメージを作成した。実験の各比率のイメージについて、定量解析のために、各細胞の12×12ピクセル領域内の平均比をソフトウェアにより計算し、さらに解析しグラフを描くために表に取り込んだ。

【0147】

HEK293細胞は、PI加水分解／Ca^{++}動員経路の受容体介在活性化に必要な細胞内成分を発現することを証明するために、トランスフェクション体と非トランスフェクション細胞（内因性G蛋白結合ムスカリン性アセチルコリン受容体を発現する）を1mMのカルバミルコリン（CCh；ムスカリン性アセチルコリン受容体アゴニスト）に暴露し、細胞内Ca^{++}濃度の上昇を追跡した。典型的には、イメージング試験でCChの添加に応答して、大多数の細胞の細胞内Ca^{++}濃度の上昇が検出された。

【0148】

トランスフェクションしたHEK293細胞およびトランスフェクションしていないHEK293細胞を、100μMキスカル酸に応答して細胞内Ca^{++}濃度が上昇するか否かについて追跡した。平均すると、非トランスフェクション細胞の細胞内Ca^{++}濃度は、キスカル酸への暴露後増加しない。これに対して、トランスフェクションした細胞の26.7±22.3%のCa^{++}濃度は100μMのキスカル酸の添加に応答して増加した。

【0149】

2．ホスファチジルイノシトール加水分解（IP_1）測定法

G蛋白結合メタボトロピック受容体のアゴニストによる活性化により、ホスファチジルイノシトール（PI）加水分解経路が刺激されるため、PI加水分解の生成物（例えば、IP_3、IP_2またはIP_1）の増加を検出する方法は、PI加水分解／Ca^{++}動員経路またはPI加水分解／Ca^{++}動員経路と阻害性cAMPカスケードにカップリングしたメタボトロピック受容体の機能性発現の解析に応用することができる。PIの加水分解により生成されるIP_1および／またはIP_2および／またはIP_3を測定する1つの方法は、細胞膜リン脂質内への[^{3}H]－ミオ－イノシトールを取り込み、次に[^{3}H]－IP_1、[^{3}H]－IP_2および[^{3}H]－IP_3を分離し、以下のように各画分の放射能を定量する。

ｍＧｌｕＲ５ａ３で一時的にトランスフェクションしたＨＥＫ２９３細胞を、８×１０^{5}細胞／ウェルで２４ウェルのマイクロタイタープレートに広げた。細胞を数時間沈降させ、プレートの底に付着させた後、２μCiの[^{3}Ｈ]－ミオ－イノシトール（アマーシャム（Amersham）、カタログ番号＃ＰＴ６－２７１、アーリントンハイツ（Arlington Heights）、イリノイ州；比活性＝１７．７Ci／mmol）を各ウェルに添加し３７℃で一晩インキュベートした。翌日、ニコンダイアフォト（Nikon Diaphot）倒立顕微鏡下で細胞を観察し、細胞の形態の健常性を評価し、ウェルがコンフルエント（confluent）な細胞層を含有するか否かを測定した。次に培地を吸引し、細胞を０．５mlのクレブス重炭酸緩衝液［１１７．９mM ＮａＣｌ、４．７２mM ＫＣｌ、２．５４mM $CaCl_2$、１．１８mM $MgSO_4$、１．１９mM KH_2PO_4、２５mM $NaHCO_3$、１１．１mMデキストロース（９５％ O_2、５％ CO_2、pH７．４で平衡化されている）］で２回洗浄した。細胞を室温で４５分間インキュベートした。次に各ウェルから緩衝液を吸引し、細胞を洗浄し、０．５ml／ウェルで室温で４５分間インキュベートした。次に緩衝液を各ウェルから吸引し、次に１０mM ＮａＣｌの代わりに１０mMのＬｉＣｌを含有する４５０μlのクレブス重炭酸緩衝液（IP_1のイノシトールと無機リンへの加水分解を防ぐために）とともに細胞を３７℃で２０分間インキュベートした。

【０１５０】

メタボトロピック受容体調節化合物による細胞の処理を始める前に、５０μlのクレブス重炭酸緩衝液（対照）または化合物の最終濃度の１０×のものを各ウェルに添加し、４０分間インキュベートを続けた。各ウェルに１mlの氷冷メタノールを加えてインキュベートを停止させた。

【０１５１】

細胞からIP_1を単離するために、プラスチックピペットのチップでプレートの細胞を掻き取って、細胞懸濁物を１２×７５mmガラス試験管に移した。試験管を完全にボルテックス混合し、各反応混合物の１５０μl分（すなわち、総量の１０分の１）を別の試験管に移して蛋白を測定した。１mlのクロロホルムによる抽出により、放射標識膜リン脂質から水溶性リン酸イノシトールを分離した。試験管を室温で３０分間インキュベートした後、４℃で５００×ｇで５分間遠心分離した。[^{3}Ｈ]－リン酸イノシトールを含有する水（上）層を、アクセルＱＭＡセパク（Accell ＱＭＡ ＳＥＰ－ＰＡＫ）カラム（ミリポア（Millipore）、カリホルニア州）に接続した１０mlのシリンジに移した（これは、２０mlのシンチレーションバイアルに集められるように変更したアマーシャム・スーパーセパレーター（Amersham Superseparator）装置に結合してある）。カートリッジに水（１０ml）を入れて[^{3}Ｈ]－イノシトール前駆体を除き、次に４mlの０．０２Ｍトリエチルアンモニウム水素炭酸化緩衝液（ＴＥＡＢ、フルカ（Fluka）；ニューヨーク）を加えた。カートリッジから[^{3}Ｈ]－IP_1、[^{3}Ｈ]－IP_2そして[^{3}Ｈ]－IP_3を別々に除去するために、４mlの０．１Ｍ ＴＥＡＢ、４mlの０．３Ｍ ＴＥＡＢ、そして４mlの０．４Ｍ ＴＥＡＢをカートリッジに連続的に添加して、画分を溶出させ、大きいシンチレーションバイアルに採取した。エコルメ・カクテル（Ecolume cocktail）（１５ml；ＩＣＮ；カリホルニア州）を各バイアルに加え、次にシンチレーション計測して別々の画分の各ＩＰの量を測定した。蛋白濃度は、バイオラッド（Bio－Rad）蛋白マイクロ測定法（バイオラッド（Bio－Rad）、リッチモンド、カリホルニア州）を用いて測定した。

【０１５２】

この測定法で測定した時、１８μgのｍＧｌｕＲ５ａ３で一時的にトランスフェクションしたＨＥＫ２９３細胞は、比較的高い基礎レベルのIP_1を示した。しかし、０．１８μgのｍＧｌｕＲ５ａ３で一時的にトランスフェクションしたＨＥＫ２９３細胞は、低い基礎IP_1レベルを示し、１mMのグルタミン酸、１mMのキスカル酸または１mMの１Ｓ，３Ｒ－ＡＣＰＤで処理した時はIP_1レベルの検出できる増加を示した。IP_1レベルのキスカル酸に誘導される増加は、１mMのＡＰ３により影響を受けなかった。

【０１５３】

ｍＧｌｕＲ５ａ３でトランスフェクションした細胞に、種々の濃度のグルタミン酸、キ

スカル酸または１Ｓ，３Ｒ－ＡＣＰＤの添加後測定したＩＰ$_1$レベルを比較した用量応答試験では、各化合物の濃度の上昇とともにＩＰ$_1$レベルが増加することを示していた。これらのデータの解析により、各化合物のＥＣ$_{50}$を計算することができ、これを化合物の相対電位の測定に使用した。

【０１５４】

３．メタボトロピック受容体リガンド結合測定法

ｍＧｌｕＲ５ａ３またはｐＵＣ１９（陰性対照）で一時的にトランスフェクションしたＨＥＫ細胞を、[^{3}Ｈ]－グルタミン酸結合について解析した。陽性対照として結合測定法にラット脳の膜を加えた。

【０１５５】

ａ．膜の調製

ｉ．ラット前脳膜

シェープ（Schoepp）ら［（１９９２）Neurosci. Lett. １４５：１００］が記載したように、ラット前脳膜を調製した。簡単に説明すると、１０個のラット脳からの基本的に脳皮質、線条体と海馬よりなる前脳を、２．５ｍＭ ＣａＣｌ$_2$、ｐＨ７．６を含有する５０部の３０ｍＭの氷冷トリス－塩酸中で、ポリトロン（Polytron）（ブリンクマン（Brinkman）、ウェストベリー（Westbury）、ニューヨーク州））を用いてホモゲナイズした。ホモゲネートを４℃で３０、０００×ｇで１５分間遠心分離した。上澄液を捨て、ポリトロンを用いてペレットを５０部の緩衝液に再懸濁し、懸濁物を３０、０００×ｇで１５分間遠心分離した。この工程を２回繰り返した。ペレットを緩衝液に再懸濁し、３７℃で３０分間インキュベートした。次に懸濁物を４℃で３０、０００×ｇで１５分間遠心分離した。この工程を３回繰り返した。最終ペレットを１５部の５０ｍＭ トリス－塩酸、ｐＨ７．６に再懸濁し、分注し、急速に凍結し、－７０℃で保存した。

【０１５６】

ii．トランスフェクションしたＨＥＫ２９３細胞およびトランスフェクションしないＨＥＫ２９３細胞の膜

ｍＧｌｕＲ５ａをコードするＤＮＡまたはｐＵＣ１９（陰性対照）でトランスフェクションしたＨＥＫ２９３細胞から膜を調製するために、組織培養プレートから細胞を掻き取り、プレートを５mlのＰＢＳ（リン酸緩衝化生理食塩水：１３７ｍＭ ＮａＣｌ、２．７ｍＭ ＫＣｌ、１０ｍＭ Na_2HPO_4、１．７ｍＭ KH_2PO_4）で洗浄した。卓上型遠心分離機で細胞を低速度で遠心分離し、細胞ペレットをＰＢＳで洗浄した。０．５ｍＭ ＰＭＳＦ、ｐＨ７．６を含有する５０ｍＭトリス－塩酸２０部に、細胞ペレットを再懸濁した。ダウンス（Dounce）（テフロン（登録商標）／ガラス）ホモゲナイザー中で１０－２０ストロークを用いて、細胞を氷の上でホモゲナイズした。ホモゲネートを４℃で１２０、０００×ｇで３０分間遠心分離した。最終の膜ペレットを、０．５ｍＭ ＰＭＳＦ、ｐＨ７．６を含有する５０ｍＭトリス－塩酸再懸濁した。膜調製物を分注し、急速に凍結し、－７０１℃で保存した。蛋白濃度は、ブラッドフォード（Bradford）［（１９７６）Anal. Biochem. ７２：２４８］の方法で測定した。

【０１５７】

ｂ．[^{3}Ｈ]－グルタミン酸結合測定法

ラット前脳の膜中のメタボトロピック受容体への[^{3}Ｈ]－グルタミン酸の特異的結合は、基本的にシェープ（Schoepp）ら（前述）が記載したように調製した。測定の日に凍結ホモゲネートを融解し、５０ｍＭトリス－塩酸、ｐＨ７．６で３回洗浄した。最終ペレットを５０ｍＭトリス－塩酸、ｐＨ７．６に再懸濁した。蛋白濃度は、ブラッドフォード（Bradford）［（１９７６）Anal. Biochem.７２：２４８］の方法で測定した。懸濁物を３０、０００×ｇで１５分間遠心分離し、ペレットを１mg／mlの濃度で測定緩衝液（５０ｍＭトリス－塩酸、０．５ｍＭ ＰＭＳＦ、０．１％ＢＳＡ、ｐＨ７．６）に再懸濁した。膜懸濁物を、総量０．５mlの測定緩衝液［イオノトロピックグルタミン酸受容体への[^{3}Ｈ]－グルタミン酸の結合を組織するために、１００μＭ ＮＭＤＡ（シグマ（Sigma）、セントルイス、ミズーリ州）、１００μＭ ＡＭＰＡおよび１００μＭカイニン酸（リサーチ・バイオケ

ミカルズ社（Research Biochemiclas Inc）、ナチック（Natick）、マサチューセッツ州）を含有し、塩化物依存性摂取部位への[^{3}H]－グルタミン酸の結合を阻害するために、１００μＭ ＳＩＴＳ（シグマ（Sigma）、セントルイス、ミズーリ州）を含有する]中で、３重測定で１０または１００nMの[^{3}H]－グルタミン酸（ニュー・イングランド・ニュクレア（New England Nuclear）、ボストン、マサチューセッツ州；カタログ番号ＮＥＴ－４９０、比活性＝５７．４Ci／mmol）と、氷上で４５分間インキュベートした。ＳＭ－２４ローター（ソーバル（Sorvall）、ウィルミントン（Wilmington）、デラウェア（Delaware））中で４℃で２０、０００×ｇで５分間遠心分離して、結合した放射能を遊離の放射能から分離した。ペレットを５－６mlの氷冷５０mMトリス－塩酸、pH７．６で２回洗浄した。ペレットを５mlのエコルメシンチレーションカクテル（Ecolume scintillation cocktail）中でボルテックス混合して可溶化させた。ベックマン（Beckman）シンチレーション計測機で放射能を測定した。総結合量から、１mMのグルタミン酸の存在下で得られた非特異的結合量を引いて、特異的結合量を求めた。

【０１５８】

ｍＧｌｕＲ５ａをコードするＤＮＡまたはｐＵＣ１９でトランスフェクションしたＨＥＫ２９３細胞から調製した膜への[^{3}H]－グルタミン酸の特異的結合を、基本的にラット脳の膜への結合の測定で記載したように測定したが、若干の修飾を行なった。測定の日に凍結ホモゲネートを融解し、ＭＲ－１５０高速冷却マイクロ遠心分離機（ペニンスラ・ラボラトリーズ社（Peninsula Laboratories Inc.）、ベルモント（Belmont）、カリホルニア州）で遠心分離した。ペレットを測定緩衝液（５０mMトリス－塩酸、０．５mM ＰＭＳＦ、０．１％ＢＳＡ、pH７．６）で２回洗浄し、最終ペレットを１mg／mlの濃度で測定緩衝液に再懸濁した。ＮＭＤＡ、ＡＭＰＡおよびカイニン酸を測定混合物から除きながら、ＨＥＫ２９３細胞を[^{3}H]－グルタミン酸への結合について解析した。

【０１５９】

２００μgの膜と１００nMの[^{3}H]－グルタミン酸を用いて、ラット脳の膜への[^{3}H]－グルタミン酸の特異的結合を測定した。総結合量対非特異結合量の比は約２：１であった。

【０１６０】

ｍＧｌｕＲ５ａ３またはｐＵＣ１９でトランスフェクションしたＨＥＫ２９３細胞から調製した膜への[^{3}H]－グルタミン酸の特異的結合を、２００μgの膜と１００nMの[^{3}H]－グルタミン酸を用いて測定した。ｍＧｌｕＲ５ａ３でトランスフェクションしたＨＥＫ２９３細胞から調製した膜への特異的結合量は、ｐＵＣ１９でトランスフェクションしたＨＥＫ２９３細胞から調製した膜への結合量より有意に高かった。競合結合試験を行い、種々の濃度の非標識グルタミン酸の存在下でｍＧｌｕＲ５ａ３でトランスフェクションしたＨＥＫ２９３細胞から調製した膜への[^{3}H]－グルタミン酸の特異的結合の量を測定した。これらの試験で得られたデータからIC_{50}値を求めた。

【０１６１】

４．サイクリックＡＭＰ（ｃＡＭＰ）測定

ａ．ＲＩＡベースの測定

ある種のＧ蛋白結合受容体の活性化は、ｃＡＭＰの（増加ではなく）低下を引き起こすため、細胞内ｃＡＭＰレベルの測定法は、哺乳動物宿主細胞中で発現される組換えヒトメタボトロピック受容体を評価するのに使用される。ヒトメタボトロピック受容体をコードするＤＮＡまたはｐＵＣ１９（陰性対照）で一時的にまたは安定にトランスフェクションした哺乳動物細胞を、5×10^5細胞／ウェルの濃度で２４ウェルのマイクロタイタープレートに広げ、一晩インキュベートさせる。翌日、ニコンダイアフォト（Nikon Diaphot）倒立顕微鏡下で細胞を観察し、細胞の形態の健常性を評価し、ウェルはコンフルエントな細胞層を含有するか否かを測定した。次に培地を吸引し、細胞を、１mMのＩＢＭＸ（３－イソブチル－１－メチルキサンチン；シグマ（Sigma）、セントルイス、ミズーリ州）と０．１％ＢＳＡを含有するクレブス重炭酸緩衝液０．５ml（ＰＩ加水分解測定法で使用したものと同じ緩衝液：実施例３．Ｃ．２を参照）で２回洗浄した。あるいはクレブス重

炭酸緩衝液の代わりに１×ＰＢＳを使用することもできる。各洗浄の後に３７℃で３０分間インキュベートを行う。各ウェルから緩衝液を吸引し、次に細胞を、１mMのＩＢＭＸと０．１％ＢＳＡを含有する０．２mlのクレブス重炭酸緩衝液で３７℃で２０分間インキュベートする。

【０１６２】

メタボトロピック受容体調節化合物による細胞の処理を始める前に、５０μlのクレブス重炭酸緩衝液（最終濃度の５×のフォルスコリンの有りまたは無し）を、一部の細胞（基礎対照）に加え、一部の細胞（試験細胞）に最小濃度の５×の化合物および最終濃度の５×のフォルスコリンを加え、３７℃で１５分間インキュベートする。１５分間のインキュベートの最後に、１％トリトンＸ－１００溶液２５μlを加えて反応を停止させ、インキュベートをさらに１０分間続ける。溶解した細胞および細胞懸濁物を、プラスチックピペットのチップで１２×７５mmのポリプロピレン試験管に移す。各ウェルを、１mMのＩＢＭＸと０．１％ＢＳＡを含有するクレブス重炭酸緩衝液７５μlで洗浄する。洗浄物を細胞溶解物を一緒にする。細胞溶解懸濁物を２３００×ｇで５分間遠心分離し、ＲＩＡキット（アマーシャム・ライフサイエンシーズ（Amersham Life Sciences）カタログ＃ＴＲＫ４３２；アーリントンハイツ（Arlington Heights）、イリノイ州）を用いて、上澄液のｃＡＭＰレベルを測定する。

【０１６３】

ｂ．サイクリックヌクレオチドゲートのチャネルに基づく測定法

５％の規定補足ウシ血清（ハイクローン（Hyclone））を含有するダルベッコー改変イーグル培地（ＤＭＥＭ；ギブコ（ＧＩＢＣＯ））（１００Ｕ／mlのペニシリンと１００μg／mlの硫酸ストレプトマイシンを含む）中で、ＨＥＫ２９３細胞を単層で増殖させた（１０cmのポリ－Ｄ－リジン被覆プレート当たり約2×10^{6}細胞）。ＣＭＶプロモーターに結合した５μgのｐＣＭＶ－ＯＣＮＡ（嗅覚性サイクリックヌクレオチドゲートのチャネル（ダレン（Dhallen）らを参照、前述）、２μgのｐＣＭＶ－βｇａｌ（クロンテック（Clontech）、パロアルト（Palo Alto）、カリホルニア州）、および対照プラスミドとしての１３μgのｐＵＣ１９を用いて、細胞をリン酸カルシウム法（アウスベル（Ausubel）ら、前述、pp9．１．１－９．１．７）で一時的にトランスフェクションした。ベクターｐＣＭＶ－ＯＣＮＡは、ｐＢｌｕｅｓｃｒｉｐｔＫＳからの約３．０kbのＥｃｏＲＩ断片として嗅覚性サイクリックヌクレオチドゲートのチャネルをコードするＤＮＡを単離し、得られた断片をＥｃｏＲＩ消化ｐＣＭＶ－Ｔ７－３に結合させることにより、作成した。トランスフェクションの６時間後、リン酸カルシウム沈殿物を洗い流し、１０％透析胎児牛血清（ハイクローン（Hyclone））、１００Ｕ／mlのペニシリン、１００μg／mlのストレプトマイシン、および２mMグルタミンが補足されたＤＭＥＭを細胞に与えた。β－ガラクトシダーゼ活性の測定によるトランスフェクション効率は、５０－７０％であった。

【０１６４】

嗅覚性サイクリックヌクレオチドゲートのチャネルＤＮＡでトランスフェクションしたＨＥＫ細胞を、２４－４８時間インキュベートしてから、機能を試験した。まず、細胞質の面に達するｃＡＭＰの濃度が調節できるように（例えば、単一チャネル記録（Single Channel Recording）、サクマンとネヘル（Sakman and Neher）編、プレヌム・プレス（Plenum Press）、ニューヨーク、（１９８３））、トランスフェクションした細胞から引っ張った裏返した膜パッチを用いて、電気生理学的にチャネルの活性を測定した。パッチの両面を、Ca^{++}／Mg^{++}を含まないリンゲル液に接触させた。１つのパッチでは、１mMのｃＡＭＰの存在下で膜電位を－１００から＋１００mVへ２秒で勾配をつけて電流を発生させた。この結果は、チャネルが機能的に発現されていることを示唆していた。

【０１６５】

トランスフェクション体もまた、細胞内カルシウムレベル（$[Ca^{++}]$）の単細胞ビデオイメージングにより解析した。この方法は、細胞内カルシウムレベルの測定（これはチャネルのサイクリックヌクレオチド活性化により制御される、チャネルを介するカルシウムの流入量とともに変化する）によるサイクリックヌクレオチドゲートのチャネルの分

析を可能にする。イメジーング測定法は、基本的に実施例３．Ｃ．１．ｂに記載のように実施したが、若干の修飾を行なった。色素を充填後、細胞をツァイスアクシオヴェルト（Zeiss Axiovert）顕微鏡と１００Ｗの水銀ランプ、デージ（Dage）増強ＣＣＤカメラ、そしてイメージ－１（Image－１）ハードウェアとイメージ処理のソフトウェアを用いて観察した。このソフトウェアは、２０×１．３Ｎ．Ａ．油浸対物レンズを介して細胞を３５０nmと３８５nmの交互励起を調節した（典型的には５秒毎）。５１０nmより長い波長で出る光を、ＣＣＤカメラにより集め、デジタル化し、３５０nmと３８５nmの励起イメージからバックグランドの発光を差し引いた後、３５０／３８５強度比を計算した。

【０１６６】

定量的解析のために、実験の各比率イメージについてソフトウェアにより各細胞の１２×１２ピクセル領域内の３５０／３８５平均比を計算し、さらに解析しグラフを描くために表に取り込んだ。フラ－２シグナルを未変性の細胞で較正し、細胞をリンゲル液（１０μMイオノマイシン、１０mM ＥＧＴＡを含有し、およびCa^{++}の添加無し）に接触させてR_{min}を得た。次に細胞をリンゲル液（１０μMイオノマイシン、１０mM Ca^{++}を含有する）に接触させて３回洗浄してR_{max}を得た。生きている細胞中のフラ－２のK_d ２５０nMとグリンキーウイックツ（Grynkiewicz）ら（J. Biol. Chem.２６０：３４４０（１９８５））を使用して、静止$[Ca^{++}]_i$は典型的には１００nMであった。

【０１６７】

これらの実験で、細胞内ｃＡＭＰレベルを上昇させる物質にＨＥＫ２９３細胞トランスフェクション体を暴露し、以後の$[Ca^{++}]_i$の変化を追跡した。１００μMのフォルスコリン（アデニルシクラーゼのアクチベータ）の添加に応答して、６４個の細胞の平均した結果と各細胞で、$[Ca^{++}]_i$にわずかな増加が見られた。１mMのＩＢＭＸ（ｃＡＭＰホスホジエステラーゼの阻害剤）の添加後、さらに有意な増加が見られた。対照実験では、６４個の非トランスフェクションＨＥＫ２９３細胞中の１つのみが、細胞内ｃＡＭＰレベルの上昇に対応して、$[Ca^{++}]_i$の増加を示した。この応答は一時的であり、サイクリックヌクレオチドゲートのチャネルＤＮＡでトランスフェクションしたＨＥＫ２９３細胞中で見られた持続性応答とは明らかに異なっていた。

【０１６８】

これらの結果は、サイクリックヌクレオチドゲートのチャネルを発現するＨＥＫ細胞は、活性化された時細胞内サイクリックヌクレオチドレベルに変化を引き起こす受容体（例えば、メタボトロピック受容体）の測定において宿主細胞として使用できることを証明している。

【０１６９】

５．ノーザンブロットハイブリダイゼーション解析

ヒトメタボトロピック受容体をコードするＤＮＡでトランスフェクションした細胞はまた、ノーザンブロット解析により対応する転写体の発現について解析することができる。ヒトメタボトロピック受容体をコードするＤＮＡでトランスフェクションした約1×10^7個の細胞から総ＲＮＡを単離し、１０－１５μgのＲＮＡをノーザンハイブリダイゼーション解析に使用した。ヒトメタボトロピック受容体をコードするプラスミドからの挿入体をニックトランスレーションし、プローブとして使用した。ノーザンブロットハイブリダイゼーションの典型的な条件は以下の通りである：

ハイブリダイゼーションは、４２℃で５×ＳＳＰＥ、５×デンハルツ（Denhart's）溶液、５０％ホルムアルミド中で行ない、洗浄は６５℃で０．２×ＳＳＰＥと０．１％ＳＤＳ中で行なった。

【０１７０】

本発明をいくつかの好適な実施態様を参照して詳細に説明したが、ここに記載され特許請求のされている本発明の精神と範囲を逸脱することなくその修飾や変更が可能であることが理解されるであろう。

【０１７１】

（配列の要約）

配列番号１は、本発明のメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプ（ｍＧｌｕＲ１Ｂ）をコードするＤＮＡの核酸配列（およびその推定アミノ酸配列）である。
配列番号２は、配列番号１のヌクレオチド配列の推定アミノ酸配列である。
配列番号３は、ヒトｍＧｌｕＲ２受容体サブタイプの一部をコードする部分クローンのヌクレオチド配列（および推定アミノ酸配列）である。
配列番号４は、配列番号３のヌクレオチド配列によりコードされるヒトｍＧｌｕＲ２受容体サブタイプの一部のアミノ酸配列である。
配列番号５は、本発明のメタボトロピックグルタミン酸受容体サブタイプ（ｍＧｌｕＲ３）をコードするＤＮＡの核酸配列（および推定アミノ酸配列）である。
配列番号６は、配列番号５のヌクレオチド配列の推定アミノ酸配列である。
配列番号７は、本発明のメタボトロピックグルタミン酸受容体（ｍＧｌｕＲ５ａ１）をコードするＤＮＡの核酸配列（および推定アミノ酸配列）である。
配列番号８は、配列番号７のヌクレオチド配列の推定アミノ酸配列である。
配列番号９は、本発明のｍＧｌｕＲ５変種メタボトロピックグルタミン酸受容体（ｍＧｌｕＲ５ｂ）をコードするＤＮＡの核酸配列（および推定アミノ酸配列）である。
配列番号１０は、配列番号９のヌクレオチド配列の推定アミノ酸配列である。
配列番号１１は、本発明のｍＧｌｕＲ５変種メタボトロピックグルタミン酸受容体（ｍＧｌｕＲ５ｃ）をコードするＤＮＡの核酸配列（および推定アミノ酸配列）である。
配列番号１２は、配列番号１１のヌクレオチド配列の推定アミノ酸配列である。
配列番号１３は、ヒトｍＧｌｕＲ２受容体サブタイプの３’非翻訳配列の３４３ヌクレオチドである。

【０１７２】

（配列表）
（１）一般情報：
（i） 出願人：ダゲット，ロリー（Daggett, Lorrie）
エリス，スティーブン・ビー（Ellis, Steven B.）
ルー，チェン（Lu, Chen）
ポンツラー，アーロン（Pontsler, Aaron）
ジョンソン，エドウィン・シー（Johnson, Edwin C.）
ヘス，ステファン・ディー（Hess, Stephen D.）
（ii）発明の名称：ヒトメタボトロピックグルタミン酸受容体、これをコードする核酸およびその用途
（iii）配列の数：１３
（iv）連絡住所：
（Ａ）宛名：プリティー、シュレーダー、ブルーゲマンおよびクラーク（Pretty, Schroeder, Brueggemann & Clark）
（Ｂ）通り：４４４サウス・フラワー通り、スイート２０００（444 South Flower Street, Suite 2000 ）
（Ｃ）市：ロサンゼルス
（Ｄ）州：カリホルニア
（Ｅ）国：米国
（Ｆ）郵便番号：９００７１
（v） コンピューターで読める形式：
（Ａ）媒体の型：フロッピー（登録商標）ディスク
（Ｂ）コンピューター：ＩＢＭ ＰＣコンパチブル
（Ｃ）オペレーティング・システム：ＰＣ－ＤＯＳ／ＭＳ－ＤＯＳ
（Ｄ）ソフトウェア：パテントイン・リリース＃１．０（PatentIn Release #1.0）、バージョン＃１．２５
（vi）現行出願のデータ：
（Ａ）出願番号：

（Ｂ）出願日：１９９４年６月２日
（Ｃ）分類：
(vii) 先行出願のデータ：
（Ａ）出願番号：ＵＳ０８／０７２、５７４
（Ｂ）出願日：１９９３年６月４日
(viii) 弁理士／代理人情報：
（Ａ）氏名：ライター，ステファン・イー（Reiter, Stephen E.）
（Ｂ）登録番号：３１，１９２
（Ｃ）参照／整理番号：ＦＰ４１　９７７２
(ix) 電話連絡先情報：
（Ａ）電話：６１９－５４６－４７３７
（Ｂ）ファックス：６１９－５４６－９３９２
（２）配列番号：１の情報：
(i)　配列の特色：
（Ａ）長さ：３３２１塩基対
（Ｂ）型：核酸
（Ｃ）鎖の数：両形態
（Ｄ）トポロジー：両形態
(ii) 分子の型：ｃＤＮＡ
(ix) 配列の特徴：
（Ａ）名称／記号：ＣＤＳ
（Ｂ）存在位置：３８８．．３１０８
（Ｄ）他の情報：／生成物＝“ヒトｍＧｌｕＲ１Ｂ”
(xi) 配列：配列番号：１：

```
GCCGAGCGTG GCCACGGYCC TCTGGCCCCG GGACCATAGC GCTGTCTACC CCGACTCAGG    60

TACTCAGCAT CTAGCTCACC GCTGCCAACA CGACTTCCAC TGTACTCTTG ATCAATTTAC   120

CTTGATGCAC TACCGGTGAA GAACGGGGAC TCGAATTCCC TTACAAACGC CTCCAGCTTG   180

TAGAGGCGGT CGTGGAGGAC CCAGAGGAGG AGACGAAGGG GAAGGAGGCG GTGGTGGAGG   240

AGGCAAAGGC CTTGGACGAC CATTGTTGGC GAGGGGCACC ACTCCGGGAG AGGCGGCGCT   300

GGGCGTCTTG GGGGTGCGCG CCGGGAGCCT GCAGCGGGAC CAGCGTGGGA ACGCGGCTGG   360

CAGGCTGTGG ACCTCGTCCT CACCACC ATG GTC GGG CTC CTT TTG TTT TTT        411
                               Met Val Gly Leu Leu Leu Phe Phe
                                 1               5

TTC CCA GCG ATC TTT TTG GAG GTG TCC GTT CTC CCC AGA AGC CCC GGC      459
Phe Pro Ala Ile Phe Leu Glu Val Ser Leu Leu Pro Arg Ser Pro Gly
     10                  15                  20

AGG AAA GTG TTG CTG GCA GGA GCG TCG TCT CAG CGC TCG GTG GCC AGA      507
Arg Lys Val Leu Leu Ala Gly Ala Ser Ser Gln Arg Ser Val Ala Arg
 25                  30                  35                  40

ATC GAC GGA GAT GTC ATC ATT GGA GCC CTC TTC TCA GTC CAT CAC CAG      555
Met Asp Gly Asp Val Ile Ile Gly Ala Leu Phe Ser Val His His Gln
                 45                  50                  55

CCT CCG GCC GAG AAA GTG CCC GAG AGG AAG TGT GGG GAG ATC AGG GAG      603
Pro Pro Ala Glu Lys Val Pro Glu Arg Lys Cys Gly Glu Ile Arg Glu
            60                  65                  70

CAG TAT GGC ATC CAG AGG GTG GAG GCC ATG TTC CAC ACG TTG GAT AAG      651
Gln Tyr Gly Ile Gln Arg Val Glu Ala Met Phe His Thr Leu Asp Lys
        75                  80                  85

ATC AAC GCG GAC CCG GTC CTC CTG CCC AAC ATC ACC CTG GGC AGT GAG      699
Ile Asn Ala Asp Pro Val Leu Leu Pro Asn Ile Thr Leu Gly Ser Glu
    90                  95                  100

ATC CGG GAC TCC TGC TGG CAC TCT TCC GTG GCT CTG GAA CAG AGC ATT      747
Ile Arg Asp Ser Cys Trp His Ser Ser Val Ala Leu Glu Gln Ser Ile
105                 110                 115                 120

GAG TTC ATT AGC GAC TCT CTG ATT TCC ATT CGA GAT GAG AAG GAT GGG      795
Glu Phe Ile Arg Asp Ser Leu Ile Ser Ile Arg Asp Glu Lys Asp Gly
                125                 130                 135

ATC AAC CGG TGT CTG CCT GAC GGC CAG TCC CTC CCC CCA GGC AGG ACT      843
Ile Asn Arg Cys Leu Pro Asp Gly Gln Ser Leu Pro Pro Gly Arg Thr
            140                 145                 150
```

```
AAG AAG CCC ATT GCG GGA GTG ATC GGT CCC GGC TCC AGC TCT GTA GCC      891
Lys Lys Pro Ile Ala Gly Val Ile Gly Pro Gly Ser Ser Ser Val Ala
        155                 160                 165

ATT CAA GTG CAG AAC CTG CTC CAG CTC TTC GAC ATC CCC CAG ATC GCT      939
Ile Gln Val Gln Asn Leu Leu Gln Leu Phe Asp Ile Pro Gln Ile Ala
    170                 175                 180

TAT TCA GCC ACA AGC ATC GAC CTG AGT GAC AAA ACT TTG TAC AAA TAC      987
Tyr Ser Ala Thr Ser Ile Asp Leu Ser Asp Lys Thr Leu Tyr Lys Tyr
185                 190                 195                 200

TTC CTG AGG GTT GTC CCT TCT GAC ACT TTG CAG GCA AGG GCC ATG CTT     1035
Phe Leu Arg Val Val Pro Ser Asp Thr Leu Gln Ala Arg Ala Met Leu
                205                 210                 215

GAC ATA GTC AAA CGT TAC AAT TGG ACC TAT GTC TCT GCA GTC CAC ACG     1083
Asp Ile Val Lys Arg Tyr Asn Trp Thr Tyr Val Ser Ala Val His Thr
            220                 225                 230

GAA GGG AAT TAT GGG GAG AGC GGA ATG GAC GCT TTC AAA GAG CTG GCT     1131
Glu Gly Asn Tyr Gly Glu Ser Gly Met Asp Ala Phe Lys Glu Leu Ala
        235                 240                 245

GCC CAG GAA GGC CTC TGT ATC GCC CAT TCT GAC AAA ATC TAC AGC AAC     1179
Ala Gln Glu Gly Leu Cys Ile Ala His Ser Asp Lys Ile Tyr Ser Asn
    250                 255                 260

GCT GGG GAG AAG AGC TTT GAC CGA CTC TTG CGC AAA CTC CGA GAG AGG     1227
Ala Gly Glu Lys Ser Phe Asp Arg Leu Leu Arg Lys Leu Arg Glu Arg
265                 270                 275                 280

CTT CCC AAG GCT AGA GTG GTG GTC TGC TTC TGT GAA GGC ATG ACA GTG     1275
Leu Pro Lys Ala Arg Val Val Val Cys Phe Cys Glu Gly Met Thr Val
                285                 290                 295

CGA GGA CTC CTG AGC GCC ATG CGG CGC CTT GGC GTC GTG GGC GAG TTC     1323
Arg Gly Leu Leu Ser Ala Met Arg Arg Leu Gly Val Val Gly Glu Phe
            300                 305                 310

TCA CTC ATT GGA AGT GAT GGA TGG GCA GAC AGA GAT GAA GTC ATT GAA     1371
Ser Leu Ile Gly Ser Asp Gly Trp Ala Asp Arg Asp Glu Val Ile Glu
        315                 320                 325

GGT TAT GAG GTG GAA GCC AAC GGG GGA ATC ACG ATA AAG CTG CAG TCT     1419
Gly Tyr Glu Val Glu Ala Asn Gly Gly Ile Thr Ile Lys Leu Gln Ser
    330                 335                 340

CCA GAG GTC AGG TCA TTT GAT GAT TAT TTC CTG AAA CTG AGG CTG GAC     1467
Pro Glu Val Arg Ser Phe Asp Asp Tyr Phe Leu Lys Leu Arg Leu Asp
345                 350                 355                 360

ACT AAC ACG AGG AAT CCC TGG TTC CCT GAG TTC TGG CAA CAT CGG TTC     1515
Thr Asn Thr Arg Asn Pro Trp Phe Pro Glu Phe Trp Gln His Arg Phe
                365                 370                 375

CAG TGC CGC CTT CCA GGA CAC CTT CTG GAA AAT CCC AAC TTT AAA CGA     1563
Gln Cys Arg Leu Pro Gly His Leu Leu Glu Asn Pro Asn Phe Lys Arg
            380                 385                 390

ATC TGC ACA GGC AAT GAA AGC TTA GAA GAA AAC TAT GTC CAG GAC AGT     1611
Ile Cys Thr Gly Asn Glu Ser Leu Glu Glu Asn Tyr Val Gln Asp Ser
        395                 400                 405
```

```
AAG ATG GGG TTT GTC ATC AAT GCC ATC TAT GCC ATG GCA CAT GGG CTG    1659
Lys Met Gly Phe Val Ile Asn Ala Ile Tyr Ala Met Ala His Gly Leu
    410                 415                 420

CAG AAC ATG CAC CAT GCC CTC TGC CCT GGC CAC GTG GGC CTC TGC GAT    1707
Gln Asn Met His His Ala Leu Cys Pro Gly His Val Gly Leu Cys Asp
425                 430                 435                 440

GCC ATG AAG CCC ATC GAC GGC AGC AAG CTG CTG GAC TTC CTC ATC AAG    1755
Ala Met Lys Pro Ile Asp Gly Ser Lys Leu Leu Asp Phe Leu Ile Lys
                445                 450                 455

TCC TCA TTC ATT GGA GTA TCT GGA GAC GAG GTG TGG TTT GAT GAG AAA    1803
Ser Ser Phe Ile Gly Val Ser Gly Glu Glu Val Trp Phe Asp Glu Lys
            460                 465                 470

GGA GAC GCT CCT GGA AGG TAT GAT ATC ATG AAT CTG CAG TAC ACT GAA    1851
Gly Asp Ala Pro Gly Arg Tyr Asp Ile Met Asn Leu Gln Tyr Thr Glu
        475                 480                 485

GCT AAT CGC TAT GAC TAT GTG CAC GTT GGA ACC TGG CAT GAA GGA GTG    1899
Ala Asn Arg Tyr Asp Tyr Val His Val Gly Thr Trp His Glu Gly Val
    490                 495                 500

CTG AAC ATT GAT GAT TAC AAA ATC CAG ATG AAC AAG AGT GGA GTG GTG    1947
Leu Asn Ile Asp Asp Tyr Lys Ile Gln Met Asn Lys Ser Gly Val Val
505                 510                 515                 520

CGG TCT GTG TGC AGT GAG CCT TGC TTA AAG GGC CAG ATT AAG GTT ATA    1995
Arg Ser Val Cys Ser Glu Pro Cys Leu Lys Gly Gln Ile Lys Val Ile
                525                 530                 535

CGG AAA GGA GAA GTG AGC TGC TGC TGG ATT TGC GCG GCC TGC AAA GAG    2043
Arg Lys Gly Glu Val Ser Cys Cys Trp Ile Cys Ala Ala Cys Lys Glu
            540                 545                 550

AAT GAA TAT GTG CAA GAT GAG TTC ACC TGC AAA GCT TGT GAC TTG GGA    2091
Asn Glu Tyr Val Gln Asp Glu Phe Thr Cys Lys Ala Cys Asp Leu Gly
        555                 560                 565

TGG TGG CCC AAT GCA GAT CTA ACA GGC TGT GAG CCC ATT CCT GTG CGC    2139
Trp Trp Pro Asn Ala Asp Leu Thr Gly Cys Glu Pro Ile Pro Val Arg
    570                 575                 580

TAT CTT GAG TGG AGC AAC ATC GAA TCC ATT ATA GCC ATC GCC TTT TCA    2187
Tyr Leu Glu Trp Ser Asn Ile Glu Ser Ile Ile Ala Ile Ala Phe Ser
585                 590                 595                 600

TGC CTG GGA ATC CTT GTT ACC TTG TTT GTC ACC CTA ATC TTT GTA CTG    2235
Cys Leu Gly Ile Leu Val Thr Leu Phe Val Thr Leu Ile Phe Val Leu
                605                 610                 615

TAC CGG GAC ACA CCA GTG GTC AAA TCC TCC AGT CGG GAG CTC TGC TAC    2283
Tyr Arg Asp Thr Pro Val Val Lys Ser Ser Ser Arg Glu Leu Cys Tyr
            620                 625                 630

ATC ATC CTA GCT GGC ATC TTC CTT GGT TAT GTG TGC CCA TTC ACT CTC    2331
Ile Ile Leu Ala Gly Ile Phe Leu Gly Tyr Val Cys Pro Phe Thr Leu
        635                 640                 645

ATT GCC AAA CCT ACT ACC ACC TCC TGC TAC CTC CAG CGC CTC TTG GTT    2379
Ile Ala Lys Pro Thr Thr Thr Ser Cys Tyr Leu Gln Arg Leu Leu Val
    650                 655                 660
```

```
GGC CTC TCC TCT GCG ATG TGC TAC TCT GCT TTA GTG ACT AAA ACC AAT     2427
Gly Leu Ser Ser Ala Met Cys Tyr Ser Ala Leu Val Thr Lys Thr Asn
665                 670                 675                 680

CGT ATT GCA CGC ATC CTG GCT GGC AGC AAG AAG AAG ATC TGC ACC CGG     2475
Arg Ile Ala Arg Ile Leu Ala Gly Ser Lys Lys Lys Ile Cys Thr Arg
                685                 690                 695

AAG CCC AGG TTC ATG AGT GCC TGG GCT CAG GTG ATC ATT GCC TCA ATT     2523
Lys Pro Arg Phe Met Ser Ala Trp Ala Gln Val Ile Ile Ala Ser Ile
            700                 705                 710

CTG ATT AGT GTG CAA CTA ACC CTG GTG GTA ACC CTG ATC ATC ATG GAA     2571
Leu Ile Ser Val Gln Leu Thr Leu Val Val Thr Leu Ile Ile Met Glu
        715                 720                 725

CCC CCT ATG CCC ATT CTG TCC TAC CCA AGT ATC AAG GAA GTC TAC CTT     2619
Pro Pro Met Pro Ile Leu Ser Tyr Pro Ser Ile Lys Glu Val Tyr Leu
    730                 735                 740

ATC TGC AAT ACC AGC AAC CTG GGT GTG GTG GCC CCT TTG GGC TAC AAT     2667
Ile Cys Asn Thr Ser Asn Leu Gly Val Val Ala Pro Leu Gly Tyr Asn
745                 750                 755                 760

GGA CTC CTC ATC ATG AGC TGT ACC TAC TAT GCC TTC AAG ACC CGC AAC     2715
Gly Leu Leu Ile Met Ser Cys Thr Tyr Tyr Ala Phe Lys Thr Arg Asn
                765                 770                 775

GTG CCC GCC AAC TTC AAC GAG GCC AAA TAT ATC GCG TTC ACC ATG TAC     2763
Val Pro Ala Asn Phe Asn Glu Ala Lys Tyr Ile Ala Phe Thr Met Tyr
            780                 785                 790

ACC ACC TGT ATC ATC TGG CTA GCT TTT GTG CCC ATT TAC TTT GGG AGC     2811
Thr Thr Cys Ile Ile Trp Leu Ala Phe Val Pro Ile Tyr Phe Gly Ser
        795                 800                 805

AAC TAC AAG ATC ATC ACA ACT TGC TTT GCA GTG AGT CTC AGT GTA ACA     2859
Asn Tyr Lys Ile Ile Thr Thr Cys Phe Ala Val Ser Leu Ser Val Thr
    810                 815                 820

GTG GCT CTG GGG TGC ATG TTC ACT CCC AAG ATG TAC ATC ATT ATT GCC     2907
Val Ala Leu Gly Cys Met Phe Thr Pro Lys Met Tyr Ile Ile Ile Ala
825                 830                 835                 840

AAG CCT GAG AGG AAT GTC CGC AGT GCC TTC ACC ACC TCT GAT GTT GTC     2955
Lys Pro Glu Arg Asn Val Arg Ser Ala Phe Thr Thr Ser Asp Val Val
                845                 850                 855

CGC ATG CAT GTT GGC GAT GGC AAG CTG CCC TGC CGC TCC AAC ACT TTC     3003
Arg Met His Val Gly Asp Gly Lys Leu Pro Cys Arg Ser Asn Thr Phe
            860                 865                 870

CTC AAC ATC TTC CGA AGA AAG AAG GCA GGG GCA GGG AAT GCC AAG AAG     3051
Leu Asn Ile Phe Arg Arg Lys Lys Ala Gly Ala Gly Asn Ala Lys Lys
        875                 880                 885

AGG CAG CCA GAA TTC TCG CCC ACC AGC CAA TGT CCG TCG GCA CAT GTG     3099
Arg Gln Pro Glu Phe Ser Pro Thr Ser Gln Cys Pro Ser Ala His Val
    890                 895                 900

CAG CTT TGAAAACCCC CACACTGCAG TGAATGTTTC TAATGGCAAG TCTGTGTCAT     3155
Gln Leu
905

GGTCTGAACC AGGTGGAGGA CAGGTGCCCA ACGGACAGCA TATGTGGCAC CGCCTCTCTG  3215

TGCACGTGAA GACCAATGAG ACGGCCTGCA ACCAAACAGC CGTCATCAAA CCCCTCACTA  3275

AAAGTTACCA AGGCTCTGGC AAGAGCCTGA CCTTTTCAGA TACCAG                 3321
```

【０１７３】

（２）配列番号：２の情報：

（ｉ）　配列の特色：

（Ａ）長さ：９０６アミノ酸

（Ｂ）型：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ii）分子の型：蛋白

（xi）配列：配列番号：２：

```
Met Val Gly Leu Leu Leu Phe Phe Phe Pro Ala Ile Phe Leu Glu Val
 1               5                  10                  15

Ser Leu Leu Pro Arg Ser Pro Gly Arg Lys Val Leu Leu Ala Gly Ala
            20                  25                  30

Ser Ser Gln Arg Ser Val Ala Arg Met Asp Gly Asp Val Ile Ile Gly
        35                  40                  45

Ala Leu Phe Ser Val His His Gln Pro Pro Ala Glu Lys Val Pro Glu
    50                  55                  60

Arg Lys Cys Gly Glu Ile Arg Glu Gln Tyr Gly Ile Gln Arg Val Glu
65                  70                  75                  80

Ala Met Phe His Thr Leu Asp Lys Ile Asn Ala Asp Pro Val Leu Leu
                85                  90                  95

Pro Asn Ile Thr Leu Gly Ser Glu Ile Arg Asp Ser Cys Trp His Ser
            100                 105                 110

Ser Val Ala Leu Glu Gln Ser Ile Glu Phe Ile Arg Asp Ser Leu Ile
        115                 120                 125

Ser Ile Arg Asp Glu Lys Asp Gly Ile Asn Arg Cys Leu Pro Asp Gly
    130                 135                 140

Gln Ser Leu Pro Pro Gly Arg Thr Lys Lys Pro Ile Ala Gly Val Ile
145                 150                 155                 160

Gly Pro Gly Ser Ser Ser Val Ala Ile Gln Val Gln Asn Leu Leu Gln
                165                 170                 175

Leu Phe Asp Ile Pro Gln Ile Ala Tyr Ser Ala Thr Ser Ile Asp Leu
            180                 185                 190

Ser Asp Lys Thr Leu Tyr Lys Tyr Phe Leu Arg Val Val Pro Ser Asp
        195                 200                 205

Thr Leu Gln Ala Arg Ala Met Leu Asp Ile Val Lys Arg Tyr Asn Trp
    210                 215                 220

Thr Tyr Val Ser Ala Val His Thr Glu Gly Asn Tyr Gly Glu Ser Gly
225                 230                 235                 240
```

Met Asp Ala Phe Lys Glu Leu Ala Ala Gln Glu Gly Leu Cys Ile Ala
245 250 255

His Ser Asp Lys Ile Tyr Ser Asn Ala Gly Glu Lys Ser Phe Asp Arg
260 265 270

Leu Leu Arg Lys Leu Arg Glu Arg Leu Pro Lys Ala Arg Val Val Val
275 280 285

Cys Phe Cys Glu Gly Met Thr Val Arg Gly Leu Leu Ser Ala Met Arg
290 295 300

Arg Leu Gly Val Val Gly Glu Phe Ser Leu Ile Gly Ser Asp Gly Trp
305 310 315 320

Ala Asp Arg Asp Glu Val Ile Glu Gly Tyr Glu Val Glu Ala Asn Gly
325 330 335

Gly Ile Thr Ile Lys Leu Gln Ser Pro Glu Val Arg Ser Phe Asp Asp
340 345 350

Tyr Phe Leu Lys Leu Arg Leu Asp Thr Asn Thr Arg Asn Pro Trp Phe
355 360 365

Pro Glu Phe Trp Gln His Arg Phe Gln Cys Arg Leu Pro Gly His Leu
370 375 380

Leu Glu Asn Pro Asn Phe Lys Arg Ile Cys Thr Gly Asn Glu Ser Leu
385 390 395 400

Glu Glu Asn Tyr Val Gln Asp Ser Lys Met Gly Phe Val Ile Asn Ala
405 410 415

Ile Tyr Ala Met Ala His Gly Leu Gln Asn Met His His Ala Leu Cys
420 425 430

Pro Gly His Val Gly Leu Cys Asp Ala Met Lys Pro Ile Asp Gly Ser
435 440 445

Lys Leu Leu Asp Phe Leu Ile Lys Ser Ser Phe Ile Gly Val Ser Gly
450 455 460

Glu Glu Val Trp Phe Asp Glu Lys Gly Asp Ala Pro Gly Arg Tyr Asp
465 470 475 480

Ile Met Asn Leu Gln Tyr Thr Glu Ala Asn Arg Tyr Asp Tyr Val His
485 490 495

Val Gly Thr Trp His Glu Gly Val Leu Asn Ile Asp Asp Tyr Lys Ile
500 505 510

Gln Met Asn Lys Ser Gly Val Val Arg Ser Val Cys Ser Glu Pro Cys
515 520 525

Leu Lys Gly Gln Ile Lys Val Ile Arg Lys Gly Glu Val Ser Cys Cys
530 535 540

Trp Ile Cys Ala Ala Cys Lys Glu Asn Glu Tyr Val Gln Asp Glu Phe
545 550 555 560

Thr Cys Lys Ala Cys Asp Leu Gly Trp Trp Pro Asn Ala Asp Leu Thr
565 570 575

Gly Cys Glu Pro Ile Pro Val Arg Tyr Leu Glu Trp Ser Asn Ile Glu
580 585 590

```
Ser Ile Ile Ala Ile Ala Phe Ser Cys Leu Gly Ile Leu Val Thr Leu
        595                 600                 605

Phe Val Thr Leu Ile Phe Val Leu Tyr Arg Asp Thr Pro Val Val Lys
    610                 615                 620

Ser Ser Ser Arg Glu Leu Cys Tyr Ile Ile Leu Ala Gly Ile Phe Leu
625                 630                 635                 640

Gly Tyr Val Cys Pro Phe Thr Leu Ile Ala Lys Pro Thr Thr Thr Ser
                645                 650                 655

Cys Tyr Leu Gln Arg Leu Leu Val Gly Leu Ser Ser Ala Met Cys Tyr
            660                 665                 670

Ser Ala Leu Val Thr Lys Thr Asn Arg Ile Ala Arg Ile Leu Ala Gly
        675                 680                 685

Ser Lys Lys Lys Ile Cys Thr Arg Lys Pro Arg Phe Met Ser Ala Trp
    690                 695                 700

Ala Gln Val Ile Ile Ala Ser Ile Leu Ile Ser Val Gln Leu Thr Leu
705                 710                 715                 720

Val Val Thr Leu Ile Ile Met Glu Pro Pro Met Pro Ile Leu Ser Tyr
                725                 730                 735

Pro Ser Ile Lys Glu Val Tyr Leu Ile Cys Asn Thr Ser Asn Leu Gly
            740                 745                 750

Val Val Ala Pro Leu Gly Tyr Asn Gly Leu Leu Ile Met Ser Cys Thr
        755                 760                 765

Tyr Tyr Ala Phe Lys Thr Arg Asn Val Pro Ala Asn Phe Asn Glu Ala
    770                 775                 780

Lys Tyr Ile Ala Phe Thr Met Tyr Thr Thr Cys Ile Ile Trp Leu Ala
785                 790                 795                 800

Phe Val Pro Ile Tyr Phe Gly Ser Asn Tyr Lys Ile Ile Thr Thr Cys
                805                 810                 815

Phe Ala Val Ser Leu Ser Val Thr Val Ala Leu Gly Cys Met Phe Thr
            820                 825                 830

Pro Lys Met Tyr Ile Ile Ile Ala Lys Pro Glu Arg Asn Val Arg Ser
        835                 840                 845

Ala Phe Thr Thr Ser Asp Val Val Arg Met His Val Gly Asp Gly Lys
    850                 855                 860

Leu Pro Cys Arg Ser Asn Thr Phe Leu Asn Ile Phe Arg Arg Lys Lys
865                 870                 875                 880

Ala Gly Ala Gly Asn Ala Lys Lys Arg Gln Pro Glu Phe Ser Pro Thr
                885                 890                 895

Ser Gln Cys Pro Ser Ala His Val Gln Leu
            900                 905
```

【０１７４】

（２）配列番号：３の情報：

（ｉ）　配列の特色：

（Ａ）長さ：３５５塩基対

（Ｂ）型：核酸

（Ｃ）鎖の数：両形態

（Ｄ）トポロジー：両形態

（ｉｉ）分子の型：ｃＤＮＡ

（ｉｘ）配列の特徴：

（Ａ）名称／記号：ＣＤＳ
（Ｂ）存在位置：１．．３５４
（Ｄ）他の情報：／生成物＝“ヒトｍＧｌｕＲ２断片”
(xi) 配列：配列番号：３：

```
GCC AAG CCA TCC ACG GCA GTG TGT ACC TTA CGG CGT CTT GGT TTG GGC      48
Ala Lys Pro Ser Thr Ala Val Cys Thr Leu Arg Arg Leu Gly Leu Gly
 1               5                  10                  15

ACT GCC TTC TCT GTC TGC TAC TCA GCC CTG CTC ACC AAG ACC AAC CGC      96
Thr Ala Phe Ser Val Cys Tyr Ser Ala Leu Leu Thr Lys Thr Asn Arg
            20                  25                  30

ATT GCA CGC ATC TTC GGT GGG GCC CGG GAG GGT GCC CAG CGG CCA CGC     144
Ile Ala Arg Ile Phe Gly Gly Ala Arg Glu Gly Ala Gln Arg Pro Arg
        35                  40                  45

TTC ATC AGT CCT GCC TCA CAG GTG GCC ATC TGC CTG GAA CTT ATC TCG     192
Phe Ile Ser Pro Ala Ser Gln Val Ala Ile Cys Leu Glu Leu Ile Ser
    50                  55                  60

GGC CAG CTG CTC ATC GTG GTC GCC TGG CTG GTG GTG GAG GCA CCG GGC     240
Gly Gln Leu Leu Ile Val Val Ala Trp Leu Val Val Glu Ala Pro Gly
65                  70                  75                  80

ACA GGC AAG GAG ACA GCC CCC GAA CGG CGC GAG GTG GTG ACA CTG CGC     288
Thr Gly Lys Glu Thr Ala Pro Glu Arg Arg Glu Val Val Thr Leu Arg
                85                  90                  95

TGC AAC CAC CGC GAT GCA AGT ATG TTG GGC TCG CTG GCC TAC AAT GTG     336
Cys Asn His Arg Asp Ala Ser Met Leu Gly Ser Leu Ala Tyr Asn Val
            100                 105                 110

CTC CTC ATC GCG CTC TGC A                                          355
Leu Leu Ile Ala Leu Cys
        115
```

【０１７５】
（２）配列番号：４の情報：
(i) 配列の特色：
（Ａ）長さ：１１８アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
(ii) 分子の型：蛋白
(xi) 配列：配列番号：４：

```
Ala Lys Pro Ser Thr Ala Val Cys Thr Leu Arg Arg Leu Gly Leu Gly
 1               5                  10                  15

Thr Ala Phe Ser Val Cys Tyr Ser Ala Leu Leu Thr Lys Thr Asn Arg
            20                  25                  30

Ile Ala Arg Ile Phe Gly Gly Ala Arg Glu Gly Ala Gln Arg Pro Arg
        35                  40                  45

Phe Ile Ser Pro Ala Ser Gln Val Ala Ile Cys Leu Glu Leu Ile Ser
    50                  55                  60

Gly Gln Leu Leu Ile Val Val Ala Trp Leu Val Val Glu Ala Pro Gly
65                  70                  75                  80

Thr Gly Lys Glu Thr Ala Pro Glu Arg Arg Glu Val Val Thr Leu Arg
                85                  90                  95

Cys Asn His Arg Asp Ala Ser Met Leu Gly Ser Leu Ala Tyr Asn Val
            100                 105                 110

Leu Leu Ile Ala Leu Cys
        115
```

【０１７６】

（２）配列番号：５の情報：

（ｉ）　配列の特色：

（Ａ）長さ：３９１９塩基対

（Ｂ）型：核酸

（Ｃ）鎖の数：両形態

（Ｄ）トポロジー：両形態

（ｉｉ）分子の型：ｃＤＮＡ

（ｉｘ）配列の特徴：

（Ａ）名称／記号：ＣＤＳ

（Ｂ）存在位置：１０６４．．３７０３

（Ｄ）他の情報：／生成物＝“ヒトｍＧｌｕＲ３”

（ｘｉ）配列：配列番号：５：

CGGCCTCCCT GGCTCTCACA CTCCCTCTCT GCTCCCGCTC TCCTAATCTC CTCTGGCATC 60

CGGTCACCCC CCTGCCCAGG GACCACAGGA CAGTTCTTGT AAGGACTGTT AGTCCCTGCT 120

TACCTGAAAG CCAAGCGCTC TAGCAGAGCT TTAAAGTTGG AGCCGCCACC GTCCCTACCG 180

CCCCATGCCC CTTCACCCCA CTCCGAAATT CACCGACCTT TGCATGCACT GCCTAAGGAT 240

TTCAGAGTGA GGCAAAGCAG TCGGCAAATC TACCCTGGCT TTTCGTATAA AAATCCTCTC 300

GTCTAGGTAC CCTGGCTCAC TGAAGACTCT GCAGATATAC CCTTATAAGA GCGAGGGTGG 360

GGGAGGGAAA AGAACGAGAG AGGGAGGAAA GAATGAAAAG GAGAGGATGC CAGGAGCTCC 420

GTGCTTCTGC CAAGAGTCCC AATTAGATGC GACGGCTTCA GCCTGGTCAA GGTGAAGGAA 480

AGTTGCTTCC GCGCCTAGGA AGTGGGTTTG CCTGATAAGA GAAGGAGGAG GGGACTCGGC 540

TGGGAAGAGC TCCGCTCCCC TCCGCGGAAG ACCACTGGGT CCCCTCTTTC GGCAACCTCC 600

TCCCTCTCTT CTACTCCACC CCTCCGTTTT CCCACTCCCC ACTGACTCGG ATGCCTGGAT 660

GTTCTGCCAC CGGGCAGTGG TCCAGCGTGC AGCCGGGAGG GGGCAGGGGC AGGGGGCACT 720

GTGACAGGAA GCTGCGCGCA CAAGTTGGCC ATTTCGAGGG CAAAATAAGT TCTCCCTTGG 780

ATTTGGAAAG GACAAAGCCA GTAAGCTACC TCTTTTGTGT CGGATGAGGA GGACCAACCA 840

```
TGAGCCAGAG CCCGGGTGCA GGCTCACCGC CGCCGCTGCC ACCGCCGTCA GCTCCAGTTC   900

CTGCCAGGAG TTGTCGGTGC GAGGAATTTT GTGACAGGCT CTGTTAGTCT GTTCCTCCCT   960

TATTTCAAGG ACAGGCCAAA GATCCAGTTT GGAAATGAGA GAGGACTAGC ATGACACATT  1020

GGCTGCAGCA TTGATATCTC CCAGAGGTAC AGAAACAGGA TTC ATG AAG ATG TTG    1075
                                              Met Lys Met Leu
                                               1

ACA AGA CTG CAA GTT CTT ACC TTA GCT TTG TTT TCA AAG GGA TTT TTA    1123
Thr Arg Leu Gln Val Leu Thr Leu Ala Leu Phe Ser Lys Gly Phe Leu
  5                  10                  15                  20

CTC TCT TTA GGG GAC CAT AAC TTT CTA AGG AGA GAG ATT AAA ATA GAA    1171
Leu Ser Leu Gly Asp His Asn Phe Leu Arg Arg Glu Ile Lys Ile Glu
                 25                  30                  35

GGT GAC CTT GTT TTA GGG GGC CTG TTT CCT ATT AAC GAA AAA GGC ACT    1219
Gly Asp Leu Val Leu Gly Gly Leu Phe Pro Ile Asn Glu Lys Gly Thr
             40                  45                  50

GGA ACT GAA GAA TGT GGG CGA ATC AAT GAA GAC CGA GGG ATT CAA CGC    1267
Gly Thr Glu Glu Cys Gly Arg Ile Asn Glu Asp Arg Gly Ile Gln Arg
         55                  60                  65

CTG GAA GCC ATG TTG TTT GCT ATT GAT GAA ATC AAC AAA GAT GAT TAC    1315
Leu Glu Ala Met Leu Phe Ala Ile Asp Glu Ile Asn Lys Asp Asp Tyr
     70                  75                  80

TTG CTA CCA GGA GTG AAG TTG GGT GTT CAC ATT TTG GAT ACA TGT TCA    1363
Leu Leu Pro Gly Val Lys Leu Gly Val His Ile Leu Asp Thr Cys Ser
 85                  90                  95                 100

AGG GAT ACC TAT GCA TTG GAG CAA TCA CTG GAG TTT GTC AGG GCA TCT    1411
Arg Asp Thr Tyr Ala Leu Glu Gln Ser Leu Glu Phe Val Arg Ala Ser
                105                 110                 115

TTG ACA AAA GTG GAT GAA GCT GAG TAT ATG TGT CCT GAT GGA TCC TAT    1459
Leu Thr Lys Val Asp Glu Ala Glu Tyr Met Cys Pro Asp Gly Ser Tyr
            120                 125                 130

GCC ATT CAA GAA AAC ATC CCA CTT CTC ATT GCA GGG GTC ATT GGT GGC    1507
Ala Ile Gln Glu Asn Ile Pro Leu Leu Ile Ala Gly Val Ile Gly Gly
        135                 140                 145

TCT TAT AGC AGT GTT TCC ATA CAG GTG GCA AAC CTG CTG CGG CTC TTC    1555
Ser Tyr Ser Ser Val Ser Ile Gln Val Ala Asn Leu Leu Arg Leu Phe
    150                 155                 160

CAG ATC CCT CAG ATC AGC TAC GCA TCC ACC AGC GCC AAA CTC AGT GAT    1603
Gln Ile Pro Gln Ile Ser Tyr Ala Ser Thr Ser Ala Lys Leu Ser Asp
165                 170                 175                 180

AAG TCG CGC TAT GAT TAC TTT GCC AGG ACC GTG CCC CCC GAC TTC TAC    1651
Lys Ser Arg Tyr Asp Tyr Phe Ala Arg Thr Val Pro Pro Asp Phe Tyr
                185                 190                 195

CAG GCC AAA GCC ATG GCT GAG ATC TTG CGC TTC TTC AAC TGG ACC TAC    1699
Gln Ala Lys Ala Met Ala Glu Ile Leu Arg Phe Phe Asn Trp Thr Tyr
            200                 205                 210

GTG TCC ACA GTA GCC TCC GAG GGT GAT TAC GGG GAC ACA GGG ATC GAG    1747
Val Ser Thr Val Ala Ser Glu Gly Asp Tyr Gly Glu Thr Gly Ile Glu
        215                 220                 225
```

```
GCC TTC GAG CAG GAA GCC CGC CTG CGC AAC ATC TGC ATC GCT ACG GCG    1795
Ala Phe Glu Gln Glu Ala Arg Leu Arg Asn Ile Cys Ile Ala Thr Ala
    230                 235                 240

GAG AAG GTG GGC CGC TCC AAC ATC CGC AAG TCC TAC GAC AGC GTG ATC    1843
Glu Lys Val Gly Arg Ser Asn Ile Arg Lys Ser Tyr Asp Ser Val Ile
245                 250                 255                 260

CGA GAA CTG TTG CAG AAG CCC AAC GCG CGC GTC GTG GTC CTC TTC ATG    1891
Arg Glu Leu Leu Gln Lys Pro Asn Ala Arg Val Val Val Leu Phe Met
                265                 270                 275

CGC AGC GAC GAC TCG CGG GAG CTC ATT GCA GCC GCC AGC CGC GCC AAT    1939
Arg Ser Asp Asp Ser Arg Glu Leu Ile Ala Ala Ala Ser Arg Ala Asn
            280                 285                 290

GCC TCC TTC ACC TGG GTG GCC AGC GAC GGT TGG GGC GCG CAG GAG AGC    1987
Ala Ser Phe Thr Trp Val Ala Ser Asp Gly Trp Gly Ala Gln Glu Ser
        295                 300                 305

ATC ATC AAG GGC AGC GAG CAT GTG GCC TAC GGC GAC ATC ACC CTG GAG    2035
Ile Ile Lys Gly Ser Glu His Val Ala Tyr Gly Asp Ile Thr Leu Glu
    310                 315                 320

CTG GCC TCC CAG CCT GTC CGC CAG TTC GGC CGC TAC TTC CAG AGC CTC    2083
Leu Ala Ser Gln Pro Val Arg Gln Phe Gly Arg Tyr Phe Gln Ser Leu
325                 330                 335                 340

AAC CCC TAC AAC AAC CAC CGC AAC CCC TGG TTC CGG GAC TTC TGG GAG    2131
Asn Pro Tyr Asn Asn His Arg Asn Pro Trp Phe Arg Asp Phe Trp Glu
                345                 350                 355

CAA AAG TTT CAG TGC AGC CTC CAG AAC AAA CGC AAC CAC AGG CGC GTC    2179
Gln Lys Phe Gln Cys Ser Leu Gln Asn Lys Arg Asn His Arg Arg Val
            360                 365                 370

TGC GAA AAG CAC CTG GCC ATC GAC AGC AGC AAC TAC GAG CAA GAG TCC    2227
Cys Glu Lys His Leu Ala Ile Asp Ser Ser Asn Tyr Glu Gln Glu Ser
        375                 380                 385

AAG ATC ATG TTT GTG GTG AAC GCG CTG TAT GCC ATG GCC CAC GCT TTG    2275
Lys Ile Met Phe Val Val Asn Ala Val Tyr Ala Met Ala His Ala Leu
    390                 395                 400

CAC AAA ATG CAG CGC ACC CTC TGT CCC AAC ACT ACC AAG CTT TGT GAT    2323
His Lys Met Gln Arg Thr Leu Cys Pro Asn Thr Thr Lys Leu Cys Asp
405                 410                 415                 420

GCT ATG AAG ATC CTG GAT GGG AAG AAG TTG TAC AAG GAT TAC TTG CTG    2371
Ala Met Lys Ile Leu Asp Gly Lys Lys Leu Tyr Lys Asp Tyr Leu Leu
                425                 430                 435

AAA ATC AAC TTC ACG GCT CCA TTC AAC CCA AAT AAA GAT GCA GAT AGC    2419
Lys Ile Asn Phe Thr Ala Pro Phe Asn Pro Asn Lys Asp Ala Asp Ser
            440                 445                 450

ATA GTC AAG TTT GAC ACT TTT GGA GAT GGA ATG GGG CGA TAC AAC GTG    2467
Ile Val Lys Phe Asp Thr Phe Gly Asp Gly Met Gly Arg Tyr Asn Val
        455                 460                 465

TTC AAT TTC CAA AAT GTA GGT GGG AAG TAT TCC TAC TTG AAA GTT GGT    2515
Phe Asn Phe Gln Asn Val Gly Gly Lys Tyr Ser Tyr Leu Lys Val Gly
    470                 475                 480

CAC TGG GCA GAA ACC TTA TCG CTA GAT GTC AAC TCT ATC CAC TGG TCC    2563
His Trp Ala Glu Thr Leu Ser Leu Asp Val Asn Ser Ile His Trp Ser
485                 490                 495                 500
```

```
CGG AAC TCA GTC CCC ACT TCC CAG TGC AGC GAC CCC TGT GCC CCC AAT     2611
Arg Asn Ser Val Pro Thr Ser Gln Cys Ser Asp Pro Cys Ala Pro Asn
                505                 510                 515

GAA ATG AAG AAT ATG CAA CCA GGG GAT GTC TGC TGC TGG ATT TGC ATC     2659
Glu Met Lys Asn Met Gln Pro Gly Asp Val Cys Cys Trp Ile Cys Ile
            520                 525                 530

CCC TGT GAA CCC TAC GAA TAC CTG GCT GAT GAG TTT ACC TGT ATG GAT     2707
Pro Cys Glu Pro Tyr Glu Tyr Leu Ala Asp Glu Phe Thr Cys Met Asp
        535                 540                 545

TGT GGC TCT GGA CAG TGG CCC ACT GCA GAC CTA ACT GGA TGC TAT GAC     2755
Cys Gly Ser Gly Gln Trp Pro Thr Ala Asp Leu Thr Gly Cys Tyr Asp
    550                 555                 560

CTT CCT GAG GAC TAC ATC AGG TGG GAA GAC GCC TGC GCC ATT GGC CCA     2803
Leu Pro Glu Asp Tyr Ile Arg Trp Glu Asp Ala Trp Ala Ile Gly Pro
565                 570                 575                 580

GTC ACC ATT GCC TGT CTG GGT TTT ATG TGT ACA TGC ATG GTT GTA ACT     2851
Val Thr Ile Ala Cys Leu Gly Phe Met Cys Thr Cys Met Val Val Thr
                585                 590                 595

GTT TTT ATC AAG CAC AAC AAC ACA CCC TTG GTC AAA GCA TCG GGC CGA     2899
Val Phe Ile Lys His Asn Asn Thr Pro Leu Val Lys Ala Ser Gly Arg
            600                 605                 610

GAA CTC TGC TAC ATC TTA TTG TTT GGG GTT GGC CTG TCA TAC TGC ATG     2947
Glu Leu Cys Tyr Ile Leu Leu Phe Gly Val Gly Leu Ser Tyr Cys Met
        615                 620                 625

ACA TTC TTC TTC ATT GCC AAG CCA TCA GCA GTC ATC TGT GCA TTG CGC     2995
Thr Phe Phe Phe Ile Ala Lys Pro Ser Pro Val Ile Cys Ala Leu Arg
    630                 635                 640

CGA CTC GGG CTG GGG AGT TCC TTC GCT ATC TGT TAC TCA GCC CTG CTG     3043
Arg Leu Gly Leu Gly Ser Ser Phe Ala Ile Cys Tyr Ser Ala Leu Leu
645                 650                 655                 660

ACC AAG ACA AAC TGC ATT GCC CGC ATC TTC GAT GGG GTC AAG AAT GGC     3091
Thr Lys Thr Asn Cys Ile Ala Arg Ile Phe Asp Gly Val Lys Asn Gly
                665                 670                 675

GCT CAG AGG CCA AAA TTC ATC AGC CCC AGT TCT CAG GTT TTC ATC TGC     3139
Ala Gln Arg Pro Lys Phe Ile Ser Pro Ser Ser Gln Val Phe Ile Cys
            680                 685                 690

CTG GGT CTG ATC CTG GTG CAA ATT GTG ATG GTG TCT GTG TGG CTC ATC     3187
Leu Gly Leu Ile Leu Val Gln Ile Val Met Val Ser Val Trp Leu Ile
        695                 700                 705

CTG GAG GCC CCA GGC ACC AGG AGG TAT ACC CTT GCA GAG AAG CGG GAA     3235
Leu Glu Ala Pro Gly Thr Arg Arg Tyr Thr Leu Ala Glu Lys Arg Glu
    710                 715                 720

ACA GTC ATC CTA AAA TGC AAT GTC AAA GAT TCC AGC ATG TTG ATC TCT     3283
Thr Val Ile Leu Lys Cys Asn Val Lys Asp Ser Ser Met Leu Ile Ser
725                 730                 735                 740

CTT ACC TAC GAT GTG ATC CTG GTG ATC TTA TGC ACT GTG TAC GCC TTC     3331
Leu Thr Tyr Asp Val Ile Leu Val Ile Leu Cys Thr Val Tyr Ala Phe
                745                 750                 755

AAA ACG CGG AAG TGC CCA GAA AAT TTC AAC GAA GCT AAG TTC ATA GGT     3379
Lys Thr Arg Lys Cys Pro Glu Asn Phe Asn Glu Ala Lys Phe Ile Gly
            760                 765                 770
```

```
TTT ACC ATG TAC ACC ACG TGC ATC ATC TGG TTG GCC TTC CTC CCT ATA     3427
Phe Thr Met Tyr Thr Thr Cys Ile Ile Trp Leu Ala Phe Leu Pro Ile
        775                 780                 785

TTT TAT GTG ACA TCA AGT GAC TAC AGA GTG CAG ACG ACA ACC ATG TGC     3475
Phe Tyr Val Thr Ser Ser Asp Tyr Arg Val Gln Thr Thr Thr Met Cys
    790                 795                 800

ATC TCT GTC AGC CTG AGT GGC TTT GTG GTC TTG GGC TGT TTG TTT GCA     3523
Ile Ser Val Ser Leu Ser Gly Phe Val Val Leu Gly Cys Leu Phe Ala
805                 810                 815                 820

CCC AAG GTT CAC ATC ATC CTG TTT CAA CCC CAG AAG AAT GTT GTC ACA     3571
Pro Lys Val His Ile Ile Leu Phe Gln Pro Gln Lys Asn Val Val Thr
                825                 830                 835

CAC AGA CTG CAC CTC AAC AGG TTC AGT GTC AGT GGA ACT GGG ACC ACA     3619
His Arg Leu His Leu Asn Arg Phe Ser Val Ser Gly Thr Gly Thr Thr
            840                 845                 850

TAC TCT CAG TCC TCT GCA AGC ACG TAT GTG CCA ACG GTG TGC AAT GGG     3667
Tyr Ser Gln Ser Ser Ala Ser Thr Tyr Val Pro Thr Val Cys Asn Gly
        855                 860                 865

CGG GAA GTC CTC GAC TCC AGC ACC TCA TCT CTG TGATTGTGAA TTGCAGTTCA   3720
Arg Glu Val Leu Asp Ser Thr Thr Ser Ser Leu
    870                 875                 880

GTTCTTGTGT TTTTAGACTG TTAGACAAAA GTGCTCACGT GCAGCTCCAC AATATGGAAA   3780

CAGAGCAAAA GAACAACCCT AGTACCTTTT TTTAGAAACA CTACGATAAA TTATTTTTGA   3840

GGACTGTATA TAGTGATCTG CTAGAACTTT CTAGGGTGAG TCTAGTGCCC CTATTATTAA   3900

CAGTCCGAGT GTACGTACC                                                3919
```

【０１７７】

（２）配列番号：６の情報：

（ｉ）　配列の特色：

（Ａ）長さ：８７９アミノ酸

（Ｂ）型：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ｉｉ）分子の型：蛋白

（ｘｉ）配列：配列番号：６：

```
Met Lys Met Leu Thr Arg Leu Gln Val Leu Thr Leu Ala Leu Phe Ser
 1               5                  10                  15

Lys Gly Phe Leu Leu Ser Leu Gly Asp His Asn Phe Leu Arg Arg Glu
            20                  25                  30

Ile Lys Ile Glu Gly Asp Leu Val Leu Gly Gly Leu Phe Pro Ile Asn
        35                  40                  45

Glu Lys Gly Thr Gly Thr Glu Glu Cys Gly Arg Ile Asn Glu Asp Arg
    50                  55                  60

Gly Ile Gln Arg Leu Glu Ala Met Leu Phe Ala Ile Asp Glu Ile Asn
65                  70                  75                  80

Lys Asp Asp Tyr Leu Leu Pro Gly Val Lys Leu Gly Val His Ile Leu
                85                  90                  95
```

Asp Thr Cys Ser Arg Asp Thr Tyr Ala Leu Glu Gln Ser Leu Glu Phe
100 105 110

Val Arg Ala Ser Leu Thr Lys Val Asp Glu Ala Glu Tyr Met Cys Pro
115 120 125

Asp Gly Ser Tyr Ala Ile Gln Glu Asn Ile Pro Leu Leu Ile Ala Gly
130 135 140

Val Ile Gly Gly Ser Tyr Ser Ser Val Ser Ile Gln Val Ala Asn Leu
145 150 155 160

Leu Arg Leu Phe Gln Ile Pro Gln Ile Ser Tyr Ala Ser Thr Ser Ala
165 170 175

Lys Leu Ser Asp Lys Ser Arg Tyr Asp Tyr Phe Ala Arg Thr Val Pro
180 185 190

Pro Asp Phe Tyr Gln Ala Lys Ala Met Ala Glu Ile Leu Arg Phe Phe
195 200 205

Asn Trp Thr Tyr Val Ser Thr Val Ala Ser Glu Gly Asp Tyr Gly Glu
210 215 220

Thr Gly Ile Glu Ala Phe Glu Gln Glu Ala Arg Leu Arg Asn Ile Cys
225 230 235 240

Ile Ala Thr Ala Glu Lys Val Gly Arg Ser Asn Ile Arg Lys Ser Tyr
245 250 255

Asp Ser Val Ile Arg Glu Leu Leu Gln Lys Pro Asn Ala Arg Val Val
260 265 270

Val Leu Phe Met Arg Ser Asp Asp Ser Arg Glu Leu Ile Ala Ala Ala
275 280 285

Ser Arg Ala Asn Ala Ser Phe Thr Trp Val Ala Ser Asp Gly Trp Gly
290 295 300

Ala Gln Glu Ser Ile Ile Lys Gly Ser Glu His Val Ala Tyr Gly Asp
305 310 315 320

Ile Thr Leu Glu Leu Ala Ser Gln Pro Val Arg Gln Phe Gly Arg Tyr
325 330 335

Phe Gln Ser Leu Asn Pro Tyr Asn Asn His Arg Asn Pro Trp Phe Arg
340 345 350

Asp Phe Trp Glu Gln Lys Phe Gln Cys Ser Leu Gln Asn Lys Arg Asn
355 360 365

His Arg Arg Val Cys Glu Lys His Leu Ala Ile Asp Ser Ser Asn Tyr
370 375 380

Glu Gln Glu Ser Lys Ile Met Phe Val Val Asn Ala Val Tyr Ala Met
385 390 395 400

Ala His Ala Leu His Lys Met Gln Arg Thr Leu Cys Pro Asn Thr Thr
405 410 415

Lys Leu Cys Asp Ala Met Lys Ile Leu Asp Gly Lys Lys Leu Tyr Lys
420 425 430

Asp Tyr Leu Leu Lys Ile Asn Phe Thr Ala Pro Phe Asn Pro Asn Lys
435 440 445

Asp Ala Asp Ser Ile Val Lys Phe Asp Thr Phe Gly Asp Gly Met Gly
450 455 460

Arg Tyr Asn Val Phe Asn Phe Gln Asn Val Gly Gly Lys Tyr Ser Tyr
465 470 475 480

Leu Lys Val Gly His Trp Ala Glu Thr Leu Ser Leu Asp Val Asn Ser
485 490 495

Ile His Trp Ser Arg Asn Ser Val Pro Thr Ser Gln Cys Ser Asp Pro
500 505 510

Cys Ala Pro Asn Glu Met Lys Asn Met Gln Pro Gly Asp Val Cys Cys
515 520 525

Trp Ile Cys Ile Pro Cys Glu Pro Tyr Glu Tyr Leu Ala Asp Glu Phe
530 535 540

Thr Cys Met Asp Cys Gly Ser Gly Gln Trp Pro Thr Ala Asp Leu Thr
545 550 555 560

Gly Cys Tyr Asp Leu Pro Glu Asp Tyr Ile Arg Trp Glu Asp Ala Trp
565 570 575

Ala Ile Gly Pro Val Thr Ile Ala Cys Leu Gly Phe Met Cys Thr Cys
580 585 590

Met Val Val Thr Val Phe Ile Lys His Asn Asn Thr Pro Leu Val Lys
595 600 605

Ala Ser Gly Arg Glu Leu Cys Tyr Ile Leu Leu Phe Gly Val Gly Leu
610 615 620

Ser Tyr Cys Met Thr Phe Phe Phe Ile Ala Lys Pro Ser Pro Val Ile
625 630 635 640

Cys Ala Leu Arg Arg Leu Gly Leu Gly Ser Ser Phe Ala Ile Cys Tyr
645 650 655

Ser Ala Leu Leu Thr Lys Thr Asn Cys Ile Ala Arg Ile Phe Asp Gly
660 665 670

Val Lys Asn Gly Ala Gln Arg Pro Lys Phe Ile Ser Pro Ser Ser Gln
675 680 685

Val Phe Ile Cys Leu Gly Leu Ile Leu Val Gln Ile Val Met Val Ser
690 695 700

Val Trp Leu Ile Leu Glu Ala Pro Gly Thr Arg Arg Tyr Thr Leu Ala
705 710 715 720

Glu Lys Arg Glu Thr Val Ile Leu Lys Cys Asn Val Lys Asp Ser Ser
725 730 735

Met Leu Ile Ser Leu Thr Tyr Asp Val Ile Leu Val Ile Leu Cys Thr
740 745 750

Val Tyr Ala Phe Lys Thr Arg Lys Cys Pro Glu Asn Phe Asn Glu Ala
755 760 765

Lys Phe Ile Gly Phe Thr Met Tyr Thr Thr Cys Ile Ile Trp Leu Ala
770 775 780

Phe Leu Pro Ile Phe Tyr Val Thr Ser Ser Asp Tyr Arg Val Gln Thr
785 790 795 800

```
Thr Thr Met Cys Ile Ser Val Ser Leu Ser Gly Phe Val Val Leu Gly
                805                 810                 815

Cys Leu Phe Ala Pro Lys Val His Ile Ile Leu Phe Gln Pro Gln Lys
            820                 825                 830

Asn Val Val Thr His Arg Leu His Leu Asn Arg Phe Ser Val Ser Gly
        835                 840                 845

Thr Gly Thr Thr Tyr Ser Gln Ser Ser Ala Ser Thr Tyr Val Pro Thr
    850                 855                 860

Val Cys Asn Gly Arg Glu Val Leu Asp Ser Thr Thr Ser Ser Leu
865                 870                 875
```

【０１７８】

（２）配列番号：７の情報：

（ｉ）　配列の特色：

（Ａ）長さ：４０８５塩基対

（Ｂ）型：核酸

（Ｃ）鎖の数：両形態

（Ｄ）トポロジー：両形態

（ｉｉ）分子の型：ｃＤＮＡ

（ｉｘ）配列の特徴：

（Ａ）名称／記号：ＣＤＳ

（Ｂ）存在位置：３７０．．３９１２

（Ｄ）他の情報：／生成物＝“ヒトｍＧｌｕＲ５Ａ”

（ｘｉ）配列：配列番号：７：

```
CAGCTCGGCT GTTCTGCGCA CGCTGAGCGG AGGGAATGAG CTTGAGATCA TCTTGGGGGG     60

GAAGCCGGGG ACTGGAGAGG CCGGCTCTGC CCTGCTGATC CCCGTGGCCC AACTTTTCGG    120

GGGGCTAGCT AGACCGAGTC TCACTGCTCG CAGCGCAGCC AACAGGGGGG TTTAGAAGAT    180

CATGACCACA TGGATCATCT AACTAAATGG TACATGGGGA CAAAATGGTC CTTTACAAAA    240

TACATCTGAA TTGCTGGCTA ATTTCTTGAT TTGCGACTCA ACGTAGGACA TCGCTTGTTC    300

GTAGCTATCA GAACCCTCGT GAATTTTCCC CACCATGCTA TCTTTATTGG CTTGAACTCC    360

TTTCCTAAA ATG GTC CTT CTG TTC ATC CTG TCA GTC TTA CTT TGC AAA         408
         Met Val Leu Leu Leu Ile Leu Ser Val Leu Leu Trp Lys
           1               5                  10

GAA GAT GTC CGT GGG AGT GCA CAG TCC AGT GAG AGG AGG GTG GTG GCT      456
Glu Asp Val Arg Gly Ser Ala Gln Ser Ser Glu Arg Arg Val Val Ala
     15                  20                  25

CAC ATG CCG GGT GAC ATC ATT ATT GGA GCT CTC TTT TCT GTT CAT CAC      504
His Met Pro Gly Asp Ile Ile Ile Gly Ala Leu Phe Ser Val His His
 30                  35                  40                  45

CAG CCT ACT GTG GAC AAA GTT CAT GAG AGG AAG TGT GGC GGG GTC GGT      552
Gln Pro Thr Val Asp Lys Val His Glu Arg Lys Cys Gly Ala Val Arg
                50                  55                  60

GAA CAG TAT GGC ATT CAG AGA GTG GAG GCC ATG CTG CAT ACC CTG GAA      600
Glu Gln Tyr Gly Ile Gln Arg Val Glu Ala Met Leu His Thr Leu Glu
            65                  70                  75
```

```
AGG ATC AAT TCA GAC CCC ACA CTC TTG CCC AAC ATC ACA CTG GGC TGT      648
Arg Ile Asn Ser Asp Pro Thr Leu Leu Pro Asn Ile Thr Leu Gly Cys
         80                  85                  90

GAG ATA AGG GAC TCC TGC TGG CAT TCC GCT GTG GCC CTA GAG CAG AGC      696
Glu Ile Arg Asp Ser Cys Trp His Ser Ala Val Ala Leu Glu Gln Ser
     95                 100                 105

ATT GAG TTC ATA AGA GAT TCC CTC ATT TCT TCA GAA GAG GAA GAA GGC      744
Ile Glu Phe Ile Arg Asp Ser Leu Ile Ser Ser Glu Glu Glu Glu Gly
110                 115                 120                 125

TTG GTA CGC TGT GTG GAT GGC TCC TCC TCT TCG TTC CGC TCC AAG AAG      792
Leu Val Arg Cys Val Asp Gly Ser Ser Ser Ser Phe Arg Ser Lys Lys
                130                 135                 140

CCC ATA GTA GGG GTC ATT GGG CCT GGC TCC AGT TCT GTA GCC ATT CAG      840
Pro Ile Val Gly Val Ile Gly Pro Gly Ser Ser Ser Val Ala Ile Gln
            145                 150                 155

GTC CAG AAT TTG CTC CAG CTT TTC AAC ATA CCT CAG ATT GCT TAC TCA      888
Val Gln Asn Leu Leu Gln Leu Phe Asn Ile Pro Gln Ile Ala Tyr Ser
        160                 165                 170

GCA ACC AGC ATG GAT CTG AGT GAC AAG ACT CTG TTC AAA TAT TTC ATG      936
Ala Thr Ser Met Asp Leu Ser Asp Lys Thr Leu Phe Lys Tyr Phe Met
    175                 180                 185

AGG GTT GTG CCT TCA GAT GCT CAG CAG GCA AGG GCC ATG GTG GAC ATA      984
Arg Val Val Pro Ser Asp Ala Gln Gln Ala Arg Ala Met Val Asp Ile
190                 195                 200                 205

GTG AAG AGG TAC AAC TGG ACC TAT GTA TCA GCC GTG CAC ACA GAA GGC     1032
Val Lys Arg Tyr Asn Trp Thr Tyr Val Ser Ala Val His Thr Glu Gly
                210                 215                 220

AAC TAT GGA GAA AGT GGG ATG GAA GCC TCC AAA GAT ATG TCA GCG AAG     1080
Asn Tyr Gly Glu Ser Gly Met Glu Ala Ser Lys Asp Met Ser Ala Lys
            225                 230                 235

GAA GGG ATT TGC ATC GCC CAC TCT TAC AAA ATC TAC AGT AAT GCA GGG     1128
Glu Gly Ile Cys Ile Ala His Ser Tyr Lys Ile Tyr Ser Asn Ala Gly
        240                 245                 250

GAG CAG AGC TTT GAT AAG CTG CTG AAG AAG CTC ACA AGT CAC TTG CCC     1176
Glu Gln Ser Phe Asp Lys Leu Leu Lys Lys Leu Thr Ser His Leu Pro
    255                 260                 265

AAG GCC CGG GTG GTG GCC TGC TTC TGT GAG GGC ATG ACG GTC AGA GGT     1224
Lys Ala Arg Val Val Ala Cys Phe Cys Glu Gly Met Thr Val Arg Gly
270                 275                 280                 285

CTG CTG ATG GCC ATG AGG CGC CTG GGT CTA GCG GGA GAA TTT CTG CTT     1272
Leu Leu Met Ala Met Arg Arg Leu Gly Leu Ala Gly Glu Phe Leu Leu
                290                 295                 300

CTG GGC AGT GAT GGC TGG GCT GAC AGG TAT GAT GTG ACA GAT GGA TAT     1320
Leu Gly Ser Asp Gly Trp Ala Asp Arg Tyr Asp Val Thr Asp Gly Tyr
            305                 310                 315

CAG CGA GAA GCT GTT GGT GGC ATC ACA ATC AAG CTC CAA TCT CCC GAT     1368
Gln Arg Glu Ala Val Gly Gly Ile Thr Ile Lys Leu Gln Ser Pro Asp
        320                 325                 330

GTC AAG TGG TTT GAT GAT TAT TAT CTG AAG GTC CGG CCA GAA ACA AAC     1416
Val Lys Trp Phe Asp Asp Tyr Tyr Leu Lys Leu Arg Pro Glu Thr Asn
    335                 340                 345
```

```
CAC CGA AAC CCT TGG TTT CAA GAA TTT TGG CAG CAT CGT TTT CAG TGC     1464
His Arg Asn Pro Trp Phe Gln Glu Phe Trp Gln His Arg Phe Gln Cys
350                 355                 360                 365

CGA CTG GAA GCG TTT CCA CAG GAG AAC AGC AAA TAC AAC AAG ACT TGC     1512
Arg Leu Glu Ala Phe Pro Gln Glu Asn Ser Lys Tyr Asn Lys Thr Cys
                370                 375                 380

AAT AGT TCT CTG ACT CTG AAA ACA CAT CAT GTT CAG GAT TCC AAA ATG     1560
Asn Ser Ser Leu Thr Leu Lys Thr His His Val Gln Asp Ser Lys Met
            385                 390                 395

GGA TTT GTG ATC AAC GCC ATC TAT TCG ATG GCC TAT GGG CTC CAC AAC     1608
Gly Phe Val Ile Asn Ala Ile Tyr Ser Met Ala Tyr Gly Leu His Asn
        400                 405                 410

ATG CAG ATG TCC CTC TGC CCA GGC TAT GCA GGA CTC TGT GAT GCC ATG     1656
Met Gln Met Ser Leu Cys Pro Gly Tyr Ala Gly Leu Cys Asp Ala Met
    415                 420                 425

AAG CCA ATT GAT GGA CGG AAA CTT TTG GAG TCC CTG ATG AAA ACC AAT     1704
Lys Pro Ile Asp Gly Arg Lys Leu Leu Glu Ser Leu Met Lys Thr Asn
430                 435                 440                 445

TTT ACT GGG GTT TCT GGA GAT ACG ATC CTA TTC GAT GAG AAT GGA GAC     1752
Phe Thr Gly Val Ser Gly Asp Thr Ile Leu Phe Asp Glu Asn Gly Asp
                450                 455                 460

TCT CCA GGA AGG TAT GAA ATA ATG AAT TTC AAG GAA ATG GGA AAA GAT     1800
Ser Pro Gly Arg Tyr Glu Ile Met Asn Phe Lys Glu Met Gly Lys Asp
            465                 470                 475

TAC TTT GAT TAT ATC AAC GTT GGA AGT TGG GAC AAT GGA GAA TTA AAA     1848
Tyr Phe Asp Tyr Ile Asn Val Gly Ser Trp Asp Asn Gly Glu Leu Lys
        480                 485                 490

ATG GAT GAT GAT GAA GTA TGG TCC AAG AAA AGC AAC ATC ATC AGA TCT     1896
Met Asp Asp Asp Glu Val Trp Ser Lys Lys Ser Asn Ile Ile Arg Ser
    495                 500                 505

GTG TGC AGT GAA CCA TGT GAG AAA GGC CAG ATC AAG GTG ATC CGA AAG     1944
Val Cys Ser Glu Pro Cys Glu Lys Gly Gln Ile Lys Val Ile Arg Lys
510                 515                 520                 525

GGA GAA GTC AGC TGT TGT TGG ACC TGT ACA CCT TGT AAG GAG AAT GAG     1992
Gly Glu Val Ser Cys Cys Trp Thr Cys Thr Pro Cys Lys Glu Asn Glu
                530                 535                 540

TAT GTC TTT GAT GAG TAC ACA TGC AAG GCA TGC CAA CTG GGG TCT TGG     2040
Tyr Val Phe Asp Glu Tyr Thr Cys Lys Ala Cys Gln Leu Gly Ser Trp
            545                 550                 555

CCC ACT GAT GAT CTC ACA GGT TGT GAC TTG ATC CCA GTA CAG TAT CTT     2088
Pro Thr Asp Asp Leu Thr Gly Cys Asp Leu Ile Pro Val Gln Tyr Leu
        560                 565                 570

CGA TGG GGT GAC CCT GAA CCC ATT GCA GCT GTG GTG TTT GCC TGC CTT     2136
Arg Trp Gly Asp Pro Glu Pro Ile Ala Ala Val Val Phe Ala Cys Leu
    575                 580                 585

GGC CTC CTG GCC ACC CTG TTT GTT ACT GTA GTC TTC ATC ATT TAC CGT     2184
Gly Leu Leu Ala Thr Leu Phe Val Thr Val Val Phe Ile Ile Tyr Arg
590                 595                 600                 605

GAT ACA CCA GTA GTC AAG TCC TCA AGC AGG GAA CTC TGC TAC ATT ATC     2232
Asp Thr Pro Val Val Lys Ser Ser Ser Arg Glu Leu Cys Tyr Ile Ile
                610                 615                 620
```

```
CTT GCT GGC ATC TGC CTG GGC TAC TTA TGT ACC TTC TGC CTC ATT GCG    2280
Leu Ala Gly Ile Cys Leu Gly Tyr Leu Cys Thr Phe Cys Leu Ile Ala
            625                 630                 635

AAG CCC AAA CAG ATT TAC TGC TAC CTT CAG AGA ATT GGC ATT GGT CTC    2328
Lys Pro Lys Gln Ile Tyr Cys Tyr Leu Gln Arg Ile Gly Ile Gly Leu
        640                 645                 650

TCC GCA GCC ATG AGC TAC TCA GCC CTT GTA ACA AAG ACC AAC CGT ATT    2376
Ser Pro Ala Met Ser Tyr Ser Ala Leu Val Thr Lys Thr Asn Arg Ile
    655                 660                 665

GCA AGG ATC CTG GCT GGC AGC AAG AAG AAG ATC TGT ACC CCC AAG CCC    2424
Ala Arg Ile Leu Ala Gly Ser Lys Lys Lys Ile Cys Thr Pro Lys Pro
670                 675                 680                 685

AGA TTC ATG AGT GCC TGT GCC CAG CTA GTG ATT GCT TTC ATT CTC ATA    2472
Arg Phe Met Ser Ala Cys Ala Gln Leu Val Ile Ala Phe Ile Leu Ile
                690                 695                 700

TGC ATC CAG TTG GGC ATC ATC GTT GCC CTC TTT ATA ATG GAG CCT CCT    2520
Cys Ile Gln Leu Gly Ile Ile Val Ala Leu Phe Ile Met Glu Pro Pro
            705                 710                 715

GAC ATA ATG CAT GAC TAC CCA AGC ATT CGA GAA GTC TAC CTG ATC TGT    2568
Asp Ile Met His Asp Tyr Pro Ser Ile Arg Glu Val Tyr Leu Ile Cys
        720                 725                 730

AAC ACC ACC AAC CTA GGA GTT GTC ACT CCA CTT GGA AAC AAT GGA TTG    2616
Asn Thr Thr Asn Leu Gly Val Val Thr Pro Leu Gly Asn Asn Gly Leu
    735                 740                 745

TTG ATT TTG AGC TGC ACC TTC TAT GCG TTC AAG ACC AGA AAT GTT CCA    2664
Leu Ile Leu Ser Cys Thr Phe Tyr Ala Phe Lys Thr Arg Asn Val Pro
750                 755                 760                 765

GCT AAC TTC CCC GAG GCC AAG TAT ATC GCC TTC ACA ATG TAC ACG ACC    2712
Ala Asn Phe Pro Glu Ala Lys Tyr Ile Ala Phe Thr Met Tyr Thr Thr
                770                 775                 780

TGC ATT ATA TGG CTA GCT TTT GTT CCA ATC TAC TTT GGC AGC AAC TAC    2760
Cys Ile Ile Trp Leu Ala Phe Val Pro Ile Tyr Phe Gly Ser Asn Tyr
            785                 790                 795

AAA ATC ATC ACC ATG TGT TTC TCG GTC AGC CTC AGT GCC ACA GTG GCC    2808
Lys Ile Ile Thr Met Cys Phe Ser Val Ser Leu Ser Ala Thr Val Ala
        800                 805                 810

CTA GGC TGC ATG TTT GTG CCG AAG GTG TAC ATC ATC CTG GCC AAA CCA    2856
Leu Gly Cys Met Phe Val Pro Lys Val Tyr Ile Ile Leu Ala Lys Pro
    815                 820                 825

GAG AGA AAC GTG CGC AGC GCC TTC ACC ACA TCT ACC GTG GTG CGC ATG    2904
Glu Arg Asn Val Arg Ser Ala Phe Thr Thr Ser Thr Val Val Arg Met
830                 835                 840                 845

CAT GTA GGG GAT GGC AAG TCA TCC TCC GCA GCC AGC AGA TCC AGC AGC    2952
His Val Gly Asp Gly Lys Ser Ser Ser Ala Ala Ser Arg Ser Ser Ser
                850                 855                 860

CTA GTC AAC CTG TGG AAG AGA AGG GGC TCC TCT GGG GAA ACC TTA AGT    3000
Leu Val Asn Leu Trp Lys Arg Arg Gly Ser Ser Gly Glu Thr Leu Ser
            865                 870                 875

TCC AAT GGA AAA TCC GTC ACG TGG GCC CAG AAT GAG AAG AGC AGC CGG    3048
Ser Asn Gly Lys Ser Val Thr Trp Ala Gln Asn Glu Lys Ser Ser Arg
        880                 885                 890
```

```
GGG CAC CAC CTC TGG CAG CGC CTG TCC ATC CAC ATC AAC AAG AAA GAA     3096
Gly Gln His Leu Trp Gln Arg Leu Ser Ile His Ile Asn Lys Lys Glu
    895                 900                 905

AAC CCC AAC CAA ACG GCC GTC ATC AAG CCC TTC CCC AAG AGC ACG GAG     3144
Asn Pro Asn Gln Thr Ala Val Ile Lys Pro Phe Pro Lys Ser Thr Glu
910                 915                 920                 925

AGC CGT GGC CTG GGC GCT GGC GCT GGC GCA GGC GGG AGC GCT GGG GGC     3192
Ser Arg Gly Leu Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Gly Ser Ala Gly Gly
                930                 935                 940

GTG GCG GCC ACG GGC GGT GCG GGC TGC GCA GGC GCC GGC CCA GGC GGG     3240
Val Gly Ala Thr Gly Gly Ala Gly Cys Ala Gly Ala Gly Pro Gly Gly
            945                 950                 955

CCC GAG TCC CCA GAC GCC GGC CCC AAG GCG CTG TAT GAT GTG GCC GAG     3288
Pro Glu Ser Pro Asp Ala Gly Pro Lys Ala Leu Tyr Asp Val Ala Glu
        960                 965                 970

GCT GAG GAG CAC TTC CCG GCG CCC GCG CGG CCG CGC TCA CCG TCG CCC     3336
Ala Glu Glu His Phe Pro Ala Pro Ala Arg Pro Arg Ser Pro Ser Pro
    975                 980                 985

ATC AGC ACG CTG AGC CAC CGC GCG GGC TCG GCC AGC CGC ACG GAC GAC     3384
Ile Ser Thr Leu Ser His Arg Ala Gly Ser Ala Ser Arg Thr Asp Asp
990                 995                 1000                1005

GAT GTG CCG TCG CTG CAC TCG GAG CCT GTG GCG CGC AGC AGC TCC TCG     3432
Asp Val Pro Ser Leu His Ser Glu Pro Val Ala Arg Ser Ser Ser Ser
                1010                1015                1020

CAG GGC TCC CTC ATG GAG CAG ATC AGC AGT GTG GTC ACC CGC TTC ACG     3480
Gln Gly Ser Leu Met Glu Gln Ile Ser Ser Val Val Thr Arg Phe Thr
            1025                1030                1035

GCC AAC ATC AGC GAG CTC AAC TCC ATG ATG CTG TCC ACC GCG GCC CCC     3528
Ala Asn Ile Ser Glu Leu Asn Ser Met Met Leu Ser Thr Ala Ala Pro
        1040                1045                1050

AGC CCC GGC GTC GGC GCC CCG CTC TGC TCG TCC TAC CTG ATC CGC AAA     3576
Ser Pro Gly Val Gly Ala Pro Leu Cys Ser Ser Tyr Leu Ile Pro Lys
    1055                1060                1065

GAG ATC CAG TTG CCC ACG ACC ATG ACG ACC TTT GCC GAA ATC CAG CCT     3624
Glu Ile Gln Leu Pro Thr Thr Met Thr Thr Phe Ala Glu Ile Gln Pro
1070                1075                1080                1085

CTG CCG GCC ATC GAA GTC ACG GGC GGC GCT CAG CCC GCG GCA GGG GCG     3672
Leu Pro Ala Ile Glu Val Thr Gly Gly Ala Gln Pro Ala Ala Gly Ala
                1090                1095                1100

CAG GCG GCT GGC GAC GCG GCC CGG GAG AGC CCC GCG GCC GGT CCC GAC     3720
Gln Ala Ala Gly Asp Ala Ala Arg Glu Ser Pro Ala Ala Gly Pro Glu
            1105                1110                1115

GCT GCG GCC GCC AAG CCA GAC CTG GAG GAG CTG GTG GCT CTC ACC CCG     3768
Ala Ala Ala Ala Lys Pro Asp Leu Glu Glu Leu Val Ala Leu Thr Pro
        1120                1125                1130

CCG TCC CCC TTC AGA GAC TCG GTG GAC TCG GGC AGC ACA ACC CCC AAC     3816
Pro Ser Pro Phe Arg Asp Ser Val Asp Ser Gly Ser Thr Thr Pro Asn
    1135                1140                1145

TCG CCA GTG TCC GAG TCG GCC CTC TGT ATC CCG TCG TCT CCC AAA TAT     3864
Ser Pro Val Ser Glu Ser Ala Leu Cys Ile Pro Ser Ser Pro Lys Tyr
1150                1155                1160                1165

GAC ACT CTT ATC ATA AGA GAT TAC ACT CAG AGC TCC TCG TCG TTG         3909
Asp Thr Leu Ile Ile Arg Asp Tyr Thr Gln Ser Ser Ser Ser Leu
                1170                1175                1180

TGAATGTCCC TGGAAAGCAC GCCGGCCTGC GCGTGCGGAG CGGAGCCCCC CGTGTTCACA  3969

CACACACAAT GGCAAGCATA GTCGCCTGGT TACGGCCCAG GGGGAAGATG CCAACGGCAC  4029

CCCTTAATGG AAACACGAGA TCAGTAGTGC TATCTCATGA CAACCGACGA AGAAAC      4085
```

【０１７９】
（２）配列番号：８の情報：
（ｉ）　配列の特色：
　（Ａ）長さ：１１８０アミノ酸
　（Ｂ）型：アミノ酸
　（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ｉｉ）分子の型：蛋白
（ｘｉ）配列：配列番号：８：

```
Met Val Leu Leu Leu Ile Leu Ser Val Leu Leu Trp Lys Glu Asp Val
 1               5                  10                  15

Arg Gly Ser Ala Gln Ser Ser Glu Arg Arg Val Val Ala His Met Pro
            20                  25                  30

Gly Asp Ile Ile Ile Gly Ala Leu Phe Ser Val His His Gln Pro Thr
        35                  40                  45

Val Asp Lys Val His Glu Arg Lys Cys Gly Ala Val Arg Glu Gln Tyr
    50                  55                  60

Gly Ile Gln Arg Val Glu Ala Met Leu His Thr Leu Glu Arg Ile Asn
65                  70                  75                  80

Ser Asp Pro Thr Leu Leu Pro Asn Ile Thr Leu Gly Cys Glu Ile Arg
                85                  90                  95

Asp Ser Cys Trp His Ser Ala Val Ala Leu Glu Gln Ser Ile Glu Phe
            100                 105                 110

Ile Arg Asp Ser Leu Ile Ser Ser Glu Glu Glu Glu Gly Leu Val Arg
        115                 120                 125

Cys Val Asp Gly Ser Ser Ser Ser Phe Arg Ser Lys Lys Pro Ile Val
    130                 135                 140

Gly Val Ile Gly Pro Gly Ser Ser Ser Val Ala Ile Gln Val Gln Asn
145                 150                 155                 160

Leu Leu Gln Leu Phe Asn Ile Pro Gln Ile Ala Tyr Ser Ala Thr Ser
                165                 170                 175

Met Asp Leu Ser Asp Lys Thr Leu Phe Lys Tyr Phe Met Arg Val Val
            180                 185                 190

Pro Ser Asp Ala Gln Gln Ala Arg Ala Met Val Asp Ile Val Lys Arg
        195                 200                 205

Tyr Asn Trp Thr Tyr Val Ser Ala Val His Thr Glu Gly Asn Tyr Gly
    210                 215                 220

Glu Ser Gly Met Glu Ala Ser Lys Asp Met Ser Ala Lys Glu Gly Ile
225                 230                 235                 240
```

Cys Ile Ala His Ser Tyr Lys Ile Tyr Ser Asn Ala Gly Glu Gln Ser
245 250 255

Phe Asp Lys Leu Leu Lys Lys Leu Thr Ser His Leu Pro Lys Ala Arg
260 265 270

Val Val Ala Cys Phe Cys Glu Gly Met Thr Val Arg Gly Leu Leu Met
275 280 285

Ala Met Arg Arg Leu Gly Leu Ala Gly Glu Phe Leu Leu Leu Gly Ser
290 295 300

Asp Gly Trp Ala Asp Arg Tyr Asp Val Thr Asp Gly Tyr Gln Arg Glu
305 310 315 320

Ala Val Gly Gly Ile Thr Ile Lys Leu Gln Ser Pro Asp Val Lys Trp
325 330 335

Phe Asp Asp Tyr Tyr Leu Lys Leu Arg Pro Glu Thr Asn His Arg Asn
340 345 350

Pro Trp Phe Gln Glu Phe Trp Gln His Arg Phe Gln Cys Arg Leu Glu
355 360 365

Ala Phe Pro Gln Glu Asn Ser Lys Tyr Asn Lys Thr Cys Asn Ser Ser
370 375 380

Leu Thr Leu Lys Thr His His Val Gln Asp Ser Lys Met Gly Phe Val
385 390 395 400

Ile Asn Ala Ile Tyr Ser Met Ala Tyr Gly Leu His Asn Met Gln Met
405 410 415

Ser Leu Cys Pro Gly Tyr Ala Gly Leu Cys Asp Ala Met Lys Pro Ile
420 425 430

Asp Gly Arg Lys Leu Leu Glu Ser Leu Met Lys Thr Asn Phe Thr Gly
435 440 445

Val Ser Gly Asp Thr Ile Leu Phe Asp Glu Asn Gly Asp Ser Pro Gly
450 455 460

Arg Tyr Glu Ile Met Asn Phe Lys Glu Met Gly Lys Asp Tyr Phe Asp
465 470 475 480

Tyr Ile Asn Val Gly Ser Trp Asp Asn Gly Glu Leu Lys Met Asp Asp
485 490 495

Asp Glu Val Trp Ser Lys Lys Ser Asn Ile Ile Arg Ser Val Cys Ser
500 505 510

Glu Pro Cys Glu Lys Gly Gln Ile Lys Val Ile Arg Lys Gly Glu Val
515 520 525

Ser Cys Cys Trp Thr Cys Thr Pro Cys Lys Glu Asn Glu Tyr Val Phe
530 535 540

Asp Glu Tyr Thr Cys Lys Ala Cys Gln Leu Gly Ser Trp Pro Thr Asp
545 550 555 560

Asp Leu Thr Gly Cys Asp Leu Ile Pro Val Gln Tyr Leu Arg Trp Gly
565 570 575

Asp Pro Glu Pro Ile Ala Ala Val Val Phe Ala Cys Leu Gly Leu Leu
580 585 590

Ala Thr Leu Phe Val Thr Val Val Phe Ile Ile Tyr Arg Asp Thr Pro
595 600 605

Val Val Lys Ser Ser Ser Arg Glu Leu Cys Tyr Ile Ile Leu Ala Gly
610 615 620

Ile Cys Leu Gly Tyr Leu Cys Thr Phe Cys Leu Ile Ala Lys Pro Lys
625 630 635 640

Gln Ile Tyr Cys Tyr Leu Gln Arg Ile Gly Ile Gly Leu Ser Pro Ala
645 650 655

Met Ser Tyr Ser Ala Leu Val Thr Lys Thr Asn Arg Ile Ala Arg Ile
660 665 670

Leu Ala Gly Ser Lys Lys Lys Ile Cys Thr Pro Lys Pro Arg Phe Met
675 680 685

Ser Ala Cys Ala Gln Leu Val Ile Ala Phe Ile Leu Ile Cys Ile Gln
690 695 700

Leu Gly Ile Ile Val Ala Leu Phe Ile Met Glu Pro Pro Asp Ile Met
705 710 715 720

His Asp Tyr Pro Ser Ile Arg Glu Val Tyr Leu Ile Cys Asn Thr Thr
725 730 735

Asn Leu Gly Val Val Thr Pro Leu Gly Asn Asn Gly Leu Leu Ile Leu
740 745 750

Ser Cys Thr Phe Tyr Ala Phe Lys Thr Arg Asn Val Pro Ala Asn Phe
755 760 765

Pro Glu Ala Lys Tyr Ile Ala Phe Thr Met Tyr Thr Thr Cys Ile Ile
770 775 780

Trp Leu Ala Phe Val Pro Ile Tyr Phe Gly Ser Asn Tyr Lys Ile Ile
785 790 795 800

Thr Met Cys Phe Ser Val Ser Leu Ser Ala Thr Val Ala Leu Gly Cys
805 810 815

Met Phe Val Pro Lys Val Tyr Ile Ile Leu Ala Lys Pro Glu Arg Asn
820 825 830

Val Arg Ser Ala Phe Thr Thr Ser Thr Val Val Arg Met His Val Gly
835 840 845

Asp Gly Lys Ser Ser Ser Ala Ala Ser Arg Ser Ser Ser Leu Val Asn
850 855 860

Leu Trp Lys Arg Arg Gly Ser Ser Gly Glu Thr Leu Ser Ser Asn Gly
865 870 875 880

Lys Ser Val Thr Trp Ala Gln Asn Glu Lys Ser Ser Arg Gly Gln His
885 890 895

Leu Trp Gln Arg Leu Ser Ile His Ile Asn Lys Lys Glu Asn Pro Asn
900 905 910

Gln Thr Ala Val Ile Lys Pro Phe Pro Lys Ser Thr Glu Ser Arg Gly
915 920 925

Leu Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Gly Ser Ala Gly Gly Val Gly Ala
930 935 940

```
Thr Gly Gly Ala Gly Cys Ala Gly Ala Gly Pro Gly Gly Pro Glu Ser
945                 950                 955                 960

Pro Asp Ala Gly Pro Lys Ala Leu Tyr Asp Val Ala Glu Ala Glu Glu
                965                 970                 975

His Phe Pro Ala Pro Ala Arg Pro Arg Ser Pro Ser Pro Ile Ser Thr
            980                 985                 990

Leu Ser His Arg Ala Gly Ser Ala Ser Arg Thr Asp Asp Asp Val Pro
        995                 1000                1005

Ser Leu His Ser Glu Pro Val Ala Arg Ser Ser Ser Ser Gln Gly Ser
    1010                1015                1020

Leu Met Glu Gln Ile Ser Ser Val Val Thr Arg Phe Thr Ala Asn Ile
1025                1030                1035                1040

Ser Glu Leu Asn Ser Met Met Leu Ser Thr Ala Ala Pro Ser Pro Gly
                1045                1050                1055

Val Gly Ala Pro Leu Cys Ser Ser Tyr Leu Ile Pro Lys Glu Ile Gln
            1060                1065                1070

Leu Pro Thr Thr Met Thr Thr Phe Ala Glu Ile Gln Pro Leu Pro Ala
        1075                1080                1085

Ile Glu Val Thr Gly Gly Ala Gln Pro Ala Ala Gly Ala Gln Ala Ala
    1090                1095                1100

Gly Asp Ala Ala Arg Glu Ser Pro Ala Ala Gly Pro Glu Ala Ala Ala
1105                1110                1115                1120

Ala Lys Pro Asp Leu Glu Glu Leu Val Ala Leu Thr Pro Pro Ser Pro
                1125                1130                1135

Phe Arg Asp Ser Val Asp Ser Gly Ser Thr Thr Pro Asn Ser Pro Val
            1140                1145                1150

Ser Glu Ser Ala Leu Cys Ile Pro Ser Ser Pro Lys Tyr Asp Thr Leu
        1155                1160                1165

Ile Ile Arg Asp Tyr Thr Gln Ser Ser Ser Ser Leu
    1170                1175                1180
```

【０１８０】

（２）配列番号：９の情報：

（ｉ）　配列の特色：

（Ａ）長さ：４１８１塩基対

（Ｂ）型：核酸

（Ｃ）鎖の数：両形態

（Ｄ）トポロジー：両形態

（ｉｉ）分子の型：ｃＤＮＡ

（ｉｘ）配列の特徴：

（Ａ）名称／記号：ＣＤＳ

（Ｂ）存在位置：３７０．．４００８

（Ｄ）他の情報：／生成物＝“ヒトｍＧｌｕＲ５Ｂ”／注＝“ヌクレオチド２９９８と２９９９の間に９６塩基対が挿入されたｍＧｌｕＲ５Ａ変種”

（ｘｉ）配列：配列番号：９：

```
CAGCTCGGCT GTTCTGGGCA CGCTGAGCGG AGGGAATGAG CTTGAGATCA TCTTGGGGGG    60

GAAGCCGGGG ACTGGAGAGC CCGGCTCTGC CCTGCTGATC CCCGTGGCCC AACTTTTCGG   120

GGGGCTAGCT AGACCGAGTC TCACTGCTCG CAGCGCAGCC AACAGGGGGG TTTAGAAGAT   180

CATGACCACA TGGATCATCT AACTAAATGG TACATGGGGA CAAAATGGTC CTTTAGAAAA   240

TACATCTGAA TTGCTGGCTA ATTTCTTGAT TTGCGACTCA ACGTAGGACA TCGCTTGTTC   300

GTAGCTATCA GAACCCTCCT GAATTTTCCC CACCATGCTA TCTTTATTGG CTTGAACTCC   360

TTTCCTAAA ATG GTC CTT CTG TTG ATC CTG TCA GTC TTA CTT TGG AAA        408
         Met Val Leu Leu Leu Ile Leu Ser Val Leu Leu Trp Lys
           1               5                  10

GAA GAT GTC CGT GGG AGT GCA CAG TCC AGT GAG AGG AGG GTG GTG GCT      456
Glu Asp Val Arg Gly Ser Ala Gln Ser Ser Glu Arg Arg Val Val Ala
     15                  20                  25

CAC ATG CCG GGT GAC ATC ATT ATT GGA GCT CTG TTT TCT GTT CAT CAC      504
His Met Pro Gly Asp Ile Ile Ile Gly Ala Leu Phe Ser Val His His
 30                  35                  40                  45

CAG CCT ACT GTG GAC AAA GTT CAT GAG AGG AAG TGT GGG GCG GTC CGT      552
Gln Pro Thr Val Asp Lys Val His Glu Arg Lys Cys Gly Ala Val Arg
                50                  55                  60

GAA CAG TAT GGC ATT CAG AGA GTG GAG GCC ATG CTG CAT ACC CTG GAA      600
Glu Gln Tyr Gly Ile Gln Arg Val Glu Ala Met Leu His Thr Leu Glu
           65                  70                  75

AGG ATC AAT TCA GAC CCC ACA CTC TTG CCC AAC ATC ACA CTG GGC TGT      648
Arg Ile Asn Ser Asp Pro Thr Leu Leu Pro Asn Ile Thr Leu Gly Cys
      80                  85                  90

GAG ATA AGG GAC TCC TGC TGG CAT TCG GCT GTG GCC CTA GAG CAG AGC      696
Glu Ile Arg Asp Ser Cys Trp His Ser Ala Val Ala Leu Glu Gln Ser
 95                  100                 105

ATT GAG TTC ATA AGA GAT TCC CTC ATT TCT TCA GAA GAG GAA GAA GGC      744
Ile Glu Phe Ile Arg Asp Ser Leu Ile Ser Ser Glu Glu Glu Glu Gly
110                 115                 120                 125

TTG GTA CGC TGT GTG GAT GGC TCC TCC TCT TCC TTC CGC TCC AAG AAG      792
Leu Val Arg Cys Val Asp Gly Ser Ser Ser Ser Phe Arg Ser Lys Lys
                130                 135                 140

CCC ATA GTA GGG GTC ATT GGG CCT GGC TCC AGT TCT GTA GCC ATT CAG      840
Pro Ile Val Gly Val Ile Gly Pro Gly Ser Ser Ser Val Ala Ile Gln
           145                 150                 155

GTC CAG AAT TTG CTC CAG CTT TTC AAC ATA CCT CAG ATT GCT TAC TCA      888
Val Gln Asn Leu Leu Gln Leu Phe Asn Ile Pro Gln Ile Ala Tyr Ser
      160                 165                 170

GCA ACC AGC ATG GAT CTG AGT GAC AAG ACT CTG TTC AAA TAT TTC ATG      936
Ala Thr Ser Met Asp Leu Ser Asp Lys Thr Leu Phe Lys Tyr Phe Met
 175                 180                 185

AGG GTT GTG CCT TCA GAT GCT CAG CAG GCA AGG GCC ATG GTG GAC ATA      984
Arg Val Val Pro Ser Asp Ala Gln Gln Ala Arg Ala Met Val Asp Ile
190                 195                 200                 205
```

```
GTG AAG AGG TAC AAC TGG ACC TAT GTA TCA GCC GTG CAC ACA GAA GGC    1032
Val Lys Arg Tyr Asn Trp Thr Tyr Val Ser Ala Val His Thr Glu Gly
                210                 215                 220

AAC TAT GGA GAA AGT GGG ATG GAA GCC TCC AAA GAT ATG TCA GCG AAG    1080
Asn Tyr Gly Glu Ser Gly Met Glu Ala Ser Lys Asp Met Ser Ala Lys
            225                 230                 235

GAA GGG ATT TGC ATC GCC CAC TCT TAC AAA ATC TAC AGT AAT GCA GGG    1128
Glu Gly Ile Cys Ile Ala His Ser Tyr Lys Ile Tyr Ser Asn Ala Gly
        240                 245                 250

GAG CAG AGC TTT GAT AAG CTG CTG AAG AAG CTC ACA AGT CAC TTG CCC    1176
Glu Gln Ser Phe Asp Lys Leu Leu Lys Lys Leu Thr Ser His Leu Pro
    255                 260                 265

AAG GCC CGG GTG GTG GCC TGC TTC TGT GAG GGC ATG ACG GTG AGA GGT    1224
Lys Ala Arg Val Val Ala Cys Phe Cys Glu Gly Met Thr Val Arg Gly
270                 275                 280                 285

CTG CTC ATG GCC ATG AGG CGC CTG GGT CTA GCC GGA GAA TTT CTG CTT    1272
Leu Leu Met Ala Met Arg Arg Leu Gly Leu Ala Gly Glu Phe Leu Leu
                290                 295                 300

CTG GGC AGT GAT GGC TGG GCT GAC AGG TAT GAT GTG ACA GAT GGA TAT    1320
Leu Gly Ser Asp Gly Trp Ala Asp Arg Tyr Asp Val Thr Asp Gly Tyr
            305                 310                 315

CAG CGA GAA GCT GTT GGT GGC ATC ACA ATC AAG CTC CAA TCT CCC GAT    1368
Gln Arg Glu Ala Val Gly Gly Ile Thr Ile Lys Leu Gln Ser Pro Asp
        320                 325                 330

GTC AAG TGG TTT GAT GAT TAT TAT CTG AAG CTC CGG CCA GAA ACA AAC    1416
Val Lys Trp Phe Asp Asp Tyr Tyr Leu Lys Leu Arg Pro Glu Thr Asn
    335                 340                 345

CAC CGA AAC CCT TGG TTT CAA GAA TTT TGG CAG CAT CGT TTT CAG TGC    1464
His Arg Asn Pro Trp Phe Gln Glu Phe Trp Gln His Arg Phe Gln Cys
350                 355                 360                 365

CGA CTG GAA GCG TTT CCA CAG GAG AAC AGC AAA TAC AAC AAG ACT TGC    1512
Arg Leu Glu Ala Phe Pro Gln Glu Asn Ser Lys Tyr Asn Lys Thr Cys
                370                 375                 380

AAT AGT TCT CTG ACT CTG AAA ACA CAT CAT GTT CAG GAT TCC AAA ATG    1560
Asn Ser Ser Leu Thr Leu Lys Thr His His Val Gln Asp Ser Lys Met
            385                 390                 395

GGA TTT GTG ATC AAC GCC ATC TAT TCG ATG GCC TAT GGG CTC CAC AAC    1608
Gly Phe Val Ile Asn Ala Ile Tyr Ser Met Ala Tyr Gly Leu His Asn
        400                 405                 410

ATG CAG ATG TCC CTC TGC CCA GGC TAT GCA GGA CTC TCT GAT GCC ATG    1656
Met Gln Met Ser Leu Cys Pro Gly Tyr Ala Gly Leu Cys Asp Ala Met
    415                 420                 425

AAG CCA ATT GAT GGA CGG AAA CTT TTG GAG TCC CTG ATG AAA ACC AAT    1704
Lys Pro Ile Asp Gly Arg Lys Leu Leu Glu Ser Leu Met Lys Thr Asn
430                 435                 440                 445

TTT ACT GGG GTT TCT GGA GAT ACG ATC CTA TTC GAT GAG AAT GGA GAC    1752
Phe Thr Gly Val Ser Gly Asp Thr Ile Leu Phe Asp Glu Asn Gly Asp
                450                 455                 460

TCT CCA GGA AGG TAT GAA ATA ATG AAT TTC AAG GAA ATG GGA AAA GAT    1800
Ser Pro Gly Arg Tyr Glu Ile Met Asn Phe Lys Glu Met Gly Lys Asp
            465                 470                 475
```

```
TAC TTT GAT TAT ATC AAC GTT GGA AGT TGG GAC AAT GGA GAA TTA AAA    1848
Tyr Phe Asp Tyr Ile Asn Val Gly Ser Trp Asp Asn Gly Glu Leu Lys
        480                 485                 490

ATG GAT GAT GAT GAA GTA TGG TCC AAG AAA AGC AAC ATC ATC AGA TCT    1896
Met Asp Asp Asp Glu Val Trp Ser Lys Lys Ser Asn Ile Ile Arg Ser
    495                 500                 505

GTG TGC AGT GAA CCA TGT GAG AAA GGC CAG ATC AAG GTG ATC CGA AAG    1944
Val Cys Ser Glu Pro Cys Glu Lys Gly Gln Ile Lys Val Ile Arg Lys
510                 515                 520                 525

GGA GAA GTC AGC TGT TGT TGG ACC TGT ACA CCT TGT AAG GAG AAT GAG    1992
Gly Glu Val Ser Cys Cys Trp Thr Cys Thr Pro Cys Lys Glu Asn Glu
                530                 535                 540

TAT GTC TTT GAT GAG TAC ACA TGC AAG GCA TGC CAA CTG GGG TCT TGG    2040
Tyr Val Phe Asp Glu Tyr Thr Cys Lys Ala Cys Gln Leu Gly Ser Trp
            545                 550                 555

CCC ACT GAT GAT CTC ACA GGT TGT GAC TTG ATC CCA GTA CAG TAT CTT    2088
Pro Thr Asp Asp Leu Thr Gly Cys Asp Leu Ile Pro Val Gln Tyr Leu
        560                 565                 570

CGA TGG GGT GAC CCT GAA CCC ATT GCA GCT GTG GTG TTT GCC TGC CTT    2136
Arg Trp Gly Asp Pro Glu Pro Ile Ala Ala Val Val Phe Ala Cys Leu
    575                 580                 585

GGC CTG CTG GCC ACC CTG TTT GTT ACT GTA GTC TTC ATC ATT TAC CGT    2184
Gly Leu Leu Ala Thr Leu Phe Val Thr Val Val Phe Ile Ile Tyr Arg
590                 595                 600                 605

GAT ACA CCA GTA GTC AAG TCC TCA AGC AGG GAA CTC TGC TAC ATT ATC    2232
Asp Thr Pro Val Val Lys Ser Ser Ser Arg Glu Leu Cys Tyr Ile Ile
                610                 615                 620

CTT GCT GGC ATC TGC CTG GGC TAC TTA TGT ACC TTC TGC CTC ATT GCG    2280
Leu Ala Gly Ile Cys Leu Gly Tyr Leu Cys Thr Phe Cys Leu Ile Ala
            625                 630                 635

AAG CCC AAA CAG ATT TAC TGC TAC CTT CAG AGA ATT GGC ATT GGT CTC    2328
Lys Pro Lys Gln Ile Tyr Cys Tyr Leu Gln Arg Ile Gly Ile Gly Leu
        640                 645                 650

TCC CCA GCC ATG AGC TAC TCA GCC CTT GTA ACA AAG ACC AAC CGT ATT    2376
Ser Pro Ala Met Ser Tyr Ser Ala Leu Val Thr Lys Thr Asn Arg Ile
    655                 660                 665

GCA AGG ATC CTG GCT GGC AGC AAG AAG AAG ATC TGT ACC CCC AAG CCC    2424
Ala Arg Ile Leu Ala Gly Ser Lys Lys Lys Ile Cys Thr Pro Lys Pro
670                 675                 680                 685

AGA TTC ATG AGT GCC TGT GCC CAG CTA GTG ATT GCT TTC ATT CTC ATA    2472
Arg Phe Met Ser Ala Cys Ala Gln Leu Val Ile Ala Phe Ile Leu Ile
                690                 695                 700

TGC ATC CAG TTG GGC ATC ATC GTT GCC CTC TTT ATA ATG GAG CCT CCT    2520
Cys Ile Gln Leu Gly Ile Ile Val Ala Leu Phe Ile Met Glu Pro Pro
            705                 710                 715

GAC ATA ATG CAT GAC TAC CCA AGC ATT CGA GAA GTC TAC CTG ATC TGT    2568
Asp Ile Met His Asp Tyr Pro Ser Ile Arg Glu Val Tyr Leu Ile Cys
        720                 725                 730

AAC ACC ACC AAC CTA GGA GTT GTC ACT CCA CTT GGA AAC AAT GGA TTG    2616
Asn Thr Thr Asn Leu Gly Val Val Thr Pro Leu Gly Asn Asn Gly Leu
    735                 740                 745
```

```
TTG ATT TTG AGC TGC ACC TTC TAT GCG TTC AAG ACC AGA AAT GTT CCA    2664
Leu Ile Leu Ser Cys Thr Phe Tyr Ala Phe Lys Thr Arg Asn Val Pro
750                 755                 760                 765

GCT AAC TTC CCC GAG GCC AAG TAT ATC GCC TTC ACA ATG TAC ACG ACC    2712
Ala Asn Phe Pro Glu Ala Lys Tyr Ile Ala Phe Thr Met Tyr Thr Thr
                770                 775                 780

TGC ATT ATA TGG CTA GCT TTT GTT CCA ATC TAC TTT GGC AGC AAC TAC    2760
Cys Ile Ile Trp Leu Ala Phe Val Pro Ile Tyr Phe Gly Ser Asn Tyr
            785                 790                 795

AAA ATC ATC ACC ATG TGT TTC TCG GTC AGC CTC AGT GCC ACA GTG GCC    2808
Lys Ile Ile Thr Met Cys Phe Ser Val Ser Leu Ser Ala Thr Val Ala
        800                 805                 810

CTA GGC TGC ATG TTT GTG CCG AAG GTG TAC ATC ATC CTG GCC AAA CCA    2856
Leu Gly Cys Met Phe Val Pro Lys Val Tyr Ile Ile Leu Ala Lys Pro
    815                 820                 825

GAG AGA AAC GTG CGC AGC GCC TTC ACC ACA TCT ACC GTG GTG CGC ATG    2904
Glu Arg Asn Val Arg Ser Ala Phe Thr Thr Ser Thr Val Val Arg Met
830                 835                 840                 845

CAT GTA GGG GAT GGC AAG TCA TCC TCC GCA GCC AGC AGA TCC AGC AGC    2952
His Val Gly Asp Gly Lys Ser Ser Ser Ala Ala Ser Arg Ser Ser Ser
                850                 855                 860

CTA GTC AAC CTG TGG AAG AGA AGG GGC TCC TCT GGG GAA ACC TTA AGG    3000
Leu Val Asn Leu Trp Lys Arg Arg Gly Ser Ser Gly Glu Thr Leu Arg
            865                 870                 875

TAC AAA GAC AGG AGA CTG GCC CAG CAC AAG TCG GAA ATA GAG TGT TTC    3048
Tyr Lys Asp Arg Arg Leu Ala Gln His Lys Ser Glu Ile Glu Cys Phe
        880                 885                 890

ACC CCC AAA GGG AGT ATG GGG AAT GGT GGG AGA GCA ACA ATG AGC AGT    3096
Thr Pro Lys Gly Ser Met Gly Asn Gly Gly Arg Ala Thr Met Ser Ser
    895                 900                 905

TCC AAT GGA AAA TCC GTC ACG TGG GCC CAG AAT GAG AAG AGC AGC CGG    3144
Ser Asn Gly Lys Ser Val Thr Trp Ala Gln Asn Glu Lys Ser Ser Arg
910                 915                 920                 925

GGG CAG CAC CTG TGG CAG CGC CTG TCC ATC CAC ATC AAC AAG AAA GAA    3192
Gly Gln His Leu Trp Gln Arg Leu Ser Ile His Ile Asn Lys Lys Glu
                930                 935                 940

AAC CCC AAC CAA ACG GCC GTC ATC AAG CCC TTC CCC AAG AGC ACG GAG    3240
Asn Pro Asn Gln Thr Ala Val Ile Lys Pro Phe Pro Lys Ser Thr Glu
            945                 950                 955

AGC CGT GGC CTG GGC GCT GGC GCT GGC GCA GGC GGG AGC GCT GGG GGC    3288
Ser Arg Gly Leu Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Gly Ser Ala Gly Gly
        960                 965                 970

GTG GGG GCC ACG GGC GGT GCG GGC TGC GCA GGC GCC GGC CCA GGC GGC    3336
Val Gly Ala Thr Gly Gly Ala Gly Cys Ala Gly Ala Gly Pro Gly Gly
    975                 980                 985

CCC GAG TCC CCA GAC GCC GGC CCC AAG GCG CTG TAT GAT GTG GCC GAG    3384
Pro Glu Ser Pro Asp Ala Gly Pro Lys Ala Leu Tyr Asp Val Ala Glu
990                 995                 1000                1005

GCT GAG GAG CAC TTC CCG GCG CCC GCG CGC CCG CGC TCA CCG TCG CCC    3432
Ala Glu Glu His Phe Pro Ala Pro Ala Arg Pro Arg Ser Pro Ser Pro
                1010                1015                1020
```

```
ATC AGC ACG CTG AGC CAC CGC GCG GGC TCG GCC AGC CGC ACG GAC GAC    3480
Ile Ser Thr Leu Ser His Arg Ala Gly Ser Ala Ser Arg Thr Asp Asp
            1025                1030                1035

GAT GTG CCG TCG CTG CAC TCG GAG CCT GTG GCG CGC AGC AGC TCC TCG    3528
Asp Val Pro Ser Leu His Ser Glu Pro Val Ala Arg Ser Ser Ser Ser
        1040                1045                1050

CAG GGC TCC CTC ATG GAG CAG ATC AGC AGT GTG GTC ACC CGC TTC ACG    3576
Gln Gly Ser Leu Met Glu Gln Ile Ser Ser Val Val Thr Arg Phe Thr
    1055                1060                1065

GCC AAC ATC AGC GAG CTC AAC TCC ATG ATG CTG TCC ACC GCG GCC CCC    3624
Ala Asn Ile Ser Glu Leu Asn Ser Met Met Leu Ser Thr Ala Ala Pro
1070                1075                1080                1085

AGC CCC GGC GTC GGC GCC CCG CTC TGC TCG TCC TAC CTG ATC CCC AAA    3672
Ser Pro Gly Val Gly Ala Pro Leu Cys Ser Ser Tyr Leu Ile Pro Lys
                1090                1095                1100

GAG ATC CAG TTG CCC ACG ACC ATG ACG ACC TTT GCC GAA ATC CAG CCT    3720
Glu Ile Gln Leu Pro Thr Thr Met Thr Thr Phe Ala Glu Ile Gln Pro
            1105                1110                1115

CTG CCG GCC ATC GAA GTC ACG GGC GGC GCT CAG CCC GCG GCA GGG GCG    3768
Leu Pro Ala Ile Glu Val Thr Gly Gly Ala Gln Pro Ala Ala Gly Ala
        1120                1125                1130

CAG GCG GCT GGG GAC GCG GCC CGG GAG AGC CCC GCG GCC GGT CCC GAG    3816
Gln Ala Ala Gly Asp Ala Ala Arg Glu Ser Pro Ala Ala Gly Pro Glu
    1135                1140                1145

GCT GCG GCC GCC AAG CCA GAC CTG GAG GAG CTG GTG GCT CTC ACC CCG    3864
Ala Ala Ala Ala Lys Pro Asp Leu Glu Glu Leu Val Ala Leu Thr Pro
1150                1155                1160                1165

CCG TCC CCC TTC AGA GAC TCG GTG GAC TCG GGG AGC ACA ACC CCC AAC    3912
Pro Ser Pro Phe Arg Asp Ser Val Asp Ser Gly Ser Thr Thr Pro Asn
                1170                1175                1180

TCG CCA GTG TCC GAG TCG GCC CTC TGT ATC CCG TCG TCT CCC AAA TAT    3960
Ser Pro Val Ser Glu Ser Ala Leu Cys Ile Pro Ser Ser Pro Lys Tyr
            1185                1190                1195

GAC ACT CTT ATC ATA AGA GAT TAC ACT CAG AGC TCC TCG TCG TTG        4005
Asp Thr Leu Ile Ile Arg Asp Tyr Thr Gln Ser Ser Ser Ser Leu
        1200                1205                1210

TGAATGTCCC TGGAAAGCAC GCCGGCCTGC GCGTCCGGAG CGGAGCCCCC CGTGTTCACA  4065

CACACACAAT GGCAAGCATA GTCGCCTGGT TACGGCCCAG GGGGAAGATG CCAAGGGCAC  4125

CCCTTAATGG AAACACGAGA TCAGTAGTGC TATCTCATGA CAACCGACGA AGAAAC      4181
```

【０１８１】

（２）配列番号：１０の情報：

（ｉ）　配列の特色：

（Ａ）長さ：１２１２アミノ酸

（Ｂ）型：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ｉｉ）分子の型：蛋白

（ｘｉ）配列：配列番号：１０：

```
Met Val Leu Leu Leu Ile Leu Ser Val Leu Leu Trp Lys Glu Asp Val
 1               5                  10                  15

Arg Gly Ser Ala Gln Ser Ser Glu Arg Arg Val Val Ala His Met Pro
            20                  25                  30

Gly Asp Ile Ile Ile Gly Ala Leu Phe Ser Val His His Gln Pro Thr
        35                  40                  45

Val Asp Lys Val His Glu Arg Lys Cys Gly Ala Val Arg Glu Gln Tyr
    50                  55                  60

Gly Ile Gln Arg Val Glu Ala Met Leu His Thr Leu Glu Arg Ile Asn
65                  70                  75                  80

Ser Asp Pro Thr Leu Leu Pro Asn Ile Thr Leu Gly Cys Glu Ile Arg
                85                  90                  95

Asp Ser Cys Trp His Ser Ala Val Ala Leu Glu Gln Ser Ile Glu Phe
            100                 105                 110

Ile Arg Asp Ser Leu Ile Ser Ser Glu Glu Glu Glu Gly Leu Val Arg
        115                 120                 125

Cys Val Asp Gly Ser Ser Ser Ser Phe Arg Ser Lys Lys Pro Ile Val
    130                 135                 140

Gly Val Ile Gly Pro Gly Ser Ser Ser Val Ala Ile Gln Val Gln Asn
145                 150                 155                 160

Leu Leu Gln Leu Phe Asn Ile Pro Gln Ile Ala Tyr Ser Ala Thr Ser
                165                 170                 175

Met Asp Leu Ser Asp Lys Thr Leu Phe Lys Tyr Phe Met Arg Val Val
            180                 185                 190

Pro Ser Asp Ala Gln Gln Ala Arg Ala Met Val Asp Ile Val Lys Arg
        195                 200                 205

Tyr Asn Trp Thr Tyr Val Ser Ala Val His Thr Glu Gly Asn Tyr Gly
    210                 215                 220

Glu Ser Gly Met Glu Ala Ser Lys Asp Met Ser Ala Lys Glu Gly Ile
225                 230                 235                 240

Cys Ile Ala His Ser Tyr Lys Ile Tyr Ser Asn Ala Gly Glu Gln Ser
                245                 250                 255

Phe Asp Lys Leu Leu Lys Lys Leu Thr Ser His Leu Pro Lys Ala Arg
            260                 265                 270

Val Val Ala Cys Phe Cys Glu Gly Met Thr Val Arg Gly Leu Leu Met
        275                 280                 285

Ala Met Arg Arg Leu Gly Leu Ala Gly Glu Phe Leu Leu Leu Gly Ser
    290                 295                 300

Asp Gly Trp Ala Asp Arg Tyr Asp Val Thr Asp Gly Tyr Gln Arg Glu
305                 310                 315                 320

Ala Val Gly Gly Ile Thr Ile Lys Leu Gln Ser Pro Asp Val Lys Trp
                325                 330                 335

Phe Asp Asp Tyr Tyr Leu Lys Leu Arg Pro Glu Thr Asn His Arg Asn
            340                 345                 350
```

Pro Trp Phe Gln Glu Phe Trp Gln His Arg Phe Gln Cys Arg Leu Glu
355 360 365

Ala Phe Pro Gln Glu Asn Ser Lys Tyr Asn Lys Thr Cys Asn Ser Ser
370 375 380

Leu Thr Leu Lys Thr His His Val Gln Asp Ser Lys Met Gly Phe Val
385 390 395 400

Ile Asn Ala Ile Tyr Ser Met Ala Tyr Gly Leu His Asn Met Gln Met
405 410 415

Ser Leu Cys Pro Gly Tyr Ala Gly Leu Cys Asp Ala Met Lys Pro Ile
420 425 430

Asp Gly Arg Lys Leu Leu Glu Ser Leu Met Lys Thr Asn Phe Thr Gly
435 440 445

Val Ser Gly Asp Thr Ile Leu Phe Asp Glu Asn Gly Asp Ser Pro Gly
450 455 460

Arg Tyr Glu Ile Met Asn Phe Lys Glu Met Gly Lys Asp Tyr Phe Asp
465 470 475 480

Tyr Ile Asn Val Gly Ser Trp Asp Asn Gly Glu Leu Lys Met Asp Asp
485 490 495

Asp Glu Val Trp Ser Lys Lys Ser Asn Ile Ile Arg Ser Val Cys Ser
500 505 510

Glu Pro Cys Glu Lys Gly Gln Ile Lys Val Ile Arg Lys Gly Glu Val
515 520 525

Ser Cys Cys Trp Thr Cys Thr Pro Cys Lys Glu Asn Glu Tyr Val Phe
530 535 540

Asp Glu Tyr Thr Cys Lys Ala Cys Gln Leu Gly Ser Trp Pro Thr Asp
545 550 555 560

Asp Leu Thr Gly Cys Asp Leu Ile Pro Val Gln Tyr Leu Arg Trp Gly
565 570 575

Asp Pro Glu Pro Ile Ala Ala Val Val Phe Ala Cys Leu Gly Leu Leu
580 585 590

Ala Thr Leu Phe Val Thr Val Val Phe Ile Ile Tyr Arg Asp Thr Pro
595 600 605

Val Val Lys Ser Ser Ser Arg Glu Leu Cys Tyr Ile Ile Leu Ala Gly
610 615 620

Ile Cys Leu Gly Tyr Leu Cys Thr Phe Cys Leu Ile Ala Lys Pro Lys
625 630 635 640

Gln Ile Tyr Cys Tyr Leu Gln Arg Ile Gly Ile Gly Leu Ser Pro Ala
645 650 655

Met Ser Tyr Ser Ala Leu Val Thr Lys Thr Asn Arg Ile Ala Arg Ile
660 665 670

Leu Ala Gly Ser Lys Lys Lys Ile Cys Thr Pro Lys Pro Arg Phe Met
675 680 685

Ser Ala Cys Ala Gln Leu Val Ile Ala Phe Ile Leu Ile Cys Ile Gln
690 695 700

Leu Gly Ile Ile Val Ala Leu Phe Ile Met Glu Pro Pro Asp Ile Met
705 710 715 720

His Asp Tyr Pro Ser Ile Arg Glu Val Tyr Leu Ile Cys Asn Thr Thr
725 730 735

Asn Leu Gly Val Val Thr Pro Leu Gly Asn Asn Gly Leu Leu Ile Leu
740 745 750

Ser Cys Thr Phe Tyr Ala Phe Lys Thr Arg Asn Val Pro Ala Asn Phe
755 760 765

Pro Glu Ala Lys Tyr Ile Ala Phe Thr Met Tyr Thr Thr Cys Ile Ile
770 775 780

Trp Leu Ala Phe Val Pro Ile Tyr Phe Gly Ser Asn Tyr Lys Ile Ile
785 790 795 800

Thr Met Cys Phe Ser Val Ser Leu Ser Ala Thr Val Ala Leu Gly Cys
805 810 815

Met Phe Val Pro Lys Val Tyr Ile Ile Leu Ala Lys Pro Glu Arg Asn
820 825 830

Val Arg Ser Ala Phe Thr Thr Ser Thr Val Val Arg Met His Val Gly
835 840 845

Asp Gly Lys Ser Ser Ser Ala Ala Ser Arg Ser Ser Ser Leu Val Asn
850 855 860

Leu Trp Lys Arg Arg Gly Ser Ser Gly Glu Thr Leu Arg Tyr Lys Asp
865 870 875 880

Arg Arg Leu Ala Gln His Lys Ser Glu Ile Glu Cys Phe Thr Pro Lys
885 890 895

Gly Ser Met Gly Asn Gly Gly Arg Ala Thr Met Ser Ser Ser Asn Gly
900 905 910

Lys Ser Val Thr Trp Ala Gln Asn Glu Lys Ser Ser Arg Gly Gln His
915 920 925

Leu Trp Gln Arg Leu Ser Ile His Ile Asn Lys Lys Glu Asn Pro Asn
930 935 940

Gln Thr Ala Val Ile Lys Pro Phe Pro Lys Ser Thr Glu Ser Arg Gly
945 950 955 960

Leu Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Gly Ser Ala Gly Gly Val Gly Ala
965 970 975

Thr Gly Gly Ala Gly Cys Ala Gly Ala Gly Pro Gly Gly Pro Glu Ser
980 985 990

Pro Asp Ala Gly Pro Lys Ala Leu Tyr Asp Val Ala Glu Ala Glu Glu
995 1000 1005

His Phe Pro Ala Pro Ala Arg Pro Arg Ser Pro Ser Pro Ile Ser Thr
1010 1015 1020

Leu Ser His Arg Ala Gly Ser Ala Ser Arg Thr Asp Asp Asp Val Pro
1025 1030 1035 1040

Ser Leu His Ser Glu Pro Val Ala Arg Ser Ser Ser Ser Gln Gly Ser
1045 1050 1055

```
Leu Met Glu Gln Ile Ser Ser Val Val Thr Arg Phe Thr Ala Asn Ile
            1060                1065                1070

Ser Glu Leu Asn Ser Met Met Leu Ser Thr Ala Ala Pro Ser Pro Gly
        1075                1080                1085

Val Gly Ala Pro Leu Cys Ser Ser Tyr Leu Ile Pro Lys Glu Ile Gln
    1090                1095                1100

Leu Pro Thr Thr Met Thr Thr Phe Ala Glu Ile Gln Pro Leu Pro Ala
1105                1110                1115                1120

Ile Glu Val Thr Gly Gly Ala Gln Pro Ala Ala Gly Ala Gln Ala Ala
                1125                1130                1135

Gly Asp Ala Ala Arg Glu Ser Pro Ala Ala Gly Pro Glu Ala Ala Ala
            1140                1145                1150

Ala Lys Pro Asp Leu Glu Glu Leu Val Ala Leu Thr Pro Pro Ser Pro
        1155                1160                1165

Phe Arg Asp Ser Val Asp Ser Gly Ser Thr Thr Pro Asn Ser Pro Val
    1170                1175                1180

Ser Glu Ser Ala Leu Cys Ile Pro Ser Ser Pro Lys Tyr Asp Thr Leu
1185                1190                1195                1200

Ile Ile Arg Asp Tyr Thr Gln Ser Ser Ser Ser Leu
                1205                1210
```

【０１８２】

（２）配列番号：１１の情報：

（ｉ）　配列の特色：

（Ａ）長さ：３２８２塩基対

（Ｂ）型：核酸

（Ｃ）鎖の数：両形態

（Ｄ）トポロジー：両形態

（ｉｉ）分子の型：ｃＤＮＡ

（ｉｘ）配列の特徴：

（Ａ）名称／記号：ＣＤＳ

（Ｂ）存在位置：３７０．．３００３

（Ｄ）他の情報：／生成物＝“ヒトｍＧｌｕＲ５Ｃ”／注＝“３’末端が切り取られたｍＧｌｕＲ５ａの変種”

（ｘｉ）配列：配列番号：１１：

```
CAGCTCGGCT GTTCTCCGCA CGCTGACCCG AGGGAATGAG CTTGAGATCA TCTTGGGGGC    60

GAAGCCGGGG ACTCGAGAGC CCGGCTCTGC CCTGCTGATC CCCGTGCCCC AACTTTTCGG   120

GGGGCTAGCT AGACCGAGTC TCAGTGCTCG CAGCGCACCC AACAGGGGGG TTTAGAAGAT   180

CATGACCACA TGCATCATCT AACTAAATCC TACATGGGCA CAAAATGGTC CTTTAGAAAA   240

TACATCTGAA TTGCTGGCTA ATTTCTTGAT TTGCGAGTCA ACGTAGGACA TCGCTTGTTC   300

GTAGCTATCA GAACCCTCCT CAATTTTCCC CACCATGCTA TCTTTATTGG CTTGAACTCC   360

TTTCCTAAA ATG GTC CTT CTG TTG ATC CTC TCA GTC TTA CTT TGG AAA        408
         Met Val Leu Leu Leu Ile Leu Ser Val Leu Leu Trp Lys
           1               5                  10
```

```
GAA GAT GTC CGT GGG AGT GCA CAG TCC AGT GAG AGG AGG GTC GTG GCT      456
Glu Asp Val Arg Gly Ser Ala Gln Ser Ser Glu Arg Arg Val Val Ala
 15                  20                  25

CAC ATC CCG GGT GAC ATC ATT ATT GGA GCT CTC TTT TCT GTT CAT CAC      504
His Met Pro Gly Asp Ile Ile Ile Gly Ala Leu Phe Ser Val His His
 30                  35                  40                  45

CAG CCT ACT GTG GAC AAA GTT CAT GAG AGG AAG TGT GGG GCG GTC CGT      552
Gln Pro Thr Val Asp Lys Val His Glu Arg Lys Cys Gly Ala Val Arg
             50                  55                  60

GAA CAC TAT GGC ATT CAG AGA GTG GAG GCC ATG CTG CAT ACC CTG GAA      600
Glu Gln Tyr Gly Ile Gln Arg Val Glu Ala Met Leu His Thr Leu Glu
         65                  70                  75

AGG ATC AAT TCA GAC CCC ACA CTC TTG CCC AAC ATC ACA CTG GGC TGT      648
Arg Ile Asn Ser Asp Pro Thr Leu Leu Pro Asn Ile Thr Leu Gly Cys
     80                  85                  90

GAG ATA AGG GAC TCC TGC TGG CAT TCG GCT GTG GCC CTA GAG CAG AGC      696
Glu Ile Arg Asp Ser Cys Trp His Ser Ala Val Ala Leu Glu Gln Ser
 95                  100                 105

ATT GAG TTC ATA AGA GAT TCC CTC ATT TCT TCA GAA GAG GAA GAA GGC      744
Ile Glu Phe Ile Arg Asp Ser Leu Ile Ser Ser Glu Glu Glu Glu Gly
110                 115                 120                 125

TTG GTA CGC TGT GTG GAT GGC TCC TCC TCT TCC TTC CGC TCC AAG AAG      792
Leu Val Arg Cys Val Asp Gly Ser Ser Ser Ser Phe Arg Ser Lys Lys
             130                 135                 140

CCC ATA GTA GGG GTC ATT GGG CCT GGC TCC AGT TCT GTA GCC ATT CAG      840
Pro Ile Val Gly Val Ile Gly Pro Gly Ser Ser Ser Val Ala Ile Gln
         145                 150                 155

GTC CAG AAT TTG CTC CAG CTT TTC AAC ATA CCT CAG ATT GCT TAC TCA      888
Val Gln Asn Leu Leu Gln Leu Phe Asn Ile Pro Gln Ile Ala Tyr Ser
     160                 165                 170

GCA ACC AGC ATG GAT CTG AGT GAC AAG ACT CTG TTC AAA TAT TTC ATG      936
Ala Thr Ser Met Asp Leu Ser Asp Lys Thr Leu Phe Lys Tyr Phe Met
 175                 180                 185

AGG GTT GTG CCT TCA GAT GCT CAG CAG GCA AGG GCC ATG GTG GAC ATA      984
Arg Val Val Pro Ser Asp Ala Gln Gln Ala Arg Ala Met Val Asp Ile
190                 195                 200                 205

GTG AAG AGG TAC AAC TGG ACC TAT GTA TCA GCC GTG CAC ACA GAA GGC     1032
Val Lys Arg Tyr Asn Trp Thr Tyr Val Ser Ala Val His Thr Glu Gly
             210                 215                 220

AAC TAT GGA GAA AGT GGG ATG GAA GCC TCC AAA GAT ATG TCA CCG AAG     1080
Asn Tyr Gly Glu Ser Gly Met Glu Ala Ser Lys Asp Met Ser Ala Lys
         225                 230                 235

GAA GGG ATT TGC ATC GCC CAC TCT TAC AAA ATC TAC AGT AAT GCA GGG     1128
Glu Gly Ile Cys Ile Ala His Ser Tyr Lys Ile Tyr Ser Asn Ala Gly
     240                 245                 250

GAG CAG AGC TTT GAT AAG CTG CTG AAG AAG CTC ACA AGT CAC TTG CCC     1176
Glu Gln Ser Phe Asp Lys Leu Leu Lys Lys Leu Thr Ser His Leu Pro
 255                 260                 265

AAG GCC CCG GTG CTG GCC TGC TTC TGT GAG GGC ATG ACG GTG AGA GGT     1224
Lys Ala Arg Val Val Ala Cys Phe Cys Glu Gly Met Thr Val Arg Gly
270                 275                 280                 285
```

```
CTG CTG ATC GCC ATG AGG CGC CTG GGT CTA GCG GGA GAA TTT CTG CTT    1272
Leu Leu Met Ala Met Arg Arg Leu Gly Leu Ala Gly Glu Phe Leu Leu
                290                 295                 300

CTG GGC AGT GAT GGC TGG GCT GAC AGG TAT GAT GTG ACA GAT GGA TAT    1320
Leu Gly Ser Asp Gly Trp Ala Asp Arg Tyr Asp Val Thr Asp Gly Tyr
            305                 310                 315

CAG CGA GAA GCT GTT GGT GGC ATC ACA ATC AAG CTC CAA TCT CCC GAT    1368
Gln Arg Glu Ala Val Gly Gly Ile Thr Ile Lys Leu Gln Ser Pro Asp
        320                 325                 330

GTC AAG TGG TTT GAT GAT TAT TAT CTG AAG CTC CGG CCA GAA ACA AAC    1416
Val Lys Trp Phe Asp Asp Tyr Tyr Leu Lys Leu Arg Pro Glu Thr Asn
    335                 340                 345

CAC CGA AAC CCT TGG TTT CAA GAA TTT TGG CAG CAT CGT TTT CAG TGC    1464
His Arg Asn Pro Trp Phe Gln Glu Phe Trp Gln His Arg Phe Gln Cys
350                 355                 360                 365

CGA CTG GAA GCG TTT CCA CAG GAG AAC AGC AAA TAC AAC AAG ACT TGC    1512
Arg Leu Glu Ala Phe Pro Gln Glu Asn Ser Lys Tyr Asn Lys Thr Cys
                370                 375                 380

AAT AGT TCT CTG ACT CTG AAA ACA CAT CAT GTT CAG GAT TCC AAA ATG    1560
Asn Ser Ser Leu Thr Leu Lys Thr His His Val Gln Asp Ser Lys Met
            385                 390                 395

GGA TTT GTG ATC AAC GCC ATC TAT TCG ATG GCC TAT GGG CTC CAC AAC    1608
Gly Phe Val Ile Asn Ala Ile Tyr Ser Met Ala Tyr Gly Leu His Asn
        400                 405                 410

ATG CAG ATG TCC CTC TGC CCA GGC TAT GCA GGA CTC TGT GAT GCC ATG    1656
Met Gln Met Ser Leu Cys Pro Gly Tyr Ala Gly Leu Cys Asp Ala Met
    415                 420                 425

AAG CCA ATT GAT GGA CGG AAA CTT TTG GAG TCC CTG ATG AAA ACC AAT    1704
Lys Pro Ile Asp Gly Arg Lys Leu Leu Glu Ser Leu Met Lys Thr Asn
430                 435                 440                 445

TTT ACT GGG GTT TCT GGA GAT ACG ATC CTA TTC GAT GAG AAT GGA GAC    1752
Phe Thr Gly Val Ser Gly Asp Thr Ile Leu Phe Asp Glu Asn Gly Asp
                450                 455                 460

TCT CCA GGA AGG TAT GAA ATA ATG AAT TTC AAG GAA ATG GGA AAA GAT    1800
Ser Pro Gly Arg Tyr Glu Ile Met Asn Phe Lys Glu Met Gly Lys Asp
            465                 470                 475

TAC TTT GAT TAT ATC AAC GTT GGA AGT TGG GAC AAT GGA GAA TTA AAA    1848
Tyr Phe Asp Tyr Ile Asn Val Gly Ser Trp Asp Asn Gly Glu Leu Lys
        480                 485                 490

ATG GAT GAT GAT GAA GTA TGG TCC AAG AAA AGC AAC ATC ATC AGA TCT    1896
Met Asp Asp Asp Glu Val Trp Ser Lys Lys Ser Asn Ile Ile Arg Ser
    495                 500                 505

GTG TGC AGT GAA CCA TGT GAC AAA GGC CAG ATC AAG GTG ATC CGA AAG    1944
Val Cys Ser Glu Pro Cys Glu Lys Gly Gln Ile Lys Val Ile Arg Lys
510                 515                 520                 525

GGA GAA GTC AGC TGT TGT TGG ACC TGT ACA CCT TGT AAG GAG AAT GAG    1992
Gly Glu Val Ser Cys Cys Trp Thr Cys Thr Pro Cys Lys Glu Asn Glu
                530                 535                 540

TAT GTC TTT GAT GAG TAC ACA TGC AAG GCA TGC CAA CTG GGG TCT TGG    2040
Tyr Val Phe Asp Glu Tyr Thr Cys Lys Ala Cys Gln Leu Gly Ser Trp
            545                 550                 555
```

```
CCC ACT GAT GAT CTC ACA GGT TGT GAC TTG ATC CCA GTA CAG TAT CTT     2088
Pro Thr Asp Asp Leu Thr Gly Cys Asp Leu Ile Pro Val Gln Tyr Leu
        560                 565                 570

CGA TGG GGT GAC CCT GAA CCC ATT GCA GCT GTG GTG TTT GCC TGC CTT     2136
Arg Trp Gly Asp Pro Glu Pro Ile Ala Ala Val Val Phe Ala Cys Leu
    575                 580                 585

GGC CTC CTG GCC ACC CTG TTT GTT ACT GTA GTC TTC ATC ATT TAC CGT     2184
Gly Leu Leu Ala Thr Leu Phe Val Thr Val Val Phe Ile Ile Tyr Arg
590                 595                 600                 605

GAT ACA CCA GTA GTC AAG TCC TCA AGC AGG GAA CTC TGC TAC ATT ATC     2232
Asp Thr Pro Val Val Lys Ser Ser Ser Arg Glu Leu Cys Tyr Ile Ile
                610                 615                 620

CTT GCT GGC ATC TGC CTG GGC TAC TTA TGT ACC TTC TGC CTC ATT GCG     2280
Leu Ala Gly Ile Cys Leu Gly Tyr Leu Cys Thr Phe Cys Leu Ile Ala
            625                 630                 635

AAG CCC AAA CAG ATT TAC TGC TAC CTT CAG AGA ATT GGC ATT GGT CTC     2328
Lys Pro Lys Gln Ile Tyr Cys Tyr Leu Gln Arg Ile Gly Ile Gly Leu
        640                 645                 650

TCC CCA GCC ATG AGC TAC TCA GCC CTT GTA ACA AAG ACC AAC CGT ATT     2376
Ser Pro Ala Met Ser Tyr Ser Ala Leu Val Thr Lys Thr Asn Arg Ile
    655                 660                 665

GCA AGG ATC CTG GCT GGC AGC AAG AAG AAG ATC TGT ACC CCC AAG CCC     2424
Ala Arg Ile Leu Ala Gly Ser Lys Lys Lys Ile Cys Thr Pro Lys Pro
670                 675                 680                 685

AGA TTC ATG AGT GCC TGT GCC CAG CTA GTG ATT GCT TTC ATT CTC ATA     2472
Arg Phe Met Ser Ala Cys Ala Gln Leu Val Ile Ala Phe Ile Leu Ile
                690                 695                 700

TGC ATC CAG TTG GGC ATC ATC GTT GCC CTC TTT ATA ATG GAG CCT CCT     2520
Cys Ile Gln Leu Gly Ile Ile Val Ala Leu Phe Ile Met Glu Pro Pro
            705                 710                 715

GAC ATA ATG CAT GAC TAC CCA AGC ATT CGA GAA GTC TAC CTG ATC TGT     2568
Asp Ile Met His Asp Tyr Pro Ser Ile Arg Glu Val Tyr Leu Ile Cys
        720                 725                 730

AAC ACC ACC AAC CTA GGA GTT GTC ACT CCA CTT GGA AAC AAT GGA TTG     2616
Asn Thr Thr Asn Leu Gly Val Val Thr Pro Leu Gly Asn Asn Gly Leu
    735                 740                 745

TTG ATT TTG AGC TGC ACC TTC TAT GCG TTC AAG ACC AGA AAT GTT CCA     2664
Leu Ile Leu Ser Cys Thr Phe Tyr Ala Phe Lys Thr Arg Asn Val Pro
750                 755                 760                 765

GCT AAC TTC CCC GAG GCC AAC TAT ATC GCC TTC ACA ATG TAC ACG ACC     2712
Ala Asn Phe Pro Glu Ala Lys Tyr Ile Ala Phe Thr Met Tyr Thr Thr
                770                 775                 780

TGC ATT ATA TGG CTA GCT TTT GTT CCA ATC TAC TTT GGC AGC AAC TAC     2760
Cys Ile Ile Trp Leu Ala Phe Val Pro Ile Tyr Phe Gly Ser Asn Tyr
            785                 790                 795

AAA ATC ATC ACC ATG TGT TTC TCG GTC AGC CTC AGT GCC ACA GTG GCC     2808
Lys Ile Ile Thr Met Cys Phe Ser Val Ser Leu Ser Ala Thr Val Ala
        800                 805                 810

CTA GGC TGC ATG TTT GTG CCG ACG GTG TAC ATC ATC CTG GCC AAA CCA     2856
Leu Gly Cys Met Phe Val Pro Thr Val Tyr Ile Ile Leu Ala Lys Pro
    815                 820                 825
```

```
GAG AGA AAC GTG CGC AGC GCC TTC ACC ACA TCT ACC GTG GTG CGC ATG     2904
Glu Arg Asn Val Arg Ser Ala Phe Thr Thr Ser Thr Val Val Arg Met
830                 835                 840                 845

CAT GTA GGG GAT GGC AAG TCA TCC TCC GCA GCC AGC AGA TCC AGC AGC     2952
His Val Gly Asp Gly Lys Ser Ser Ser Ala Ala Ser Arg Ser Ser Ser
                850                 855                 860

CTA GTC AAC CTG TGG AAG AGA AGG GGC TCC TCT GGG GAA ACC TTA ACG     3000
Leu Val Asn Leu Trp Lys Arg Arg Gly Ser Ser Gly Glu Thr Leu Arg
            865                 870                 875

TAAAAGTTGT GGGGGCTTAC AGGGATGCTG GCCCCTAAAA CTGGAGCAGA GGCATGTGTT  3060

TCCTGGGTCT TTTAAATGGG AGAAATCTGG GTAAATGACA CCATCTGAGG CAGGGTGACT  3120

TACGGCATGG ACCTCCTCAT AAAATGGTAT TTATGGGGTT AATGGGATGT GGCTCCACTT  3180

ACTTAGCCCA AGTCTAGAAA CATGGAAGTC AAACTCTCTA ATAAAGCAGA GCTACAGCGT  3240

CGGGGGAGTG ACGTTTGACA GGGCAGACAG ACCAGAGTTC AG                     3282
```

【０１８３】

（２）配列番号：１２の情報：

（ｉ）　配列の特色：

（Ａ）長さ：８７７アミノ酸

（Ｂ）型：アミノ酸

（Ｄ）トポロジー：直鎖状

（ｉｉ）分子の型：蛋白

（ｘｉ）配列：配列番号：１２：

```
Met Val Leu Leu Leu Ile Leu Ser Val Leu Leu Trp Lys Glu Asp Val
 1               5                  10                  15

Arg Gly Ser Ala Gln Ser Ser Glu Arg Arg Val Val Ala His Met Pro
            20                  25                  30

Gly Asp Ile Ile Ile Gly Ala Leu Phe Ser Val His His Gln Pro Thr
        35                  40                  45

Val Asp Lys Val His Glu Arg Lys Cys Gly Ala Val Arg Glu Gln Tyr
    50                  55                  60

Gly Ile Gln Arg Val Glu Ala Met Leu His Thr Leu Glu Arg Ile Asn
65                  70                  75                  80

Ser Asp Pro Thr Leu Leu Pro Asn Ile Thr Leu Gly Cys Glu Ile Arg
                85                  90                  95

Asp Ser Cys Trp His Ser Ala Val Ala Leu Glu Gln Ser Ile Glu Phe
            100                 105                 110

Ile Arg Asp Ser Leu Ile Ser Ser Glu Glu Glu Glu Gly Leu Val Arg
        115                 120                 125

Cys Val Asp Gly Ser Ser Ser Ser Phe Arg Ser Lys Lys Pro Ile Val
    130                 135                 140

Gly Val Ile Gly Pro Gly Ser Ser Ser Val Ala Ile Gln Val Gln Asn
145                 150                 155                 160

Leu Leu Gln Leu Phe Asn Ile Pro Gln Ile Ala Tyr Ser Ala Thr Ser
                165                 170                 175
```

Met Asp Leu Ser Asp Lys Thr Leu Phe Lys Tyr Phe Met Arg Val Val
180 185 190

Pro Ser Asp Ala Gln Gln Ala Arg Ala Met Val Asp Ile Val Lys Arg
195 200 205

Tyr Asn Trp Thr Tyr Val Ser Ala Val His Thr Glu Gly Asn Tyr Gly
210 215 220

Glu Ser Gly Met Glu Ala Ser Lys Asp Met Ser Ala Lys Glu Gly Ile
225 230 235 240

Cys Ile Ala His Ser Tyr Lys Ile Tyr Ser Asn Ala Gly Glu Gln Ser
245 250 255

Phe Asp Lys Leu Leu Lys Lys Leu Thr Ser His Leu Pro Lys Ala Arg
260 265 270

Val Val Ala Cys Phe Cys Glu Gly Met Thr Val Arg Gly Leu Leu Met
275 280 285

Ala Met Arg Arg Leu Gly Leu Ala Gly Glu Phe Leu Leu Leu Gly Ser
290 295 300

Asp Gly Trp Ala Asp Arg Tyr Asp Val Thr Asp Gly Tyr Gln Arg Glu
305 310 315 320

Ala Val Gly Gly Ile Thr Ile Lys Leu Gln Ser Pro Asp Val Lys Trp
325 330 335

Phe Asp Asp Tyr Tyr Leu Lys Leu Arg Pro Glu Thr Asn His Arg Asn
340 345 350

Pro Trp Phe Gln Glu Phe Trp Gln His Arg Phe Gln Cys Arg Leu Glu
355 360 365

Ala Phe Pro Gln Glu Asn Ser Lys Tyr Asn Lys Thr Cys Asn Ser Ser
370 375 380

Leu Thr Leu Lys Thr His His Val Gln Asp Ser Lys Met Gly Phe Val
385 390 395 400

Ile Asn Ala Ile Tyr Ser Met Ala Tyr Gly Leu His Asn Met Gln Met
405 410 415

Ser Leu Cys Pro Gly Tyr Ala Gly Leu Cys Asp Ala Met Lys Pro Ile
420 425 430

Asp Gly Arg Lys Leu Leu Glu Ser Leu Met Lys Thr Asn Phe Thr Gly
435 440 445

Val Ser Gly Asp Thr Ile Leu Phe Asp Glu Asn Gly Asp Ser Pro Gly
450 455 460

Arg Tyr Glu Ile Met Asn Phe Lys Glu Met Gly Lys Asp Tyr Phe Asp
465 470 475 480

Tyr Ile Asn Val Gly Ser Trp Asp Asn Gly Glu Leu Lys Met Asp Asp
485 490 495

Asp Glu Val Trp Ser Lys Lys Ser Asn Ile Ile Arg Ser Val Cys Ser
500 505 510

Glu Pro Cys Glu Lys Gly Gln Ile Lys Val Ile Arg Lys Gly Glu Val
515 520 525

```
Ser Cys Cys Trp Thr Cys Thr Pro Cys Lys Glu Asn Glu Tyr Val Phe
    530                 535                 540

Asp Glu Tyr Thr Cys Lys Ala Cys Gln Leu Gly Ser Trp Pro Thr Asp
545                 550                 555                 560

Asp Leu Thr Gly Cys Asp Leu Ile Pro Val Gln Tyr Leu Arg Trp Gly
                565                 570                 575

Asp Pro Glu Pro Ile Ala Ala Val Val Phe Ala Cys Leu Gly Leu Leu
            580                 585                 590

Ala Thr Leu Phe Val Thr Val Val Phe Ile Ile Tyr Arg Asp Thr Pro
        595                 600                 605

Val Val Lys Ser Ser Ser Arg Glu Leu Cys Tyr Ile Ile Leu Ala Gly
    610                 615                 620

Ile Cys Leu Gly Tyr Leu Cys Thr Phe Cys Leu Ile Ala Lys Pro Lys
625                 630                 635                 640

Gln Ile Tyr Cys Tyr Leu Gln Arg Ile Gly Ile Gly Leu Ser Pro Ala
                645                 650                 655

Met Ser Tyr Ser Ala Leu Val Thr Lys Thr Asn Arg Ile Ala Arg Ile
            660                 665                 670

Leu Ala Gly Ser Lys Lys Lys Ile Cys Thr Pro Lys Pro Arg Phe Met
        675                 680                 685

Ser Ala Cys Ala Gln Leu Val Ile Ala Phe Ile Leu Ile Cys Ile Gln
    690                 695                 700

Leu Gly Ile Ile Val Ala Leu Phe Ile Met Glu Pro Pro Asp Ile Met
705                 710                 715                 720

His Asp Tyr Pro Ser Ile Arg Glu Val Tyr Leu Ile Cys Asn Thr Thr
                725                 730                 735

Asn Leu Gly Val Val Thr Pro Leu Gly Asn Asn Gly Leu Leu Ile Leu
            740                 745                 750

Ser Cys Thr Phe Tyr Ala Phe Lys Thr Arg Asn Val Pro Ala Asn Phe
        755                 760                 765

Pro Glu Ala Lys Tyr Ile Ala Phe Thr Met Tyr Thr Thr Cys Ile Ile
    770                 775                 780

Trp Leu Ala Phe Val Pro Ile Tyr Phe Gly Ser Asn Tyr Lys Ile Ile
785                 790                 795                 800

Thr Met Cys Phe Ser Val Ser Leu Ser Ala Thr Val Ala Leu Gly Cys
                805                 810                 815

Met Phe Val Pro Thr Val Tyr Ile Ile Leu Ala Lys Pro Glu Arg Asn
            820                 825                 830

Val Arg Ser Ala Phe Thr Thr Ser Thr Val Val Arg Met His Val Gly
        835                 840                 845

Asp Gly Lys Ser Ser Ser Ala Ala Ser Arg Ser Ser Ser Leu Val Asn
    850                 855                 860

Leu Trp Lys Arg Arg Gly Ser Ser Gly Glu Thr Leu Arg
865                 870                 875
```

【０１８４】

（ｉ）　配列の特色：

（Ａ）長さ：３４３塩基対

（Ｂ）型：核酸

（Ｃ）鎖の数：両形態

（Ｄ）トポロジー：両形態

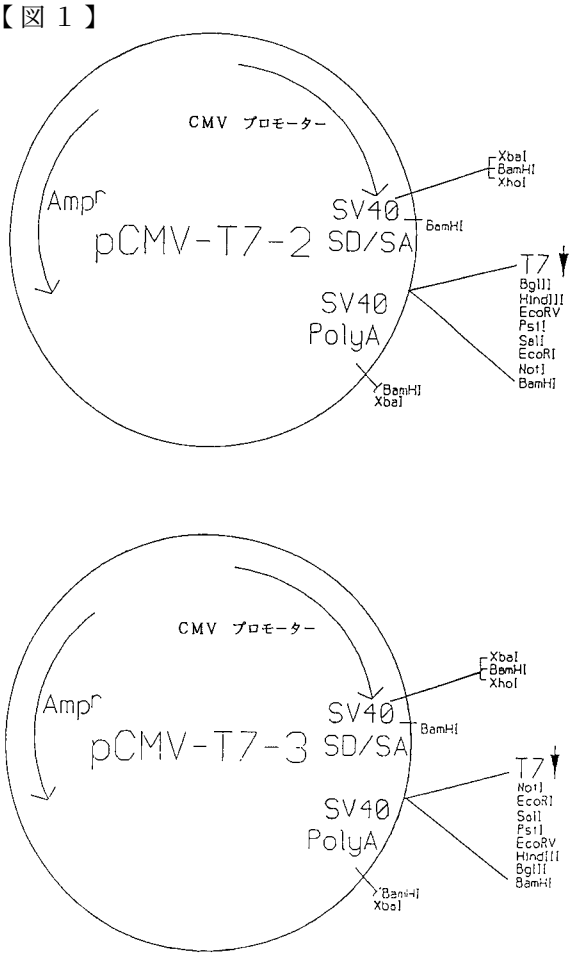
（ｉｉ）分子の型：ｃＤＮＡ

（ix）配列の特徴：
（Ａ）名称／記号：種々の特徴
（Ｂ）存在位置：１．．３４３
（Ｄ）他の情報：／注＝“ｍＧｌｕＲ２の部分配列－３’非翻訳配列”
（xi）配列：配列番号：１３：

```
TGGAGACGCC ATACTGCCGC GCTGACACAG CTGCTCCTGG GCACCTAGTG CAGACCCACG    60
TCCAGGGCCA GGAGGAAGTT GGCTGGAGCA CTGCAATAAT TTATTACCCA GCCTATGTCT   120
GCCCCCCGAG TCACTTACCC ACCTCCTTAC CCCAGCTCTT CAGACTCAGA AGTCAGGAGC   180
CTTGGCCAGG AGCCTCTGCA GTGGCCACTA ACTGCCCTTG TAGCTGTGTT TCCTCCTGGC   240
CAGGCCCAGG GCTCAGAGAG GAGCAAGCCA GGGTTCACTC TGCCCTGGAC CCGGGTGGCT   300
GAGGACGGCA GGCCCCAGTC CTAACCAGCA AAGGTGCTTC CAG                      343
```

【図面の簡単な説明】
【０１８５】
【図１】図１は、ＣＭＶプロモーターをベースにしたベクターであるｐＣＭＶ－Ｔ７－２とｐＣＭＶ－Ｔ７－３を示す。

【図１】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.[7]	FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ 25/28	Ａ６１Ｐ 25/08		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｐ 43/00	Ａ６１Ｐ 25/28		４Ｃ０８５
Ｃ０７Ｋ 14/705	Ａ６１Ｐ 43/00	１１１	４Ｈ０４５
Ｃ０７Ｋ 16/28	Ｃ０７Ｋ 14/705		
Ｃ１２Ｎ 5/10	Ｃ０７Ｋ 16/28		
Ｃ１２Ｑ 1/02	Ｃ１２Ｑ 1/02		
Ｃ１２Ｑ 1/68	Ｃ１２Ｑ 1/68	Ａ	
Ｇ０１Ｎ 33/15	Ｇ０１Ｎ 33/15	Ｚ	
Ｇ０１Ｎ 33/50	Ｇ０１Ｎ 33/50	Ｚ	
Ｇ０１Ｎ 33/53	Ｇ０１Ｎ 33/53	Ｄ	
// Ｃ１２Ｐ 21/08	Ｃ１２Ｎ 5/00	Ｂ	
	Ｃ１２Ｐ 21/08		

(72)発明者 ダゲット，ローリー
アメリカ合衆国 ９２１２４ カリフォルニア州サン ディエゴ，レペチョ ドライブ ５３１０，ナンバー ブイ１０２
(72)発明者 エリス，スチーブン ビー.
アメリカ合衆国 ９２１２９ カリフォルニア州サン ディエゴ，オビエド ストリート ８９３９
(72)発明者 リアウ，チェン
アメリカ合衆国 ９２１２９ カリフォルニア州サン ディエゴ，サリックス プレイス ７６６８
(72)発明者 ポンツラー，アーロン
アメリカ合衆国 ９２０７１ カリフォルニア州サンティー，ケリガン コート １０５７９
(72)発明者 ジョンソン，エドウィン シー.
アメリカ合衆国 ９２１２９ カリフォルニア州サン ディエゴ，グンナー アベニュー １３２４０
(72)発明者 ヘス，スチーブン ディー.
アメリカ合衆国 ９２１２７ カリフォルニア州サン ディエゴ，サウスビュー ドライブ ３７３５，ナンバー ３０９

Ｆターム(参考) 2G045 AA34 AA35 DA13 DA36 FB02 FB03
4B024 AA01 AA11 BA63 CA04 CA06 CA09 DA02 EA04 GA11 HA12 HA15
4B063 QA18 QA20 QQ08 QQ43 QR08 QR42 QR56 QS25 QS34 QX02
4B064 AG27 CA10 CA20 CC24 DA01 DA13
4B065 AA90X AA93Y AB01 BA02 CA24 CA44 CA46
4C084 AA17 MA01 NA14 ZA022 ZA062 ZA152 ZC422
4C085 AA13 AA14 CC32 EE01 GG01
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA45 DA50 DA76 EA21 EA50 FA72 FA74

专利名称(译)	人代谢型谷氨酸受体，编码其的核酸及其用途

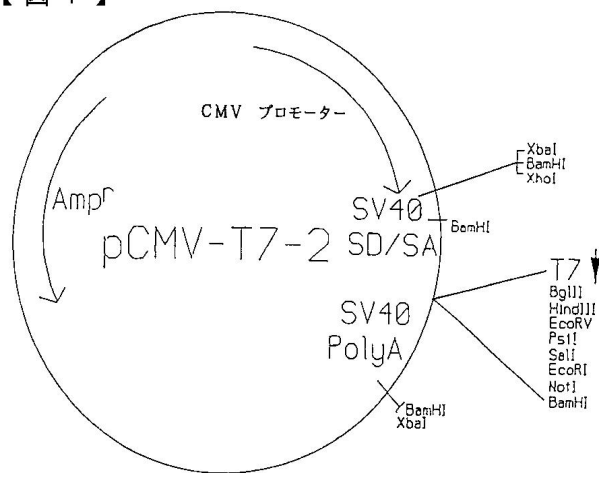
公开(公告)号	JP2004147653A	公开(公告)日	2004-05-27
申请号	JP2003362046	申请日	2003-10-22

[标]申请(专利权)人(译)	严重神经科学公司
申请(专利权)人(译)	严重 - 神经科学公司
[标]发明人	ダゲットローリー エリススチーブンビー リアウチェン ポンツラーアーロン ジョンソンエドウィンシー ヘススチーブンディー
发明人	ダゲット,ローリー エリス,スチーブン ビー. リアウ,チェン ポンツラー,アーロン ジョンソン,エドウィン シー. ヘス,スチーブン ディー.
IPC分类号	G01N33/566 A61K39/395 A61K45/00 A61P25/00 A61P25/08 A61P25/28 A61P43/00 C07K14/705 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00 C12N5/10 C12N15/02 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1/68 C12R1/91 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53
CPC分类号	A01K2217/05 A61P25/00 A61P25/08 A61P25/28 C07K14/70571 G01N33/5008 G01N33/502 G01N33/5058 G01N33/5091 G01N2333/70571
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K39/395.D A61K39/395.N A61K45/00 A61P25/00 A61P25/08 A61P25/28 A61P43/00.111 C07K14/705 C07K16/28 C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D C12N5/00.B C12P21/08 C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N5/00.102 C12N5/10
F-TERM分类号	2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA63 4B024/CA04 4B024/CA06 4B024/CA09 4B024/DA02 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA12 4B024/HA15 4B063/QA18 4B063/QA20 4B063/QQ08 4B063/QQ43 4B063/QR08 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA90X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA17 4C084/MA01 4C084/NA14 4C084/ZA022 4C084/ZA062 4C084/ZA152 4C084/ZC422 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/CC32 4C085/EE01 4C085/GG01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA45 4H045/DA50 4H045/DA76 4H045/EA21 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74
代理人(译)	池田幸
优先权	08/072574 1993-06-04 US
外部链接	Espacenet

摘要(译)

提供了编码人代谢型谷氨酸受体蛋白亚型的核酸和由该核酸编码的蛋白。 解决方案：人类代谢型谷氨酸受体编码mGluR1，mGluR2，mGluR3和mGluR5亚型。 这些核酸除了可用于生产代谢型谷氨酸受体亚型外，还可用作探针，因此本领域技术人员将能够无需过度实验即可鉴定和分离相关受体亚基。 有可能 除了公开新型的代谢型谷氨酸受体蛋白亚型外，还要鉴定影响此类受体功能的化合物（例如，激动剂，拮抗剂和谷氨酸受体功能的调节剂）。 包括使用这种受体亚型进行表征的方法。 [选择图]无

【図１】


CMV プロモーター
Ampr
pCMV-T7-2 SD/SA
SV40
SV40
PolyA
XbaI
BamHI
XhoI
BamHI
T7
BglII
HindIII
EcoRV
PstI
SalI
EcoRI
NotI
BamHI
BamHI
XbaI