

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

WO2001/081401

発行日 平成16年4月15日 (2004. 4. 15)

(43) 国際公開日 平成13年11月1日 (2001. 11. 1)

(51) Int. Cl. 7

C 1 2 N 15/09
A O 1 K 67/027
A 6 1 K 45/00
A 6 1 P 31/04
C O 7 K 14/47

F I

C 1 2 N 15/00 Z N A A
A O 1 K 67/027
A 6 1 K 45/00
A 6 1 P 31/04
C O 7 K 14/47

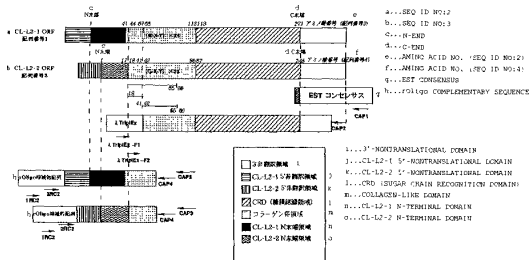
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 88 頁) 最終頁に続く

出願番号	特願2001-578488 (P2001-578488)	(71) 出願人	000238201 扶桑薬品工業株式会社 大阪府大阪市中央区道修町 1 丁目 7 番 1 0 号
(21) 国際出願番号	PCT/JP2001/003468	(74) 代理人	100065868 弁理士 角田 嘉宏
(22) 国際出願日	平成13年4月23日 (2001. 4. 23)	(74) 代理人	100106242 弁理士 古川 安航
(31) 優先権主張番号	特願2000-120358 (P2000-120358)	(72) 発明者	若宮 伸隆 北海道旭川市東光五条十丁目 1 - 4
(32) 優先日	平成12年4月21日 (2000. 4. 21)	(72) 発明者	芥子 宏行 大阪府大阪市住吉区殿辻一丁目 2 番 2 5 号
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(72) 発明者	大谷 克城 北海道旭川市神居二条八丁目 2 - 8 S K ハイツ B
(81) 指定国	AP (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, C R, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, S G, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW		最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規コレクチン

(57) 【要約】

特にヒトの体内で抗細菌、抗ウイルス活性などを発揮することが期待される新規コレクチンにかかる、配列番号：1、3、5、7、9、12、36、38もしくは40で示される塩基配列を含む単離されたコレクチン (C L - L 2 s) 遺伝子、および配列番号：2、4、6、8、10、13、37、39もしくは41で示されるアミノ酸配列を含む単離されたコレクチンタンパク質とそれらの誘導体ならびに断片を提供する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 2 のアミノ酸番号 1 ~ 271 に示すアミノ酸 271 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 2 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 2 のアミノ酸番号 1 ~ 271 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

【請求項 2】

配列番号 45 (配列番号 1 の塩基番号 265 ~ 1077 に相当) に示す塩基配列、配列番号 2 のアミノ酸番号 1 ~ 271 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 2 のアミノ酸番号 1 ~ 271 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

10

【請求項 3】

配列番号 4 のアミノ酸番号 1 ~ 245 に示すアミノ酸 245 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 4 のアミノ酸番号 1 ~ 245 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 4 のアミノ酸番号 1 ~ 245 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

【請求項 4】

配列番号 46 (配列番号 3 の塩基番号 141 ~ 875 に相当) に示す塩基配列、配列番号 4 のアミノ酸番号 1 ~ 245 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 4 のアミノ酸番号 1 ~ 245 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

20

【請求項 5】

配列番号 47 (配列番号 2 のアミノ酸番号 113 ~ 271 に相当) に示すアミノ酸 159 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 2 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 2 のアミノ酸番号 113 ~ 271 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

30

【請求項 6】

配列番号 48 (配列番号 1 の塩基番号 601 ~ 1077 に相当) に示す塩基配列、配列番号 2 のアミノ酸番号 113 ~ 271 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 2 のアミノ酸番号 113 ~ 271 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

【請求項 7】

請求の範囲第 5 項記載のタンパク質の N 末端側に (Gly - Xaa - Yaa)_n (但し n は 1 以上 50 以下の整数を示し、Xaa および Yaa はアミノ酸残基を示し、Xaa と Yaa は同一アミノ酸残基であっても異なるアミノ酸残基であっても良い) の構造をさらに含むことを特徴とするタンパク質。

40

【請求項 8】

(Gly - Xaa - Yaa)_n が下記群、すなわち、

Gly-Leu-Lys-Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-
Arg-Pro-Gly-Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Met-Gly-Asp-
Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-
Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-
Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro- (配列番号 49 (配列番号 2 : アミ

ノ酸番号41～112に相当))、

Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-Arg-Pro-Gly-Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Met-Gly-Asp-Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号50 (配列番号2 : アミノ酸番号44～112、もしくは配列番号4 : アミノ酸番号18～86に相当))、

10

Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号51 (配列番号2 : アミノ酸番号92～112、もしくは配列番号4 : アミノ酸番号66～86に相当))、

Gly-Asp-Met-Gly-Asp-Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号52 (配列番号2 : アミノ酸番号68～112、もしくは配列番号4 : アミノ酸番号42～86に相当))、

20

Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-Arg-Pro-Gly-Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号11 (配列番号2 : アミノ酸番号41～67および92～112、もしくは配列番号4 : アミノ酸番号18～41および66～86に相当))、

30

Gly-Leu-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号43 (配列番号2 : アミノ酸番号41～43および92～112に相当))、または

40

Gly-Leu-Lys-Gly-Asp-Met-Gly-Asp-Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro

(配列番号 4 2 (配列番号 2 : アミノ酸番号 4 1 ~ 4 3 および 6 8 ~ 1 1 2 に相当))

Gly-Leu-Lys-Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-Arg-Pro-Gly-Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro

(配列番号 4 4 (配列番号 2 : アミノ酸番号 4 1 ~ 6 7 および 9 2 ~ 1 1 2 に相当))

10

を含む配列から選択されることを特徴とする、請求の範囲第 7 項記載のタンパク質。

【請求項 9】

請求の範囲第 7 または 8 項記載のタンパク質をコードする塩基配列。

【請求項 10】

請求の範囲第 7 または 8 項記載のタンパク質の (G l y - X a a - Y a a) n の構造の N 末端に以下のアミノ酸配列すなわち、

Met-Arg-Gly-Asn-Leu-Ala-Leu-Val-Gly-Val-Leu-Ile-Ser-Leu-Ala-Phe-Leu-Ser-Leu-Leu-Pro-Ser-Gly-His-Pro-Gln-Pro-Ala-Gly-Asp-Asp-Ala-Cys-Ser-Val-Gln-Ile-Leu-Val-Pro (配列番号 5 3 (配列番号 2 : アミノ酸番号 1 ~ 4 0 に相当))

20

をさらに含むことを特徴とするタンパク質。

【請求項 11】

請求の範囲第 7 または 8 項記載のタンパク質の (G l y - X a a - Y a a) n の構造の N 末端に以下のアミノ酸配列すなわち、

Met-Trp-Trp-Val-Pro-Pro-Ser-Pro-Tyr-Gly-Cys-Leu-Pro-Cys-Ala-Leu-Pro (配列番号 5 4 (配列番号 4 : アミノ酸番号 1 ~ 1 7 に相当))

30

をさらに含むことを特徴とするタンパク質。

【請求項 12】

請求の範囲第 10 または 11 項記載のタンパク質をコードする塩基配列。

【請求項 13】

配列番号 6 のアミノ酸番号 1 ~ 1 9 7 に示すアミノ酸 1 9 7 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 6 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 6 のアミノ酸番号 1 ~ 1 9 7 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

40

【請求項 14】

配列番号 5 5 (配列番号 5 の塩基番号 1 4 1 ~ 7 3 1 に相当) に示す塩基配列、配列番号 6 のアミノ酸番号 1 ~ 1 9 7 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 6 のアミノ酸番号 1 ~ 1 9 7 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

【請求項 15】

配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ~ 2 2 1 に示すアミノ酸 2 2 1 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ~ 2 2 1 に示すアミノ酸配列にお

50

いて1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号8のアミノ酸番号1～221に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

【請求項16】

配列番号56(配列番号7の塩基番号141～803に相当)に示す塩基配列、配列番号8のアミノ酸番号1～221に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号8のアミノ酸番号1～221に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

【請求項17】

配列番号10のアミノ酸番号1～221に示すアミノ酸221個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号10のアミノ酸番号1～221に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号10のアミノ酸番号1～221に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

10

【請求項18】

配列番号57(配列番号9の塩基番号141～803に相当)に示す塩基配列、配列番号10のアミノ酸番号1～221に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号10のアミノ酸番号1～221に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

20

【請求項19】

配列番号13のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸271個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号13のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号13のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

【請求項20】

配列番号58(配列番号12の塩基番号157～969に相当)に示す塩基配列、配列番号13のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号13のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

30

【請求項21】

配列番号37のアミノ酸番号1～223に示すアミノ酸223個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号37のアミノ酸番号1～223に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号37のアミノ酸番号1～223に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

【請求項22】

配列番号59(配列番号36の塩基番号265～933に相当)に示す塩基配列、配列番号37のアミノ酸番号1～223に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号37のアミノ酸番号1～223に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

40

【請求項23】

配列番号39のアミノ酸番号1～247に示すアミノ酸247個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号39のアミノ酸番号1～247に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号39のアミノ酸番号1～247に示すアミノ酸配列を有するタンパク質

50

と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

【請求項 2 4】

配列番号 6 0 (配列番号 3 8 の塩基番号 2 6 5 ~ 1 0 0 5 に相当) に示す塩基配列、配列番号 3 9 のアミノ酸番号 1 ~ 2 4 7 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 3 9 のアミノ酸番号 1 ~ 2 4 7 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

【請求項 2 5】

配列番号 4 1 のアミノ酸番号 1 ~ 2 4 7 に示すアミノ酸 2 4 7 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 4 1 のアミノ酸番号 1 ~ 2 4 7 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 4 1 のアミノ酸番号 1 ~ 2 4 7 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。 10

【請求項 2 6】

配列番号 6 1 (配列番号 4 0 の塩基番号 2 6 5 ~ 1 0 0 5 に相当) に示す塩基配列、配列番号 4 1 のアミノ酸番号 1 ~ 2 4 7 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 4 1 のアミノ酸番号 1 ~ 2 4 7 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列 20

【請求項 2 7】

請求の範囲第 2、4、6、9、12、14、16、18、20、22、24 または 26 項に記載の塩基配列を含むことを特徴とするベクター。

【請求項 2 8】

請求の範囲第 2、4、6、9、12、14、16、18、20、22、24 または 26 項に記載の塩基配列を発現可能に保持する形質転換細胞。

【請求項 2 9】

請求の範囲第 2、4、6、9、12、14、16、18、22、24 または 26 項に記載の塩基配列で形質転換した細胞を培養し、産生された h C L - L 2 s タンパク質を採取することを特徴とするタンパク質の製造法。 30

【請求項 3 0】

請求の範囲第 2 0 項に記載の塩基配列で形質転換した細胞を培養し、産生された m C L - L 2 s タンパク質を採取することを特徴とするタンパク質の製造法。

【請求項 3 1】

細胞が大腸菌、動物細胞または昆虫細胞である、請求の範囲第 2 9 または 3 0 項に記載の製造法。

【請求項 3 2】

C L - L 2 s 遺伝子の発現レベルを変化させたトランスジェニック非ヒト動物。 40

【請求項 3 3】

m C L - L 2 s 遺伝子の機能を欠損させたノックアウトマウス。

【請求項 3 4】

請求の範囲第 1、3、5、7、8、10、11、13、15、17、19、21、23 または 25 項に記載のタンパク質またはその断片に対する抗体。

【請求項 3 5】

ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体またはペプチド抗体である請求の範囲第 3 4 項に記載の抗体。

【請求項 3 6】

請求の範囲第 3 4 または 3 5 項に記載の抗体と C L - L 2 s タンパク質またはその断片との免疫学的な結合に基づいて、該タンパク質またはその断片を測定する方法。 50

【請求項 37】

請求の範囲第 1、3、5、7、8、10、11、13、15、17、19、21、23 または 25 項に記載のタンパク質の機能を刺激するアゴニスト。

【請求項 38】

請求の範囲第 1、3、5、7、8、10、11、13、15、17、19、21、23 または 25 項に記載のタンパク質の機能を阻害するアンタゴニスト。

【請求項 39】

請求の範囲第 1、3、5、7、8、10、11、13、15、17、19、21、23 または 25 項に記載のタンパク質を用いることを特徴とする薬物のスクリーニング方法。

【請求項 40】

請求の範囲第 39 項に記載のスクリーニング方法によって得られた薬物。

【発明の詳細な説明】

〔技術分野〕

本発明は、単離されたヒトおよびマウスの新規コレクチン（本明細書において各々「hCL-L2」および「mCL-L2」と称し、両者を区別しない場合は単に「CL-L2」と称する。）遺伝子およびタンパク質、それらの相同体、変異体、修飾体および多形性変種（これらを総じて「誘導體」と称する）、それらの断片（以下、それら全てを「CL-L2s」と称する）ならびにそれらの検出に関する。また、CL-L2sを含む医薬用、診断用、研究用組成物、それらの製造方法および使用に関する。更には、CL-L2s タンパク質のアゴニストおよびアンタゴニスト、CL-L2sを用いた薬物のスクリーニング方法に関する。更には、CL-L2s 遺伝子を含む発現ベクター、該発現ベクターによって形質転換された形質転換細胞、CL-L2s タンパク質に対する抗体および該抗体を産生する細胞に関する。

〔背景技術〕

生体防御に重要な役割を担っている補体系は免疫グロブリンを認識分子とし、補体第一成分である C1 が活性化される古典的経路および細菌等の異物に補体第三成分である C3 が直接結合する第二経路が知られている。近年これらの補体活性化経路に加えて、血清レクチンであるマンノース結合蛋白質（以下、MBP と称する）が異物表面の糖鎖を直接認識し結合することにより補体系を活性化させるレクチン経路が明らかにされた（Sato, T. et al.; Int. Immunol., 6, 665-669, 1994）。MBP は Ca 存在下、マンノースや N-アセチルグルコサミン等に特異的に結合する C 型レクチンであり、その構造は少なくとも (Gly-Xaa-Yaa)_n から成るコラーゲン様領域、糖鎖認識領域 (CRD) を含んでいる。MBP と同様にコラーゲン様領域および CRD を有するレクチンはコレクチンと総称され (Malhortora, R. et al.; Eur. J. Immunol., 22, 1437-1445, 1992)、MBP 以外にコレクチン-43 (CL-43)、サーファクタント蛋白質 A (SP-A)、サーファクタント蛋白質 D (SP-D) およびウシコングルチニン (BKg) 等を挙げることができる。コレクチンはオプソニン活性を有し、細菌、ウイルスを始めとする様々な微生物に対する基礎免疫に関与していると考えられている (Kawasaki, N. et al.; J. Biochem., 106, 483-489, 1989、Ikeda, K. et al.; J. Biol. Chem., 262, 7451-7454, 1987、Ohta, M. et al.; J. Biol. Chem., 265, 1980-1984, 1990、Summerfield, J. A. et al.; Lancet, 345, 886, 1995)。

これらのコレクチンは、第 1 図 (a) に示すような、(1) CRD および (2) コラーゲン様領域等の特徴的な領域を含む基本構造から構成されていることが知られており (Malhortora et al.; Eur. J. Immunol., 22, 1437-1445, 1992)、この基本構造がコラーゲン様領域においてトリプルヘリックスを構成することによりサブユニットを形成し、さらにこのサブユニットが 3 量体、4 量体、6 量体等のオリゴマー構造を形成している。

10

20

30

40

50

最近、コレクチンによる非特異的な免疫応答への関与が示唆され、例えば、母親の移行抗体や特異的防御システムが十分に発達していない小児に対し、種々の微生物の中和作用や排除に重要な役割を果たしているとの報告がなされている (Super et al.; Lancet, 2, 1236-1239, 1989)。さらに、宿主の生体防御におけるこれらのコレクチンの役割について、例えば、MBPの遺伝子上の変異に起因したMBPの血中濃度の低下によって、宿主が感染を受けやすくなるという研究結果が報告されている (Sumiya et al.; Lancet, 337, 1569-1570, 1991)。また、オプソニン化不全の血清中MBP含量は低値を示し (Madsen, H. O. et al.; Immunogenetics, 40, 37-44, 1994) 細菌感染を起こしやすいという報告があり (Garred, P. et al.; Lancet, 346, 941-943, 1995)、MBPは免疫機構において重要な役割を担っていると考えることができる。

10

本発明者らは、以前にBKgおよびMBPがH1およびH3タイプのインフルエンザA型ウイルスの感染や赤血球凝集活性を阻害することを見出した (Wakamiya et al.; Glycoconjugate J., 8, 235, 1991、Wakamiya et al.; Biochem. Biophys. Res. Comm., 187, 1270-1278, 1992)。その後さらに、BKgをコードするcDNAクローンを取得し、BKgとSP-D等との関連性も見出されている (Suzuki et al.; Biochem. Biophys. Res. Comm., 191, 335-342, 1993)。

20

このように、コレクチンは、生体防御機構の解明における有用性および生理活性物質としての有用性等が期待される物質であり、このファミリーに属する新規分子種の発見は、感染症の治療の他、種々の医療分野そして生物学の分野にも寄与するところ大である。

〔発明の開示〕

本発明は、基礎免疫の機能の解明、細菌感染症等を始めとする各種疾患等の発症機構の解明、さらにその診断、予防および治療法、並びにそれらのための試薬や医薬の開発に利用できるものを提供することを目的とする。

すなわち、本発明は以下の(1)～(33)をその要旨とするものである。

(1) 配列番号2のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸271個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号2に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号2のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体および断片。

30

(2) 配列番号45(配列番号1の塩基番号265～1077に相当)に示す塩基配列、配列番号2のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号2のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

(3) 配列番号4のアミノ酸番号1～245に示すアミノ酸245個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号4のアミノ酸番号1～245に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号4のアミノ酸番号1～245に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体および断片。

40

(4) 配列番号46(配列番号3の塩基番号141～875に相当)に示す塩基配列、配列番号4のアミノ酸番号1～245に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号4のアミノ酸番号1～245に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

(5) 配列番号47(配列番号2のアミノ酸番号113～271に相当)に示すアミノ酸

50

159個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号2に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号2のアミノ酸番号113~271に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体および断片。

(6) 配列番号48(配列番号1の塩基番号601~1077に相当)に示す塩基配列、配列番号2のアミノ酸番号113~271に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジентな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号2のアミノ酸番号113~271に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

10

(7) (5)に記載のタンパク質のN末端側に(Gly-Xaa-Yaa)_n(但しnは1以上50以下の整数を示し、XaaおよびYaaはアミノ酸残基を示し、XaaとYaaは同一アミノ酸残基であっても異なるアミノ酸残基であっても良い)の構造をさらに含むことを特徴とするタンパク質。

(8) (7)における(Gly-Xaa-Yaa)_nが下記群、すなわち、
Gly-Leu-Lys-Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-

Arg-Pro-Gly-Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Met-Gly-Asp-

Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-

20

Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-

Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro(配列番号49(配列番号2:アミノ酸番号41~112に相当))、

Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-Arg-Pro-Gly-

Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Met-Gly-Asp-Lys-Gly-Gln-

Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 50 (配列番号 2 : アミノ酸番号 44 ~ 112、もしくは配列番号 4 : アミノ酸番号 18 ~ 86 に相当))、

Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 51 (配列番号 2 : アミノ酸番号 92 ~ 112、もしくは配列番号 4 : アミノ酸番号 66 ~ 86 に相当))、

Gly-Asp-Met-Gly-Asp-Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 52 (配列番号 2 : アミノ酸番号 68 ~ 112、もしくは配列番号 4 : アミノ酸番号 42 ~ 86 に相当))、

Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-Arg-Pro-Gly-Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 11 (配列番号 2 : アミノ酸番号 44 ~ 67 および 92 ~ 112、もしくは配列番号 4 : アミノ酸番号 18 ~ 41 および 66 ~ 86 に相当))、

Gly-Leu-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 43 (配列番号 2 : アミノ酸番号 41 ~ 43 および 92 ~ 112 に相当))、

Gly-Leu-Lys-Gly-Asp-Met-Gly-Asp-Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 42 (配列番号 2 : アミノ酸番号 41 ~ 43 および 68 ~ 112 に相当))、または

Gly-Leu-Lys-Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-

10

20

30

40

Arg-Pro-Gly-Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-
Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro

(配列番号 4 4 (配列番号 2 : アミノ酸番号 4 1 ~ 6 7 および 9 2 ~ 1
1 2 に相当))

を含む配列から選択されることを特徴とする (7) のタンパク質。

(9) (7) または (8) に記載のタンパク質をコードする塩基配列。

(1 0) (7) または (8) に記載のタンパク質の (G l y - X a a - Y a a) n の構造
の N 末端に以下のアミノ酸配列すなわち、 10

Met-Arg-Gly-Asn-Leu-Ala-Leu-Val-Gly-Val-Leu-Ile-Ser-Leu-Ala-Phe-
Leu-Ser-Leu-Leu-Pro-Ser-Gly-His-Pro-Gln-Pro-Ala-Gly-Asp-Asp-Ala-
Cys-Ser-Val-Gln-Ile-Leu-Val-Pro (配列番号 5 3 (配列番号 2 : アミノ
酸番号 1 ~ 4 0 に相当)) をさらに含むことを特徴とするタンパク質。

(1 1) (7) または (8) に記載のタンパク質の (G l y - X a a - Y a a) n の構造
の N 末端に以下のアミノ酸配列すなわち、 20

Met-Trp-Trp-Val-Pro-Pro-Ser-Pro-Tyr-Gly-Cys-Leu-Pro-Cys-Ala-Leu-

Pro (配列番号 5 4 (配列番号 4 : アミノ酸番号 1 ~ 1 7 に相当)) をさ
らに含むことを特徴とするタンパク質。

(1 2) (1 0) または (1 1) に記載のタンパク質をコードする塩基配列。

(1 3) 配列番号 6 のアミノ酸番号 1 ~ 1 9 7 に示すアミノ酸 1 9 7 個から成るアミノ酸
配列を有するタンパク質、または、配列番号 6 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数
個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 6 の
アミノ酸番号 1 ~ 1 9 7 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタン
パク質、あるいはこれらの誘導体および断片。 30

(1 4) 配列番号 5 5 (配列番号 5 の塩基番号 1 4 1 ~ 7 3 1 に相当) に示す塩基配列、
配列番号 6 のアミノ酸番号 1 ~ 1 9 7 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩
基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリン
ジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 6 のアミノ酸番号 1 ~ 1 9 7 に示す
アミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列
。

(1 5) 配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ~ 2 2 1 に示すアミノ酸 2 2 1 個から成るアミノ酸
配列を有するタンパク質、または、配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ~ 2 2 1 に示すアミノ酸
配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列か
らなり、かつ配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ~ 2 2 1 に示すアミノ酸配列を有するタンパク
質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体および断片。 40

(1 6) 配列番号 5 6 (配列番号 7 の塩基番号 1 4 1 ~ 8 0 3 に相当) に示す塩基配列、
配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ~ 2 2 1 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩
基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリン
ジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ~ 2 2 1 に示す
アミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列
。

(1 7) 配列番号 1 0 のアミノ酸番号 1 ~ 2 2 1 に示すアミノ酸 2 2 1 個から成るアミノ
酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 1 0 のアミノ酸番号 1 ~ 2 2 1 に示すアミ
ノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配 50

列からなり、かつ配列番号10のアミノ酸番号1~221に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体および断片。

(18) 配列番号57(配列番号9の塩基番号141~803に相当)に示す塩基配列、配列番号10のアミノ酸番号1~221に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジентな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号10のアミノ酸番号1~221に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

(19) 配列番号13のアミノ酸番号1~271に示すアミノ酸271個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号13のアミノ酸番号1~271に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号13のアミノ酸番号1~271に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体および断片。

10

(20) 配列番号58(配列番号12の塩基番号157~969に相当)に示す塩基配列、配列番号13のアミノ酸番号1~271に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジентな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号13のアミノ酸番号1~271に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

(21) 配列番号37のアミノ酸番号1~223に示すアミノ酸223個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号37のアミノ酸番号1~223に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号37のアミノ酸番号1~223に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

20

(22) 配列番号59(配列番号36の塩基番号265~933に相当)に示す塩基配列、配列番号37のアミノ酸番号1~223に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジентな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号37のアミノ酸番号1~223に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

30

(23) 配列番号39のアミノ酸番号1~247に示すアミノ酸247個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号39のアミノ酸番号1~247に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号39のアミノ酸番号1~247に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

(24) 配列番号60(配列番号38の塩基番号265~1005に相当)に示す塩基配列、配列番号39のアミノ酸番号1~247に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジентな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号39のアミノ酸番号1~247に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

40

(25) 配列番号41のアミノ酸番号1~247に示すアミノ酸247個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号41のアミノ酸番号1~247に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号41のアミノ酸番号1~247に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

(26) 配列番号61(配列番号40の塩基番号265~1005に相当)に示す塩基配列、配列番号41のアミノ酸番号1~247に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジентな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号41のアミノ酸番号1~24

50

7に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

(27)(2)、(4)、(6)、(9)、(12)、(14)、(16)、(18)、(20)、(22)、(24)または(26)に記載の塩基配列を含むことを特徴とするベクター。

(28)(2)、(4)、(6)、(9)、(12)、(14)、(16)、(18)、(20)、(22)、(24)または(26)に記載の塩基配列を発現可能に保持する形質転換細胞。

(29)(2)、(4)、(6)、(9)、(12)、(14)、(16)、(18)、(22)、(24)または(26)に記載の塩基配列で形質転換した細胞を培養し、産生されたhCL-L2sタンパク質を採取することを特徴とするタンパク質の製造法。

(30)(20)に記載の塩基配列で形質転換した細胞を培養し、産生されたmCL-L2sタンパク質を採取することを特徴とするタンパク質の製造法。

(31)細胞が大腸菌、動物細胞または昆虫細胞である、(29)または(30)に記載の製造法。

(32)CL-L2s遺伝子の発現レベルを変化させたトランスジェニック非ヒト動物。

(33)mCL-L2s遺伝子の機能を欠損させたノックアウトマウス。

(34)(1)、(3)、(5)、(7)、(8)、(10)、(11)、(13)、(15)、(17)、(19)、(21)、(23)または(25)に記載のタンパク質またはその断片に対する抗体。

(35)ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体またはペプチド抗体である(34)記載の抗体。

(36)(34)または(35)に記載の抗体とCL-L2sタンパク質またはその断片との免疫学的な結合に基づいて、該タンパク質またはその断片を測定する方法。

(37)(1)、(3)、(5)、(7)、(8)、(10)、(11)、(13)、(15)、(17)、(19)、(21)、(23)または(25)に記載のタンパク質の機能を刺激するアゴニスト。

(38)(1)、(3)、(5)、(7)、(8)、(10)、(11)、(13)、(15)、(17)、(19)、(21)、(23)または(25)に記載のタンパク質の機能を阻害するアンタゴニスト。

(39)(1)、(3)、(5)、(7)、(8)、(10)、(11)、(13)、(15)、(17)、(19)、(21)、(23)または(25)に記載のタンパク質を用いることを特徴とする薬物のスクリーニング方法。

(40)(39)に記載のスクリーニング方法によって得られた薬物。

〔発明を実施するための最良の形態〕

本発明者らはヒトおよびマウス新規コレクチン遺伝子(hCL-L2およびmCL-L2)のクローニングに成功した。新規CL-L2のC末端側には、基礎免疫に關与すると考えられるCRD(配列番号2および13のアミノ酸番号113~271、配列番号4のアミノ酸番号87~245)ならびに(Gly-Xaa-Yaa)_n構造を有するコラーゲン様領域(配列番号2および13のアミノ酸番号41~112、配列番号4のアミノ酸番号18~86)を有していた。

また、hCL-L2には第4図に示したように、N末端側のアミノ酸配列が異なる2種類のタンパク質(CL-L2-1およびCL-L2-2)が存在していた。具体的には、CL-L2-1(配列番号2に示す)のN末端側(第1~43位)アミノ酸とCL-L2-2(配列番号4に示す)のN末端側(第1~17位)アミノ酸が異なっており、その余は同一であった。さらに、CL-L2-1のN末端側アミノ酸の第1~43位にはシグナル配列およびコラーゲン構造1巻分等が含有されていたが、CL-L2-2のN末端側アミノ酸第1~17位にはシグナル配列およびコラーゲン様構造一巻分は存在しなかった。

加えて、CL-L2-2にはmRNAのオルターナティブスプライシングによって生じる3種のタンパク質が存在していた。それらをCL-L2-2v1(配列番号5、6)、C

10

20

30

40

50

L-L2-2v2 (配列番号7、8)およびCL-L2-2v3 (配列番号9、10)と称す。CL-L2-2v1は、配列番号4に示すCL-L2-2のアミノ酸番号18~65間が欠失(配列番号3に示すCL-L2-2の塩基番号192~335間が欠失)したものであり、CL-L2-2v2は、配列番号4に示すCL-L2-2のアミノ酸番号18~41間が欠失(配列番号3に示すCL-L2-2の塩基番号192~263間が欠失)したものであり、CL-L2-2v3は、配列番号4に示すCL-L2-2のアミノ酸番号42~65間が欠失(配列番号3に示すCL-L2-2の塩基番号264~335間が欠失)したものである。これら3種のタンパク質は、すべてCL-L2-2のコラーゲン様領域内のスプライシングの差異により生じていた。

さらに、CL-L2-1にはmRNAのオルターナティブスプライシングによって生じる3種のタンパク質が存在していた。それらをCL-L2-1v1 (配列番号36、37)、CL-L2-1v2 (配列番号38、39)およびCL-L2-1v3 (配列番号40、41)と称す。CL-L2-1v1は、配列番号2に示すCL-L2-1のアミノ酸番号44~91間が欠失(配列番号1に示すCL-L2-1の塩基番号394~537間が欠失)したものであり、CL-L2-1v2は、配列番号2に示すCL-L2-1のアミノ酸番号44~67間が欠失(配列番号1に示すCL-L2-1の塩基番号394~465間が欠失)したものであり、CL-L2-1v3は、配列番号2に示すCL-L2-1のアミノ酸番号68~91間が欠失(配列番号1に示すCL-L2-1の塩基番号466~537間が欠失)したものである。これら3種のタンパク質は、すべてCL-L2-1のコラーゲン様領域内のスプライシングの差異により生じていた。

本明細書において使用するhCL-L2遺伝子とは、特記しない限り、それぞれ配列番号1に示すhCL-L2-1、配列番号3に示すhCL-L2-2、配列番号5に示すhCL-L2-2v1、配列番号7に示すhCL-L2-2v2、配列番号9に示すhCL-L2-2v3、配列番号36に示すhCL-L2-1v1、配列番号38に示すhCL-L2-1v2、および配列番号40に示すhCL-L2-1v3を包含する。本明細書において使用するhCL-L2タンパク質とは、特記しない限り、それぞれ配列番号2に示すhCL-L2-1、配列番号4に示すhCL-L2-2、配列番号6に示すhCL-L2-2v1、配列番号8に示すhCL-L2-2v2、配列番号10に示すhCL-L2-2v3、配列番号37に示すhCL-L2-1v1、配列番号39に示すhCL-L2-1v2、および配列番号41に示すhCL-L2-1v3を包含する。また、それらの

相同体、変異体、修飾体および多形性変種(これらを総じて「誘導體」と称する)、並びにそれらの断片を含むものとする。これらは天然または人工的作製を問わない。本発明には前記記載の全てが包含される。

本明細書において使用するmCL-L2遺伝子とは、特記しない限り、配列番号12に示すmCL-L2を包含する。本明細書において使用するmCL-L2タンパク質とは、特記しない限り、それぞれ配列番号13に示すmCL-L2を包含する。また、それらの相同体、変異体、修飾体および多形性変種(これらを総じて「誘導體」と称する)、並びにそれらの断片を含むものとする。これらは天然または人工的作製を問わない。本発明には前記記載の全てが包含される。

また、本発明には、実質的に配列番号2、4、6、8、10、13、37、39もしくは41、配列番号47(配列番号2のアミノ酸番号113~271に相当)または配列番号13のアミノ酸番号113~271に示すアミノ酸配列に類似するアミノ酸配列、および実質的に配列番号2、4、6、8、10、13、37、39もしくは41、配列番号47(配列番号2のアミノ酸番号113~271に相当)または配列番号13のアミノ酸番号113~271に示すアミノ酸配列をコードする塩基配列も含まれる。さらにこれらのアミノ酸配列を有するタンパク質も含まれる。配列番号2、4、6、8、10、13、37、39もしくは41、配列番号47(配列番号2のアミノ酸番号113~271に相当)または配列番号13のアミノ酸番号113~271に示すアミノ酸配列に実質的に類似するアミノ酸配列とは、配列番号2、4、6、8、10、13、37、39もしくは41、配列番号47(配列番号2のアミノ酸番号113~271に相当)

10

20

30

40

50

または配列番号13のアミノ酸番号113~271に示すアミノ酸配列を含むタンパク質と同等の性質を有する範囲内で、1もしくは数個のアミノ酸の置換、欠失、付加および/または挿入等の改変を有するアミノ酸配列をいう。これらは天然または人工的作製を問わない。

かかる1または複数のアミノ酸の欠失、置換及び/または付加とは、新規コレクチンの親水性・疎水性、酸性・塩基性、含有基などに大幅な変化をきたさず、(1)Ca²⁺要求性の糖認識構造様領域(CRD)及び(2)コラーゲン様領域の有する各々の基本的な特徴を変えることが少ない範囲でのアミノ酸の欠失、置換及び/または付加を称する。これまでに報告されているコレクチンファミリーのタンパク質のアミノ酸配列とその構造に基づき、例えば(1)Ca²⁺要求性の糖認識構造様領域(CRD)において1~10程度、(2)コラーゲン様領域において1~50程度、好ましくは1~15のアミノ酸の欠失、置換及び/または付加が許容されると考えられる。

そして同等の性質とは、改変前のアミノ酸配列を含むタンパク質固有の性質、例えばタンパク質三次構造に関わる特性を称するものとする。

さらに、本発明には、配列番号1、3、5、7、9、12、36、39もしくは41、配列番号48(配列番号1の塩基番号601~1077に相当)または配列番号12の塩基番号493~969のいずれかに記載の核酸配列またはその断片を含む核酸配列、またはこれらに相補的な核酸配列(以下、特定配列と称する)とストリンジエントな条件下ハイブリダイズすることができる核酸配列も含まれる。本発明におけるストリンジエントな条件とは、例えば、5×SSC、5%デンハート溶液(0.1%BSA、0.1%Ficol 1400、0.1%PVP)、0.5%SDSおよび20μg/mL変性サケ精子DNAを含有する溶液中で、37にて一夜インキュベートし、ついで室温にて0.1%SDS含有2×SSCで洗浄する条件である。SSCの代わりに適宜SSPEを使用してもよい。この様にして得られた核酸配列は、少なくとも特定配列と50%以上の相同性(ホモロジー)を有すると考えられる。特定配列とストリンジエントな条件下ハイブリダイズすることができる核酸配列によってコードされるタンパク質は、CL-L2sタンパク質と同等の性質を持つものが多いと考えられ、CL-L2sタンパク質と同等の性質を有する限り、該タンパク質も本発明に含まれる。

特に、配列番号2に示すhCL-L2-1(アミノ酸番号1~271)のアミノ酸配列はアミノ酸271個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列(配列番号45)は塩基数813個から成る。該配列にはシグナル配列、コラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号1に示した。

また、配列番号4に示すhCL-L2-2(アミノ酸番号1~245)のアミノ酸配列はアミノ酸245個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列(配列番号46)は塩基数735個から成る。該配列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号3に示した。

また、配列番号6に示すhCL-L2-2v1(アミノ酸番号1~197)のアミノ酸配列はアミノ酸197個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列(配列番号55)は塩基数591個から成る。該配列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号5に示した。

また、配列番号8に示すhCL-L2-2v2(アミノ酸番号1~221)のアミノ酸配列はアミノ酸221個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列(配列番号56)は塩基数663個から成る。該配列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号7に示した。

また、配列番号10に示すhCL-L2-2v3(アミノ酸番号1~221)のアミノ酸配列はアミノ酸221個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列(配列番

10

20

30

40

50

号57)は塩基数663個から成る。該配列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号9に示した。

また、配列番号37に示すhCL-L2-1v1(アミノ酸番号1~223)のアミノ酸配列はアミノ酸223個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列(配列番号59)は塩基数669個から成る。該配列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号36に示した。

また、配列番号39に示すhCL-L2-1v2(アミノ酸番号1~247)のアミノ酸配列はアミノ酸247個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列(配列番号60)は塩基数741個から成る。該配列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号38に示した。

また、配列番号41に示すhCL-L2-1v2(アミノ酸番号1~247)のアミノ酸配列はアミノ酸247個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列(配列番号61)は塩基数741個から成る。該配列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号40に示した。

さらに、配列番号13に示すmCL-L2(アミノ酸番号1~271)のアミノ酸配列はアミノ酸271個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列(配列番号58)は塩基数813個から成る。該配列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号12に示した。

本明細書中で使用する相同体とは、ホモロジーが高い核酸配列またはアミノ酸配列であり、ホモロジーが少なくとも50%以上、好ましくは70%以上、より好ましくは90%以上のものをいう。配列中に欠失や挿入が存在する場合には、ギャップ結合を許した相同性検索を行うと良い。例えば、マルチプル・アライメント(商品名:SODHO、富士通)の手法を用いて検索することができる。また、相同性検索のアルゴリズムには、最も厳密なSmith-Watermanアルゴリズムを用いることができる。その他、FASTAやBLAST等、インターネットを通じて利用することができる。

本明細書中で使用する変異体とは、例えば、対立遺伝子(アレル)、一ヌクレオチド多型(Single Nucleotide Polymorphism: SNP)等を挙げることができる。また、核酸配列の変異はコドンの縮重の範囲内で変化したのも本発明の核酸配列に含まれる。核酸配列のコドンの一部改変は、常法に従い、所望の改変をコードする合成オリゴヌクレオチドから成るプライマーを利用した部位特異的変異導入法(Mark, D. F. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 81, 5662, 1984)等に従って行うことができる。得られた人工的遺伝子変異体も本発明の核酸配列に含まれる。また、コドンの縮重の範囲を超えた場合であっても、変異したコドンによって翻訳された変異アミノ酸が、正常アミノ酸と類似の性質であることが好ましい。例えば、脂肪族アミノ酸であるアラニン、バリン、ロイシンおよびイソロイシン間での変異、中性アミノ酸であるグリシン、アラニン、セリン、トレオニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、システイン、メチオニン、フェニルアラニン、チロシン、プロリン、トリプトファン、アスパラギンおよびグルタミン間での変異、酸性アミノ酸であるアスパラギン酸およびグルタミン酸間での変異、塩基性アミノ酸であるアルギニン、リジンおよびヒスチジン間での変異、水酸基を有するセリンおよびトレオニン間での変異、芳香環を有するフェニルアラニンおよびチロシン間での変異等、アミノ酸の性質・機能・特性等が類似のものであるのが好ましい。これら人工的または天然に変異したタンパク質も本発明のタンパク質に含まれる。人工的には、PCR法を用いて部位特異的変異を起こすことができ、その他公知の方法を用いて任意の場所に変異を起こさせることができる。

本明細書中で使用する修飾体とは、例えば、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化

10

20

30

40

50

、アミド化、ミリスチル化、グリコシル化、水酸化、リン酸化、硫酸化、ホルミル化、メチル化、ポリエチレングリコール化、脂質結合、ヌクレオチド結合、金属結合（カルシウム付加体等）、多のタンパク質（アルブミン等）との融合体、二量体等の改変を通常の技術を用いて施すことができる。例えば、グリコシル化は宿主が大腸菌では起こらないため、グリコシル化を企図する場合には、真核細胞に発現すると良い。昆虫細胞も哺乳細胞と同様に翻訳後にグリコシル化を行うため使用することができる。

本明細書中で使用する多型性変種とは、例えば、染色体DNAの構造や形態の差異により生じる多型性、ある遺伝子対立遺伝子に変化したために生じる多型性等をいう。一般に真核生物の遺伝子は多形現象を示すことが多く、この現象によって1個あるいはそれ以上のアミノ酸が置換される場合もあり、また、その場合であってもタンパク質の活性が保持される場合もある。ゆえに、配列番号2、4、6、8、10もしくは13、37、39もしくは41、配列番号47（配列番号2のアミノ酸番号113～271に相当）または配列番号13のアミノ酸番号113～271のいずれかに示されるアミノ酸配列をコードする遺伝子を人工的に改変したものをを用いて得られたタンパク質をコードする遺伝子は、該タンパク質が本発明の遺伝子の特徴的な機能を有する限り全て本発明に含まれる。さらに、配列番号2、4、6、8、10もしくは13、37、39もしくは41、配列番号47（配列番号2のアミノ酸番号113～271に相当）または配列番号13のアミノ酸番号113～271のいずれかに示されるアミノ酸配列を人工的に改変したタンパク質は、本発明のタンパク質の特徴を有する限り全て本発明に含有される。改変とは、置換、欠失、付加および/または挿入を含むと解する。

本明細書中で使用する断片とは、例えば、上述したCL-L2sが有するアミノ酸配列中の任意の断片を意味し、例えば、細胞外ドメイン、細胞内ドメイン、膜貫通ドメイン、コラーゲン様ドメイン、CRDドメイン、コレクチン様ドメイン、疎水性ドメイン（膜貫通ドメイン等）、親水性ドメイン（疎水性ドメイン以外）等を挙げることができ、またこれら断片を融合させた断片挙げる事ができる。

例えば、配列番号2に示すhCL-L2-1アミノ酸配列において、CRDドメインを形成する約113～271番目のアミノ酸を有する断片、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約41～271番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約41～112番目のアミノ酸を有する断片を挙げる事ができる。さらに、配列番号4に示すhCL-L2-2アミノ酸配列において、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約18～245番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約18～86番目のアミノ酸を有する断片；配列番号6に示すhCL-L2-2v1アミノ酸配列において、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約18～197番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約18～38番目のアミノ酸を有する断片；配列番号8に示すhCL-L2-2v2アミノ酸配列において、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約18～221番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約18～62番目のアミノ酸を有する断片；配列番号10に示すhCL-L2-2v3アミノ酸配列において、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約18～221番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約18～62番目のアミノ酸を有する断片を挙げる事ができる。そして、配列番号37に示すhCL-L2-1v1アミノ酸配列において、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約41～223番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約41～64番目のアミノ酸を有する断片；配列番号39に示すhCL-L2-1v2アミノ酸配列において、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約41～247番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約41～88番目のアミノ酸を有する断片；配列番号41に示すhCL-L2-1v3アミノ酸配列において、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約41～247番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約41～88番目のアミノ酸を有する断片を挙げる事ができる。また、配列番号13に示すmCL-L2アミノ酸配列において、CRDドメインを形成する約1

10

20

30

40

50

13～271番目のアミノ酸を有する断片、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約41～271番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約41～112番目のアミノ酸を有する断片を挙げることもできる。

CL-L2s遺伝子取得方法

本発明のCL-L2s遺伝子は、いかなる方法で得られるものであっても良い。例えば、本発明のCL-L2sをコードする塩基配列は、該タンパク質を発現している細胞からmRNAを調製して、常法により二本鎖DNAに変換して得ることができる。mRNAの調製にはグアニジンイソチオシアネート・塩化カルシウム法(Chirwin, et al., Biochemistry, 18, 5294, 1979)等を用いることができる。全RNAからのポリ(A)⁺RNAの調製は、オリゴ(dT)を結合した担体、例えばセファロースあるいはラテックス粒子等を用いたアフィニティークロマトグラフィー等を用いて行うことができる。上記のごとくして得られたRNAを鋳型にして、3'末端に存在するポリ(A)鎖に相補的なオリゴ(dT)またはランダムプライマーあるいはCL-L2sのアミノ酸配列の一部に相応する合成オリゴヌクレオチドをプライマーとして逆転写酵素で処理し(Mol. Cell Biol., 2, 161, 1982、Mol. Cell Biol., 3, 280, 1983、Gene, 25, 263, 1983)、この様にして得られたcDNA鎖を、例えばE. coli RNase H、E. coli DNA polymerase 1、E. coli DNA ligaseで処理し、DNA鎖に変換することにより、二本鎖cDNAを得ることができる。このcDNAをプラスミドベクター、ファージベクター、コスミドベクターに組み込み、大腸菌を形質転換して、あるいはインビトロパッケージングを施した後、大腸菌にトランスフェクトすることによりcDNAライブラリーを作製することができる。

ここで用いることができるプラスミドベクターとしては、宿主内で複製保持されるものであれば特に制限されなく、ファージベクターについても宿主内で増殖できるものであれば特に制限されない。クローニング用ベクターとして、例えば、pBR322、pUC19、gt10、gt11等が挙げられる。また、免疫学的スクリーニングに供する場合には、宿主内でCL-L2s遺伝子を発現させることができるプロモーターを有するベクターであることが好ましい。

プラスミドにcDNAを組み込む方法としては、Maniatisらの方法(Molecular Cloning, A Laboratory Manual, second edition)等を参考にすることができる。また、ファージベクターにcDNAを組み込む方法としては、Hyunhらの方法(DNA cloning, a practical approach, 1, 49, 1985)等を参考にすることができる。

上記発現ベクターの宿主細胞への導入法としては、例えば、リポポリアミン法、DEAE-デキストラン法、ハナハン法、リポフェクチン法、リン酸カルシウム法によるトランスフェクション、マイクロインジェクションおよびエレクトロポレーション等の方法(Molecular Cloning, A Laboratory Manual, second edition)がある。インビトロパッケージングは、市販のキット(Stratagene社製、Amersham社製)を用いることによって簡便に行うことができる。

上記方法によって作製されたcDNAライブラリーから、CL-L2sタンパク質をコードするcDNAを単離する方法は、一般的なcDNAスクリーニング方法を組み合わせて行うことができる。例えば、³²Pで標識したプローブを作製し、コロニーハイブリダイゼーション法(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 3961, 1975)、ブランクハイブリダイゼーション法(Molecular Cloning, A Laboratory Manual, second edition、Cold Spring Harbor Laboratory, 2, 108, 1989)により目的のcDNAを含有するクローンをスクリーニングすることができる。また、PCR法によりクローンを選択することもできる。さらに、cDNAを発現しうるベクターを用いてcDNAライブラリーを作製した場合には、CL-L2sを認識する抗体を用いることによ

10

20

30

40

50

り目的のクローンを選択することができる。

また、CL-L2s遺伝子を発現する細胞よりCL-L2s遺伝子を単離する際には、例えば、該発現細胞をSDSまたはプロテナーゼKを用いて溶解し、フェノール処理を行う。不用のRNAをリボヌクレアーゼにより消化する。得られるDNAを制限酵素により消化し、得られるDNA断片をファージまたはコスミドで増幅してライブラリーを作製する。その後、目的のクローンを選択し、CL-L2s遺伝子を取得することができる。

この様にして得られたDNAの塩基配列はマキサム・ギルバート法(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 560, 1977)またはサンガー法(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 5463, 1977)によって決定することができる。CL-L2s遺伝子は、上記得られたクローンから制限酵素等によって切り出すことにより得ることができる。

CL-L2塩基配列をもとに合成したプライマーを用いて、CL-L2s発現細胞ポリ(A)⁺RNAを鋳型にしてRT-PCR法によりクローニングすることも可能である。また、PCRによらず、CL-L2s塩基配列をもとにプローブを作製・合成し、直接cDNAライブラリーをスクリーニングし、目的とするcDNAを得ることもできる。本発明の遺伝子を、これらの方法により得られた遺伝子の中から、その遺伝子の塩基配列を確認することにより選択することができる。本発明の遺伝子は、例えばホスホイミダイト法(Mattencchi, M. D. et al., J. Am. Chem. Soc., 130, 3185, 1981)等の核酸化学合成を用いる常法に従って製造することもできる。

発現ベクターの作製方法

本発明はまた、CL-L2s核酸配列を含むことを特徴とするベクターにも関する。ベクターは例えば、CL-L2sタンパク質を発現することができるものであれば特に制限されないが、プラスミドベクター、RNAベクター、DNAベクター、ウィルスベクター、ファージベクター等を用いることができる。具体的には、Invitrogen社製のpBAD/His、pRSETA、pcDNA2.1、pTrcHis2A、pYES2、pBlueBac4.5、pcDNA3.1、pSecTag2、Novagen社製のpET、pBAC、Promega社製のpGEM、Stratagene社製のpBluescriptII、pBS、Phagescript、pSG、pSV2CATもしくはFarmacia社製のpGEX、pUC18/19、pBPV、pSVK3、pSVL等が挙げられる。

発現ベクターにライゲーションしたCL-L2scDNA配列は、プロモーターに機能的に連結させる。プロモーターは例えば、ファージPLプロモーター、E.coli lac、trp、tacプロモーター、SV40初期および後期プロモーター、T7およびT3プロモーター、レトロウィルスLTRプロモーターが挙げられる。特に、真核細胞に使用するプロモーターとしては、CMVプロモーター、HSVプロモーター、SV40初期および後期プロモーター、レトロウィルスLTRプロモーター、RSVプロモーター、メタロチオネインプロモーターがある。また、発現ベクターは、形質転換した宿主を選択可能にすべきマーカーおよびエンハンサーを含有しても良い。マーカーには、ジヒドロ葉酸還元酵素遺伝子、ネオマイシン耐性遺伝子、アンピシリン耐性遺伝子等がある。エンハンサーには、SV40エンハンサー、サイトメガロウィルス初期エンハンサープロモーター、アデノウィルスエンハンサー等がある。

形質転換細胞の作製方法

さらに、本発明は上記したようなベクターによりこれらが保持する本発明の塩基配列を発現可能に保持する形質転換細胞を提供する。本明細書における形質転換細胞に用いる宿主細胞としては、好ましくは動物細胞および昆虫細胞であるが、本発明の発現ベクター中のCL-L2sタンパク質を発現することが可能な全ての細胞(微生物を含む)が挙げられる。

本明細書における動物細胞もしくは昆虫細胞としては、それぞれヒト由来の細胞、ハエもしくはカイコ由来の細胞が挙げられる。例えば、CHO細胞、COS細胞、BHK細胞、Verob細胞、ミエローマ細胞、HEK293細胞、HeLa細胞、Jurkat細胞、

10

20

30

40

50

マウスL細胞、マウスC127細胞、マウスFM3A細胞、マウス繊維芽細胞、骨芽細胞、軟骨細胞、S2、Sf9、Sf21、High Five（登録商標）細胞等がある。本明細書における微生物とは、大腸菌もしくは酵母等が含まれる。これら宿主への導入は上記記載した方法を用いることができる。

本発明のCL-L2s発現細胞は、感染症、免疫等に関わるコレクチン経路を解析するために用いることができる。また、CL-L2sタンパク質または糖鎖のあるCL-L2sタンパク質の製造に利用することができる。CL-L2sタンパク質に対するアゴニストまたはアンタゴニストの取得のためのスクリーニングにも利用できる。

タンパク質取得方法

本発明は、上記したような本発明の塩基配列で形質転換した細胞を培養し、産生されたCL-L2sを採取する、CL-L2sタンパク質の製造法にも関する。細胞の培養、タンパク質の分離、精製も、自体公知の方法によって行うことができる。

本発明のタンパク質は、それ自体、単離・精製・認識しやすいように組換え融合タンパク質として発現させることができる。組換え融合タンパク質とは目的タンパク質をコードする核酸配列により発現されたタンパク質のN末端側またはノおよびC末端側に適当なペプチド鎖を付加して発現させたタンパク質である。発現したタンパク質の精製を容易にする目的で、細胞外分泌シグナルを有する融合タンパク質として発現させても良い。また、タンパク質は、各種原料、例えば培養細胞、培養組織、形質転換細胞等のタンパク質産生原料から従来公知の方法、例えば硫酸アンモニウム沈殿法等の塩析、セファデックス等によるゲル濾過法、イオン交換クロマトグラフィー法、疎水性クロマトグラフィー法、色素ゲルクロマトグラフィー法、電気泳動法、透析、限外濾過法、アフィニティークロマトグラフィー法および高速液体クロマトグラフィー法等の公知の精製方法を用いて得ることができる。

遺伝子利用方法

配列番号1、3、5、7、9、12、36、38もしくは40、配列番号48（配列番号1の塩基番号601～1077に相当）または配列番号12の塩基番号493～969のいずれかに記載の塩基配列に基づいて、CL-L2s遺伝子を検出するためのプローブを設定することができる。あるいは、これらの塩基配列を含むDNAやRNAを増幅するためのプライマーを設定することができる。与えられた配列をもとにプローブやプライマーを設定することは、当業者が日常的に行っている。設定された塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを化学合成によって得ることができる。そしてそのオリゴヌクレオチドに適当な標識を付加すれば、様々な形式のハイブリダイゼーションアッセイに利用することができる。あるいはPCRの様な核酸の合成反応に利用することができる。プライマーに利用するオリゴヌクレオチドは少なくとも10塩基、好適には15～50塩基の長さとするのが望ましく、プローブに利用するオリゴヌクレオチドは100塩基から全長の長さであることが望ましい。また、CL-L2sタンパク質をコードする遺伝子変異の検出およびSNPの検出等にも用いることができることから、CL-L2s遺伝子変異によって生ずる疾患の診断に用いることができる。例えば、細菌感染症等を始めとする各種疾患等の診断に利用できるものと予想される。また、CL-L2s遺伝子を生体内に導入し発現させることによる遺伝子治療にも有用である。

さらに、本発明が提供するCL-L2sのcDNA塩基配列に基づいて、ゲノム中に存在するCL-L2s遺伝子のプロモーター領域、エンハンサー領域を取得することも可能である。具体的には特開平6-181767号、J. Immunol., 155, 2477, 1995、Proc. Natl. Acad. Sci, USA., 92, 3561, 1995)等と同様の方法でこれらの制御領域の取得が可能である。本明細書中で言うプロモーター領域とは転写開始部位の上流に存在する遺伝子の発現を制御するDNA領域を、エンハンサー領域とはイントロン、5'非翻訳領域、または3'非翻訳領域に存在する遺伝子の発現を増強するDNA領域を言う。

タンパク質利用方法

本発明のCL-L2sタンパク質は、基礎免疫の機能の解明、細菌感染症等を始めとする

各種疾患等の発症機構の解明、さらにその診断、予防および治療法、並びにそれらのための試薬や医薬の開発に利用できる可能性がある。また、CL-L2sに対する抗体を作製する際の抗原として用いることができる。さらに、アゴニストまたはアンタゴニストのスクリーニング方法にも利用できる。

アゴニストおよびアンタゴニスト

本発明は、また、本発明のCL-L2sの活性または活性化を刺激するアゴニストにも関する。本発明は、また、本発明のCL-L2sの活性または活性化を阻害するアンタゴニストにも関する。アンタゴニストのスクリーニングは、例えば、CL-L2sタンパク質を発現させた細胞に候補阻害剤とマンノースまたは抗体を作用させる競合的実験系を用いることができ、マンノースとの結合割合から候補阻害剤をスクリーニングすることができる。その他、自体公知の方法により行うことができる。また、アンタゴニストにはCL-L2s遺伝子の発現を阻害するアンチセンス核酸も含まれる。他のスクリーニング方法として、受容体の活性化によって生じる細胞外pHの変化を測定する方法(Science, 246, 181-296, 1989)などを挙げるができる。

10

トランスジェニック非ヒト動物

本発明は、CL-L2s遺伝子の発現レベルを変化させたトランスジェニック非ヒト動物に関する。ここで、CL-L2s遺伝子とは、hCL-L2sもしくはmCL-L2sをコードするcDNA、ゲノムDNAあるいは合成DNAを含む。また、遺伝子の発現には転写と翻訳のいずれのステップも含まれる。本発明によるトランスジェニック非ヒト動物は、CL-L2の機能あるいは発現調節の研究、CL-L2sが関与すると予想される疾患のメカニズム解明、医薬品のスクリーニング・安全性試験に用いる疾患モデル動物の開発に有用である。

20

本発明においては、遺伝子の発現を正常に調節しているいくつかの重要な部位(エンハンサー、プロモーター、イントロン等)の一部に欠失、置換、付加および/または挿入などの変異を起こさせることにより、本来の遺伝子の発現レベルと比較して上昇または下降するように人工的に修飾することができる。この変異の導入は、公知の方法により行うことができ、トランスジェニック動物を得ることができる。

トランスジェニック動物とは狭義には遺伝子組換えにより、外来遺伝子が生殖細胞に人為的に導入された動物のことをいい、広義にはアンチセンスRNAを用いて特定の遺伝子の機能を抑えたアンチセンス・トランスジェニック動物や、胚性幹細胞(ES細胞)を用いて特定の遺伝子をノックアウトした動物、点突然変異DNAを導入した動物を含み、個体発生の初期に外来遺伝子が安定して染色体に導入され、その子孫に遺伝形質として伝達され得る動物のことをいう。

30

本明細書中でいうトランスジェニック動物とはヒト以外のすべての脊椎動物を含む広義の意味に解する。本発明におけるトランスジェニック動物は、CL-L2sの機能あるいは発現調節の研究、ヒトにおいて発現している細胞に関連する疾患のメカニズムの解明、医薬品のスクリーニング・安全性試験に用いる疾患モデル動物の開発に有用である。

トランスジェニック動物の作製方法は、位相差顕微鏡下で前核期卵子の核に、微小ピペットで遺伝子を直接導入する方法(マイクロインジェクション法、米国特許第4873191号)、胚性幹細胞(ES細胞)を使用する方法などがある。その他、レトロウイルスベクターまたはアデノウイルスベクターに遺伝子を挿入し、卵子に感染させる方法、また、精子を介して遺伝子を卵子に導入する精子ベクター法等が開発されている。

40

精子ベクター法とは、精子に外来遺伝子を付着またはエレクトロポレーション等の方法で精子細胞内に取り込ませた後に、卵子に受精させることにより、外来遺伝子を導入する遺伝子組換え法である(M. Lavitrano et al., Cell, 57, 717, 1989)。あるいはバクテリオファージP1のcre/loxPリコンビナーゼ系やサッカロマイセス・セレビシアエ(Saccharomyces cerevisiae)のFLPリコンビナーゼ系等によるin vivoにおける部位特異的遺伝子組換えを用いることもできる。また、レトロウイルスを使用して、非ヒト動物へ目的タンパク質のトランスジェーンを導入する方法も報告されている。

50

マイクロインジェクション法によるトランスジェニック動物作製方法は、例えば、以下に示すようにして行われる。

まず、発現制御に関わるプロモーター、特定のタンパク質をコードする遺伝子、ポリAシグナルから基本的に構成されるトランスジーンが必要である。プロモーター活性により特定分子の発現様式や発現量が左右され、また、導入トランスジーンのコピー数や染色体上の導入部位により作製されたトランスジェニック動物が系統間で異なるため、各系統間で発現様式・発現量を確認する。非翻訳領域やスプライシングにより発現量が変化することが判明しているため、予めポリAシグナルの前にスプライシングされるイントロン配列を導入してもよい。受精卵に導入する遺伝子はできるだけ純度の高いものを使用することが重要である。使用する動物としては、受精卵採取用マウス(5~6週齢)、交配用雄マウス、偽妊娠雌マウス、輸精管結紮雄マウス等が用いられる。

10

効率よく受精卵を得るために、ゴナドトロピン等により排卵を誘発してもよい。受精卵を回収し、マイクロインジェクション法にて卵子の雄性前核にインジェクションピペット中の遺伝子を注入する。注入した卵子を輸卵管に戻すための動物(偽妊娠雌マウス等)を用意し、一匹に対して約10~15個を移植する。その後、誕生したマウスにトランスジーンが導入されているか否かを、尾の先端部からゲノムDNAを抽出し、サザン法あるいはPCR法によりトランスジーンを検出するか、あるいは相同組み換えが起こったときのみ活性化するマーカー遺伝子を挿入したポジティブクローニング法により確認することができる。さらに、トランスジーンが発現を確認するため、ノザン法もしくはRT-PCR法によりトランスジーン由来転写産物を検出する。または、タンパク質またはその断片に対する特異的抗体によって、ウェスタンブロッティングを行ってもよい。

20

ノックアウトマウス

本発明のノックアウトマウスは、CL-L2s遺伝子の機能が失われるように処理されたものである。ノックアウトマウスとは相同組換え技術により任意の遺伝子を破壊し、機能を欠損させたトランスジェニックマウスをいう。ES細胞を用いて相同組換えを行い、一方の対立遺伝子を改変・破壊した胚性幹細胞を選別し、ノックアウトマウスを作製することができる。例えば、受精卵の胚盤胞や桑実胚期に遺伝子を操作した胚性幹細胞を注入して、胚性幹細胞由来の細胞と胚由来の細胞が混ざったキメラマウスを得る。このキメラマウス(キメラとは、2個以上の受精卵に基づいた体細胞で形成される単一個体をいう)と正常マウスを交配すると、一方の対立遺伝子の全てが改変・破壊されたヘテロ接合体マウスを作製することができる。さらに、ヘテロ接合体マウス同士を交配することで、ホモ接合体マウスが作製できる。

30

相同組換えとは、遺伝子組換え機構で塩基配列が同じ、または非常に類似している2つの遺伝子間で起こる組換えのことをいう。相同組換えを起こした細胞の選別にはPCRを使用することができる。挿入遺伝子の一部と挿入が期待される領域の一部をプライマーとして用いるPCRを行い、増幅産物ができた細胞で相同組換えを起こしていることが判明できる。また、胚幹細胞で発現している遺伝子に相同組み換えを起こさせる場合には、導入遺伝子にネオマイシン耐性遺伝子を結合させておき、導入後に細胞をネオマイシン耐性にさせることにより選択することができる等、公知の方法およびそれらの変法を用いて容易に選択することができる。

40

抗体の作製方法

本発明はまた、CL-L2sまたはその断片を認識する抗体を提供する。本発明の抗体には例えば、配列番号2、4、6、8、10、13、37、39もしくは41、配列番号47(配列番号2のアミノ酸番号113~271)または配列番号13のアミノ酸番号113~271のアミノ酸配列を有するタンパク質またはその断片に対する抗体が含まれる。CL-L2sまたはその断片に対する抗体(例えばポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ペプチド抗体)または抗血清は、本発明のCL-L2sまたはその断片等を抗原として用い、自体公知の抗体または抗血清の製造法に従って製造することができる。特に、CL-L2sの機能を制御できる抗体(例えばCRDおよびコラーゲン様ドメイン等を認識する抗体)は抗体含有医薬品として有用である。

50

本発明のCL-L2sまたはその断片は、投与により抗体産生が可能な部位にそれ自体または希釈剤、担体と共に温血動物に対して投与される。投与に際して抗体産生を高めるために、完全フロイントアジュバントや不完全フロイントアジュバントを投与しても良い。投与は通常1~6週毎に1回ずつ、計2~10回程度行われる。用いられる温血動物としては、例えばサル、ウサギ、イヌ、モルモット、マウス、ラット、ヒツジ、ヤギ、ニワトリ等が挙げられるが、マウスおよびラットが好ましくは用いられる。ラットにはWistarおよびSD系ラット等が好ましく、マウスにはBALB/c、C57BL/6およびICR系マウス等が好ましく用いられる。

モノクローナル抗体産生細胞の作製に際しては、抗原で免疫された温血動物、例えばマウスから抗体価の認められる個体を選択し、最終免疫の2~5日後に脾臓またはリンパ節を採取し、それらに含まれる抗体産生細胞を骨髓腫細胞と融合させることにより、モノクローナル抗体産生ハイブリドーマを調製することができる。抗血清中の抗体価の測定は、例えば後記の標識化CL-L2sと抗血清とを反応させた後、抗体に結合した標識剤の活性を測定することによりなされる。融合操作は既知の方法、例えばケーラーとミルスタインの方法(Nature, 256, 495, 1975)やその変法(J. Immunol. Method, 39, 285, 1980、Eur. J. Biochem., 118, 437, 1981、Nature, 285, 446, 1980)に従い実施できる。融合促進剤としてはポリエチレングリコール(PEG)やセンダイウイルス等が挙げられるが、好ましくはPEGが用いられる。さらに融合効率を高めるために、適宜レクチン、ポリ-L-リジンもしくはDMSOを添加することもできる。

骨髓腫細胞としては例えばX-63Ag8、NS-1、P3U1、SP2/0、AP-1等が挙げられるが、好ましくはSP2/0が用いられる。用いられる抗体産生細胞(脾臓細胞)数と骨髓腫細胞数との好ましい比率は1:20~20:1であり、PEG(好ましくはPEG1000~PEG6000)を10~80%程度の濃度で添加し、20~40、好ましくは30~37で1~10分間インキュベートすることにより効率よく細胞融合を実施できる。抗CL-L2s抗体産生ハイブリドーマのスクリーニングには種々の方法が使用できるが、例えば、CL-L2s抗原を直接または担体と共に吸着させた固相(例えば、マイクロプレート)にハイブリドーマ培養上清を添加し、次に放射性物質や酵素などで標識した抗免疫グロブリン抗体(細胞融合に用いられる細胞がマウスの場合、抗マウス免疫グロブリン抗体が用いられる)またはプロテインAを加え、固相に結合した抗CL-L2s抗体を検出する方法、抗免疫グロブリン抗体またはプロテインAを吸着させた固相にハイブリドーマ培養上清を添加し、放射性物質や酵素等で標識したCL-L2sを加え、固相に結合した抗CL-L2sモノクローナル抗体を検出する方法等が挙げられる。

抗CL-L2sモノクローナル抗体の選別およびクローニングは、自体公知またはそれに準じる方法に従って行うことができる。通常HAT(ヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジン)を添加した動物細胞用培地で行われる。選別、クローニングおよび育種用培地としては、ハイブリドーマが生育できるものならばどのような培地を用いても良い。例えば、1~20%、好ましくは10~20%の牛胎児血清を含むRPMI培地、1~10%の牛胎児血清を含むGIT培地、またはハイブリドーマ培養用無血清培地等を用いることができる。培養温度は、好ましくは約37である。培養時間は、通常5日~3週間、好ましくは1週間~2週間である。培養は、通常5%炭酸ガス下で行われる。ハイブリドーマ培養上清の抗体価は、上記の抗血清中の抗CL-L2s抗体価の測定と同様にして測定できる。すなわち、測定方法としてはラジオイムノアッセイ(RIA)法、酵素免疫測定法(ELISA)法、FIA(蛍光イムノアッセイ)法、ブランク測定法、凝集反応法等を用いることができるが、以下に示すようなELISA法が好ましい。

ELISA法によるスクリーニングは以下の方法に準じて行うことができる。免疫抗原と同様の操作で調製したタンパク質をELISAプレートの各ウェルの表面に固定化する。次に、非特異的吸着を防止する目的で、BSA、MSA、OVA、KLH、ゼラチンもしくはスキムミルク等を各ウェルに固定化する。この各ウェルにハイブリドーマ培養上清液

10

20

30

40

50

を添加し、一定時間放置し免疫反応を行わせる。PBS等を洗浄液として各ウェルを洗浄する。この洗浄液中には界面活性剤を添加することが好ましい。酵素標識二次抗体を添加し一定時間放置する。標識酵素としては、 α -ガラクトシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、ペルオキシダーゼ等を用いることができる。同じ洗浄液で各ウェルを洗浄後、使用した標識酵素の基質溶液を添加し酵素反応を行わせる。添加したハイブリドーマ培養上清液中に目的とする抗体が存在する場合は酵素反応が進行し基質溶液の色が変化する。

クローニングは、通常半固体アガー法や限界希釈法等のそれ自体公知の方法で行うことができ、具体的には前記の方法で目的とする抗体を産生するウェルを確認した後、クローニングを行いシングルクローンを得る。クローニング法としては、培養プレート1ウェル当たり1個のコロニーが形成するようにハイブリドーマ細胞を希釈して培養する限界希釈法等を用いると良い。限界希釈法によるクローニングには、コロニー形成能と高めるために支持細胞を用いるか、インターロイキン6などの細胞増殖因子を添加しても良い。その他、FACSおよびシングルセルマニピレーション法を用いてクローニングすることができる。クローン化されたハイブリドーマを、好ましくは無血清培地中で培養し、至適量の抗体をその上清に加える。この様にして得られた単一のハイブリドーマは、フラスコや細胞培養装置を用いて大量培養を行うか、動物の腹腔内で培養する(J. Immunol. Meth., 53, 313, 1982)ことにより、モノクローナル抗体を得ることができる。フラスコ内で培養を行う場合は、0~20%のFCSを含む細胞培養用培地(IMDM、DMEM、RPMI1640およびMEM等)を用いて行うことができる。動物の腹腔内で培養する場合は、細胞融合に使用した骨髄腫細胞の由来となった動物と同種、同系統の動物または胸腺欠損ヌードマウス等を使用することが好ましく、予めプリスタン等の鉱物油を投与してからハイブリドーマを移植する。1~2週間後腹腔内に骨髄腫細胞が増殖し、モノクローナル抗体を含む腹水を得ることができる。

本発明によるモノクローナル抗体は、CL-L2sに特異的なエピトープを認識するものを選択することによって、他のタンパク質と交差しないものとして行うことができる。一般的にそのタンパク質を構成するアミノ酸配列の中から、連続する少なくとも5以上のアミノ酸残基、望ましくは7~20アミノ酸のアミノ酸配列によって提示されるエピトープは、そのタンパク質に固有のエピトープを示すと言われている。従って、例えば配列番号2、4、6、8、10、13、37、39もしくは41、配列番号47(配列番号2のアミノ酸番号113~271に相当)または配列番号13のアミノ酸番号113~271のアミノ酸配列を有するタンパク質またはその断片のいずれかに記載されたアミノ酸から選択され、かつ連続する少なくとも5アミノ酸残基から成るアミノ酸配列を持つペプチドによって構成されるエピトープを認識するモノクローナル抗体は、本発明におけるhCL-L2sもしくはmCL-L2s特異的なモノクローナル抗体といえる。配列番号2、4、6、8、10、13、37、39もしくは41に記載されたアミノ酸配列の間で保存されたアミノ酸配列を選べば、CL-L2sに共通のエピトープを選択することができる。あるいは各配列に特異的なアミノ酸配列を含む領域であれば、それぞれのタンパク質の識別が可能なモノクローナル抗体を選択することができる。

抗CL-L2sモノクローナル抗体の分離精製は、通常のポリクローナル抗体の分離精製と同様に免疫グロブリンの分離精製法に従って行うことができる。公知の精製法としては、例えば、塩析法、アルコール沈殿法、等電点沈殿法、電気泳動法、硫酸沈殿法、イオン交換体(例えばDEAE)による吸脱着法、超遠心法、ゲル濾過法、抗原結合固相またはプロテインAもしくはプロテインG等の活性吸着剤により抗体のみを採取し、結合を解離させて抗体を得る特異的精製法のような手法を施すことができる。精製過程において凝集物の形成や抗体価の低下を防止する目的で、例えばヒト血清アルブミンを0.05~2%の濃度で添加する。その他、グリシン、 α -アラニン等のアミノ酸類、特にリジン、アルギニンおよびヒスチジン等の塩基性アミノ酸、グルコースやマンニトール等の糖類または塩化ナトリウム等の塩類を添加しても良い。IgM抗体の場合、特に凝集しやすいことが知られているため、 α -プロピオニラクトンおよび無水酢酸で処理しても良い。

本発明のポリクローナル抗体は、それ自体公知あるいはそれに準じる方法に従って製造す

10

20

30

40

50

ることができる。例えば、免疫抗原（タンパク質抗原）自体、あるいはそれとキャリアータンパク質との複合体を作り、上記のモノクローナル抗体の製造法と同様に温血動物に免疫を行い、該免疫動物から本発明のタンパク質またはその断片に対する抗体含有物を採取して、抗体の分離精製を行うことにより製造することができる。温血動物を免役するために用いられる免疫抗原とキャリアータンパク質との複合体に関し、キャリアータンパク質の種類およびキャリアーとハプテンとの混合比は、キャリアーに架橋させて免役したハプテンに対して抗体が効率よくできれば、どのようなものをどのような比率で架橋させても良いが、例えばウシ血清アルブミンやウシサイログロブリン、ヘモシアニン等を重量比でハプテン1に対し、約0.1～20、好ましくは約1～5の割合でカップリングさせる方法が用いられる。また、ハプテンとキャリアーのカップリングには、種々の縮合剤を用いることができるが、グルタルアルデヒドやカルボジイミド、マレイミド活性エステル、チオール基、ジチオピリジル基を含有する活性エステル試薬などが用いられる。縮合生成物は、温血動物に対して、抗体産生が可能な部位にそれ自体あるいは担体、希釈剤と共に投与される。投与に際して抗体産生能を高めるため、完全フロイントアジュバントや不完全フロイントアジュバントを投与しても良い。投与は、通常2～6週毎に1回ずつ、計約3～10回程度行われる。ポリクローナル抗体は上記の方法で免役された温血動物の血液、腹水等、好ましくは血液から採取することができる。抗血清中のポリクローナル抗体価の測定は、上記血清中の抗体価の測定と同様に測定できる。ポリクローナル抗体の分離精製は、上記のモノクローナル抗体の分離精製と同様の免疫グロブリンの分離精製法に従って行うことができる。

10

20

抗体の利用方法

CL-L2sまたはその断片に対するモノクローナル抗体ならびにポリクローナル抗体は、CL-L2sを発現している細胞に関連する疾病の診断や治療に利用することが可能である。これらの抗体を用いて、本発明のCL-L2sまたはその断片との免疫学的な結合に基づき、CL-L2sまたはその断片を測定することができる。具体的にこれらの抗体を用いてCL-L2sまたはその断片を測定する方法としては、例えば、不溶性担体に結合させた抗体と標識化抗体とによりCL-L2sまたはその断片を反応させて生成したサンドイッチ錯体を検出するサンドイッチ法、また、標識化CL-L2sと検体中のCL-L2sまたはその断片を抗体と競合的に反応させ、抗体と反応した標識抗原量から検体中のCL-L2sまたはその断片を測定する競合法を利用して検体中のCL-L2sまたはその断片を測定する方法が挙げられる。

30

サンドイッチ法によるCL-L2sまたはその断片の測定においては、まず、固定化抗体とCL-L2sまたはその断片とを反応させた後、未反応物を洗浄によって完全に除去し、標識化抗体を添加して固定化抗体-CL-L2s標識化抗体を形成させる2ステップ法もしくは固定化抗体、標識化抗体およびCL-L2sまたはその断片を同時に混合する1ステップ法などを用いることができる。

測定に使用される不溶性担体は、例えばポリスチレン、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニル、ポリエステル、ポリアクリル酸エステル、ナイロン、ポリアセタール、フッ素樹脂等の合成樹脂、セルロース、アガロース等の多糖類、ガラス、金属等が挙げられる。不溶性担体の形状としては、例えばトレイ状、球状、繊維状、棒状、盤状、容器状、セル、試験管等の種々の形状を用いることができる。抗体を吸着した担体は、適宜アジ化ナトリウム等の防腐剤の存在下、冷所に保存する。

40

抗体の固層化には、公知の化学的結合法または物理的吸着法を用いることができる。化学的結合法としては例えばグルタルアルデヒドを用いる方法、N-スクシニイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレートおよびN-スクシニイミジル-2-マレイミドアセテートなどを用いるマレイミド法、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸などを用いるカルボジイミド法が挙げられる。その他、マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシサクシニミドエステル法、N-サクシニミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオン酸法、ビスジアゾ化ベンジジン法、ジバルミチルリジン法が挙げられる。あるいは、先に被検出物質とエピトープの異なる2種

50

類の抗体を反応させて形成させた複合体を、抗体に対する第3の抗体を上記の方法で固層化させておいて捕捉することも可能である。

標識物質としては、酵素、蛍光物質、発光物質、放射性物質および金属キレート等を使用するのが好ましい。酵素としては、例えばペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、
 - D - ガラクトシダーゼ、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、ブドウ球菌ヌクレアーゼ、デルタ - 5 - ステロイドイソメラーゼ、
 - グリセロールホスフェートデヒドロゲナーゼ、トリオースホスフェートイソメラーゼ、西洋わさびパーオキシダーゼ、アスパラギナーゼ、
 グルコースオキシダーゼ、リボヌクレアーゼ、ウレアーゼ、カタラーゼ、グルコース - 6 - ホスフェートデヒドロゲナーゼ、グルコアミラーゼ、アセチルコリンエステラーゼ等
 が挙げられ、蛍光物質としては、例えばフルオレセインイソチアネート、フィコビリプロ
 テイン、ローダミン、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、オルト
 フタルアルデヒド等が挙げられ、発光物質としてはイソルミノール、ルシゲニン、ルミノ
 ール、芳香族アクリジニウムエステル、イミダゾール、アクリジニウム塩およびその修飾
 エステル、ルシフェリン、ルシフェラーゼ、エクオリン等が挙げられ、放射性物質として
 は¹²⁵I、¹²⁷I、¹³¹I、¹⁴C、³H、³²P、³⁵S等が挙げられるが、これらに限らず免疫学的測定法に使用することができるものであれば特に限定されない。さら
 に、抗体にビオチン、ジニトロフェニル、ピリドキサルまたはフルオレサミンの様な
 低分子ハプテンを結合させても良い。好ましくは西洋わさびペルオキシダーゼを標識化酵
 素として用いる。本酵素は多くの基質と反応することができ、過ヨウ素酸法によって容易
 に抗体に結合させることができる。

標識化剤が酵素である場合には、その活性を測定するために基質、必要により発色剤を用
 いる。酵素としてペルオキシダーゼを用いる場合には、基質溶液としてH₂O₂を用い、
 発色剤として2, 2' - アジノ - ジ - [3 - エチルベンズチアゾリンスルホン酸] アンモ
 ニウム塩 (A B T S)、5 - アミノサリチル酸、オルトフェニレンジアミン、4 - アミノ
 アンチピリン、3, 3', 5, 5' - テトラメチルベンジジン等を使用することができ、
 酵素にアルカリフォスファターゼを用いる場合は基質としてオルトニトロフェニルフォス
 フェート、パラニトロフェニルリン酸等を使用することができ、酵素に - D - ガラクト
 シダーゼを用いる場合は基質としてフルオレセイン - ジ - (- D - ガラクトピラノシド)、
 4 - メチルウンベリフェニル - - D - ガラクトピラノシド等を使用することができる。
 本発明には、また、前述のモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体および試薬類を
 キット化したのものも含まれる。

架橋剤としては、N, N' - オルトフェニレンジマレイミド、4 - (N - マレイミドメチ
 ル) シクロヘキサン酸・N - スクシンイミドエステル、6 - マレイミドヘキサン酸・N -
 スクシンイミドエステル、4, 4' - ジチオピリジン、その他公知の架橋剤が利用可能で
 ある。これらの架橋剤と酵素および抗体との反応は、それぞれの架橋剤の性質に応じて既
 知の方法に従って行えばよい。また、抗体としては、場合によっては、そのフラグメント
 、例えばFab', Fab, F(ab')₂を用いる。また、ポリクローナル抗体、モノ
 クローナル抗体にかかわらず同様の処理により酵素標識体を得ることができる。上記架橋
 剤を用いて得られる酵素標識体をアフィニティークロマトグラフィー等の公知の方法にて
 精製すれば、更に感度の高い免疫測定系が可能となる。精製した酵素標識化抗体は、安定
 剤としてチメロサルもしくはグリセリン等を加えて、あるいは凍結乾燥して冷暗所に保
 存する。

測定対象は、血漿、血清、血液、尿、組織液、脳脊髄液等の体液、各種細胞、組織等、C
 L - L 2 sを含む試料であれば限定されない。

ヒト化抗体の作製方法

ヒトに任意の抗原を免疫して抗体を製造することは倫理上不可能である。また、マウスモ
 ノクローナル抗体をヒトの体内に投与すると、ヒトにとっては異種タンパクであるので種
 々の副作用が起こる危険性がある。そこで、ヒトに抗体を投与する場合にはヒトに対し抗
 原性を低くした抗体が好ましい。

ヒトモノクローナル抗体の作製方法には細胞融合法以外にも、エプスタイン・パール (E

10

20

30

40

50

pstein-Barr) ウィルス (EBV) で形質転換する方法、さらにはその形質転換した細胞を親細胞と融合させる方法、遺伝子工学を利用しキメラ抗体、ヒト化抗体を作製する方法などがある。キメラ抗体とは異種の動物の免疫グロブリン遺伝子断片をつなげて作製された抗体であり、ヒト化抗体とはマウスなどにヒトにとって異種の抗体を改変して、H鎖とL鎖の相補性決定部 (CDR) 以外の一次構造をヒトの抗体の対応する一次構造に置換した抗体をいう。

キメラ抗体の作製方法として、まずマウスに免疫し、そのマウスモノクローナル抗体の遺伝子から抗原と結合する抗体可変部 (V領域) を切り出し、ヒト骨髄腫由来の抗体定常部 (C領域) 遺伝子と結合してキメラ遺伝子を作製する。このキメラ遺伝子を宿主細胞で発現させれば、ヒト・マウス・モノクローナル抗体が産生できる。キメラ抗体はヒトに対する抗原性が少ないため、ヒト体内に投与する治療用や画像診断用モノクローナル抗体等として利用できる。公知のキメラ抗体の関連技術として、特開平05-304989号、特開平04-330295号、WO9106649、特開昭63-036786号、特公平06-98021号等がある。

また、最近キメラ抗体よりも有用であるといわれるヒト化抗体が開発された。ヒト化抗体とは抗体分子の抗原結合部位 (CDR: Complementary determining region、相補性決定領域) の遺伝子配列のみをヒト抗体遺伝子に移植 (CDRグラフト) し、抗体分子のCDRを除いた全分子をヒト化した抗体である。本抗体はヒト・マウス・キメラ抗体より、マウスの抗体部分が少ないため、抗原性が少なく安全性が高いと言われている。ヒトモノクローナル抗体作製の親細胞は、ヒト/マウスのヘテロミエロームであるSHM-D 33株 (ATCC CRL 1668) またはRF-S1株を用いるとマウスの親細胞と同等の高い融合効率を得られる。これらの親細胞を用いて得られたハイブリドームはフィーダー細胞なしでクローニングが可能であり、IgGタイプの抗体を比較的安定にしかも大量に産生することができる。親細胞の培養には、15% FCSを加えたERDF培地を用い、その他の操作はマウスの場合と同様である。また、IgGタイプのヒトモノクローナル抗体を作製するには抗原で十分に感作されたヒトリンパ球を末梢血から採取して用いるのが好ましい。十分に抗原で感作されたリンパ球の取得が困難な場合には in vitro で抗原感作を行うこともできる。我が国では現在、成人性T細胞白血病に対するヒト化抗体の臨床試験が行われている。ヒト化抗体の製造方法およびその関連技術については、米国 Genentech社 (WO9222653、WO9845332、WO9404679、WO9837200、WO9404679、) および英国 Celltech社 (WO9429451、WO9429351、WO9413805、WO9306231、WO9201059、WO9116927、WO9116928、WO9109967、WO8901974、WO8901783) 等が特許出願している。

上記示した方法等を用いることにより、本発明の抗体をヒト化することができ、ヒトに投与する場合には非常に有用である。

組成物

CL-L2s ポリヌクレオチドまたはタンパク質は、細菌感染症等を始めとする各種疾患等の診断、予防および治療法、並びにそれらのための試薬や医薬の開発に利用できる可能性がある。

本発明の医薬組成物の成分には、CL-L2s ポリヌクレオチドまたはタンパク質、CL-L2s タンパク質の機能を刺激する物質もしくは阻害する物質、CL-L2s タンパク質に対する抗体等の物質 (以下、CL-L2s 関連物質) が含まれる。CL-L2s 関連物質は、そのままあるいは水に希釈する等の各種処理を施して使用することができるが、医薬品、医薬部外品等に配合して使用することができる。この場合、該物質の配合量は製品に応じて適宜選択されるところではあるが、通常全身投与製剤の場合には、0.001~50重量%、特に0.01~10重量%とすることができ、0.001%より少ないと満足する涙液分泌促進作用が認められない可能性があり、また、50%を越えると製品そのものの安定性や香味等の特性が損なわれる可能性がある。

10

20

30

40

50

投与経路は前記示した経口投与および静脈内投与以外に、経粘膜投与、経皮投与、筋肉内投与、皮下投与、直腸内投与等が適宜選択できる。

本発明のCL-L2s関連物質は塩として製剤中に含有されていてもよい。薬剤学的に許容される塩としては、例えば無機塩基、有機塩基等の塩基との塩、無機酸、有機酸、塩基性または酸性アミノ酸などの酸付加塩等が挙げられる。無機塩基としては、例えば、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属、カルシウム、マグネシウム等のアルカリ土類金属、アルミニウム、アンモニウム等が挙げられる。有機塩基としては、例えば、エタノールアミン等の第一級アミン、ジエチルアミン、ジエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、N,N'-ジベンジルエチレンジアミン等の第二級アミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、トリエタノールアミン等の第三級アミン等が挙げられる。無機酸としては、例えば、塩酸、臭化水素酸、硝酸、硫酸、リン酸等が挙げられる。有機酸としては、例えば、ギ酸、酢酸、乳酸、トリフルオロ酢酸、フマル酸、シュウ酸、酒石酸、マレイン酸、安息香酸、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸、メタンシルホン酸、エタンシルホン酸、ベンゼンシルホン酸、p-トルエンシルホン酸等が挙げられる。塩基性アミノ酸としては、例えば、アルギニン、リジン、オルニチン等が挙げられる。酸性アミノ酸としては、例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸等が挙げられる。

経口投与を行う場合の剤型として、散剤、顆粒剤、カプセル剤、丸剤、錠剤、エリキシル剤、懸濁剤、乳剤およびシロップ剤等があり、適宜選択することができる。また、それら製剤について徐放化、安定化、易崩壊化、難崩壊化、腸溶溶性化、易吸収化等の修飾を施すことができる。また、口腔内局所投与を行う場合の剤型として、咀嚼剤、舌下剤、バツカル剤、トローチ剤、軟膏剤、貼布剤、液剤等があり、適宜選択することができる。また、それら製剤について徐放化、安定化、易崩壊化、難崩壊化、腸溶溶性化、易吸収化等の修飾を施すことができる。

前記示した剤型について、公知のドラッグデリバリーシステム(DDS)の技術を採用することができる。本明細書に言うDDS製剤とは、除法化製剤、局所適用製剤(トローチ、バツカル錠、舌下錠等)、薬物放出制御製剤、腸溶性製剤および胃溶性製剤等、投与経路、バイオアベイラビリティ、副作用等を勘案した上で、最適の製剤形態にした製剤を言う。

DDSの構成要素には基本的に薬物、薬物放出モジュール、覆いおよび治療プログラムから成り、各々の構成要素について、特に放出を停止させた時に速やかに血中濃度が低下する半減期の短い薬物が好ましく、投与部位の生体組織と反応しないおおいが好ましく、さらに、設定された期間において最良の薬物濃度を維持する治療プログラムを有するのが好ましい。薬物放出モジュールは基本的に薬物貯蔵庫、放出制御部、エネルギー源および放出孔または放出表面を有している。これら基本的構成要素は全て揃っている必要はなく、適宜追加あるいは削除等を行い、最良の形態を選択することができる。

DDSに使用できる材料としては、高分子、シクロデキストリン誘導体、レシチン等がある。高分子には不溶性高分子(シリコーン、エチレン・酢酸ビニル共重合体、エチレン・ビニルアルコール共重合体、エチルセルロース、セルロースアセテート等)、水溶性高分子およびヒドロキシルゲル形成高分子(ポリアクリルアミド、ポリヒドロキシエチルメタクリレート架橋体、ポリアクリル架橋体、ポリビニルアルコール、ポリエチレンオキシド、水溶性セルロース誘導体、架橋ポロキサマー、キチン、キトサン等)、徐溶解性高分子(エチルセルロース、メチルビニルエーテル・無水マレイン酸共重合体の部分エステル等)、胃溶性高分子(ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルメロースナトリウム、マクロゴール、ポリビニルピロリドン、メタアクリル酸ジメチルアミノエチル・メタアクリル酸メチルコポリマー等)、腸溶性高分子(ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、酢酸フタルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート、カルボキシメチルエチルセルロース、アクリル酸系ポリマー等)、生分解性高分子(熱凝固または架橋アルブミン、架橋ゼラチン、コラーゲン、フィブリン、ポリシアノアクリレート、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、ポリヒドロキシ酢酸、ポリカプロラクトン等)があり、剤型によって適宜選択することができる。

特に、シリコーン、エチレン・酢酸ビニル共重合体、エチレン - ビニルアルコール共重合体、メチルビニルエーテル・無水マレイン酸共重合体の部分エステルは薬物の放出制御に使用でき、セルロースアセテートは浸透圧ポンプの材料として使用でき、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロースは徐放性製剤の膜素材として使用でき、ポリアクリル架橋体は粘膜付着剤として使用できる。

また、製剤中にはその剤形（経口投与剤、注射剤、座剤等の公知の剤形）に応じて、溶剤、賦形剤、コーティング剤、基剤、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、溶解補助剤、懸濁化剤、粘稠剤、乳化剤、安定剤、緩衝剤、等張化剤、無痛化剤、保存剤、矯味剤、芳香剤、着色剤等の添加剤を加えて製造することができる。

上記添加剤をそれぞれ具体例を挙げて例示するが、これらに特に限定されるものではない。

〔溶剤〕精製水、注射用水、生理食塩水、ラッカセイ油、エタノール、グリセリン、
 〔賦形剤〕デンプン類、乳糖、ブドウ糖、白糖、結晶セルロース、硫酸カルシウム、炭酸カルシウム、タルク、酸化チタン、トレハロース、キシリトール、
 〔コーティング剤〕白糖、ゼラチン、酢酸フタル酸セルロースおよび上記記載した高分子

、
 〔基剤〕ワセリン、植物油、マクロゴール、水中油型乳剤性基剤、油中水型乳剤性基剤、
 〔結合剤〕デンプンおよびその誘導体、セルロースおよびその誘導体、ゼラチン、アルギン酸ナトリウム、トラガント、アラビアゴム等の天然高分子化合物、ポリビニルピロリドン等の合成高分子化合物、デキストリン、ヒドロキシプロピルスターチ、

〔滑沢剤〕ステアリン酸およびその塩類、タルク、ワックス類、コムギデンプン、マクロゴール、水素添加植物油、シヨ糖脂肪酸エステル、ポリエチレングリコール、
 〔崩壊剤〕デンプンおよびその誘導体、寒天、ゼラチン末、炭酸水素ナトリウム、セルロースおよびその誘導体、カルメロースカルシウム、ヒドロキシプロピルスターチ、カルボキシメチルセルロースおよびその塩類ならびにその架橋体、低置換型ヒドロキシプロピルセルロース、

〔溶解補助剤〕シクロデキストリン、エタノール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、
 〔懸濁化剤〕アラビアゴム、トラガント、アルギン酸ナトリウム、モノステアリン酸アルミニウム、クエン酸、各種界面活性剤、

〔粘稠剤〕カルメロースナトリウム、ポリビニルピロリドン、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルアルコール、トラガント、アラビアゴム、アルギン酸ナトリウム、

〔乳化剤〕アラビアゴム、コレステロール、トラガント、メチルセルロース、各種界面活性剤、レシチン、
 〔安定剤〕亜硫酸水素ナトリウム、アスコルビン酸、トコフェロール、キレート剤、不活性ガス、還元性物質、

〔緩衝剤〕リン酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、ホウ酸、

〔等張化剤〕塩化ナトリウム、ブドウ糖、

〔無痛化剤〕塩酸プロカイン、リドカイン、ベンジルアルコール、

〔保存剤〕安息香酸およびその塩類、パラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、逆性石けん、ベンジルアルコール、フェノール、チロメサル、

〔矯味剤〕白糖、サッカリン、カンゾウエキス、ソルビトール、キシリトール、グリセリン、

〔芳香剤〕トウヒチンキ、ローズ油、ならびに

〔着色剤〕水溶性食用色素、レーキ色素。

〔実施例〕

以下に、本発明の新規コレクチンに関して、実施例に沿って詳細に説明するが、これら実施例の開示によって、本発明が限定的に解釈されるべきでないことは勿論である。

すなわち、EST (Expressed Sequence Tags) データベースの検索 (実施例 1)、新規ヒトコレクチンのヒト肝臓由来 cDNA ライブラリーからの PCR によるスクリーニングと塩基配列の決定 (実施例 2)、新規ヒトコレクチンのヒト腎臓由来キャップサイト cDNA ライブラリーからの PCR によるスクリーニングと塩基配列の決定 (実施例 3)、新規ヒトコレクチンの相同性検索 (実施例 4)、新規マウスコレクチンの cDNA の取得 (実施例 5)、新規ヒトコレクチンのヒトの組織における発現分布解析 (実施例 6)、新規ヒトコレクチンの遺伝学的解析 (実施例 7)、新規コレクチン CL-L2-1 および CL-L2-2 のヒトの組織における発現分布解析 (実施例 8)、新規コレクチンの発現ベクター pcDNA3.1/Myo-His(+)-CL-L2-1, 2 の構築 (実施例 9)、新規コレクチンの安定発現細胞株の作成 (実施例 10)、新規コレクチンの糖特異性の解析 (実施例 11) について以下に説明する。 10

[実施例 1 : EST データベースの検索]

第 1 図に示した様に共通の構造を有する既知のコレクチンすなわちヒト MBP、ヒト SP-A、ヒト SP-D と本発明者が最近単離に成功したヒト肝臓由来コレクチン CL-L1 (特開平 11-206377 号参照) のアミノ酸残基の相同性を第 2 および 3 図に示した。図中、相同と認められるアミノ酸残基部分に囲みを付した。この図中、CL-L1 のレクチン活性を担う CRD (糖鎖認識領域) のアミノ酸配列 (配列番号 14) を用い、EST (Expressed Sequence Tags) データベースの検索を行った。その結果、相同性の高いアミノ酸配列を含むデータがいくつか得られた。得られたデータのアミノ酸配列について GenBank / EST データベースの検索を行い、既知または未知物質のいずれであるかを判定した結果、相同性は高いが未知の塩基配列を含む 1 種のデータ (H30455 : 胸部由来) を得ることができた。得られた EST クローンの塩基配列を用い、再度 EST データベースを検索した結果、同一の塩基配列を含むことが認められた 9 種のデータ (登録番号 : AA558494 : 生殖細胞由来、AA582499 : 腎臓由来、AI420986 : 前立腺由来、AA742449 : 生殖細胞由来、AA954657 : 腎臓由来、AA908360 : 卵巣由来、AI264145 : 腎臓由来、AA089855 : 心臓由来、AA456055 : メラノサイト、妊娠子宮、胎児心臓由来) を得ることができた。これらはすべて同一の新規コレクチンの塩基配列の一部を示すクローンであった。 20

[実施例 2 : ヒト肝臓由来 cDNA ライブラリーの PCR によるスクリーニングと塩基配列の決定] 30

上記の 10 種のクローンの塩基配列よりコンセンサス配列を作製し (配列番号 15)、新規ヒトコレクチンの cDNA の 5' 上流領域をクローニングするため、実施例 1 で得られたコンセンサス配列を基に上流方向への 2 種類のプライマー CAP1 (5' - agatttataattgataagccttg - 3' (配列番号 16)、CAP2 (5' - ctgggtataataattacataatg - 3' (配列番号 17) と、ヒト肝臓由来 cDNA ライブラリーのベクター領域の一部分のプライマー TripleX-F1 (5' - aagctccgagatctggacgag - 3' (配列番号 18))、TripleX-F2 (5' - ctccgggaagcgcgccattgtg - 3' (配列番号 19)) を PE Applied Biosystems 社製 392A DNA/RNA シンセサイザーにより合成し、以下のように PCR によるスクリーニングを行った (第 4 図)。 40

PCR によるスクリーニングのテンプレートとしてヒト肝臓由来 cDNA ライブラリー (クローンテック社製) を用い、第一回 PCR を行った。反応混液は、総液量 50 μ L にて、LA PCR Buffer II (Mg²⁺ 不含)、2.5 mM MgCl₂、それぞれ 200 μ M の dATP、dCTP、dGTP および dTTP (以上、すべて宝酒造社製) を 1 μ L、ヒト肝臓由来 cDNA ライブラリー (クローンテック社製)、0.5 μ M TripleX-F1 プライマー、ならびに 0.5 μ M CAP1 プライマーを含むものとした。PCR は熱変性 95 にて 20 秒、アニーリング 60 にて 20 秒、伸長反応 72 にて 90 秒を 35 サイクル、また繰り返し反応前に熱変性 95 にて 5 分、最後に伸長反応 72 にて 5 分を含むプログラムで行った。第 1 回 PCR 終了後、第 2 回 PC 50

Rを行った。第1回PCR産物1 μ Lを鋳型とし、プライマーはTriplex-F2プライマーおよびCAP2プライマーを用い、第1回PCRと同様の反応組成、プログラム(但し、サイクル数は25サイクル)で行った。以上のPCRはPE Applied Biosystems社製GeneAmp PCR System 9700により行った。得られたPCR産物をアガロースゲル電気泳動により確認後、バンドをゲルより切り出し、-80、10分間で凍結し、15000rpmにて10分間遠心分離後、上清をエタノール沈澱することにより精製した。

精製したDNA断片は、Novagen社製pT7Blue Vectorに組み込み、このベクターをコンピテントセルXL1-Blue細胞に形質転換した。形質転換体をLB培地(100 μ g/mLアンピシリン)で培養し、アルカリSDS法によりプラスミドを抽出し、PE Applied Biosystems社製BigDye Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction kitおよびABI PRISM 377シーケンサで塩基配列の決定を行った。プライマーはM13 Universalプライマー(5'-cgacggttgtaaacgacggccagt-3'(配列番号20))およびM13 Reverseプライマー(5'-caggaaacagctatgac-3'(配列番号21))(両プライマーともにCAP1プライマーと同様にして合成した)を用いた。この結果得られた塩基配列はCAP2プライマーの3'末端側からN末端側に575塩基長い配列であることが明らかとなった(第4図に示すCL-L2-1 ORFのアミノ酸番号68~271、またはCL-L2-2 ORFのアミノ酸番号42~245に相当する領域)。但し、実施例1で得られたESTのコンセンサス配列の5'末端領域の塩基配列と若干の相違が認められた。

[実施例3:新規ヒトコレクチンのヒト腎臓由来キャップサイトcDNAライブラリーからのPCRによるスクリーニングと塩基配列の決定]

実施例2で得られた塩基配列よりさらに転写開始点を含む5'末端領域のクローニングを行うため、実施例2で得られた塩基配列をもとに上流方向への2種類のプライマーCAP3(5'-ggtcctatgtcaccggaatc-3'(配列番号22))、CAP4(5'-ttccatgacgaccacactgc-3'(配列番号23))をPE Applied Biosystems社製392A DNA/RNAシンセサイザーにより合成し、以下のようにキャップサイトcDNAを用いて、PCRによるスクリーニングを行った(第4図)。

Cap Site cDNA、Human Kidney(NIPPON GENE社製)により、添付の1RC2プライマー(5'-caagggtacgccacagcgtatg-3'(配列番号24))およびCAP3プライマーを用いて第1回PCRを行った。反応混液は、総液量50 μ Lにて、LA PCR Buffer II(Mg²⁺不含)、2.5mM MgCl₂、それぞれ200 μ MのdATP、dCTP、dGTPおよびdTTP(以上宝酒造社製)を1 μ L、Cap Site cDNA Human Kidney、0.5 μ M 1RC2プライマー(以上NIPPON GENE社製)、ならびに0.5 μ M CAP3プライマーを含むものとした。PCRは、熱変性95にて20秒、アニーリング60にて20秒、伸長反応72にて60秒を35サイクル、また繰り返し反応前に熱変性95にて5分、最後に伸長反応72にて10分を含むプログラムで行った。第1回PCR終了後、第2回PCRを行った。第1回PCR産物1 μ Lを鋳型とし、プライマーは添付の2RC2プライマー(5'-gtacgccacagcgtatgatgc-3'(配列番号25))およびCAP4プライマーを用い、第1回PCRと同様の反応組成、プログラム(但し、サイクル数は25サイクル)で行った。以上のPCRはPE Applied Biosystems社製GeneAmp PCR System 9700により行った。得られたPCR産物をアガロースゲル電気泳動により確認後、バンドをゲルより切り出し、-80、10分間で凍結し、15000rpm、10分、遠心分離後、上清をエタノール沈澱することにより精製した。

精製したDNA断片は、Novagen社製pT7Blue Vectorに組み込み、

このベクターをコンピテントセル X L 1 - B l u e 細胞に形質転換した。形質転換体を L B 培地 (1 0 0 μ g / m l アンピシリン) で培養し、アルカリ S D S 法によりプラスミドを抽出し、P E A p p l i e d B i o s y s t e m s 社製 B i g D y e T e r m i n a t o r C y c l e S e q u e n c i n g F S R e a d y R e a c t i o n k i t および A B I P R I S M 3 7 7 シーケンサで塩基配列の決定を行った。プライマーは M 1 3 U n i v e r s a l プライマー (5 ' - c g a c g t t g t a a a a c g a c g g c c a g t - 3 ' (配列番号 2 0)) および M 1 3 R e v e r s e プライマー (5 ' - c a g g a a a c a g c t a t g a c - 3 ' (配列番号 2 1)) を用いた。この結果得られた 2 種類の塩基配列は、実施例 2 で得られた塩基配列から N 末端側に 4 9 2 塩基長い配列 (配列番号 1) と実施例 2 で得られた塩基配列から N 末端側に 2 7 4 塩基長い配列 (配列番号 3) であることが明らかとなった。 10

以上のことから、ここで得られた C L - L 2 は 8 1 3 塩基の O R F (転写解読枠) を有し (配列番号 1) 、配列番号 2 に示される 2 7 1 のアミノ酸をコードしている c D N A (C L - L 2 - 1) 、並びに 7 3 5 塩基の O R F (転写解読枠) を有し (配列番号 3) 、配列番号 4 に示される 2 4 5 のアミノ酸をコードしている c D N A (C L - L 2 - 2) の 2 種類が得られた。

[実施例 4 : 相同性検索]

次いで、G e n B a n k データベースで D N A およびアミノ酸についての相同性の検索を行った結果、得られたアミノ酸配列は、従来見出されているコレクチンのいずれとも異なる新規タンパク質の配列であることが明らかとなった。 20

従来報告されている 3 種のコレクチン (M B P 、 S P - A および S P - D) と本発明者が最近単離したヒト肝臓由来コレクチン C L - L 1 (特開平 1 1 - 2 0 6 3 7 7 号参照) のアミノ酸配列と、本発明の新規コレクチンのコレクチン構造部分のアミノ酸配列を比較し、その結果を第 5 および 6 図に示す。第 2 および 3 図と同様に、相同性を有するアミノ酸残基部分に囲みを付した。このアラインメントにより、得られた新規タンパク質は既知コレクチンタンパク質と相同性を有し、コレクチンファミリーに属していることが示される。

また、配列番号 4 に示すアミノ酸配列の第 1 8 ~ 6 5 番目のアミノ酸が欠失した配列番号 5 に示す塩基配列の第 1 4 1 ~ 7 3 1 番目によってコードされる変異体 (配列番号 6) 、配列番号 4 に示すアミノ酸配列の第 1 8 ~ 4 1 番目のアミノ酸が欠失した配列番号 7 に示す塩基配列の第 1 4 1 ~ 8 0 3 番目によってコードされる変異体 (配列番号 8) および配列番号 4 に示すアミノ酸配列の第 4 2 ~ 6 5 番目のアミノ酸が欠失した配列番号 9 に示す塩基配列の第 1 4 1 ~ 8 0 3 番目によってコードされる変異体 (配列番号 1 0) が得られた。 30

[実施例 5 : 新規マウスコレクチンの c D N A の取得]

h C L - L 2 と同様の方法により、マウス肝臓 c D N A ライブラリーのスクリーニングを行うことにより m C L - L 2 遺伝子を得ることができた。得られた m C L - L 2 の c D N A クローンは 8 1 3 塩基の O R F (転写解読枠) を有し (配列番号 1 2) 、配列番号 1 3 に示される 2 7 1 のアミノ酸をコードしていることが確認できた。

[実施例 6 : 新規コレクチンのヒトの組織における発現分布解析]

新規コレクチンの種々の組織での発現を調べるため、R T - P C R 法により解析を行った。得られた新規コレクチンの c D N A 配列のネック領域から糖鎖認識領域を増幅できるような 2 種類のプライマー R T F 1 (5 ' - a g a t t c c g g t g a c a t a g g a c c - 3 ' (配列番号 2 6)) 、R T R 1 (5 ' - t g g t c t g g g c t c t g t c c c t g c - 3 ' (配列番号 2 7)) と各組織での新規コレクチンの発現量を比較するため、アクトチン遺伝子の一部分を増幅できる 2 種類のプライマーヒト - アクトチン・センスプライマー (5 ' - c a a g a g a t g g c c a c g g c t g c t - 3 ' (配列番号 2 8)) 、ヒト - アクトチン・アンチセンスプライマー (5 ' - t c c t t c t g c a t c c t g t c g g c a - 3 ' (配列番号 2 9)) (全てのプライマーは C A P 1 プライマーと同様にして合成した) を使い、R T - P C R を行った。 40

種々のヒト由来組織のRNA((1)脳、(2)心臓、(3)腎臓、(4)肝臓、(5)肺、(6)気管、(7)骨髄、(8)結腸、(9)小腸、(10)脾臓、(11)胃、(12)胸腺、(13)乳腺、(14)前立腺、(15)骨格筋、(16)精巣、(17)子宮、(18)小脳、(19)胎児脳、(20)胎児肝臓、(21)脊髄、(22)胎盤、(23)副腎、(24)膵臓、(25)唾液腺、(26)甲状腺)をテンプレートとし、RNA LA PCR KIT (AMV) VER 1.1 (宝酒造社製)を用いてRT-PCRを実施した。まず以下の反応組成で逆転写反応を行った。

5 mM MgCl₂、1×RNA PCR Buffer、1 mM dNTP Mixture、1 U/μL RNaseインヒビター、RNA 2 μgを含み、全量40 μLになるようにRNase不含の蒸留水で調節した。同時に逆転写酵素を含まない反応組成も調整して、ネガティブコントロールとした。上記反応液を0.2 mLチューブに入れ、PE Applied Biosystems社製GeneAmp PCR System 9700で42 で30分間、99 で5分間、5 で5分間の1サイクルで逆転写反応を行った。得られた逆転写反応産物の10 μLを用いて、以下の反応組成でLA PCRをそれぞれ28サイクルと35サイクルで行った。2.5 mM MgCl₂、1×LA PCR Buffer (Mg²⁺ 不含)、2 U TaKaRa LA Taq、0.2 μM RTF1プライマー、0.2 μM RTR1プライマーを加え、全量50 μLになるように滅菌蒸留水で調節した。PCRは、熱変性95 にて20秒、アニーリング60 にて20秒、伸長反応72 にて60秒を28サイクルおよび35サイクル、また繰り返し反応前に熱変性95 にて5分、最後に伸長反応72 にて10分を含むプログラムで行った。反応生成物を1.5%アガロースゲル電気泳動により分離し、エチジウムブロマイド溶液(0.1 μg/mL)で染色を行い、トランスイルミネーターで泳動パターンを確認し、発現組織を同定した。各組織での発現量を比較するために、各組織での - アクチン遺伝子の一部分を増幅させるRT-PCRを行い、RNAの補正を行った。方法は上記同様、逆転写反応、PCRを行い、判定を行った。この結果を第7図に示すが、本発明の新規コレクチンは、28サイクルのPCRでは腎臓(レーン3)での発現が強く、その他肝臓(レーン4)、小腸(レーン9)、胸腺(レーン12)、胎児肝臓(レーン20)、脊髄(レーン21)、副腎(レーン23)、膵臓(レーン24)での発現が確認できた。また35サイクルのPCRでは新規コレクチンの発現に強弱は認められるが、試した全ての組織においてユビキタスな発現が確認できた。

[実施例7：新規コレクチンの遺伝学的解析]

得られた新規コレクチンのDNA配列(hCL-L2-1(配列番号1)およびmCL-L2(配列番号：12))に基づき、既知のコレクチンとの遺伝的位置付けを明らかにするために解析を行い、遺伝的系統樹を作製した。

解析の対象としたコレクチンは、第8図に示す各種コレクチンファミリーの蛋白質(図中、CL-L1、CL-P1は本発明者らが最近単離に成功した)であり、GenBankデータベースからそれぞれのアミノ酸配列を検索して得られたデータをもとにレクチンドメインを含む領域を用いてclustalw法でマルチプル・アライメントを作成し、それらをもとにN-J法(neighbor-joining法)を用い、Phylip version 3.57c packageプログラムを用いて遺伝的系統樹を作成した。

その結果、SP-D、ウシCL-43、およびウシコングルチニンで一つのクラスターを形成し、さらにMBPおよびSP-Aでそれぞれ別々にクラスターを形成しているが、本発明の新規コレクチン遺伝子はこれらのクラスターには属せず、CL-L1と同様のクラスターに属しておりCL-L1のホモログであると推測された。

[実施例8：新規コレクチン(CL-L2-1およびCL-L2-2)のヒトの組織における発現分布解析]

CL-L2-1(配列番号1)およびCL-L2-2(配列番号3)の種々の組織での発現を調べるため、RT-PCR法により解析を行った。得られたCL-L2-1の全長の翻訳領域を増幅できるプライマー(RTF2(5'-atgagggggaatctgg

c c c t g g t g - 3' (配列番号30))、R T R 2 (5' - c a t g t t c t c c t t g t c a a a c t c a c - 3' (配列番号31))、得られたCL-L2-2の全長の翻訳領域を増幅できるプライマー(R T F 3 (5' - a t g t g g t g g g t g c c t c c g a g t c - 3' (配列番号32))、R T R 2 (配列番号31))、および各組織での新規コレクチンの発現量を比較するため - アクチン遺伝子の一部分を増幅できる実施例6で使用した2種類のヒト - アクチンプライマー(全てのプライマーはCAP1プライマーと同様に合成した)を用い、実施例6と同様の方法でRT-PCRを行った。

この結果を第9図に示すが、本発明のCL-L2-1(配列番号1)は、28サイクルのPCRでは腎臓(レーン3)、肝臓(レーン4)、小腸(レーン9)、胸腺(レーン12) 10、胎児肝臓(レーン20)、脊髄(レーン21)、副腎(レーン23)、膵臓(レーン24)での発現が強く、また35サイクルのPCRではCL-L2-1(配列番号1)の発現に強弱は認められるが、試した全ての組織においてユビキタスな発現が確認できた。またCL-L2-2(配列番号3)は、28サイクルのPCRでは、腎臓(レーン3)での発現が強く、また35サイクルのPCRではCL-L2-2(配列番号3)の発現は腎臓(レーン3)の他、発現レベルは低い、前立腺(レーン14)、精巣(レーン16)、脊髄(レーン21)、胎盤(レーン22)での発現が確認された。

また、第9図に示したように、CL-L2-1およびCL-L2-2のRT-PCR産物に数本の増幅断片が確認された。これらのバンドをゲルより切り出し、実施例2と同様の方法、すなわち - 80 , 10 min . 凍結し、15 , 000 rpm , 10 min . 遠心 20、分離後、上清をエタノール沈澱することにより精製した。精製したDNA断片は、Novagen社製pT7Blue Vectorに組み込み、このベクターをコンピテントセルXL1-Blue細胞に形質転換した。形質転換体をLB培地(100 μg/mlアンピシリン)で培養し、アルカリSDS法によりプラスミドを抽出し、PE Applied Biosystems社製BigDye Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction kitおよびABI PRISM 377シーケンサで塩基配列の決定を行った。プライマーはM13 Universalプライマー(5' - c g a c g t t g t a a a a c g a c g g c c a g t - 3' (配列番号20))およびM13 Reverseプライマー(5' - c a g g a a a c a g c t a t g a c - 3' (配列番号21))を用いた。 30

この結果得られた塩基配列は、実施例2で得られたCL-L2-2(配列番号3)の変異体であるCL-L2-2v1、CL-L2-2v2およびCL-L2-2v3と同様のものではあった。また、配列番号2に示すCL-L2-1にはmRNAのオルターナティブスプライシングにより3種のタンパク質が存在していた。それらをCL-L2-1v1(配列番号36、37)、CL-L2-1v2(配列番号38、39)およびCL-L2-1v3(配列番号40、41)と称す。CL-L2-1v1は、配列番号2に示すCL-L2-1のアミノ酸番号44~91間が欠失(配列番号1に示すCL-L2-1の塩基番号394~537間が欠失)したものであり、そのアミノ酸配列は配列番号36に示す塩基配列の第265~933番目(配列番号59)によってコードされる。CL-L2-1v2は、配列番号2に示すCL-L2-1のアミノ酸番号44~67間が欠失(配列番号1 40に示すCL-L2-1の塩基番号394~465間が欠失)したものであり、そのアミノ酸配列は配列番号38に示す塩基配列の第265~1005番目(配列番号60)によってコードされる。CL-L2-1v3は、配列番号2に示すCL-L2-1のアミノ酸番号68~91間が欠失(配列番号1に示すCL-L2-1の塩基番号466~537間が欠失)したものであり、そのアミノ酸配列は配列番号40に示す塩基配列の第265~1005番目(配列番号61)によってコードされる。また実施例4と同様の方法にてmCL-L2-2遺伝子を得ることができた。

[実施例9：新規コレクチンの発現ベクターpcDNA3.1/Myc-His(+)-A-CL-L2-1, 2の構築]

CL-L2-1(配列番号1)の翻訳領域を、CL-L2-1Fプライマー(5' - g g 50

g a a g c t t c g a t c a g g a t g a g g g g a a t c t g g c c c t g g t g -
 3' (配列番号: 33))とCL-L2-1Rプライマー(5'-gggctcagagc
 atgttctccttgtcaaaactcac-3'(配列番号: 34))を用いて、
 また新規コレクチン(配列番号3)の翻訳領域をCL-L2-2Fプライマー(5'-g
 ggaagcttcagcacaatgtgggtgggtgcctccgagtc-3'
 配列番号: 35))とCL-L2-1Rプライマー(配列番号: 34))を用いて、ヒト
 腎臓由来cDNAライブラリーを鋳型として、PCR(タカラ社製: Takara Th
 ermal Cycler MP)により増幅させた。得られたCL-L2-1cDNA
 をpT7Blue T-Vector(Novagen社製)にライゲーションし、大腸
 菌XLI-Blueにトランスフォーメーションを行った。得られたクローンからCL-L
 2-1cDNAを含むプラスミドを精製し、シークエンサーにより塩基配列を確認後、誤
 りのないプラスミドを制限酵素Hind IIIとXho Iで消化して、同様の酵素で
 消化し精製したpcDNA3.1/Myc-His(+)Aベクター(インビトロジェン
 社製)にライゲーションを行った。ライゲーションしたプラスミドは、大腸菌XLI-B
 lueにトランスフォーメーション後、得られたクローンを培養し、プラスミドを精製して
 、発現ベクターpcDNA3.1/Myc-His(+)A-CL-L2-1, 2とした
 。尚、この際にCL-L2-1とCL-L2-2の変異体(配列番号5、配列番号7、配
 列番号9、配列番号36、配列番号38および配列番号40)についても同様に発現ベク
 ターを作製した。

[実施例 10 : 新規コレクチンの安定発現細胞株の作成]

実施例 9 により得られた発現ベクターpcDNA3.1/Myc-His(+)A-CL
 -L2-1とpEGFP-Fベクター(クローンテック社製)をLIPOFECTAMI
 NE 2000(LF2000) Reagent(GIBCOBRL社製)を用いてCH
 O細胞にコトランスフェクトし、一過性発現をさせた。まず、LF2000 Reage
 nt溶液0.5ml(LF2000 Reagent30μl、Nutrient Mi
 xture F-12 Ham(Ham's F-12培地)(シグマ社製))を準備し
 、5分間室温でインキュベートした後、ベクター溶液0.5ml(pDNA3.1/M
 yc-His(+)A-CL-L2-1, 2:7.5μg、pEGFP-Fベクター2.
 5μg、Ham's F-12培地)と混和し、20分間インキュベートした。その後、
 25cm² フラスコで5ml Ham's F-12培地(5% FCS含む)で高密度に
 まで培養したCHO細胞に添加した。4時間、37、5%CO₂ 下で培養を行った後、
 新しい培地と交換し、さらに続けて20時間、37、5%CO₂ 下で培養を行った。次
 に、培地をHam's F-12培地(5% FCS、0.4mg/ml Genetic
 in(GIBCOBRL社製)含む)に交換し、さらに、10日間培養を行った。途中一
 度培地交換を行った。

この10日間の薬剤セレクションにより、形質転換細胞のみが生存し増殖したが、形質転
 換されなかった細胞は死滅した。得られた形質転換細胞から高発現な細胞を得るためにG
 FPの蛍光をマーカーにしてセルソーター(Becton Dickinson社製)に
 よりソーティングを行った。形質転換した25cm² フラスコの細胞を5ml PBS(-)
 で2回洗浄した後、EDTA solution0.02%(ナカライテスク社製)
 0.3mlで細胞をはがし、10ml PBS(-)に懸濁した後、200xg、7分間
 、4 で遠心後、上清を除去し、0.5mlの2% FCS/PBS(-)に懸濁し、ソー
 ティングサンプルとした。サンプルはセルストレーナーキャップ付き5mlチューブ(B
 ecton Dickinson社製)を通した後にセルソーターにかけた。同様に処理
 した形質転換していないCHO細胞をコントロールとして蛍光強度が10倍以上高いもの
 をセレクションした。これらの細胞はあらかじめHam's F-12培地(5% FCS
 、0.4mg/ml Genetic in含む)を100μlずつ入れておいた96穴細
 胞培養用プレートに1穴あたり1細胞ずつ分取した。37、5%CO₂ 下で培養を行い
 、1週間培養後、さらに、100μlずつ培養液を加え、さらに1週間培養を行った。G
 enetic inによる薬剤セレクションにより増殖してきたクローンを2分割して、1

2穴および24穴細胞培養用プレート継代した。このとき、1穴に2細胞以上から増殖してきているようなクローンは除外し、12穴および24穴細胞培養用プレートには9:1の細胞比で細胞を播いた。37、5%CO₂下で培養を行い、12穴のプレートの細胞が高密度にまで達した時、その培養上清の200μlをImmobilon-Pメンブレン(ミリポア社製)にBio-Dot Microfiltration Apparatus(BIO-RAD社製)を用いてドットプロットし、抗myc抗体(Invitrogen社製)を0.05%Tween 20/TBS buffer(宝酒造社製)で5000倍希釈した溶液に室温で1時間インキュベートした後、100mlの0.05%Tween 20/TBS bufferでメンブレンを室温で20分間×3回洗浄し、さらに抗マウスIgG-HRP(ケミコン社製)を0.05%Tween 20/TBS bufferで5000倍希釈した溶液に室温で1時間インキュベートした後、100mlの0.05%Tween 20/TBS bufferでメンブレンを室温で20分間×3回洗浄し、TMB Membrane Peroxidase substrate system(フナコシ社製)を用いて検出した。発色の強かったクローンを確認した後、それぞれ対応する24穴のプレートの細胞を安定発現細胞株(CHO/CL-L2-1)とした。

10

[実施例11:新規コレクチンの糖結合特性の解析]

実施例10で作製した新規コレクチンの安定発現細胞株(CHO/CL-L2-1)の培養上清1LをVIVAPORE10(フナコシ社製)を用いて50mlに濃縮した後、Ni-NTAアガロース(キアゲン社製)を200μl加え、一晚、4で浸透しながらインキュベーションすることにより新規コレクチンをNi-NTAアガロースに結合させた。Ni-NTAアガロースをPoly-Prep Chromatography Columns(パイオラッド社製)に充填し、5mlの50mM NaH₂PO₄、300mM NaCl、20mMイミダゾール、0.05%Tween 20(pH8.0)で3回洗浄した後、200μlの50mM NaH₂PO₄、300mM NaCl、250mMイミダゾール、0.05%Tween 20(pH8.0)で5回溶出することにより精製した。精製した新規コレクチンを定量し、糖特異性の解析に使用した。

20

すなわち、精製した新規コレクチン(1μg)を、結合特性を調べる糖鎖プローブの種類分Immobilon-Pメンブレン(ミリポア社製)にBio-Dot Microfiltration Apparatus(BIO-RAD社製)を用いてドットプロットした後、各ドットを1cm画に切り取り、ブロックエース(大日本製薬社製)に浸けて、室温で1時間インキュベートした。次にメンブレンを0.05%Tween 20、5mM CaCl₂、TBS bufferで3回洗浄し、5mM CaCl₂、TBS bufferで1μg/mlに希釈した各種糖鎖プローブ(第10図)溶液中で室温で1時間インキュベートした後、再度0.05%Tween 20、5mM CaCl₂、TBS bufferで3回洗浄した。次に0.05%Tween 20、5mM CaCl₂、TBS bufferで1000倍希釈したStreptavidin-biotinylated HRP(アマシャム社製)溶液中に室温で30分間インキュベートし、0.05%Tween 20、5mM CaCl₂、TBS bufferで3回洗浄した後、TMB Membrane Peroxidase substrate system(フナコシ社製)を用いて検出した。第10図に示した様に新規コレクチンはマンノース、フコース、N-アセチルガラクトサミン、N-アセチルノイラミン酸、マンノース-6-リン酸と結合する活性を有していた。

30

40

本発明のCL-L2スタンパク質は、コレクチン構造を有していることから、それらに特有の効果を示す物質と考えられ、基礎免疫の機能の解明、細菌感染症等を始めとする各種疾患等の発症機構の解明、さらにその診断、予防および治療法、並びにそれらのための試薬や医薬の開発に利用できるものである。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> FUSO PHARMACEUTICAL INDUSTRIES, LTD.

<120> Novel Collectin

<130> 01P237W0

<160> 61

10

<210> 1

<211> 1341

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (265)..(1077)

20

<400> 1

```

cgcggccgcg tcgacggacg gtaggacgcag cgcagacagg aagctccccg agataacgct      60
gcggccgggc ggccctgattt gctgggctgt ctgatggccc gggccgaggc ttctccctgc      120
gectgggact gcggccgcct ctctaaatag cagccatgag gcgectgggg gcagtgicct      180
cgcggccgcg tcgaccgacg gccgcagtcg acgccccggt cgcctagcgc gtgctcagga      240
gttggtgtcc tgccctgcct cagg atg agg ggg aat ctg gcc ctg gtg ggc      291

```

Met Arg Gly Asn Leu Ala Leu Val Gly

1 5

```

gtt cta atc agc ctg gcc ttc ctg tca ctg ctg cca tct gga cat cct      339
Val Leu Ile Ser Leu Ala Phe Leu Ser Leu Leu Pro Ser Gly His Pro
10 15 20 25

```

30

```

cag ccg gct ggc gat gac gcc tgc tct gtg cag atc ctc gtc cct ggc      387
Gln Pro Ala Gly Asp Asp Ala Cys Ser Val Gln Ile Leu Val Pro Gly
30 35 40

```

```

ctc aaa ggg gat gcg gga gag aag gga gac aaa ggc gcc ccc gga cgg      435
Leu Lys Gly Asp Ala Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly Ala Pro Gly Arg
45 50 55

```

```

cct gga aga gtc ggc ccc acg gga gaa aaa gga gac atg ggg gac aaa      483
Pro Gly Arg Val Gly Pro Thr Gly Glu Lys Gly Asp Met Gly Asp Lys
60 65 70

```

40

```

gga cag aaa ggc agt gtg ggt cgt cat gga aaa att ggt ccc att ggc      531

```


aaatggccta tgcttaagag gaaaatgaaa gtgttcctgg ggtgctgtct ctgaagaagc 1287
 agagtttcat tacctgtatt gtagccccaa tgcattatg taattattac ccag 1341

<210> 2

<211> 271

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220>

<223> Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin from Nucleotide
 Sequence set out in SEQ ID NO:1.

10

<400> 2

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

20

30

40

210		215		220
Phe Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu				
225		230		240
Asp Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys				
	245		250	255
His Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met				
	260		265	270

<210> 3

<211> 1139

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

10

<220>

<221> CDS

<222> (141).. (875)

<400> 3

cagaagtttt ggtgaaagtg gctttggccc tgactttgtg gtacgctgtg tgggtttgtg	60	20
agtggaacct tcagctttag gttggaaacg gtggctgtgg agagctggac ttttggcigt	120	
ggaggcicacg tccctgceca atg tgg tgg gtg cct ccg agt ccc tac ggt tgt	173	
Met Trp Trp Val Pro Pro Ser Pro Tyr Gly Cys		
1 5 10		
cit ccc tgc gcc ctg cca ggg gat gcg gga gag aag gga gac aaa ggc	221	
Leu Pro Cys Ala Leu Pro Gly Asp Ala Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly		
15 20 25		
gcc ccc gga cgg cct gga aga gtc ggc ccc acg gga gaa aaa gga gac	269	
Ala Pro Gly Arg Pro Gly Arg Val Gly Pro Thr Gly Glu Lys Gly Asp		30
30 35 40		
atg ggg gac aaa gga cag aaa ggc agt gtg ggt cgt cat gga aaa att	317	
Met Gly Asp Lys Gly Gln Lys Gly Ser Val Gly Arg His Gly Lys Ile		
45 50 55		
ggt ccc att ggc tct aaa ggt gag aaa gga gat tcc ggt gac ata gga	365	
Gly Pro Ile Gly Ser Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly		
60 65 70 75		
ccc cct ggt cct aat gga gaa cca ggc ctc cca tgt gag tgc agc cag	413	
Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro Cys Glu Cys Ser Gln		40
80 85 90		
ctg cgc aag gcc atc ggg gag atg gac aac cag gtc tct cag cig acc	461	
Leu Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln Val Ser Gln Leu Thr		

95	100	105		
agc gag ctc aag ttc atc aag aat gct gtc gcc ggt gtg cgc gag acg			509	
Ser Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala Gly Val Arg Glu Thr				
110	115	120		
gag agc aag atc tac ctc ctg gtg aag gag gag aag cgc tac gcg gac			557	
Glu Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu Lys Arg Tyr Ala Asp				
125	130	135		
gcc cag ctg tcc tgc cag ggc cgc ggg ggc acg ctg agc atg ccc aag			605	
Ala Gln Leu Ser Cys Gln Gly Arg Gly Gly Thr Leu Ser Met Pro Lys				10
140	145	150	155	
gac gag gct gcc aat ggc ctg atg gcc gca tac ctg gcg caa gcc ggc			653	
Asp Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met Ala Ala Tyr Leu Ala Gln Ala Gly				
160	165	170		
ctg gcc cgt gtc ttc atc ggc atc aac gac ctg gag aag gag ggc gcc			701	
Leu Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu Lys Glu Gly Ala				
175	180	185		
ttc gtg tac tct gac cac tcc ccc atg cgg acc ttc aac aag tgg cgc			749	
Phe Val Tyr Ser Asp His Ser Pro Met Arg Thr Phe Asn Lys Trp Arg				20
190	195	200		
agc ggt gag ccc aac aat gcc tac gac gag gag gac tgc gtg gag atg			797	
Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met				
205	210	215		
gtg gcc tcg ggc ggc tgg aac gac gtg gcc tgc cac acc acc atg tac			845	
Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys His Thr Thr Met Tyr				
220	225	230	235	
ttc atg tgt gag ttt gac aag gag aac atg tgagcctcag gctggggctg			895	
Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met				30
240	245			
ccattgggg gccccacatg tccctgcagg gtggcaggg acagagcca gaccatggtg			955	
ccagccaggg agctgtccct ctgtgaaggg tggaggctca ctgagtagag ggctgttgtc			1015	
taaactgaga aaatggccta tgcttaagag gaaaatgaaa gtgttccctgg ggtgctgtct			1075	
ctgaagaagc agagtttcat taccctgtatt gttagcccaa tgtcattatg taattattac			1135	
ccag			1139	

<210> 4

<211> 245

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220>

10

20

30

40

<213> Homo Sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (141)..(731)

<400> 5

cagaagittt ggtgaaagtg gctttggccc tgactttgtg gtagcgtgig tgggtttgtg	60	
agtggaaacct tcagcttttag gttggaaacg gtggctgtgg agagctggac ttttggctgt	120	10
ggaggtcacg tccctgcccc atg tgg tgg gtg cct ccg agt ccc tac ggt tgt	173	
Met Trp Trp Val Pro Pro Ser Pro Tyr Gly Cys		
1 5 10		
cit ccc tgc gcc ctg cca ggt gag aaa gga gat tcc ggt gac ata gga	221	
Leu Pro Cys Ala Leu Pro Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly		
15 20 25		
ccc cct ggt cct aat gga gaa cca ggc ctc cca tgt gag tgc agc cag	269	
Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro Cys Glu Cys Ser Gln		
30 35 40		
ctg cgc aag gcc atc ggg gag atg gac aac cag gtc tct cag ctg acc	317	20
Leu Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln Val Ser Gln Leu Thr		
45 50 55		
agc gag ctc aag ttc atc aag aat gct gtc gcc ggt gtg cgc gag acg	365	
Ser Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala Gly Val Arg Glu Thr		
60 65 70 75		
gag agc aag atc tac ctg ctg gtg aag gag gag aag cgc tac gcg gac	413	
Glu Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu Lys Arg Tyr Ala Asp		
80 85 90		
gcc cag ctg tcc tgc cag ggc cgc ggg gcc acg ctg agc atg ccc aag	461	30
Ala Gln Leu Ser Cys Gln Gly Arg Gly Gly Thr Leu Ser Met Pro Lys		
95 100 105		
gac gag gct gcc aat ggc ctg atg gcc gca tac ctg gcg caa gcc ggc	509	
Asp Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met Ala Ala Tyr Leu Ala Gln Ala Gly		
110 115 120		
ctg gcc cgt gtc ttc atc ggc atc aac gac ctg gag aag gag ggc gcc	557	
Leu Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu Lys Glu Gly Ala		
125 130 135		
ttc gig tac tct gac cac tcc ccc atg cgg acc ttc aac aag tgg cgc	605	40
Phe Val Tyr Ser Asp His Ser Pro Met Arg Thr Phe Asn Lys Trp Arg		
140 145 150 155		
agc ggt gag ccc aac aat gcc tac gac gag gag gac tgc gtg gag atg	653	

Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met
160 165 170
gtg gcc tcg ggc ggc tgg aac gac gtg gcc tgc cac acc acc atg tac 701
Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys His Thr Thr Met Tyr
175 180 185
ttc atg tgt gag ttt gac aag gag aac atg tgagcctcag gctggggctg 751
Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met
190 195
cccatlgggg gccccacatg tcccigcagg gtllggcaggg acagagccca gaccatggig 811 10
ccagccaggg agctgtccct ctgtgaaggg tggaggctca ctgagtagag ggctgtgtc 871
taaactgaga aaatggccta tgcttaagag gaaaatgaaa gtgttcctgg ggtgctgtct 931
ctgaagaage agagtttcat tacctgtatt gtagccceaa tgtcattatg iaattaitac 991
ccag 995

<210> 6
<211> 197
<212> PRT
<213> Homo Sapiens 20

<220>
<223> Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin from Nucleotide
Sequence set out in SEQ ID NO:5.

<400> 6
Met Trp Trp Val Pro Pro Ser Pro Tyr Gly Cys Leu Pro Cys Ala Leu
1 5 10 15
Pro Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn 30
20 25 30
Gly Glu Pro Gly Leu Pro Cys Glu Cys Ser Gln Leu Arg Lys Ala Ile
35 40 45
Gly Glu Met Asp Asn Gln Val Ser Gln Leu Thr Ser Glu Leu Lys Phe
50 55 60
Ile Lys Asn Ala Val Ala Gly Val Arg Glu Thr Glu Ser Lys Ile Tyr
65 70 75 80
Leu Leu Val Lys Glu Glu Lys Arg Tyr Ala Asp Ala Gln Leu Ser Cys
85 90 95
Gln Gly Arg Gly Gly Thr Leu Ser Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala Asn 40
100 105 110
Gly Leu Met Ala Ala Tyr Leu Ala Gln Ala Gly Leu Ala Arg Val Phe
115 120 125

Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu Lys Glu Gly Ala Phe Val Tyr Ser Asp
 130 135 140
 His Ser Pro Met Arg Thr Phe Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro Asn
 145 150 155 160
 Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly
 165 170 175
 Trp Asn Asp Val Ala Cys His Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe
 180 185 190
 Asp Lys Glu Asn Met
 195

10

<210> 7

<211> 1067

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (141)..(803)

20

<400> 7

cagaagtttt ggtgaaagtg gcittggccc tgactttgtg gtagcgtgtg tgggtttgtg 60
 agtggaaact tcagcittag gttggaacg gtggctgtgg agagctggac tttggctgt 120
 ggaggtcag tcacctgccc atg tgg tgg gtg cct ccg agt ccc tac ggt tgt 173
 Met Trp Trp Val Pro Pro Ser Pro Tyr Gly Cys
 1 5 10
 ctt ccc igc gcc ctg cca gga gac atg ggg gac aaa gga cag aaa ggc 221
 Leu Pro Cys Ala Leu Pro Gly Asp Met Gly Asp Lys Gly Gln Lys Gly 30
 15 20 25
 agt gtg ggt cgt cat gga aaa att ggt ccc att ggc tct aaa ggt gag 269
 Ser Val Gly Arg His Gly Lys Ile Gly Pro Ile Gly Ser Lys Gly Glu
 30 35 40
 aaa gga gat tcc ggt gac ata gga ccc cct ggt cct aat gga gaa cca 317
 Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro
 45 50 55
 ggc ctc cca tgt gag tgc agc cag ctg cgc aag gcc atc ggg gag atg 365
 Gly Leu Pro Cys Glu Cys Ser Gln Leu Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met 40
 60 65 70 75
 gac aac cag gtc tct cag ctg acc agc gag ctc aag ttc atc aag aat 413
 Asp Asn Gln Val Ser Gln Leu Thr Ser Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn

	80	85	90	
gct gtc gcc ggt gtg cgc gag acg gag agc aag atc tac ctg ctg gtg				461
Ala Val Ala Gly Val Arg Glu Thr Glu Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val				
	95	100	105	
aag gag gag aag cgc tac gcg gac gcc cag ctg tcc tgc cag ggc cgc				509
Lys Glu Glu Lys Arg Tyr Ala Asp Ala Gln Leu Ser Cys Gln Gly Arg				
	110	115	120	
ggg ggc acg ctg agc atg ccc aag gac gag gct gcc aat ggc ctg atg				557
Gly Gly Thr Leu Ser Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met				10
	125	130	135	
gcc gca tac ctg gcg caa gcc ggc ctg gcc cgt gtc ttc atc ggc atc				605
Ala Ala Tyr Leu Ala Gln Ala Gly Leu Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile				
	140	145	150	155
aac gac ctg gag aag gag ggc gcc ttc gtg tac tct gac cac tcc ccc				653
Asn Asp Leu Glu Lys Glu Gly Ala Phe Val Tyr Ser Asp His Ser Pro				
	160	165	170	
atg cgg acc ttc aac aag tgg cgc agc ggt gag ccc aac aat gcc tac				701
Met Arg Thr Phe Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr				20
	175	180	185	
gac gag gag gac tgc gig gag atg gtg gcc tgc ggc ggc tgg aac gac				749
Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp				
	190	195	200	
gtg gcc tgc cac acc acc atg tac ttc atg tgt gag ttt gac aag gag				797
Val Ala Cys His Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu				
	205	210	215	
aac atg tgagcctcag gctggggctg cccattgggg gccccacaig tccctgcagg				853
Asn Met				30
220				
gttggcaggg acagagccca gaccatggtg ccagccaggg agctgtccct ctgtgaaggg				913
tggaggctca ctgagtagag ggctgttgtc taaactgaga aaatggccta tgcttaagag				973
gaaaatgaaa gigticcctgg ggtgctgtct ctgaagaagc agagittcat tacctgtatt				1033
gtagccccaa tgteattatg taattattac ccag				1067

<210> 8

<211> 221

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

40

<220>

<223> Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin from Nucleotide

Sequence set out in SEQ ID NO:7.

<400> 8

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

<210> 9

<211> 1067

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (141)..(803)

10

20

30

40

<400> 9

cagaagtttt	gglgaaagtg	gctttggccc	tgactttgtg	gtagcgtgtg	igggtttgtg	60	
agtggaacct	tcagcttttag	gttggaaacg	giggctgtgg	agagctggac	ttttggctgt	120	
ggagglcacg	tccttgccea	atg tgg tgg	gtg cct ccg	agt ccc tac	ggt tgt	173	
		Met Trp Trp	Val Pro Pro	Ser Pro Tyr	Gly Cys		
		1	5	10			
cit ccc tgc	gcc ctg cca	ggg gat gcg	gga gag aag	gga gac aaa	ggc	221	
Leu Pro Cys	Ala Leu Pro	Gly Asp Ala	Gly Glu Lys	Gly Asp Lys	Gly		
	15	20	25				
gcc ccc gga	cgg cct gga	aga gtc ggc	ccc acg gga	gaa aaa ggt	gag	269	10
Ala Pro Gly	Arg Pro Gly	Arg Val Gly	Pro Thr Gly	Glu Lys Gly	Glu		
	30	35	40				
aaa gga gat	tcc ggt gac	ata gga ccc	cct ggt cct	aat gga gaa	cca	317	
Lys Gly Asp	Ser Gly Asp	Ile Gly Pro	Pro Gly Pro	Asn Gly Glu	Pro		
	45	50	55				
ggc ctc cca	tgt gag tgc	agc cag ctg	cgc aag gcc	atc ggg gag	atg	365	
Gly Leu Pro	Cys Glu Cys	Ser Gln Leu	Arg Lys Ala	Ile Gly Glu	Met		
60	65	70	75				20
gac aac cag	gtc tct cag	ctg acc agc	gag ctc aag	ttc atc aag	aat	413	
Asp Asn Gln	Val Ser Gln	Leu Thr Ser	Glu Leu Lys	Phe Ile Lys	Asn		
	80	85	90				
gct gtc gcc	ggt gtg cgc	gag acg gag	agc aag atc	tac ctg ctg	gtg	461	
Ala Val Ala	Gly Val Arg	Glu Thr Glu	Ser Lys Ile	Tyr Leu Leu	Val		
	95	100	105				
aag gag gag	aag cgc tac	gcg gac gcc	cag ctg tcc	tgc cag ggc	cgc	509	
Lys Glu Glu	Lys Arg Tyr	Ala Asp Ala	Gln Leu Ser	Cys Gln Gly	Arg		
	110	115	120				
ggg ggc acg	ctg agc atg	ccc aag gac	gag gct gcc	aat ggc ctg	atg	557	30
Gly Gly Thr	Leu Ser Met	Pro Lys Asp	Glu Ala Ala	Asn Gly Leu	Met		
	125	130	135				
gcc gca tac	ctg gcg caa	gcc ggc ctg	gcc cgt gtc	ttc atc ggc	atc	605	
Ala Ala Tyr	Leu Ala Gln	Ala Gly Leu	Ala Arg Val	Phe Ile Gly	Ile		
140	145	150	155				
aac gac ctg	gag aag gag	ggc gcc ttc	gtg tac tct	gac cac tcc	ccc	653	
Asn Asp Leu	Glu Lys Glu	Gly Ala Phe	Val Tyr Ser	Asp His Ser	Pro		
	160	165	170				
atg cgg acc	ttc aac aag	igg cgc agc	ggt gag ccc	aac aat gcc	tac	701	40
Met Arg Thr	Phe Asn Lys	Trp Arg Ser	Gly Glu Pro	Asn Asn Ala	Tyr		
	175	180	185				

gac gag gag gac tgc gtg gag atg gtg gcc tcg ggc ggc igg aac gac 749
 Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp
 190 195 200
 gtg gcc tgc cac acc acc atg tac ttc atg tgt gag ttt gac aag gag 797
 Val Ala Cys His Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu
 205 210 215
 aac atg igagcctcag gcctggggctg cccattgggg gccccacatg tcctgcagg 853
 Asn Met
 220
 gttggcaggg acagagccca gaccatgggtg ccagccaggg agctgtccct ctgtgaaggg 913
 tggaggetca ctgagtagag ggctgtgtc taaactgaga aaatggccta tgcttaagag 973
 gaaaatgaaa gtgtcctgg ggtgctgtct ctgaagaagc agagtttcat tacctgtatt 1033
 gtagcccaaa tgtcattatg taattattac ccag 1067

10

<210> 10

<211> 221

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

20

<220>

<223> Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin from Nucleotide
 Sequence set out in SEQ ID NO:9.

<400> 10

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

30

40

Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met Ala Ala Tyr Leu Ala
 130 135 140
 Gln Ala Gly Leu Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu Lys
 145 150 155 160
 Glu Gly Ala Phe Val Tyr Ser Asp His Ser Pro Met Arg Thr Phe Asn
 165 170 175
 Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp Cys
 180 185 190
 Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys His Thr
 195 200 205
 Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met
 210 215 220

10

<210> 11

<211> 45

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220>

<223> Deduced Amino Acid Sequence of a collagen-like domain of mutated N
 ovel Collectin.

20

<400> 11

Gly Asp Ala Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly Ala Pro Gly Arg Pro Gly
 1 5 10 15
 Arg Val Gly Pro Thr Gly Glu Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp
 20 25 30
 Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro
 35 40 45

30

<210> 12

<211> 1522

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (157)..(969)

40

<400> 12

cagcccagcg aatctctctg agctggactg cagctggctt ctgtaaataa cagccaatgag	60	
gciccttggg gcagtgcttc tgccagccgg tgactgtcag gacagctcct tcgcctagtg	120	
tgcatccagg agtctagtgt cctgcctgca ctcatg atg atg agg gac ctg gct	174	
		Met Met Arg Asp Leu Ala
		1 5
ctt gca ggc atg ctg att agc ctg gct ttc ctg tcc ctg ctg cca tct	222	
Leu Ala Gly Met Leu Ile Ser Leu Ala Phe Leu Ser Leu Leu Pro Ser		
	10	15 20
gga tgt cct cag cag acc aca gag gac gcc tgc tct gtg cag att ctt	270	
Gly Cys Pro Gln Gln Thr Thr Glu Asp Ala Cys Ser Val Gln Ile Leu		10
	25	30 35
gtc ccc ggc ctc aaa ggg gat gca gga gaa aag gga gac aaa gga gcc	318	
Val Pro Gly Leu Lys Gly Asp Ala Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly Ala		
	40	45 50
cca gga cgg cca gga aga gtc ggc cct aca gga gaa aaa gga gac atg	366	
Pro Gly Arg Pro Gly Arg Val Gly Pro Thr Gly Glu Lys Gly Asp Met		
	55	60 65 70
ggg gac aaa gga cag aaa ggc act gtg ggc cgc cat gga aaa att ggt	414	
Gly Asp Lys Gly Gln Lys Gly Thr Val Gly Arg His Gly Lys Ile Gly		20
	75	80 85
ccc att ggc gca aaa ggt gaa aaa gga gat tct ggt gat atc gga ccc	462	
Pro Ile Gly Ala Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro		
	90	95 100
cct ggc ccc agt gga gaa cct ggt att cca tgt gag tgc agt cag ctg	510	
Pro Gly Pro Ser Gly Glu Pro Gly Ile Pro Cys Glu Cys Ser Gln Leu		
	105	110 115
agg aag gct att ggg gag atg gac aac cag gtc act caa ctg aca act	558	
Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln Val Thr Gln Leu Thr Thr		30
	120	125 130
gag cta aaa ttc ata aaa aat gct gtt gct ggc gtg cgc gag act gag	606	
Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala Gly Val Arg Glu Thr Glu		
	135	140 145 150
agc aag atc tac ctg ctg gtg aag gag gag aag cgg tac gca gat gcc	654	
Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu Lys Arg Tyr Ala Asp Ala		
	155	160 165
cag ctg tcc tgc caa gcc cga ggc ggc aca ctg agc atg ccc aaa gac	702	
Gln Leu Ser Cys Gln Ala Arg Gly Gly Thr Leu Ser Met Pro Lys Asp		40
	170	175 180
gag gca gcc aat ggc ctg atg gct tca tac ctg gca cag gct ggc ctg	750	
Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met Ala Ser Tyr Leu Ala Gln Ala Gly Leu		

185	190	195	
gcc cga gtc ttc atc ggt atc aat gac ctg gag aaa gaa ggt gct ttc			798
Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu Lys Glu Gly Ala Phe			
200	205	210	
gtg tac tcg gac cgc tcc ccc atg cag acc ttc aac aag tgg cgc agt			846
Val Tyr Ser Asp Arg Ser Pro Met Gln Thr Phe Asn Lys Trp Arg Ser			
215	220	225	230
gga gag ccc aac aac gcc tat gat gag gag gac tgt gtg gag atg gtg			894
Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met Val			
	235	240	245
gcc tca ggt ggc tgg aat gat gtg gcc tgc cac att acc atg tac ttc			942
Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys His Ile Thr Met Tyr Phe			
	250	255	260
atg tgc gag tit gac aaa gag aac ttg tgagagccga caggggagat			989
Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Leu			
265	270		
ggccatctga acgccaccit ttatagacac cagcggccac aaactaacc tgagcaccag			1049
tcgccaigtc tgcgggttcc tctctgcatg gaagtgccgg gcctcattga cagttggaag			1109
ggctgttiga accgtaggag gggagaaacc ttgcttcagg ggctgttcig aatagggtggc			1169
gtattatcac ctttgcaga cgttcattat ggctaaccac tcggaaggat gctgtgaagc			1229
tcttgtcttg gtccagcata gtaaattttg cagcagtcac caaactggct ataggggcag			1289
gagttgccgc ccacctata aagtacacag agtgcccagg tggtagacaa igtittctata			1349
ggttatgcia tcacatagat tccittcact attatccggg taggaagact gctgctctgc			1409
ttcacatcca tatttcagga aaacaaataa atcctctgat ttctgctaaa aaaaaaaaaa			1469
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa			1522

<210> 13

<211> 271

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<223> Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin from Nucleotide Sequence set out in SEQ ID NO:12.

<400> 13

Met Met Arg Asp Leu Ala Leu Ala Gly Met Leu Ile Ser Leu Ala Phe

1

5

10

15

Leu Ser Leu Leu Pro Ser Gly Cys Pro Gln Gln Thr Thr Glu Asp Ala

20

25

30

10

20

30

40

<400> 14

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

10

20

<210> 15

<211> 619

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Consensus nucleotide sequence of novel collectin derived from several nucleotide sequences obtained from EST data base.

30

<400> 15

ttctcagatg attccigtgc atggcgaagt tiggaaactc tgagtgttgc ttttgagatc 60
 agacatacag tgctatccat tggtgccctc gtggaggatg gaacttactt gttgactNNt 120
 gccacaccac catgiacttc atgigtgagt ttgacaagga gaacatgtga ccctcaggct 180
 ggggclgccc attgggggcc ccacatgtcc ctgcagggtt ggcagggaca gagcccagac 240
 catggtgcca gccagggagc tgtccctctg tgaagggttg aggctcactg agtagagggc 300
 tgttgictaa actgagaaaa tggcctatgc ttaagaggaa aatgaaagtg ttcctgggggt 360
 gctgtctctg aagaagcaga gtticattac cigtattgta gcccacatgt cattatgtaa 420
 ttattacca gaatgtctct tccataaage ttgtgccttt gtccaagcta tacaataaaa 480

40

icittaagta ggcagtagt taagtccaaa aagtggaat ggggtctga aaaaaaaaaa 540
 aaaaattat aaaaaaaaaa gaaticactt igaccaacac ttctgtaaatacattacaa 600
 tatagggtcc ticacacta 619

<210> 16
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic primer CAP1 for cloning 5'-upstream region of novel collectin.

10

<400> 16
 agatattatt gtagcttg g 21

<210> 17
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> Synthetic primer CAP2 for cloning 5'-upstream region of novel collectin.

<400> 17
 ctgggtaata attacataat g 21

30

<210> 18
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic primer λ TriplEx-F1 for cloning 5'-upstream region of novel collectin.

40

<400> 18
 aagctccgag atctggacga g 21

<210> 19		
<211> 21		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic primer λ TriplEx-F2 for cloning 5'-upstream region of novel collectin.		
<400> 19		10
ctcgggaagc gcgccattgt g	21	
<210> 20		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic M13 Universal primer for sequencing novel collectin.		20
<400> 20		
cgacgttgta aaacgacggc cagt	24	
<210> 21		
<211> 17		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		30
<220>		
<223> Synthetic M13 Reverse primer for sequencing novel collectin.		
<400> 21		17
caggaaacag ctatgac		
<210> 22		
<211> 20		
<212> DNA		40
<213> Artificial Sequence		
<220>		

<223> Synthetic primer CAP3 for further cloning of 5'-upstream region of novel collectin.

<400> 22

ggtcctatgt caccggaatc 20

<210> 23

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> Synthetic primer CAP4 for further cloning of 5'-upstream region of novel collectin.

<400> 23

ttccatgacg acccacactg c 21

<210> 24

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> Synthetic primer 1RC2 for further cloning of 5'-upstream region of novel collectin.

<400> 24

caaggtacgc cacagcgtat g 21

<210> 25

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> Synthetic primer 2RC2 for further cloning of 5'-upstream region of novel collectin.

<400> 25

40

gtacgccaca gcgtatgatg c

21

<210> 26

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer RTF1 for RT-PCR to determine tissue distribution of novel collectin.

10

<400> 26

agattccggt gacataggac c

21

<210> 27

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> Synthetic primer RTR1 for RT-PCR to determine tissue distribution of novel collectin.

<400> 27

tggctcgggc tctgtccctg c

21

<210> 28

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> Synthetic β -actin sense primer for RT-PCR to determine control level.

<400> 28

caagagatgg ccacggctgc t

21

40

<210> 29

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic β -actin anti-sense primer for RT-PCR to determine contr
of level.

<400> 29

tccttetgca tectgtcggc a

21

10

<210> 30

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer RTF2 for amplification of CL-L2-1.

<400> 30

atgaggggga atctggccct ggtg

24

20

<210> 31

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer RTR2 for amplification of CL-L2-1.

<400> 31

catgttctcc ttgtcaaact cac

23

30

<210> 32

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer RTF3 for amplification of CL-L2-2.

40

<400> 32
atgtggtggg tgccctccgag tc 22

<210> 33
<211> 41
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic primer CL-L2-1F for amplification of CL-L2-1. 10

<400> 33
gggaagcttc gatcaggatg agggggaatc tggccctggt g 41

<210> 34
<211> 32
<212> DNA
<213> Artificial Sequence 20

<220>
<223> Synthetic primer CL-L2-1R for amplification of CL-L2-1.

<400> 34
gggctcgage atgttctct tgtcaaactc ac 32

<210> 35
<211> 46
<212> DNA 30
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic primer CL-L2-2F for amplification of CL-L2-2.

<400> 35
gggaagcttc cagcacaatg tggigggtgc ctccgagtcc ctggtg 46

<210> 36 40
<211> 1197
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (265)..(933)

<400> 36

cgcggccgcg tcgacggacg gtggacgcag cgcagacagg aagctccccg agataacgct 60
 gcggccgggc gccctgattt gctgggctgt ctgatggccc gggccgagggc ttctccctgc 120
 gcctgggact gcggccgcct ctctaaatag cagccatgag gcgcctgggg gcagtgctct 180
 cgcggccgcg tcgaccgacg gccgcagtcg acgccccgtt cgcctagcgc gigctcagga 240
 gttgggtgcc tgcctgcgct cagg atg agg ggg aat ctg gcc ctg gtg ggc 291

10

Met Arg Gly Asn Leu Ala Leu Val Gly

1

5

gtt cta atc agc ctg gcc ttc ctg tca ctg ctg cca tct gga cat cct 339
 Val Leu Ile Ser Leu Ala Phe Leu Ser Leu Leu Pro Ser Gly His Pro

10

15

20

25

cag ccg gct ggc gat gac gcc tgc tct gtg cag atc ctc gtc cct ggc 387
 Gln Pro Ala Gly Asp Asp Ala Cys Ser Val Gln Ile Leu Val Pro Gly

30

35

40

ctc aaa ggt gag aaa gga gat tcc ggt gac ata gga ccc cct ggt cct 435
 Leu Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro

20

45

50

55

aat gga gaa cca ggc ctc cca tgt gag tgc agc cag ctg cgc aag gcc 483
 Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro Cys Glu Cys Ser Gln Leu Arg Lys Ala

60

65

70

atc ggg gag atg gac aac cag gtc tet cag ctg acc agc gag ctc aag 531
 Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln Val Ser Gln Leu Thr Ser Glu Leu Lys

75

80

85

ttc atc aag aat gct gtc gcc ggt gtg cgc gag acg gag agc aag atc 579
 Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala Gly Val Arg Glu Thr Glu Ser Lys Ile

30

90

95

100

105

tac ctg ctg gtg aag gag gag aag cgc tac gcg gac gcc cag ctg tcc 627
 Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu Lys Arg Tyr Ala Asp Ala Gln Leu Ser

110

115

120

tgc cag ggc cgc ggg ggc acg ctg agc atg ccc aag gac gag gct gcc 675
 Cys Gln Gly Arg Gly Gly Thr Leu Ser Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala

125

130

135

aat ggc ctg atg gcc gca tac ctg gcg caa gcc ggc ctg gcc cgt gtc 723
 Asn Gly Leu Met Ala Ala Tyr Leu Ala Gln Ala Gly Leu Ala Arg Val

40

140

145

150

```

ttc atc ggc atc aac gac ctg gag aag gag ggc gcc ttc gtg tac tct      771
Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu Lys Glu Gly Ala Phe Val Tyr Ser
   155                160                165
gac cac tcc ccc atg cgg acc ttc aac aag tgg cgc agc ggt gag ccc      819
Asp His Ser Pro Met Arg Thr Phe Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro
  170                175                180                185
aac aat gcc tac gac gag gag gac tgc gtg gag atg gtg gcc tcg ggc      867
Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly
                190                195                200
ggc tgg aac gac gtg gcc tgc cac acc acc atg tac ttc atg tgt gag      915
Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys His Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu
                205                210                215
ttt gac aag gag aac atg tgagccctcag gctggggcctg cccattgggg      963
Phe Asp Lys Glu Asn Met
   220
gccccacatg tcctgcagg gtggcaggg acagagccca gaccatgggtg ccagccaggg 1023
agctgtccct ctgigaaggg tggaggctca ctgagtagag ggctgtgtgc taaactgaga 1083
aaatggccta tgcttaagag gaaaatgaaa gtgttccctgg ggtgctgtct ctgaagaagc 1143
agagtttcat taccgttatt gtagccccaa tgcattatg taattattac ccag      1197

```

10

20

<210> 37
<211> 223
<212> PRT
<213> Homo Sapiens

<220>
<223> Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin variant from Nucleo-
tide Sequence set out in SEQ ID NO:36.

30

```

<400> 37
Met Arg Gly Asn Leu Ala Leu Val Gly Val Leu Ile Ser Leu Ala Phe
  1                5                10                15
Leu Ser Leu Leu Pro Ser Gly His Pro Gln Pro Ala Gly Asp Asp Ala
                20                25                30
Cys Ser Val Gln Ile Leu Val Pro Gly Leu Lys Gly Glu Lys Gly Asp
                35                40                45
Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro
  50                55                60
Cys Glu Cys Ser Gln Leu Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln
  65                70                75                80

```

40

	165	170	175	
Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu Lys Glu Gly Ala Phe Val Tyr				
	180	185	190	
Ser Asp His Ser Pro Met Arg Thr Phe Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu				
	195	200	205	
Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met Val Ala Ser				
	210	215	220	
Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys His Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys				
225	230	235	240	
Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met				
	245			

10

<210> 40
 <211> 1269
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (265)..(1005)

20

<400> 40
 cgcgcccgcg tcgacggacg gicgacgcag cgcagacagg aagctccccg agataacgct 60
 gcggccgggc ggcttgattt gctgggctgt ctgatggccc gggccgaggc ttcicccctgc 120
 gccigggact gcggccgcct ctctaaatag cagccatgag gcgacctgggg gcagtgicct 180
 cgcgcccgcg tcgaccgacg gccgcagtcg acgccccgtt cgcctagcgc gtgctcagga 240
 gttggtgtcc tgcctgcgct cagg atg agg ggg aat ctg gcc ctg gtg ggc 291

30

Met Arg Gly Asn Leu Ala Leu Val Gly

1 5

gtt cia atc agc ctg gcc ttc ctg tca ctg ctg cca tct gga cat cct 339
 Val Leu Ile Ser Leu Ala Phe Leu Ser Leu Leu Pro Ser Gly His Pro
 10 15 20 25
 cag ccg gct ggc gat gac gcc tgc tct gtg cag atc ctc gtc cct ggc 387
 Gln Pro Ala Gly Asp Asp Ala Cys Ser Val Gln Ile Leu Val Pro Gly
 30 35 40

ctc aaa ggg gat gcg gga gag aag gga gac aaa ggc gcc ccc gga cgg 435
 Leu Lys Gly Asp Ala Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly Ala Pro Gly Arg
 45 50 55

40

cct gga aga gtc ggc ccc acg gga gaa aaa ggt gag aaa gga gat tcc 483
 Pro Gly Arg Val Gly Pro Thr Gly Glu Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser

60	65	70		
ggt gac ata gga ccc cct ggt cct aat gga gaa cca ggc ctc cca igt			531	
Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro Cys				
75	80	85		
gag tgc agc cag ctg cgc aag gcc atc ggg gag atg gac aac cag gtc			579	
Glu Cys Ser Gln Leu Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln Val				
90	95	100	105	
tct cag ctg acc agc gag ctc aag ttc atc aag aat gct gtc gcc ggt			627	
Ser Gln Leu Thr Ser Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala Gly				10
110	115	120		
gtg cgc gag acg gag agc aag atc tac ctg ctg gtg aag gag gag aag			675	
Val Arg Glu Thr Glu Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu Lys				
125	130	135		
cgc tac gcg gac gcc cag ctg tcc tgc cag ggc cgc ggg gcc acg ctg			723	
Arg Tyr Ala Asp Ala Gln Leu Ser Cys Gln Gly Arg Gly Gly Thr Leu				
140	145	150		
agc atg ccc aag gac gag gct gcc aat ggc ctg atg gcc gca tac ctg			771	
Ser Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met Ala Ala Tyr Leu				20
155	160	165		
gcg caa gcc ggc ctg gcc cgt gtc ttc atc ggc atc aac gac ctg gag			819	
Ala Gln Ala Gly Leu Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu				
170	175	180	185	
aag gag ggc gcc ttc gtg tac tct gac cac tcc ccc atg cgg acc ttc			867	
Lys Glu Gly Ala Phe Val Tyr Ser Asp His Ser Pro Met Arg Thr Phe				
190	195	200		
aac aag tgg cgc agc ggt gag ccc aac aat gcc tac gac gag gag gac			915	
Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp				30
205	210	215		
tgc gtg gag atg gtg gcc tcg ggc ggc tgg aac gac gtg gcc tgc cac			963	
Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys His				
220	225	230		
acc acc atg tac ttc atg tgt gag ttt gac aag gag aac atg			1005	
Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met				
235	240	245		
tgagcctcag gctggggctg cccattgggg gccccacatg tccctgcagg gttggcaggg			1065	
acagagccca gaccatggtg ccagccaggg agctgtccct ctgtgaaggg tggaggctca			1125	
ctgagtagag ggcigtgtc taaactgaga aaatggccta tgcttaagag gaaaatgaaa			1185	40
gtgttctgg ggtgctgtct ctgaagaagc agagtttcat taccgttatt gtagccceaa			1245	
igtcattaig taattattac ccag			1269	

Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met
245

<210> 42

<211> 48

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220>

<223> Deduced Amino Acid Sequence of a collagen-like domain of mutated N
ovel Collectin.

10

<400> 42

Gly Leu Lys Gly Asp Met Gly Asp Lys Gly Gln Lys Gly Ser Val Gly
1 5 10 15

Arg His Gly Lys Ile Gly Pro Ile Gly Ser Lys Gly Glu Lys Gly Asp
20 25 30

Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro
35 40 45

20

<210> 43

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220>

<223> Deduced Amino Acid Sequence of a collagen-like domain of mutated N
ovel Collectin.

30

<400> 43

Gly Leu Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly
1 5 10 15

Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro
20

<210> 44

<211> 48

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

40

<220>

<223> Deduced Amino Acid Sequence of a collagen-like domain of mutated N
ovel Collectin.

<400> 44

Gly	Leu	Lys	Gly	Asp	Ala	Gly	Glu	Lys	Gly	Asp	Lys	Gly	Ala	Pro	Gly
1				5					10					15	
Arg	Pro	Gly	Arg	Val	Gly	Pro	Thr	Gly	Glu	Lys	Gly	Glu	Lys	Gly	Asp
			20						25					30	
Ser	Gly	Asp	Ile	Gly	Pro	Pro	Gly	Pro	Asn	Gly	Glu	Pro	Gly	Leu	Pro
		35					40							45	

10

<210> 45

<211> 813

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 45

atgaggggga	atctggceet	ggtgggcgtt	ctaateagcc	tggccttctt	gtcactgctg	60
ccatctggac	atcctcagcc	ggctggcgat	gacgcctgct	ctgtgcagat	cctcgtccct	120
ggcctcaaag	gggatgcggg	agagaaggga	gacaaaggcg	cccccgacg	gcctggaaga	180
gtcggcccca	cgggagaaaa	aggagacatg	ggggacaaag	gacagaaagg	cagtgtgggt	240
cgatcatgaa	aaattggtcc	cattggctct	aaagggtgaga	aaggagattc	cggtgacata	300
ggacccccctg	gtcctaattg	agaaccaggc	ctcccatgtg	agtgcagcca	gctgcgcaag	360
gccatcgggg	agatggacaa	ccaggtctct	cagctgacca	gcgagctcaa	gttcatcaag	420
aatgctgtcg	ccggtgtgcg	cgagacggag	agcaagatct	acctgctggt	gaaggaggag	480
aagcgctacg	cggacgcccc	gctgtcctgc	cagggccgcg	ggggcacgct	gagcatgcc	540
aaggacgagg	ctgccaatgg	cctgatggcc	gcatacctgg	cgcaagccgg	cctggcccgt	600
gtettcateg	gcatcaacga	cctggagaag	gagggcgccct	tcgtgtactc	tgaccactcc	660
cccattgcgga	ccttcaacaa	gtggcgcagc	ggtgagccca	acaatgccta	cgacaggagg	720
gactgcgtgg	agatgggtgg	ctcgggcggc	tggaacgacg	tggcctgcca	caccacatg	780
tacttcatgt	gtgagtttga	caaggagaac	atg			813

20

30

<210> 46

<211> 735

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 46

40

atgiggiggg tgcctccgag tccctacggt tgtcttccct gcgcccctgcc aggggatgcg 60
 ggagagaagg gagacaaagg cgccccgga cggcctggaa gagtcggccc cacgggagaa 120
 aaaggagaca tgggggacaa aggacagaaa ggcagtgtgg gtcgtcatgg aaaaattggt 180
 cccatiggct ctaaagggtga gaaaggagat tccggtgaca taggaccccc tggtectaat 240
 ggagaaccag gcctcccatg tgagtgcagc cagctgcgca aggccatcgg ggagatggac 300
 aaccaggctc ctcagctgac cagcagctc aagttcaica agaatgctgt cgccggtgtg 360
 cgcgagacgg agagcaagat ctacctgctg gtgaaggagg agaagcgcta cgcggacgcc 420
 cagctgtcct gccagggccg cgggggcacg ctgagcatgc ccaaggacga ggctgccaat 480
 ggctgatgg ccgcatacct ggcgcaagcc ggcttgccc gtgtcttcat cggcataaac 540
 gacctggaga aggagggcgc cttcgtgtac tctgaccact ccccatgceg gaccttaaac 600
 aagtggcgca gcggtgagcc caacaatgcc tacgacgagg aggactgcgt ggagatggtg 660
 gcctcgggcg gctggaacga cgtggcctgc cacaccacea tgtacttcat gtgtgagitt 720
 gacaaggaga acatg 735

10

<210> 47

<211> 159

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

20

<400> 47

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

30

40

<210> 48
 <211> 477
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 48
 tgtgagtgca gccagctgcg caaggccatc ggggagatgg acaaccaggi ctctcagctg 60
 accagcgagc tcaagttcat caagaatgct gtcgccggig tgcgcgagac ggagagcaag 120
 atciacctgc tggigaagga ggagaagegc tacgcggacg cccagctgtc ctgccagggc 180
 cgcgggggca cgtcagcat gcccaaggac gaggctgcca atggcctgat ggccgcatac 240
 ctggcgcaag cggcctggc cegtgtcttc atcgccatca acgacctgga gaaggagggc 300
 gccttcgtgt actctgacca ctccccatg cggacctca acaagtggcg cagcggigag 360
 cccaacaatg cctacgacga ggaggactgc gtggagatgg tggcctcggg cggctggaac 420
 gacgtggcct gccacaccac catgtacttc atgtgtgagi ttgacaagga gaacatg 477

10

<210> 49
 <211> 72
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens

20

<400> 49
 Gly Leu Lys Gly Asp Ala Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly Ala Pro Gly
 1 5 10 15
 Arg Pro Gly Arg Val Gly Pro Thr Gly Glu Lys Gly Asp Met Gly Asp
 20 25 30
 Lys Gly Gln Lys Gly Ser Val Gly Arg His Gly Lys Ile Gly Pro Ile
 35 40 45
 Gly Ser Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly
 50 55 60
 Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro
 65 70

30

<210> 50
 <211> 69
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens

40

<400> 50
 Gly Asp Ala Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly Ala Pro Gly Arg Pro Gly

Met Arg Gly Asn Leu Ala Leu Val Gly Val Leu Ile Ser Leu Ala Phe
 1 5 10 15
 Leu Ser Leu Leu Pro Ser Gly His Pro Gln Pro Ala Gly Asp Asp Ala
 20 25 30
 Cys Ser Val Gln Ile Leu Val Pro
 35 40

<210> 54

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

10

<400> 54

Met Trp Trp Val Pro Pro Ser Pro Tyr Gly Cys Leu Pro Cys Ala Leu
 1 5 10 15
 Pro

<210> 55

<211> 591

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

20

<400> 55

atgiggtggg tgcctccgag tccctacggt tgtcttccct gcgcccctgcc aggtgagaaa 60
 ggagattccg gtgacatagg accccctggt cctaattggag aaccaggcct cccalgtgag 120
 tgcagccagc tgcgcaaggc catcggggag atggacaacc aggtctctca gctgaccagc 180
 gagctcaagt tcatcaagaa tgctgtcgcc ggtgtgcgcg agacggagag caagatctac 240
 ctgctggatga aggaggagaa gcgctacgcg gacgccagc tgtcctgcca gggccgcggg 300
 ggcacgctga gcatgcccaa ggacgaggct gccaatggcc tgatggccgc atacctggcg 360
 caagccggcc tggcccgtgt ctteatcggc atcaacgacc tggagaagga gggcgccttc 420
 gtgtactctg accactcccc catgcggacc tccaacaagt ggcgcagcgg igagcccaac 480
 aatgcctacg acgaggagga ctgcgtggag atgggtggcct cgggcggctg gaacgacgtg 540
 gectgccaca ccacatgta ctteatgtgt gaggttgaca aggagaacat g 591

30

<210> 56

<211> 663

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

40

<400> 56

atgtggtggg tgcctccgag tccctacggt tgtcttccct gcgccctgcc aggagacatg 60
 ggggacaaag gacagaaagg cagtgtgggt cgtcatggaa aaattgggcc cattggctct 120
 aaaggtgaga aaggagattc cggtagacata ggacccccctg gtccctaatgg agaaccaggc 180
 ctcccatgtg agtgcagcca gctgcgcaag gccatcgggg agatggacaa ccaggctctct 240
 cagctgacca gcgagctcaa gttcatcaag aatgctgtcg ccggtgtgcg cgagacggag 300
 agcaagatct acctgctggt gaaggaggag aagcgctacg cggacgcca gctgtcctgc 360
 cagggccgcg ggggcacgct gagcatgccc aaggacgagg ctgccaatgg cctgatggcc 420
 gcataacctg cgcaagccgg cctggcccgt gtcttcatcg gcatcaacga cctggagaag 480
 gagggcgctt tcgtgtactic tgaccactcc cccatgcgga ccttcaacaa gtggcgcagc 540
 ggtgagccca acaatgccta cgacgaggag gactgcgtgg agatggtggc ctcgggcggc 600
 tggaacgacg tggcctgccca caccacatg tacttcatgt gtgagttga caaggagaac 660
 atg 663

10

<210> 57

<211> 663

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 57

atgtggtggg tgcctccgag tccctacggt tgtcttccct gcgccctgcc aggggatgcg 60
 ggagagaagg gagacaaagg cgccccgga cggcctggaa gagtcggccc cacgggagaa 120
 aaaggtgaga aaggagattc cggtagacata ggacccccctg gtccctaatgg agaaccaggc 180
 ctcccatgtg agtgcagcca gctgcgcaag gccatcgggg agatggacaa ccaggctctct 240
 cagctgacca gcgagctcaa gttcatcaag aatgctgtcg ccggtgtgcg cgagacggag 300
 agcaagatct acctgctggt gaaggaggag aagcgctacg cggacgcca gctgtcctgc 360
 cagggccgcg ggggcacgct gagcatgccc aaggacgagg ctgccaatgg cctgatggcc 420
 gcataacctg cgcaagccgg cctggcccgt gtcttcatcg gcatcaacga cctggagaag 480
 gagggcgctt tcgtgtactic tgaccactcc cccatgcgga ccttcaacaa gtggcgcagc 540
 ggtgagccca acaatgccta cgacgaggag gactgcgtgg agatggtggc ctcgggcggc 600
 tggaacgacg tggcctgccca caccacatg tacttcatgt gtgagttga caaggagaac 660
 atg 663

20

30

<210> 58

<211> 813

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 58

atgatgagg accctggctct tgcaggcaig ctgattagcc tggctttcct gtccctgctg 60
 ccacttggat gtccctcagca gaccacagag gacgcctgct ctgtgcagat tcttgtcccc 120

40

ggccctcaaag gggatgcagg agaaaaggga gacaaaggag ccccaggacg gccaggaaga 180
 gtcggcccta caggagaaaa aggagacatg ggggacaaag gacagaaagg cactgtgggc 240
 cgccatggaa aaattgggtc cattggcgca aaaggtgaaa aaggagattc tggtgatac 300
 ggacccccig gccccagtgg agaacctggt attccatgtg agtgcagtca gctgaggaag 360
 gctattgggg agatggacaa ccaggctact caactgacaa ctgagctaaa atcataaaa 420
 aatgctgttg ctggcgtgcg cgagactgag agcaagatct acctgctggt gaaggaggag 480
 aagcggtagc cagatgceca gctgtccctgc caagcccag gcggcacact gagcatgccc 540
 aaagacgagg cagccaatgg cctgatggct tcatacctgg cacaggctgg cctggcccga 600
 gtcttcatcg giatcaatga cctggagaaa gaaggigctt tcgtgtactc ggaccgctcc 660
 ccatgcaga ccttcaacaa gtggcgcagt ggagagceca acaacgccta tgatgaggag 720
 gactgigtgg agatgggtggc ctgagggtggc tggaatgatg tggcctgcca cattaccaig 780
 tacttcatgt gcgagttaga caaagagAAC ttg 813

10

<210> 59

<211> 669

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 59

20

atgaggggga atctggccct ggtgggctgt ctaatcagcc tggecttct gtcactgctg 60
 ccatctggac atcctcagcc ggcctggcgt gacgcctgct ctgtgcagat cctcgtccct 120
 ggccctcaaag gtgagaaagg agattccggt gacataggac cccctggctc taatggagaa 180
 ccaggcctcc catgtgagtg cagccagctg cgcaaggcca tgggggagat ggacaaccag 240
 gtctctcagc tgaccagega gctcaagttc atcaagaatg ctgtcgccgg tgtgcgcgag 300
 acggagagca agatctacct gctgggtgaag gaggagaagc gctacgcgga cgcccagctg 360
 tcttgccagg gccgcggggg cacgctgagc atgcccagg acgaggetgc caatggcctg 420
 atggccgcat acctggcgca agccggcctg gccctgtct tcatcggcat caacgacctg 480
 gagaaggagg gcgcttctgt gtactctgac cactccccca tgcggacctt caacaagtgg 540
 cgcagcgggt agcccacaa tgcctacgac gaggaggact gcgtggagat ggtggcctcg 600
 ggccggctgga acgacgtggc ctgccacacc acctgtact tcatgtgiga gtttgacaag 660
 gagaacatg 669

30

<210> 60

<211> 741

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 60

40

atgaggggga atctggccct ggtgggctgt ctaatcagcc tggecttct gtcactgctg 60
 ccatctggac atcctcagcc ggcctggcgt gacgcctgct ctgtgcagat cctcgtccct 120

```

ggcctcaaag gagacatggg ggacaaagga cagaaaggca gtgtgggtcg tcatggaaaa 180
attggctcca tiggctctaa aggtgagaaa ggagattccg gtgacatagg accccctggg 240
cctaattggag aaccaggcct cccatgtgag tgcagccagc tgcgcaagge catcggggag 300
atggacaacc aggtctctca gctgaccagc gagctcaagt tcatcaagaa tgcgtgctgc 360
gggtgtgcgc agacggagag caagatctac ctgctgggtga aggaggagaa gcgctacgcg 420
gacgccagc tgcctgcca gggccgcggg ggcacgctga gcatgccaa ggacgaggct 480
gccaatggcc tgatggccgc atacctggcg caagccggcc tggcccgtgt ctccatcggc 540
atcaacgacc tggagaagga gggcgccctc gtgtaactctg accactcccc catgcgagc 600
ttcaacaagt ggcgagcgg tgagcccaac aatgcctacg acgaggagga ctgcgtggag 660
atgggtggcct cgggcggtctg gaacgacgtg gcctgccaca ccacatgta ctteatgtgt 720
gagtttgaca aggagaacat g 741

```

10

<210> 61

<211> 741

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 61

```

atgaggggga atctggccct ggtagggcgtt ctaatcagcc tggccttctt gtcactgctg 60
ccatctggac atcctcagcc ggctggcgat gacgectgct ctgtgcagat cctcgtccct 120
ggcctcaaag gggatgcggg agagaaggga gacaaaggcg cccccggacg gccctggaaga 180
gtcggcccca cgggagaaaa aggtgagaaa ggagattccg gtgacatagg accccctggg 240
cctaattggag aaccaggcct cccatgtgag tgcagccagc tgcgcaagge catcggggag 300
atggacaacc aggtctctca gctgaccagc gagctcaagt tcatcaagaa tgcgtgctgc 360
gggtgtgcgc agacggagag caagatctac ctgctgggtga aggaggagaa gcgctacgcg 420
gacgccagc tgcctgcca gggccgcggg ggcacgctga gcatgccaa ggacgaggct 480
gccaatggcc tgatggccgc atacctggcg caagccggcc tggcccgtgt ctccatcggc 540
atcaacgacc tggagaagga gggcgccctc gtgtaactctg accactcccc catgcgagc 600
ttcaacaagt ggcgagcgg tgagcccaac aatgcctacg acgaggagga ctgcgtggag 660
atgggtggcct cgggcggtctg gaacgacgtg gcctgccaca ccacatgta ctteatgtgt 720
gagtttgaca aggagaacat g 741

```

20

30

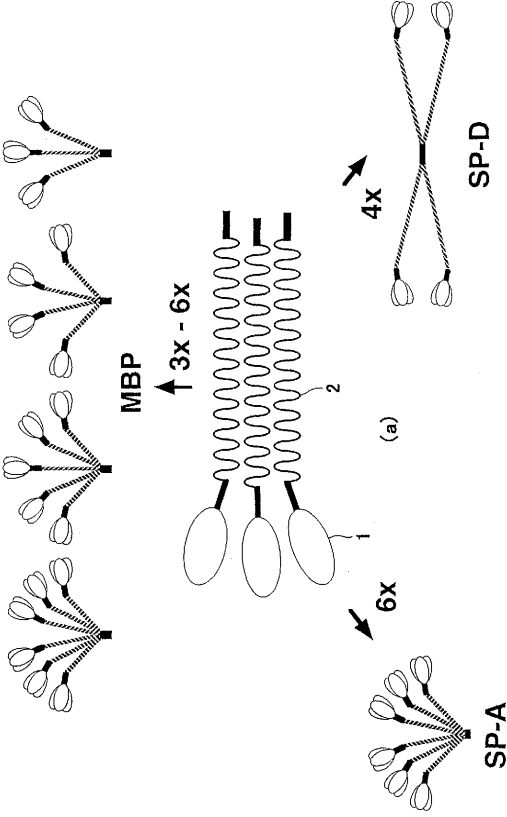
【図面の簡単な説明】

第1図は、従来報告されている主なコレクチンの基本構造（a）およびタンパク質（MBP、SP-AおよびSP-D）の概観を示す図である。第2図は、従来報告されている4種のコレクチンのアミノ酸配列のアラインメントの前半部分を示す図である。第3図は、第2図と同様のアラインメントの後半部分を示す図である。第4図は、本発明の新規コレクチンの塩基配列を決定するために使用した各プライマーと、得られた新規コレクチンを示す図（a）、（b）である。第5図は、従来報告されている4種のコレクチンと、本発明の新規コレクチン（hCL-L2-1）のアミノ酸配列のアラインメントの前半部分を示す図である。第6図は、第5図と同様のアラインメントの後半部分を示す図である。第7図は、本発明の新規コレクチンhCL-L2の臓器分布を示す、ヒトの種々の組織におけるmRNAの分布の分析結果を示す図である。第8図は、種々のコレクチンの遺伝的系統樹を示す図である。第9図は、本発明の新規コレクチン（hCL-L2-1およびhCL-L2-2）の臓器分布を示す、ヒトの種々の組織におけるmRNAの分布の分析結果を示す図である。第10図は、本発明の新規コレクチンhCL-L2-1の糖結合特性を示す図である。

40

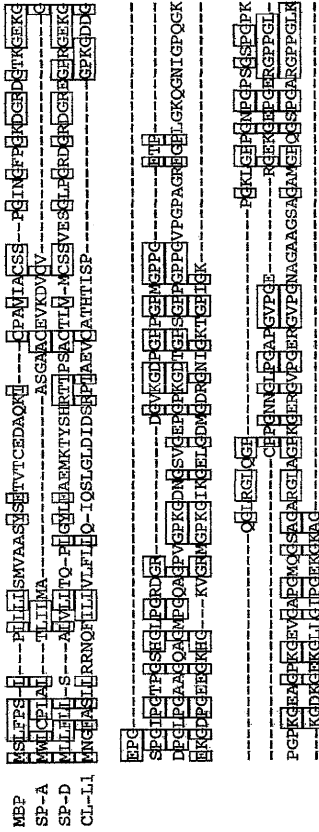
50

【 図 1 】



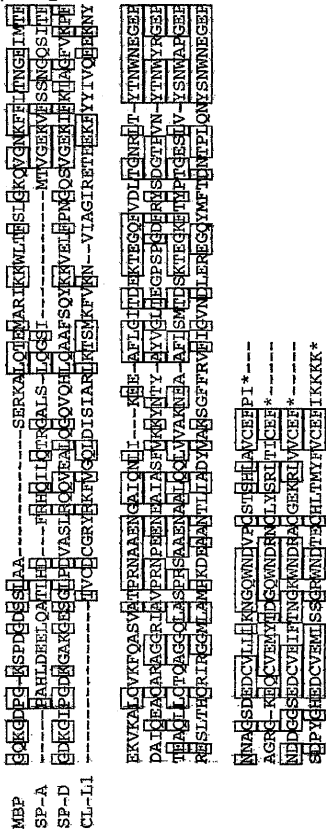
第 1 図

【 図 2 】



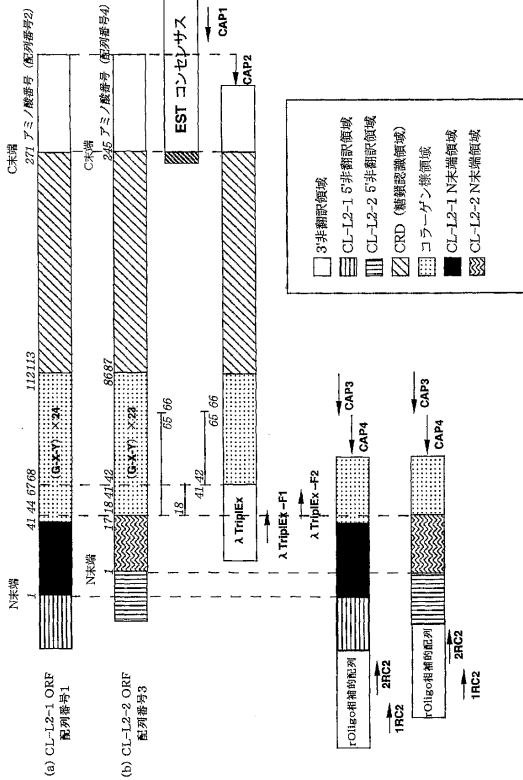
第 2 図

【 図 3 】



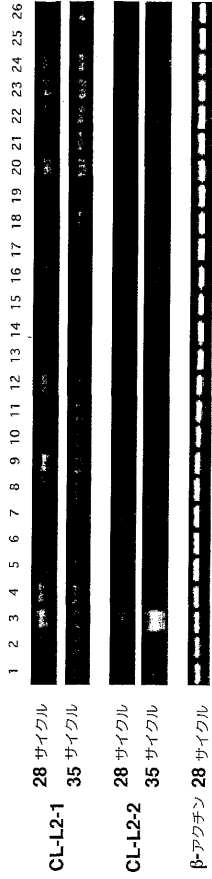
第 3 図

【 図 4 】



第 4 図

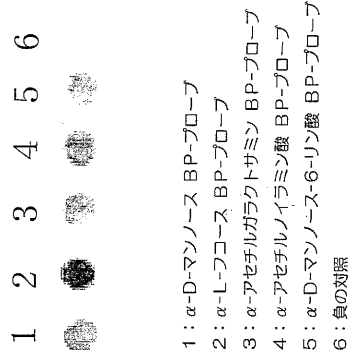
【 図 9 】



- | | | |
|--------|----------|---------|
| 1. 脳 | 11. 胃 | 21. 脊髄 |
| 2. 心臓 | 12. 胸腺 | 22. 胎盤 |
| 3. 腎臓 | 13. 乳腺 | 23. 副腎 |
| 4. 肝臓 | 14. 前立腺 | 24. 脾臓 |
| 5. 肺 | 15. 骨格筋 | 25. 唾腺 |
| 6. 気管 | 16. 精巣 | 26. 甲状腺 |
| 7. 骨髄 | 17. 子宮 | |
| 8. 大腸 | 18. 小腸 | |
| 9. 小腸 | 19. 胎児肝臓 | |
| 10. 脾臓 | 20. 胎児肝臓 | |

第9図

【 図 10 】



第10図

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP01/03468
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int. Cl. ⁷ C07K14/47, C12N15/12, C12P21/02, A01K67/027, C07K16/18, G01N33/53		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int. Cl. ⁷ C07K14/47, C12N15/12, C12P21/02, A01K67/027, C07K16/18, G01N33/53		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq Swissprot/PIR/GeneSeq WPIDS/BIOSIS/BIOTECHABS/MEDLINE/CA		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00/18922 A2 (Incyte Pharmaceuticals, Inc.), 06 April, 2000 (06.04.00), SEQ ID 6, 13 & AU 9965035 A	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39 3, 4, 7-18, 21-26
Y		
X	WO 99/63088 A2 (Genentech, Inc.), 09 December, 1999 (09.12.99), Figs. 251, 252 & AU 9943286 A	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39 3, 4, 7-18, 21-26
Y		
Y	Floros J. et al. Genetics of the hydrophilic surfactant proteins A and D, Biochimica et Biophysica Acta, 1998, Vol.1408, pp.312-322	3, 4, 7-18, 21-26 1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39
A		
Y	Wada M. et al. Characterization of rat liver mannan-binding protein gene, J. Biochem., 1992, Vol.111, pp.66-73	3, 4, 7-18, 21-26 1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39
A		
PX	WO 00/53755 A2 (Genentech, Inc.), 14 September, 2000 (14.09.00), & AU 200024952 A	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39 3, 4, 7-18, 21-26
PY		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family	
Date of the actual completion of the international search 17 July, 2001 (17.07.01)	Date of mailing of the international search report 31 July, 2001 (31.07.01)	
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer	
Facsimile No.	Telephone No.	

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP01/03468**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

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

2. Claims Nos.: 37,38,40
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
Concerning agonists and antagonists of the novel collectins and drugs obtained by the screening method with the use of the novel collectins, no particular compound is disclosed in examples, etc. in the description. Also, it is never described therein what compounds are involved in the scopes thereof. Accordingly, it is completely unknown what compounds are involved in the scopes thereof in practice.
Such being the case, the inventions as set forth in the above claims are not so clear as enabling any meaningful international search.
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(e).

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

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

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP01/03468

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX PY	WO 00/73454 A1 (Genentech, Inc.), 07 December, 2000 (07.12.00), & AU 200037743 A	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39 3, 4, 7-18, 21-26

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JPO1/03468
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ¹ C07K14/47, C12N15/12, C12P21/02, A01K67/027, C07K16/18, G01N33/53		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ¹ C07K14/47, C12N15/12, C12P21/02, A01K67/027, C07K16/18, G01N33/53		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使った電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
GenBank/EMBL/DBJ/GeneSeq Swissprot/PIR/GeneSeq WPIDS/BIOSIS/BIOTECHABS/MEDLINE/CA (STR)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	WO 00/18922 A2 (Incyte Pharmaceuticals, Inc.) 6.4月.2000 (06.04.00), SEQ ID 6, 13 & AU 9965035 A	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39 3, 4, 7-18, 21- 26
X Y	WO 99/63088 A2 (Genentech, Inc.) 9.12月.1999 (09.12.99), Fig. 251, 252 & AU 9943286 A	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39 3, 4, 7-18, 21- 26
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリ		
「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの		
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの		
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)		
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		
の日の後に公表された文献		
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの		
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの		
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの		
「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	17.07.01	国際調査報告の発送日 31.07.01
国際調査機関の名称及びあて先	日本国特許庁 (ISA/JJP)	特許庁審査官 (権限のある職員)
郵便番号 100-8915	東京都千代田区麩が関三丁目4番3号	深草 亜子
		4B 9548
		電話番号 03-3581-1101 内線 3448

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JPO1/03468
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y — A	Floros J. et al. Genetics of the hydrophilic surfactant proteins A and D, Biochimica et Biophysica Acta, 1998, Vol.1408, p.312-322	3, 4, 7-18, 21-26 1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39
Y — A	Wada M. et al. Characterization of rat liver mannan-binding protein gene, J. Biochem., 1992, Vol.111, p.66-73	3, 4, 7-18, 21-26 1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39
PX — PY	WO 00/53755 A2 (Genentech, Inc.) 14.9月.2000(14.09.00) & AU 200024952 A	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39 3, 4, 7-18, 21-26
PX — PY	WO 00/73454 A1 (Genentech, Inc.) 7.12月.2000(07.12.00) & AU 200037743 A	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39 3, 4, 7-18, 21-26

国際調査報告	国際出願番号 PCT/JP01/03468
<p>第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)</p>	
<p>法第8条第3項 (PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。</p>	
<p>1. <input type="checkbox"/> 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、</p> <p>2. <input checked="" type="checkbox"/> 請求の範囲 37, 38, 40 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、 新規コレクチンのアゴニスト又はアンタゴニスト、新規コレクチンを用いたスクリーニング方法によって得られた薬物については明細書中に実施例等をもって何ら具体的な化合物が開示されておらず、また、どのような化合物が包含されるかに関する他の記載もない。したがって、実際にどのような化合物が包含されるかは全く不明であり、(特別ページに続きあり)</p> <p>3. <input type="checkbox"/> 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。</p>	
<p>第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)</p>	
<p>次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところこの国際調査機関は認めた。</p>	
<p>1. <input type="checkbox"/> 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。</p> <p>2. <input type="checkbox"/> 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。</p> <p>3. <input type="checkbox"/> 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。</p> <p>4. <input type="checkbox"/> 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。</p>	
<p>追加調査手数料の異議の申立てに関する注意</p> <p><input type="checkbox"/> 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。</p> <p><input type="checkbox"/> 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。</p>	

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷		F I	
C 0 7 K 16/18		C 0 7 K 16/18	
C 1 2 N 1/15		C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/19		C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21		C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10		C 1 2 P 21/02	C
C 1 2 P 21/02		G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/15		G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/50		G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/53		C 1 2 N 5/00	A
// C 1 2 P 21/08		C 1 2 P 21/08	

(72)発明者 坂本 隆志
奈良県桜井市芝 1 1 3 8

(72)発明者 岸 雄一郎
和歌山県和歌山市吹屋町 5 - 5 3 - 4

(注) この公表は、国際事務局 (W I P O) により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願 (日本語実用新案登録出願) の国際公開の効果は、特許法第 1 8 4 条の 1 0 第 1 項 (実用新案法第 4 8 条の 1 3 第 2 項) により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

专利名称(译)	新集合		
公开(公告)号	JPWO2001081401A1	公开(公告)日	2004-04-15
申请号	JP2001578488	申请日	2001-04-23
申请(专利权)人(译)	扶桑制药工业有限公司		
[标]发明人	若宫伸隆 芥子宏行 大谷克城 坂本隆志 岸雄一郎		
发明人	若宫 伸隆 芥子 宏行 大谷 克城 坂本 隆志 岸 雄一郎		
IPC分类号	C12N15/09 A01K67/027 A61K45/00 A61P31/04 C07K14/47 C07K14/785 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/12 C12P21/02 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 C12P21/08		
CPC分类号	C07K14/4726 A01K2217/05 C07K14/785		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A01K67/027 A61K45/00 A61P31/04 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D C12N5/00.A C12P21/08		
代理人(译)	古河钓鱼		
优先权	2000120358 2000-04-21 JP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供了分离的收集素 (CL-L2s) 基因, 其包括与新型收集素有关的SEQ ID NO : 1、3、5、7、9、12、36、38或40所示的碱基序列, 预期该基因具有抗菌作用。活性, 抗病毒活性等, 尤其是在人体中; 分离的收集素蛋白, 包括SEQ ID NO : 2、4、6、8、10、13、37、39或41所示的氨基酸序列及其衍生物和片段。

