

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A) (11)特許出願公表番号

特表2002 - 538786

(P2002 - 538786A)

(43)公表日 平成14年11月19日(2002.11.19)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 39/395	D 2 G 0 4 5
A 6 1 K 38/00		45/00	4 B 0 2 4
39/395		48/00	4 B 0 6 3
45/00		A 6 1 P 7/00	4 B 0 6 4
48/00		9/10	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全220数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 603363(P2000 - 603363)

(86)(22)出願日 平成12年3月9日(2000.3.9)

(85)翻訳文提出日 平成13年9月5日(2001.9.5)

(86)国際出願番号 PCT/US00/06280

(87)国際公開番号 W000/53742

(87)国際公開日 平成12年9月14日(2000.9.14)

(31)優先権主張番号 60/123,667

(32)優先日 平成11年3月9日(1999.3.9)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 09/520,781

(32)優先日 平成12年3月8日(2000.3.8)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 キュラジェン コーポレイション
アメリカ合衆国 コネチカット州 06511
ニュー ハイブン ロング ウォーフ ド
ライブ 555

(72)発明者 シムケッツ, リチャード エイ.
アメリカ合衆国 コネチカット 06516,
ウエスト ハイベン, リート ストリート
191

(74)代理人 弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ポリヌクレオチドおよびそれによりコードされるタンパク質

(57)【要約】

本発明は、新規の単離された S E C X ポリヌクレオチドおよびこの S E C X ポリヌクレオチドによってコードされる膜関連ポリペプチドまたは分泌ポリペプチドを提供する。 S E C X ポリペプチド、または S E C X のポリペプチド、ポリヌクレオチド、もしくは抗体の任意の誘導体、改変体、変異体、もしくはフラグメントに免疫特異的に結合する抗体もまた提供される。本発明はさらに、広範な病理学的状態の検出および処置、ならびに他の用途に S E C X のポリペプチド、ポリヌクレオチド、および抗体を利用する方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 SECXをコードする単離された核酸分子または該核酸分子の相補体であって、該分子は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、75、77、79、および81に対して少なくとも99%同一である配列を有するポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子または該核酸分子の相補体。

【請求項2】 請求項1に記載の核酸分子または該核酸分子の相補体であって、前記ヌクレオチド配列が、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、75、77、79、および81のポリペプチドをコードする、核酸分子または該核酸分子の相補体。

【請求項3】 請求項1に記載の核酸分子または該核酸分子の相補体であって、該分子は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、74、76、78、および80のヒトSECXをコードする、核酸分子または該核酸分子の相補体。

【請求項4】 請求項1に記載の単離された核酸分子または該核酸分子の相補体であって、該分子が、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、74、76、78、および80のヌクレオチドの配列を含む核酸分子に相補的な核酸配列に対して、ストリンジントな条件下でハイブリダイズする、単離された核酸分子または該核酸分子の相補体。

【請求項5】 請求項1に記載の単離された核酸分子であって、該分子が、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、75、77、79、および81のアミノ酸配列、または配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、75、77、79、および81のアミノ酸配列において1以上の保存的置換を含むアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする、単離された核酸分子。

【請求項6】 請求項1に記載の核酸分子のオリゴヌクレオチドまたはその

相補体であって、該核酸分子は100ヌクレオチド未満の長さであり、そして配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、74、76、78、および80の少なくとも6個連続したヌクレオチドを含む、オリゴヌクレオチドまたはその相補体。

【請求項7】 請求項1に記載の核酸分子を含む、核酸ベクター。

【請求項8】 前記ベクターが発現ベクターである、請求項7に記載の核酸ベクター。

【請求項9】 前記核酸分子に作動可能に連結された調節エレメントをさらに含む、請求項7に記載のベクター。

【請求項10】 請求項1に記載の単離された核酸分子を含む、宿主細胞。

【請求項11】 単離されたポリペプチドであって、以下：

a) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、75、77、79、および81のアミノ酸配列を含むポリペプチド；

b) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、75、77、79、および81のアミノ酸配列を含むポリペプチドのフラグメントであって、該フラグメントが、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、75、77、79、および81の少なくとも6個連続したアミノ酸を含む、フラグメント；

c) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、75、77、79、および81のアミノ酸配列を含むポリペプチドの誘導體；

d) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、75、77、79、および81のアミノ酸配列を含むポリペプチドのアナログ；

e) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、75、77、79、および81のアミノ酸配列を含むポリペプチドのホモログ；ならびに

f) 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、75、77、79、および81のアミノ酸配列を含むポリペプチドの天然に存在する対立遺伝子改変体であって、該ポリペプチドが、ストリンジェントな条件下で核酸分子にハイブリダイズする核酸分子によってコードされる、対立遺伝子改変体、
からなる群から選択されるポリペプチドに対して少なくとも99%同一である、単離されたポリペプチド。

【請求項12】 前記ポリペプチドまたはそのフラグメントが、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、75、77、79、および81のうちの少なくとも1つのアミノ酸配列を含む、請求項11に記載のポリペプチド。

【請求項13】 請求項11に記載のポリペプチドに選択的に結合する抗体、ならびに該抗体のフラグメント、ホモログ、アナログ、および誘導体。

【請求項14】 請求項11に記載のポリペプチドを産生する方法であって、該方法は、前記核酸分子が発現される条件下で、請求項10に記載の宿主細胞を培養する工程を包含する、方法。

【請求項15】 サンプル中において請求項11に記載のポリペプチドの存在を検出する方法であって、該サンプルと請求項11に記載のポリペプチドに選択的に結合する化合物とを接触させる工程、および請求項11に記載のポリペプチドに結合した化合物が該サンプル中に存在するか否かを決定する工程を包含する、方法。

【請求項16】 サンプル中において請求項11に記載の核酸分子の存在を検出する方法であって、該サンプルと該核酸分子に選択的に結合する核酸プローブまたはプライマーとを接触させる工程、および請求項11に記載の核酸分子に結合した核酸プローブまたはプライマーが該サンプル中に存在するか否かを決定する工程を包含する、方法。

【請求項17】 請求項11に記載のポリペプチドの活性を調節する方法であって、該方法は、請求項11に記載のポリペプチドを含む細胞サンプルと該ポリペプチドに結合する化合物とを、該ポリペプチドの活性を調節するに十分な量

で接触させる工程を包含する、方法。

【請求項18】 SECX関連障害を処置または予防する方法であって、該方法は、このような処置または予防が所望される被験体に、以下：

- a) 請求項1に記載の核酸；
- b) 請求項11に記載のポリペプチド；および
- c) 請求項13に記載の抗体、

からなる群から選択される治療剤の一定量を投与する工程を包含し、

ここで、該治療剤は、該被験体において該SECX関連障害を処置または予防するに十分な量で投与される、方法。

【請求項19】 薬学的組成物であって、以下：

- a) 請求項1に記載の核酸；
- b) 請求項11に記載のポリペプチド；および
- c) 請求項13に記載の抗体、

からなる群から選択される治療剤の治療的有効量または予防的有効量、および薬学的に受容可能なキャリアを含む、薬学的組成物。

【請求項20】 1以上の容器において請求項19に記載の薬学的組成物の治療的有効量または予防的有効量を含む、キット。

【請求項21】 ヒト疾患に関連した症候群を処置するための医薬の製造における治療剤の使用であって、該疾患はSECX関連障害から選択され、ここで該治療剤は、以下：

- a) 請求項1に記載の核酸；
- b) 請求項11に記載のポリペプチド；および
- c) 請求項13に記載の抗体、

からなる群から選択される、使用。

【請求項22】 SECX関連障害に対する活性の調節因子またはSECX関連障害に対する潜伏もしくは素因の調節因子をスクリーニングする方法であって、該方法は、以下；

a) SECX関連障害について危険性の増加した試験動物に対して、試験化合物を投与する工程であって、該試験動物は、SECXタンパク質を組換え的に発

現する、工程；

b) 該試験動物における該タンパク質の活性の発現を測定する工程；

c) 該タンパク質を組換え的に発現し、かつSECX関連障害について危険性の増加していないコントロール動物において、該タンパク質の活性を測定する工程；および

d) 該試験動物および該コントロール動物における該タンパク質の発現を比較する工程であって、ここで該コントロール動物と相対的な該試験動物における該タンパク質の活性の変化は、該試験化合物が、SECX関連障害の潜伏の調節因子であることを示す、工程、
を包含する、方法。

【請求項23】 請求項22に記載の方法であって、ここで前記試験動物は、野生型試験動物と相対的に増加したレベルで、試験タンパク質導入遺伝子を発現するかまたはプロモーターの制御下で該導入遺伝子を発現する組換え試験動物であり、ここで該プロモーターは、該導入遺伝子のネイティブな遺伝子プロモーターではない、方法。

【請求項24】 請求項11に記載のSECXポリペプチドの変更されたレベルに関連した疾患の存在または該疾患に対する素因を決定する方法であって、該方法は、以下：

a) 哺乳動物被験体由来のサンプルにおける該ポリペプチドの量を測定する工程；および

b) 工程(a)における該ポリペプチドの量を、コントロールサンプル中に存在する該ポリペプチドの量に対して比較する工程、
を包含し、ここで、該コントロールサンプルと比較した場合の工程(a)における該ポリペプチドのレベルの変更が疾患状態を示す、方法。

【請求項25】 請求項1に記載のSECX核酸の変更されたレベルに関連した疾患の存在または該疾患に対する素因を決定する方法であって、該方法は、以下：

a) 哺乳動物被験体由来のサンプルにおける該核酸の量を測定する工程；および

b) 工程 (a) における該核酸の量を、コントロールサンプル中に存在する該核酸の量に対して比較する工程、
を包含し、ここで、該コントロールサンプルと比較した場合の工程 (a) における該核酸のレベルの変更が疾患状態を示す、方法。

【請求項 2 6】 哺乳動物における病理学的状態を処置する方法であって、該方法は、被験体に、病理学的状態を軽減する量のポリペプチドを投与する工程を包含し、ここで該ポリペプチドが、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、75、77、79、および 81 のアミノ酸配列を有するポリペプチドに対して少なくとも 95% 同一なアミノ酸配列を有するポリペプチド、またはその生物学的に活性なフラグメントである、方法。

【請求項 2 7】 哺乳動物における病理学的状態を処置する方法であって、該方法は、被験体に、病理学的状態を軽減するに十分な量の請求項 1 3 に記載の抗体を投与する工程を包含する、方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****(発明の分野)**

本発明は、ポリヌクレオチドおよびそのようなポリヌクレオチドがコードする分泌もしくは膜結合型ポリペプチド、ならびにそのポリペプチドおよびポリヌクレオチドを産生するためのベクター、宿主細胞、抗体および組換え方法に関する。

【0002】**(発明の背景)**

真核生物細胞は、膜によって複数の機能的の異なる区画に細分され、これらは、オルガネラと呼ばれている。各オルガネラは、その適切な機能について必須であるタンパク質を含む。これらのタンパク質は、しばしばソーティングシグナルと呼ばれる配列モチーフを含み得る。このソーティングシグナルは、適切な細胞オルガネラに対してそのタンパク質を標的化することを補助し得る。さらに、ソーティングシグナルは、いくつかのタンパク質が細胞外に搬出または分泌されることを指向する。

【0003】

1つのタイプのソーティング配列は、シグナル配列(シグナルペプチドまたはリーダー配列とも呼ばれている)である。このシグナル配列は、アミノ末端拡張を、新たに合成されるポリペプチド鎖A上にシグナル配列として存在し、小胞体(ER)と呼ばれる細胞内オルガネラへタンパク質を標的化する。

【0004】

シグナルペプチドは、一連のタンパク質同士またはタンパク質-脂質の相互作用に関与し、これは、シグナル配列を含むポリペプチドを、ERにおけるチャンネルを介して転位させる。転位後、膜結合型酵素(シグナルペプチダーゼ)は、成熟タンパク質をシグナル配列から遊離させる。

【0005】

ERは、膜結合型タンパク質と分泌型タンパク質とを、細胞質に残るタンパク質から分離するように機能する。一旦ERに標的化されると、分泌型および膜結

合型の両方のタンパク質は、ゴルジ装置と呼ばれる別の細胞オルガネラへとさらに再分配され得る。そのゴルジは、ベシクル、リソソーム、原形質膜、ミトコンドリア、および他の細胞オルガネラに対してタンパク質を指向させる。

【0006】

ヒト膜結合型および分泌型のタンパク質をコードする限定された数の遺伝子のみが同定されている。公知の分泌型タンパク質の例としては、インスリン、インターフェロン、インターロイキン、トランスフォーミング増殖因子、ヒト成長ホルモン、エリスロポエチン、リンホカインが挙げられる。さらなる新規ヒト分泌型タンパク質およびそれらをコードする遺伝子を同定および特徴づけることについての必要性が存在する。

【0007】

(発明の要旨)

本発明は、部分的に、新規ヒトポリペプチド配列およびそれらの配列によってコードされる膜結合型または分泌型ポリペプチドの発見に基づく。本発明のポリペプチドは、ケモカインレセプター様タンパク質(クローン2777610)、セマフォリン(semaphorin)タンパク質様スプライス改変体(アセンブルクローン2864933-1および2864933-2、およびpCEP4/Sec-2864933ベクターおよびcDNAクローンpCR2.1-2864933)、推定ミトコンドリアタンパク質(クローン2982339)、SLITタンパク質様スプライス改変体(アセンブルクローン3352358-1および3352358-2ならびにcDNAクローン3352358-S153A)、推定ミクロボディ(ペルオキシソーム)関連タンパク質(クローン3884846、3884846-1および3884846-2)、テトラスパニン様タンパク質(クローン3911675および3911675-2)、推定プロリンリッチ膜タンパク質(クローン4004056および4004056.0.143u)、ラミニン(3-鎖前駆体様タンパク質(クローン4004731-1)、AVENAタンパク質様スプライス改変体(クローン4009334-1および4009334-2)、胎児性肺関連タンパク質(クローン4035508)ならびに骨髄情報調節タンパク質(クローン4339264)を包含する。こ

これらのポリヌクレオチドおよびそれによってコードされるポリペプチドは、SECX遺伝子セットと総称して呼ばれる。その配列は、配列番号1から32に開示される。

【0008】

1つの局面において、本発明は、単離されたSECX核酸分子を含む。これは、以下の1つ以上のアミノ酸配列を含む、ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を包含する：配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、75、77、79 および81。例えば、種々の実施形態において、その核酸は以下の配列を含むヌクレオチドを包含し得る：配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、74、76、78および80。あるいは、コードされたSECXポリペプチドは、改変体アミノ酸配列を有し得る。例えば、本明細書に開示されるような、開示されるアミノ酸配列と100%未満の同一性または類似性を有する。

【0009】

本発明はまた、以下の1つ以上のアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドを包含する：配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46または48、あるいはこれらのアミノ酸配列の少なくとも15アミノ酸を有するフラグメント。包含されるのはまた、SECXポリペプチドの天然に存在するポリペプチドである。ここで、そのポリペプチドは、SECX核酸分子からなる核酸分子に対してストリンジントな条件下でハイブリダイズする核酸分子によってコードされる。

【0010】

本発明に含まれるのはまた、SECXポリペプチドに選択的に結合する抗体である。

【0011】

本発明はさらに、SECX核酸分子が発言されるような条件下で、本明細書において記載されるSECX核酸の1つを発現する宿主細胞を培養することによ

て、SECXポリペプチドを産生するための方法を包含する。

【0012】

本発明はまた、SECXポリペプチドまたは核酸の存在を、哺乳動物（例えば、ヒト）からのサンプル中で検出するための方法を包含する。この方法は、その哺乳動物に由来するサンプルを、本明細書に記載されるポリペプチドの1つを選択的に結合する抗体と接触させる工程、およびそのサンプル中でその抗体およびそのポリペプチドを含む反応複合体を検出する工程による。そのサンプル中の複合体の形成は、そのサンプル中のポリペプチドの存在を示唆する。

【0013】

本発明はさらに、疾患（例えば、サンプル中にSECXポリペプチドに対して少なくとも80%のアミノ酸配列同一性を有するポリペプチドの変更されたレベルに関連する病理的状态）の存在を検出または診断するための方法を包含する。この方法は、その哺乳動物被検体（例えば、ヒト）からの生物学的サンプル中にそのポリペプチドを測定する工程、および正常被検体中に、もしくは異なる時間（例えば、状態の発症前）での同じ被検体中に存在するそのポリペプチドのレベルに対して検出されたレベルを比較する工程を包含する。正常レベルに比較してそのポリペプチドのレベルにおける増加または減少は、疾患状態を示す。

【0014】

本発明に含まれるのはまた、哺乳動物（例えば、ヒト）からのサンプル中でSECX核酸分子の存在を検出する方法である。この方法は、そのサンプルを、その核酸分子に選択的にハイブリダイズする核酸プローブまたはプライマーと接触させる工程、およびその核酸プローブまたはプライマーがそのサンプル中の核酸分子と結合するか否かを決定する工程を包含する。その核酸プローブまたはプライマーの結合は、その核酸分子がそのサンプルに存在することを示す。

【0015】

本発明はさらに、哺乳動物（例えば、ヒト）に由来するサンプル中にSECX核酸の変更したレベルに関連する疾患の存在を検出または診断するための方法を包含する。この方法は、その哺乳動物被検体からの生物学的サンプル中の核酸のレベルを測定する工程、および検出されたレベルを、正常被検体中または異なる

ときでの同じ被検体中に存在するその核酸のレベルにおいて検出されるレベルとを比較する工程を包含する。正常レベルと比較してのその核酸のレベルにおける増加または減少は、疾患状態を示す。

【0016】

本発明はまた、哺乳動物（例えば、ヒト）における病理的状态を処置する方法を包含する。この方法は、その被検体に、SECXポリペプチドを、その被検体にとってその病理的状态を軽減するに十分な量で投与する工程による。このポリペプチドは、SECXポリペプチドと少なくとも80%同一のアミノ酸配列を有する。

【0017】

あるいは、その哺乳動物は、本明細書において記載される抗体を、その病理状態を軽減するに十分な量で投与する工程によって処置され得る。

【0018】

本発明の処置の方法が意図する病理的状态としては、以下が挙げられる：癌、免疫不全、自己免疫疾患、後天性免疫不全症候群、移植拒絶、アレルギー、病原生物または因子による感染、炎症障害、関節炎、造血障害、皮膚障害、動脈硬化、再狭窄、神経学的疾患、アルツハイマー病、外科的または外傷的な創傷、脊髄損傷、および骨格障害。

【0019】

他に規定しない限り、本明細書において使用されるすべての技術および科学の用語は、本発明が属する技術の当業者によって通常理解されるのと同様の意味を有する。本明細書において記載されるものと類似または等価である方法および材料が本発明の実施または試験において使用され得るが、適切な方法および材料を以下に記載する。本明細書において言及されるすべての刊行物、特許出願、および他の参考文献は、その全体が本明細書において参考として援用される。相反する場合、本明細書（定義を含む）が支配する。さらに、材料、方法、および実施例は、例示のみであり、そして限定を意図しない。

【0020】

本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲から

明白である。

【0021】

(発明の詳細な説明)

本発明は、一部、新規ポリヌクレオチド配列およびこれらの配列にコードされる膜結合型ポリペプチドまたは分泌型ポリペプチドの発見に基づく。本発明のヌクレオチドによってコードされるポリペプチドとしては以下が挙げられる：クローン2777610（ケモカインレセプター様タンパク質、配列番号1-2）；アセンブルクローン2864933-1および2864933-2ならびに pCEP4/Sec-2864933ベクターおよびcDNAクローンpCR2.1-2864933（セマフォリンタンパク質様スプライス改変体、配列番号3-6、29-30）；クローン2982339（推定ミトコンドリアタンパク質、配列番号7-8）、アセンブルクローン3352358-1および3352358-2ならびにcDNAクローン3352358-S153A（SLITタンパク質様スプライス改変体、配列番号9-12、31-32）；クローン3884846、3884846-1および3884846-2（推定ミクロボディノペルオキシソーム関連タンパク質スプライス改変体、配列番号13-14および74-77）、クローン3911675および3911675-2（テトラスパニン（tetraspanin）様タンパク質スプライス改変体、配列番号15-16および78-79）；クローン4004056および4004056.0.143u（推定プロリンリッチ膜タンパク質 スプライス改変体、配列番号17-18および80-81）；クローン4004731-1（ラミニン鎖前駆体様タンパク質、配列番号19-20）；クローン4009334-1および4009334-2（AVENAタンパク質様スプライス改変体、配列番号21-24）；クローン4035508（新規胎児肺関連タンパク質、配列番号25-26）；ならびにクローン4339264（骨髄性上方制御タンパク質、配列番号27-28）。これらの遺伝子は、総称してSECX遺伝子セットと呼ばれる。ポリヌクレオチドおよびポリペプチドは表1に示される。表1は、本発明の各ヌクレオチドおよびアミノ酸の配列についての配列番号、ならびに本明細書に記載される種々の局面および実施形態において使用された本発明のクローンに特異的

なプライマーについての配列番号を列挙する。

【0022】

【表1】

表1. 配列および対応する配列番号

クローンまたはプライマーの番号	図	核酸配列番号	タンパク質配列番号
2777610	1	1	2
2864933-1	2	3	4
2864933-2	3	5	6
2982339	4	7	8
3352358-1	5	9	10
3352358-2	6	11	12
3884846	7A	13	14
3884846-1	7B	74	75
3884846-2	7C	76	77
3911675	8A	15	16
3911675-2	8B	78	79
4004056	9A	17	18
4004056. O. 143u	9B	80	81
4004731-1	10	19	20
4009334-1	11	21	22
4009334-2	12	23	24
4035508	13	25	26
4339264	14	27	28
pCR2. 1-2864933	15	29	30
3352358-S153A	17A、17B	31	32
2864933 MatF		33	

(表1の続き)

2864933 F-TOPO-Reverse	34	
2864933-Seq-0	35	
2864933-Seq-1	36	
2864933-Seq-2	37	
2864933-Seq-3	38	
2864933-Seq-4	39	
2864933-Seq-5	40	
2864933-Seq-6	41	
pSec-V5-His Forward	42	
pSec-VS-His Reverse	43	
3352358CForward	44	
3352358CReverse	45	
3352358 Seq-1	46	
3352358 Seq-2	47	
3352358 Seq-3	48	
3352358 Seq-4	49	
Ag11(F)	50	
Ag11(R)	51	
Ag11(P)	52	
Ag88(F)	53	
Ag88(R)	54	
Ag88(P)	55	
Ag291 (F)	56	
Ag291 (R)	57	

(表1の続き)

Ag291(P)		58	
Ag341(F)		59	
Ag341(R)		60	
Ag341(P)		61	
Ag42(F)		62	
Ag42(R)		63	
Ag42(P)		64	
Ag15(F)		65	
Ag15(R)		66	
Ag15(P)		67	
Ag18(F)		68	
Ag18(R)		69	
Ag18(P)		70	
Ag120(F)		71	
Ag120(R)		72	
Ag120(P)		73	

(1. クローン2777610)

クローン2777610は、1812bpの核酸配列(配列番号I)であり、これは、もともと骨髄を含む骨組織から同定された。全長クローン(図1)を、骨組織に発現された配列からさらにアセンブルした。333アミノ酸残基を有するポリペプチド(配列番号2)をコードするオープンリーディングフレーム(「ORF」)がヌクレオチド537-1535(図1)に見出された。このヌクレオチド配列は、Kozak配列を含む。終止コドンTGAがヌクレオチド1536-1538に見出される。PSORT分析の結果は、そのタンパク質が原形質膜に局在することを0.6000の確からしさで推定する。SignalPプログラムは、シグナル配列が、存在し、おそらく残基44と残基45との間でおそらく切断することを推定する。これは、アミノ酸TLA-LW(すなわち、Th

rLeuAla-LeuTrp)の間でダッシュ線で表される。

【0023】

クローン2777610のタンパク質は、ヒト7回膜貫通レセプタータンパク質HNEAA81(欧州特許番号913471-A2)に対して333残基のうち332残基(99%)が同一および陽性の両方である。本明細書において「同一」である残基は、2つの配列の間の比較において、2つの配列のアラインメントにおいて等価のヌクレオチド塩基またはアミノ酸の残基が、同じ残基であるような残基に対応する。アラインメントにおける2つの配列の間の比較が、比較される等価な位置における残基が以下に規定されるような同じアミノ酸または保存的アミノ酸のいずれかであることを示すとき残基は「陽性」である。クローン2777610はまた、333残基のうち328残基が(98%)、ケモカインレセプター様タンパク質(PCT公開WO9839441-A1)と同一および陽性の両方であることが見出された。より弱い類似性もまた、338残基のヒト推定Gタンパク質共役レセプターKIAA0001(GenBank登録番号Q15391)について検出された。

【0024】

Gタンパク質共役レセプター(GPCR)スーパーファミリーのメンバーは、7回膜貫通ドメインを含み、ヘテロ三量体G蛋白質を通じて細胞外シグナルを伝達する。Gタンパク質共役レセプター(GPCR)は、内在型膜タンパク質であり、これは、外部刺激に対する細胞応答の調節におけるその中心的な役割に起因して非常に薬理的に重要である。例えば、Marchesら、1999 Trends Pharmacol Sci 20(9):370-5;およびRozengurt 1998 J Cell Physiol 177(4):507-17を参照のこと。

【0025】

GPCRレセプターは、選択された神経伝達物質およびペプチドホルモンに特異的に結合し、そして種々のシグナルの認識およびGタンパク質媒介性伝達の基礎をなすようである。リガンド結合したGPCRによって活性化されるこれらのシグナルは、種々の正常および異常なプロセスに相関付けられており、これには

、発生、炎症、および悪性形質転換（マトリクス滲出、運動性、化学遊走性、接着、増殖および生存のシグナル伝達）を含む。これらのシグナル伝達ペプチドは、細胞プロセスに対するその特徴的効果を、その標的細胞表面上の特定のGPCRに結合することによって発揮する。代表的には、神経ペプチドのその同族GPCRへの結合は、複数のシグナル伝達経路の活性化する。この経路は、相乗的かたう組合せの様式で作用して、核への有糸分裂シグナルを連繫し、そして細胞増殖を促進する。引き続いてのタンパク質リン酸化カスケードの活性化を伴う、脂質に由来する第二のメッセンジャーにおける迅速な増加は、神経ペプチドに対する重要な早期の応答である。シグナル伝達において出現するテーマは、これらのアゴニストがまた、細胞タンパク質の迅速かつ協調的なチロシン（非レセプターチロシンキナーゼp125fakおよびアダプタータンパク質p130casならびにパラキシリンを含む）リン酸化を誘導する。このチロシンリン酸化経路は、アクチン骨格の統合性に依存し、そして機能的Rhoを必要とする。

【0026】

クローン2777610タンパク質は、ケモカインレセプター様特性を有する7回膜貫通レセプタータンパク質である。クローン2777610は、Gタンパク質共役レセプター（GPCR）であり、これは、おそらくアミノ酪酸レセプターであり、P2Y様GPCRのクラスである。それ自体、クローン2777610は、Gタンパク質共役レセプター代謝に関連する病理および障害（例えば、細菌疾患；喘息；真菌疾患；ウイルス疾患；HIV-1；HIV-2；ガン；食欲不振；パーキンソン病；高血圧；骨粗鬆症；心筋梗塞；そううつ病；精神分裂病；ジル・ド・ラ・ツレット症候群；炎症性障害；およびウイルス感染）に有用である。

【0027】

他のGPCRの役割、および2777610のリンパ組織（例えば、脾臓、骨髄、リンパ節（実施例6を参照のこと）における高発現に基づいて、本発明者らは、2777610による膜貫通シグナル伝達を阻害する低分子、または2777610とリガンドとの相互作用を遮断するように設計されたモノクローナル抗体での、2777610の首尾よい治療標的化が、リンパ増殖障害（骨髄腫、骨

髓性白血病、非ホジキンリンパ腫など)または自己免疫疾患(SLEなど)またはその両方を調節するにおいて有用性を有し得ることを予期する。同様に、成体ヒト脳全体、海馬、黒質および脊髄における2777610の高発現に関して、2777610シグナル伝達の、上記のアプローチを用いた調節は、運動機能に影響を与える特定の神経変性障害を調節する臨床的有用性を有する。

【0028】

(2. クローン2864933-1)

クローン2864933-1は、核酸配列(配列番号3)を含み、これは、3498ヌクレオチド(図2)を含む。このクローンは、クローン2864933-2(下)に、以下の点を除いて類似する: 2864933-1が1942位~2106位に164ヌクレオチドのインサートを有すること。このクローンを生じる遺伝子フラグメントは、主に心臓組織において見出された。この遺伝子に含まれるフラグメントもまた、リンパ節、脾臓、視床、脳、唾液腺および副腎において見出された。クローン2864933-1は、Kozak配列、開始コドンヌクレオチド214から216に、TAA終止コドンヌクレオチド3031~3033を含む。214と3030との間のヌクレオチド残基は、939アミノ酸残基(図2)のタンパク質(配列番号4)をコードするORFを規定する。2864933-1の推定成熟細胞外ドメインに対応するフラグメントの分子クローニングおよび発現を、実施例2および3に与える。PSORTプログラムは、2864933-1タンパク質は、0.4600の確からしさで原形質膜に局在することを予測する。このタンパク質は、I型膜貫通タンパク質であり、ここで、その推定膜貫通ドメイン配列番号4の残基645-661の間であると予測される。SignalPプログラミングは、そのタンパク質が残基18と19との間にシグナルペプチド切断部位を有し、これは、アミノ酸AGA-GF(すなわち、AlaGlyAla-GlyPhe)の間のダッシュで表される。

【0029】

2864933-1タンパク質は、マウスセマフォリンポリペプチドと、94%同一、そして97%類似であり、888アミノ酸残基を共有する(GenBank登録番号AAB86408)。さらに、ヒトセマフォリンIII(GenB

ank登録番号AAA65938)に対して35%同一性および53%類似性を示す。これらの理由のために、2864933-1ポリペプチドは、サイトカイン様増殖因子と考えられる。

【0030】

セマフォリン(または、コラプシンともいわれる)ファミリーの分子は、神経発生の中の神経増殖の方向付けにおいて重要な役割を果たす。このファミリーは、アミノ末端における保存的セマフォリンドメインの存在によって特徴付けられる。ヒトセマフォリンA(V)の変異分析は、40の肺癌中3件の変異(Iの場合における生殖系列)を明らかにした。セマフォリンEは、ヒト癌(卵巣癌を含む)における非MDR薬物耐性を担っており、そしてCDDP耐性細胞株において過剰発現されており、そして多様な化学療法薬物によってならびにX線およびUV照射によって誘導される。Yamadaら、1997 Proc. Nat. Acad. Sci. 94:14713-14718。ヒトセマフォリンE mRNAは、慢性関節リウマチ患者の滑膜線維芽細胞において上方制御される。Mangasser-Stephanら、1997 Biochem. Biophys. Res. Commun. 234:153-156。ヒトニューロピリン(neuropilin)-1(神経細胞方向付けを場気合するコラプシン/セマフォリンファミリーに対するレセプター)は、血管内皮増殖因子についてのアイソフォーム特異的レセプターとして内皮細胞および腫瘍細胞によって発現され、そしてVEGF誘導された血管新生を調節すると考えられる。Sokerら、1998 Cell 92:735-745を参照のこと。

【0031】

セマフォリン(セマフォリンレセプターのプレキシンファミリー)および散乱(scatter)因子レセプターは、進化的に保存されているタンパク質モジュール(例えば、セマフォリンドメインおよびMet関連配列(MRS))を共有する。Artigianiら、1999、IUBMB Life 48(5):477-82。これらのタンパク質は、細胞に方向付けを与える鍵を媒介する共通の役割を有する。発生の間、散乱因子レセプターは、細胞移動、上皮管形成、および神経突起拡張を制御する。セマフォリンおよびそのレセプターは、軸索

の方向付けについての公知のシグナルである。これらはまた、細胞移動および形態形成を含む発生プロセスを制御すると考えられ、そして免疫機能および腫瘍進行と相関付けられる。散乱因子および分泌されたセマフォリンは、分散性のリガンドであるが、膜結合型セマフォリンは細胞同士の相互作用によってシグナル伝達をする。セマフォリンによる細胞の方向付けは、単独またはニューロフィリンとのレセプター複合体でのプレキシンを必要とする。セマフォリンは、軸索方向付けにおけるそれらの役割の他に、プレキシンレセプターを通じた細胞忌避の鍵を媒介することによる、形態形成および組織再モデリングにおいて多重機能を有する。

【0032】

2864933タンパク質の腫瘍形成における可能な役割は、化学耐性の発生、放射性治療体制、栄養因子に制限された二次組織部位の微小環境における生存、VEGF誘導された血管形成を増強することへの可能な関与。

【0033】

本明細書においてまとめられるセマフォリンの報告される役割に基づいて、2864933の首尾よい治療的標的化および/またはそのスプライス改変体が顕著な抗腫瘍活性を、確立された細胞傷害性/遺伝的毒性治療(すなわち、化学的感作、放射性感作)との組み合わせで生じることが予想されている。さらに、セマフォリンは、軸索成長および紙型細胞移動における役割を果たす。この点に関して、2864933-1および/または2864933-2の首尾よい治療的標的化もまた、転移の散在(腫瘍負荷)の程度を限定し得、そして潜在的には、腫瘍血管新生を制限し得る。2864933およびそのスプライス改変体の治療的標的化もまた、2864933-1または2864933-2が同族リガンドと相互作用し、そして膜貫通シグナルを惹起する能力をブロックするヒトまたはヒト化モノクローナル抗体の生成によって提供される。同様に、低分子の生成(合成、細胞透過性ペプチドなど)であって、リガンドに結合した2864933-1および/または2864933-2によって活性化される経路における下流のシグナル伝達成分の1つ以上を特異的に阻害するものは、上記の顕著な抗腫瘍活性を有すると予測される。同様に、アンチセンス構築物(裸のDNA, アデノ

ウイルス構築物)、リボザイムを導入して2864933-1および/または2864933-2の発現を阻害することは、上記の顕著な抗腫瘍活性を有すると予測される。

【0034】

実施例7ならびに図19A、19Bおよび19Cに示される2864933-1および2864933-2の転写物の発現プロファイルに基づいて、2864933-1および2864933-2を標的化するための治療適応としては以下が挙げられる：腎臓細胞癌腫、小細胞肺癌、小細胞肺癌の大細胞改変体、乳腺癌、および悪性黒色腫。クローン2864933-1および2864933-2は、発生機能不全(特に、神経系)に関連する病理を診断および/または処置することにおいて、ならびにCNS病理(例えば、アルツハイマー病およびパーキンソン病)の処置において有用である。

【0035】

(3. クローン2864933-2)

クローン2864933-2は、ヌクレオチド(図3)の核酸配列(配列番号5)を有する。このクローンは、以下の点を除いてクローン2864933-1(上;図2)で類似する：2864933-1は、1942位-2106位において164ヌクレオチドのインサートを有する(クローン2864933-1についての配列番号3の番号付けに従う)。この相違は、RNAスプライス改変体であるようである。このクローン2864933-2を生じる遺伝子フラグメントは、主に、心臓組織において見出される。この遺伝子から転写される配列もまた、リンパ節、膵臓、視床、脳、唾液腺および副腎において見出される。クローン2864933-1は、Kozak配列、ヌクレオチド214~216の開始コドン、およびヌクレオチド2866~2868でのTAA終止コドンを含む。従って、214と2865との間のヌクレオチドは、884アミノ酸残基(図3)のタンパク質(配列番号6)をコードするORFを規定する。PSORTプログラムは、2864933-1タンパク質が原形質膜に、0.4600の確からしさで局在することを予測する。SignalPプログラムは、プログラムは、そのタンパク質が、残基18と19との間にシグナル切断部位をおそらく有する

ようであることを予測する。これは、アミノ酸AGA - GF (すなわち、Ala GlyAla - GlyPhe) の間のダッシュによって表される。

【0036】

2864933 - 2タンパク質は、888アミノ酸残基 (GenBank登録番号AAB86408) を有するマウスセマフォリンに95%同一、および97%類似する。さらに、これは、ヒトセマフォリンIII (GenBank登録番号AAA65938) に対して、38%の同一性、および55%の類似性を示す。

【0037】

2864933 - 2タンパク質はまた、CJ145 - 1と称するクローン (PCT公開W09827205 - A2) からの974残基のヒト分泌タンパク質に対して、877残基中869残基 (99%) の同一性、および877残基中871残基 (99%) の陽性を有することが見出された。2864933 - 2配列は、ヒト胎児脳 cDNA ライブラリーから単離された。そしてこれは、サイズおよび配列の両方においてクローンCJ145 - 1とは異なる新規分泌型タンパク質である。クローン2864933 - 2は、サイトカインおよび細胞増殖/分化の活性、免疫刺激もしくは抑制活性、造血調節活性、組織増殖活性、アクチビン/インヒビン活性、化学遊走性/化学運動性活性、造血および血栓活性活性、レセプター/リガンド活性、抗炎症活性、カドヘリン/腫瘍侵入抑制活性、腫瘍抑制活性および他の活性のために有用である。クローン2864933 - 2はまた、発生機能不全、特に神経系に関連する病理を診断および/または処置するにおいて、ならびにCNS病理 (例えば、アルツハイマー病およびパーキンソン病) の処置において有用である。

【0038】

(4. クローン2982339)

クローン2982339 は、856ヌクレオチド (図4) の配列 (配列番号7) を有する。これは、Kozak配列、138位~140位の開始コドン、および726位~728位のTGA終止コドンを含む。残基138~725の間のこの配列は、196アミノ酸残基 (図4) のタンパク質 (配列番号8) をコード

するオープンリーディングフレームを規定する。このクローンは、胎児脳に由来し、そして胎児胸腺および胎盤から65の配列を用いてアセンブルされた。このクローンについてのフラグメントはまた、ヒト胎盤、胸腺、甲状腺、および骨肉腫を含む骨において見出される。PSORTは、2982339タンパク質がミトコンドリアマトリクス空間に0.7077の確からしさで局在することを予測する。SignalPは、タンパク質は、公知のN末端シグナル配列を有しないかもしれないことを示唆する。

【0039】

2982339タンパク質は、アプロチニンアナログ前駆体(GenBank登録番号AAB54954およびAAB54956)である109残基の人工配列と、54残基中16残基(29%)の同一性、そして54残基中24残基(44%)陽性を有する。アプロチニンは、膵臓トリプシンインヒビター前駆体または塩基性プロターゼインヒビターとしても知られ、多くの組織において見出される細胞内ポリペプチドである。これは、トリプシン、カリクレイン、キモトリプシン、およびプラスミンの公知のインヒビターである。GenBank登録番号P00974; CreightonおよびCharles, 1987 J. Mol. Biol. 194(1): 11-22。

【0040】

(5. クローン3352358-1)

クローン3352358-1は、2341ヌクレオチド配列(配列番号9)(図5)を含む。これは、ヌクレオチド215-217での開始コドン、およびヌクレオチド2174-2176でのTAA終止コドンを伴う。残基215から2173の間の配列は、653残基(図5)のタンパク質(配列番号10)をコードするORFを規定する。このクローンは、胎児肝臓に起源を有するポリヌクレオチドフラグメントによって同定された。発現される配列はまた、以下に見出される: 胎児肝臓を含む肝臓、胎児腎臓を含む腎臓、および視床。PSORTプログラムは、3352358-1タンパク質が0.46の確からしさで原形質膜に局在することを予測する。SignalPプログラムは、このタンパク質がシグナルペプチドを有することを予測する。もっともありそうな切断部位は、残基3

8と39との間にあり、これは、アミノ酸AAA-AS（すなわち、AlaAlaAla-AlaSer）の間のダッシュにより表され、または、残基41と42との間にあり、これはアミノ酸ASA-GP（すなわち、AlaSerAla-GlyPro）の間に表される。タンパク質は、残基522と551との間に存在する膜貫通ドメインを有するI型膜貫通タンパク質であると予測される。

【0041】

3352358-1タンパク質は、1534残基（GenBank登録番号BAA35184）のタンパク質である、ヒトslit-Iタンパク質に対してその残基の35%が同一であり、そしてその残基の48%が類似している。3352358-1タンパク質はまた、1523残基（GenBank登録番号BAA35186）のタンパク質であるヒトslit-3タンパク質に対して、39%同一であり、そして46%類似する；そして1521残基（GenBank登録番号AAD04309）を有するヒト神経原性細胞外slitタンパク質であるslit-2に対して、40%同一であり、そして48%類似している。3352358-1タンパク質は、仮説的な45.1kDaタンパク質（GenBank登録番号CAB70473）に対して全体として53%の同一性を有する。

【0042】

slit遺伝子は、無脊椎動物および脊椎動物において軸索に対して保存された化学忌避性を有するタンパク質をコードする。Chenら、2000、Neuroscience 96:231-236；Yuanら、1999 Dev Biol 212:290-306。例えば、SlitのRoundabout（細胞表面に発現される）への結合は、神経原性方向付け活性へと相関づけられている。従って、Slitタンパク質は、胚の複数の領域において軸索突起形成を指向し得る。

【0043】

同様に、クローン3352358-1は、神経発達に関連する病理およびCNS病理（例えば、アルツハイマー病およびパーキンソン病）における診断および治療上の有用性を有する。

【0044】

3352358-1の推定成熟細胞外ドメインの分子クローニングおよび発現は、実施例4および5に記載される。このクローニングされたフラグメントは、ヒト精巣および胎児脳から得られたcDNAサンプルに由来した。得られたクローンは、クローン3352358-S153Aと称し、図5に示されるものから配列が異なる。それぞれの3352358-S153Aヌクレオチド配列は、図17A(配列番号31)に開示され、そしてポリペプチド配列は、図17B(配列番号32)に開示されている。3352358-1クローンcDNAと3352358-S153A cDNAとの間の配列相違についての1つの理由は、おそらく、cDNAの組織または器官の供給源である。相であれば、このフェーディングは、タンパク質の対立遺伝子変体(アイソフォームとしても知られる)(例えば、開示された3352358-1 split様タンパク質)についての組織特異的または器官特異的な基礎を表す。従って、3352358-1クローンおよび3352358-S153Aクローンは、これらの対立遺伝子変体またはスプライス変体を発現するそれらの組織または細胞型を同定するにおいて有用性を有する。

【0045】

3352358配列は、MEGF(多重上皮増殖因子様ドメイン)/Splitファミリーおよびroundaboutに関連する。上皮増殖因子を特徴づけるドメインは、3つのジスルフィド結合を伴う約50アミノ酸からなる。EGF様ドメインは、以下を含む多数の細胞外事象において重要な役割を果たすと考えられる:細胞接着およびレセプター-リガンド相互作用。EGF様ドメインを有するタンパク質は、しばしば、1,000を超えるアミノ酸からなり、EGF様ドメインを複数コピー有し、そして特定のタンパク質同士の相互作用に参与することが知られるさらなるドメインを含む。

【0046】

このファミリーの重要なメンバーとしては、以下が挙げられる:腫瘍抑制剤(Drosophila、2;fat2のホモログ)。Drosophila fat遺伝子は、腫瘍抑制剤であって、その産物は、接触依存性の様式で成虫円盤(disc)において細胞増殖および形態形成を制御する。335

2358の別の関連物は、Slit1 (MEGF4としても知られる)であり、これは、神経系および内分泌系の形成および維持に關与する。3362358の別の関連物は、roundaboutであり、これは、CNS中線の軸索交叉を制御し、そして進化的に保存されている方向付けレセプターの新規サブファミリーを規定するDrosophila遺伝子である。Kiddら、1998 Cell 92:205-215; Nakayamaら、1998 Genomics 51:27-34。

【0047】

腫瘍形成における3352358の可能な役割としては、化学耐性、放射治療耐性、二次組織部位の微小環境へと限定された栄養性因子における生存、血管新生への可能な關与が挙げられる。

【0048】

本明細書において記載されるMEGF/SLIT/Roundaboutの報告されている役割に基づいて、3352358および/またはそのスプライス改変体の首尾良い治療標的化は、確立された細胞傷害性/遺伝子傷害性治療(すなわち、化学感作、放射性感作)との組合せでの有意な抗腫瘍活性を生じる。さらに、セマフォリンは、軸索突起成長および神経原性細胞移動における役割を果たす。この点に関して、3352358の首尾良い治療上の標的化はまた、転移散在(腫瘍負荷)の程度(頻度)を限定し得、そして潜在的に腫瘍血管新生を制限し得る。3352358およびそのスプライス改変体の治療的標的化は、3352358が同族リガンドと相互作用する能力を遮断するか、または膜貫通シグナルを惹起する、ヒトまたはヒト化されたモノクローナル抗体の生成によって提供される。同様に、低分子の生成(合成、細胞透過性ペプチドなど)であって、リガンドに結合した3352358によって活性化される経路における下流のシグナル伝達成分の1つ以上を特異的に阻害するものは、上記の顕著な抗腫瘍活性を有すると予測される。同様に、アンチセンス構築物(裸のDNA, アデノウイルス構築物)、リボザイムを導入して3352358の発現を阻害することは、上記の顕著な抗腫瘍活性を有すると予測される。

【0049】

実施例8および図20に示される3352358の転写物の発現プロファイルに基づいて、3352358を標的化するための治療適応としては以下が挙げられる：選択された肝臓腫/肝臓細胞癌腫および腎臓細胞癌腫。

【0050】

(6. クローン3352358-2)

2607ヌクレオチド(配列番号11)のクローン3352358-2は、Kozak配列、ヌクレオチド215-217の開始コドン、およびヌクレオチド1985-1987のTAA終止コドンを含む(図6)。残基215-1984の間のこの配列は、590残基(図6)のタンパク質(配列番号12)のORFを規定する。PSORTプログラムは、3352358-2タンパク質が原形質膜に局在することを予測する。SignalPプログラミングは、そのタンパク質が、おそらく残基38と39との間にシグナルペプチド切断部位を有することを予測し、これは、アミノ酸AAA-AS(すなわち、AlaAlaAla-AlaSer)の間のダッシュで表される。このクローンは、成体および胎児の肝臓を含むヒト肝臓に起源を有する。この遺伝子から転写された配列は、胎児肝臓を含む肝臓、骨髄を含む骨、脳、および下垂体腺において見出される。

【0051】

類似性検索は、3352358-2タンパク質が、1534残基を有するHtslit-1タンパク質(GenBank登録番号BAA35184)と、35%同一、そして48%類似であることを示す。このslit遺伝子は、無脊椎動物および脊椎動物の両方からの軸索に影響を与える保存された化学忌避性活性を伴うタンパク質をコードする。Chenら、2000、Neuroscience 96(1):231-236; Yuanら、1999 Dev Biol 212(2):290-306。細胞表面に発現されたRoundaboutタンパク質に対するSlitの結合は、この神経方向付け活性に相関づけられる。従って、Slitタンパク質は、発生胚の多数の領域において軸索突起成長を指向する。

【0052】

クローン3352358-2は、神経発生に関連する病理およびCNS病理(

例えば、アルツハイマー病およびパーキンソン病)における診断および治療上の有用性を有する。

【0053】

(7. クローン3884846)

クローン3884846は1340ヌクレオチド(図7A)のポリヌクレオチドを含み、これはKozak配列、ヌクレオチド421-423での開始コドン、およびヌクレオチド1288-1290でのTAG終止コドンを有する。残基421から1287の間のこの配列は、289アミノ酸残基(図7A)のタンパク質をコードするORFを規定する。この遺伝子から転写された配列は、下垂体腺、精巣、胎児腎臓を含む腎臓、胎児脳を含む脳、下垂体腺、胎盤、膵臓、精巣、脾臓、胎児腎臓を含む腎臓、胎児肝臓、骨格筋、心臓、OVCA R-3細胞および肺において見出される。PSORTプログラムは、3884846タンパク質が0.7480の確からしさでミクロボディ(ペルオキシソーム)に局在することを予測する。そのタンパク質においては公知のシグナルペプチドはないようである。

【0054】

クローン3884846-1は、ヌクレオチド配列(配列番号74)の始まりに開始コドンを有しない。従って、開示されたクローンは、不完全なORFを表すと考えられる。シメされた配列の上流に開始コドンが見出され、その結果、cDNA配列は、さらに、図7Bに示されたものよりも5'側にさらに伸びると推測される。TGAの終止コドンは、ヌクレオチド979-981に局在する。残基1と残基978との間の3884846-1ヌクレオチド配列は、326アミノ酸残基(図7B)のタンパク質配列(配列番号75)をコードするORFを規定する。

【0055】

全長クローン3884846-2は、図7Cに示される核酸配列(配列番号76)を含む。クローン3884846-2は、ヌクレオチド299-301に開始コドン、およびヌクレオチド983-985にTGA終止コドンを含む。残基299-982の間のこの配列は、228アミノ酸残基(図7C)のタンパク質

(配列番号77)をコードするORFを規定する。

【0056】

(8.クローン3911675)

クローン3911675は、1428ヌクレオチド(図8A)のポリヌクレオチド(配列番号15)である。of 1428ヌクレオチド(図8A) .ヌクレオチド配列は、Kozak配列、96-98位の開始コドン、およびヌクレオチド906-908のTGA終止コドンを含む。残基96から905の間のこの配列は、270アミノ酸残基(図8A)を有するタンパク質(配列番号16)をコードするORFを規定する。このクローンは、脾臓細胞から単離されたDNAに起源を有する。PSORTプログラムは、原形質膜に局在することを予測する。Signalプログラムによれば、このタンパク質は、アミノ酸AWS-EK(すなわち、AlaTrpSer-GluLys)の間のダッシュによって表される、42と43との間の最も確からしい切断部位を伴うシグナルペプチドを有する。

【0057】

クローン3911675-2は、そのヌクレオチド配列(配列番号78)の始まりに開始コドンを有しない。従って、開示されたクローンは、不完全なORFを表すと考えられる。開始コドンは、示された配列の上流に見出され、その結果、そのcDNA配列は、図8Bに示されたものよりも5'側に伸びることが予測される。TGAの終止コドンは、ヌクレオチド629-631に位置する。残基2と628との間の3911675-2ヌクレオチド配列は、209アミノ酸残基(図8B)の3911675-2タンパク質(配列番号79)をコードするORFを規定する。

【0058】

類似性についてのデータベース検索において、3911675タンパク質は、268残基(GenBank登録番号AAC17120)のヒトテラスパンNET-4タンパク質に対して、57%同一であり、そして75%陽性であり、ならびに、264残基(GenBank登録番号NP005714)のヒトテラスパニンTSPAN-5に対して、57%同一であり、そして74%陽性である

。

【0059】

TM4SF4 (transmembrane 4 superfamily member 4 ; 膜貫通4スーパーファミリーメンバー4) は、内在型膜糖タンパク質であり、これは、密度依存性機構により腸上皮細胞の接着および増殖の状態を調節することが見出された。「膜貫通4スーパーファミリー」(TM4SF)のメンバーは、細胞表面タンパク質であって、4つの膜貫通ドメインを有すると予測されるものである。多くのテトラスパンタンパク質は、他の分子との会合による「乱雑」な相互作用分子と考えられており、他の分子としては、以下が挙げられる：系統特異的タンパク質、インテグリン、および他のテトラスパニン。テトラスパンタンパク質は、多様なプロセスに関与する(例えば、細胞活性および増殖、接着および移動性)、分化および癌)。Maeckerら、1997 FASEB J 11(6):428-42。テトラスパンファミリータンパク質は、「分子促進剤」(molecular facilitator)、特異的表面-細胞タンパク質のグループ化および従って、機能性シグナル複合体の形成および安定性を増加させるもの)として機能する。従って、これは、原形質膜のシグナル伝達複合体において補助する。Maeckerら、1997 FASEB J 11(6):428-42; Birling et al、1999 J. Neurochem 73(6):2600-2008。神経性トランスパニンファミリーメンバーは、軸策成長および標的認識に相関づけられる。Perron and Bixby 1999 FEBS Lett 461(1-2):86-90。

【0060】

本明細書において記載された、トランスパン関連タンパク質の報告された役割に基づいて、3911675および/またはそのスプライス改変体の首尾良い治療的標的化は、有意な抗腫瘍活性を生じる(特に、確立された細胞傷害/遺伝子傷害治療(すなわち、化学感作、放射感作)との組合せで)ことが予期される。この点に関して、3911675の首尾良い治療標的化はまた、転移散在(腫瘍負荷)の程度(頻度)を制限し得、そしておそらく腫瘍血管新生を制限し得る。

3911675およびそのスプライス改変体の治療的標的化はまた、ヒトまたはヒト化モノクローナル抗体の生成を介して提供される。この生成は、3911675が特定の同族リガンドと相互作用し、そして膜貫通シグナルを惹起する能力をブロックする。同様に、低分子の生成（合成、細胞透過性ペプチドなど）であって、リガンド結合した3911675によって活性化される経路における下流のシグナル伝達成分の1つ以上を特異的に阻害するものは、上記の顕著な抗腫瘍活性を有すると予測される。同様に、アンチセンス構築物（裸のDNA, アデノウイルス構築物）、リボザイムを導入して3911675の発現を阻害することは、上記の顕著な抗腫瘍活性を有すると予測される。

【0061】

クローン3911675は、細胞シグナル伝達および神経発生に関連する病理、およびCNS病理（例えば、アルツハイマー病およびパーキンソン病）において診断および処置上の有用性を有する。3911675遺伝子の遍在的発現に基づいて（実施例9および図21を参照のこと）、3911675を標的化するための特異的治療的適応は、悪性黒色腫である。

【0062】

（9.クローン4004056）

クローン4004056は、1767ヌクレオチド（図9）の核酸配列（配列番号17）を含む。51-53位に開始コドンおよび984?986位にTAA終止コドンが存在する。従って、51から983のヌクレオチドは、311アミノ酸残基（図9）のタンパク質（配列番号18）をコードするORFを規定する。このクローンは、唾液腺においても同定された。この遺伝子から転写された配列は、副腎、胎盤、乳腺組織、前立腺、精巣、子宮、脾臓、胎児胸腺（CRL7046）、骨原性肉腫細胞（HTB96）、胎児肺、視床、胎児腎臓およびパーキットリンパ腫（すなわちRaji細胞）からの総RNAライブラリーにおいて見出され、そして骨髄、黒色腫、下垂体、甲状腺からのmRNAライブラリーから見出された。PSORTプログラムは、4004056タンパク質が原形質膜に局在することを予測する。しかし、SignalPは、このタンパク質について公知のシグナルペプチドはないと予測する。

【0063】

図9Bは、クローン4004056.0.143uのヌクレオチド配列(配列番号80)および翻訳されたタンパク質配列(配列番号81)を示す。クローン4004056.0.143uは、ヌクレオチド63-65に開始コドンおよびヌクレオチド1023-1025にTGA終止コドンを有する。残基63と1022との間の配列は、320アミノ酸残基(図9B)のタンパク質(配列番号81)をコードするORFを規定する。

【0064】

データベース検索によって、4004056タンパク質が、クローンHP01862からのタンパク質を含む311残基のヒト膜貫通ドメインと、311残基中306残基(98%)の同一性および陽性を有することが示される。このクローンは、細胞増殖および分化を制御すると考えられる(PCR公開W09927094-A2)。同様に、このタンパク質は、311残基のヒトタンパク質(PCR公開W09927094-A2の配列番号10)に対して311残基中306残基(98%)の同一性および陽性を有する。クローン4004056はさらに、ヒト311残基プロリンリッチ膜タンパク質(PCR公開W09833910-A1)に対して、311残基中306残基(98%)の同一性および陽性を有する。別の検索において、4004056タンパク質は、316残基ラット神経膜タンパク質35(GenBank登録番号AAC32463)に対して、284残基中153残基(53%)同一、および284残基中196残基(69%)陽性であったことが見出された。さらに、このタンパク質は、ヒトNMDAレセプターグルタメート結合鎖(GenBank登録番号AAB94292)の208残基フラグメントに対して、42%同一および65%陽性であった。

【0065】

新規の4004056クローンは、以下を含むある範囲の活性を有する: サイトカインおよび細胞分化、免疫刺激/抑制、造血調節、組織増殖、アクチビン/インヒビン活性、化学遊走性/化学運動性活性、止血/血栓溶解活性、レセプター/リガンド活性、腫瘍インヒビター、抗炎症およびさらなる未同定の活性。4004056 cDNAは、遺伝子診断のためのプローブおよび遺伝子治療のた

めの遺伝子供給源としての有用性を有する。これらのcDNAはまた、タンパク質の大規模発現のために有用である。種々の4004056を用いて形質転換した細胞は、対応するリガンドの検出および新規低分子量の医薬のスクリーニングのために有用である。

【0066】

4004056タンパク質は、おそらくヒトプロリンリッチ膜タンパク質(PRMP)である。PRMPは、ラットNMDAレセプターグルタミン酸結合サブユニットに類似する。PRMPは、細胞シグナル伝達、タンパク質輸送、および細胞画分局在、細胞構造の制御、細胞同士の相互作用、細胞増殖および発生、ならびに免疫および炎症の応答の調節に関与する。PRMPおよびアゴニストを使用して、組織または器官の再生を促進し得る。PRMPのアンタゴニストまたはインヒビターは、PRMPの発現に関与する傷害(例えば、炎症性、アレルギー状態(例えば、リウマチおよび骨関節炎、喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、自己免疫状態(例えば、シェーグレン症候群、強皮症、甲状腺亢進症(グレーブズ病)、全身性ループス(エリテマトーデス)、重症筋無力症、自己免疫甲状腺炎)、糖尿病、膵臓炎、潰瘍性結腸炎、クローン病、萎縮性胃腸炎、および対宿主移植片病)、異常細胞分化、増殖、または変性に関連する障害(動脈硬化、アテローム性動脈硬化、アルドステロン症、コルチゾール過剰症(アディソン病)、甲状腺亢進症、結腸直腸ポリープ、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、造血細胞およびリンパ組織の癌(白血病、リンパ腫(ホジキン病を含む)、リンパ肉腫および骨髄腫を含む)ならびに分泌もしくは吸収に関与する腺、組織および器官ならびに胃腸管の器官の癌腫を含む)の処置または予防に有用である。

【0067】

(10. クローン4004731-1)

クローン4004731-1は、1686ヌクレオチド(図10)を含むポリヌクレオチド(配列番号19)である。クローンは、Kozak配列、372-374位の開始コドン、およびヌクレオチド1278-1280のTAA終止コドンを有する。従って、372と1277との間のこのヌクレオチド残基は、302アミノ酸残基(図10)を有するタンパク質(配列番号20)をコー

ドするORFを規定する。PSORTは、このタンパク質が0.3600の低い確からしさでミトコンドリアマトリクスに局在することを示す。プログラムSignalPは、公知のシグナルペプチドは存在しないことを予測する。この遺伝子からの転写配列は、脳、下垂体、心臓、胸部および脾臓に見出される。

【0068】

類似性検索において、4004731-1タンパク質が1786残基(GenBank登録番号P07942)を有するタンパク質であるヒトラミン - I鎖前駆体(ラミンB I鎖)に対して、50%の同一性および67%の類似性を有することが見出された。ラミンは、基底膜の主要な成分であり、そして血管新生および腫瘍増殖を調節する、いくつかの生物学的活性部位を有する。Grantら、1994 Pathol Res Pract. 190(9-10): 854-863。ラミンは、インビトロで軸索の成長を協力的に刺激し、そして胚発生においておよびCNS損傷の後に一過的に発現する。Luebkeら、1995 J. Neurobiol 27(1): 1-14。さらに、ラミンB I発現は、いくつかの小児常染色体劣性筋ジストロフィーにかかった重篤患者において非常に障害を受ける。Yamadaら、1995 Lab Invest. 72(6): 715-722。従って、クローン4004731-1は、筋ジストロフィー、細胞成長(outgrowth)、細胞増殖、血管新生ならびに神経発生およびCNS病理(例えば、CNS障害、アルツハイマー病およびパーキンソン病)において診断および治療上の有用性を有する。

【0069】

(11. クローン4009334-1)

クローン4009334-1は、2010ヌクレオチド(図11)を有するポリヌクレオチド(配列番号21)である。このクローンは、クローン4009334-2(下)に類似するが、後者よりも長い。なぜなら、配列番号21においてヌクレオチド1361?1440および1541-1597における挿入物を有するからである。これらの相違は、mRNAのスプライス改変体から生じると考えられる。クローン4009334-1は、243-245位の開始コドン、およびヌクレオチド1659?1651のTGA終止コドンを有する。従って、

243と1658との間の残基は、472残基(図11)のタンパク質(配列番号22)をコードするORFを規定する。PSORソフトウェアプログラムは、4009334-1タンパク質がミクロボディ(確からしさ=0.30)で局在するという弱い予測を可能にする。SignalPソフトウェアプログラムは、タンパク質が公知のシグナルペプチドを欠如することを予測する。この遺伝子から転写された配列は、以下に見出される:OVCA R-3細胞、MCF-7細胞、乳腺、胎児肺、視床を含む脳、副腎、唾液腺、膵臓、心臓、白血球細胞およびRaji細胞。

【0070】

4009334-1タンパク質は、Gallus gallus(ニワトリ)由来の550残基AVENAタンパク質(GenBank登録番号AB017437およびBAA33016)に対して、304残基中272残基(89%)の同一性、および304残基中278残基(91%)の陽性を有する。これはまた、マウス783残基が可能にするホモログ(神経変異体MENA+タンパク質)(GenBank登録番号AAC52864)に対して、251残基中218残基(86%)の同一性、および251座に中228残基(90%)の陽性を有する。4009334-1タンパク質はさらに、380残基ヒト血管拡張刺激ホスホタンパク質(VASP)(GenBank登録番号P50552)に対して、146残基中94残基(64%)の同一性、および146残基中107残基(73%)の陽性を有する。

【0071】

従って、クローン4009334-1は、細胞制御、細胞増殖、細胞発生および細胞分化に関連する病理において診断および治療上の有用性を有する。クローン4009334-1はまた、血管新生、発癌性ならびに身体および器官の恒常性において有用である。

【0072】

(12.クローン4009334-2)

クローン4009334-2は、1952ヌクレオチド(図12)のポリヌクレオチド(配列番号23)である。これは、クローン4009334-1(配列

番号21、上記)のより短いスプライス改変体であるようである。4009334-2核酸配列は、Kozak配列、ヌクレオチド243-245に開始コドンおよび1716-1718位に終止コドンを含む。243と1715の間の残基は、491アミノ酸残基(図12)を有するタンパク質(配列番号24)をコードするORFを規定する。PSORTプログラムは、4009334-1タンパク質がミクロボディ(確からしさ=0.30)に局在するという弱い推測を可能にする。SignalPプログラムは、このタンパク質がシグナルペプチドを欠如することを予測する。この遺伝子から転写された配列は、OVCA R-3細胞、MCF-7細胞、乳腺、胎児肺を含む肺、視床を含む脳、副腎、唾液腺、膵臓、心臓、白血球細胞およびRaji細胞において見出される。

【0073】

4009334-2タンパク質は、*Gallus gallus*(ニワトリ)からの550残基d1033982(GenBank登録番号AB017437)AVENAタンパク質(GenBank登録番号BAA33016)に対して、304残基中272残基(89%)の同一性、および304残基中278残基(89%)の陽性を有する。これはまた、マウス783残基が可能にしたホモログ(神経変異体 MENA+タンパク質)(GenBank登録番号AAC52864)に対して、251残基中218残基(86%)の同一性、および251残基中228残基(90%)の陽性を有する。4009334-2タンパク質はさらに、380残基ヒト血管拡張刺激ホスホタンパク質(VASP)(GenBank登録番号P50552)に対して、146残基中94残基(64%)の同一性、および146残基中107残基(73%)の陽性を有する。

【0074】

従って、クローン4009334-2は、細胞制御、細胞増殖、細胞発生および細胞分化に関連する病理において診断および治療上の有用性を有する。クローン4009334-2はまた、血管新生、発癌性、新生物に関連する病理ならびに身体および器官の恒常性において有用である。

【0075】

(13.クローン4035508)

クローン4035508は、827ヌクレオチド(図13)のポリヌクレオチド配列(配列番号25)である。このクローンは、Kozak配列、233-235位の開始コドン、およびヌクレオチド602-604でのTGA終止コドンを含み、従って、123残基(図13)を有するポリペプチド(配列番号26)をコードする、残基233と601の間のORFを示す。PSORTプログラムは、4035508タンパク質が原形質膜に局在することを予測する。SignalPプログラムは、4035508ポリペプチドがシグナルペプチドを有し、その最もあるらしい切断部位は、残基29と30との間に生じることを予測する。これは、アミノ酸LFG-WP(すなわち、LeuPheGly-TrpPro)の間のダッシュによって表される。この遺伝子から転写された配列は、胎児肺組織において、および複数の生体組織型(リンパ節組織)において見出される。

【0076】

類似性検索によって、前立腺癌において上方調節され、そして選択的スプライシングされる推定される分泌型タンパク質である559残基ヒトタンパク質PB39(POV1; GenBank登録番号AAC33004)に対して、108残基中37残基(34%)の同一性、および108残基中55残基(50%)の陽性を有することが明らかになった。Coleら、1998 Genomics 51(2):282-287。

【0077】

PB39は、ヒト前立腺癌の発生において役割を果たす。同様に、4035508および/またはそのスプライス改変体を哺乳動物被検体へ首尾良い治療的標的化は、特に確立された細胞傷害/遺伝子傷害治療(すなわち、化学感作および放射感作)との組み合わせで有意な抗腫瘍活性を提供する。さらに、4035508の首尾良い治療標的化は、転移散在(腫瘍負荷)の程度、頻度またはその両方を制限する。4035508はまた、腫瘍血管新生を制限する。なぜなら、4035508は、活性化された内皮細胞(例えば、ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC))において高度に発現する。

【0078】

4035508およびそのスプライス改変体の治療的標的化はまた、同族レセプター塗装誤差要旨、そして膜貫通シグナルを惹起する4035508の能力をブロックする、ヒトまたはヒト化されたモノクローナル抗体の生成を介して提供される。同様に、低分子の生成（合成、細胞透過性ペプチドなど）であって、リガンドに結合した4035508によって活性化される経路における下流のシグナル伝達成分の1つ以上を特異的に阻害するものは、上記の顕著な抗腫瘍活性を有すると予測される。同様に、アンチセンス構築物（裸のDNA、アデノウイルス構築物）、リボザイムを導入して4035508の発現を阻害することは、上記の顕著な抗腫瘍活性を有すると予測される。

【0079】

クローン4035508は、新生物、細胞増殖および細胞制御に関連する病理において診断および治療上の有用性を有する。4035508遺伝子の発現プロファイル（実施例10および図22を参照のこと）に基づいて、4035508を標的化するための治療適応は、転移性結腸癌腫（SW480のSW620転移性改変体における上方調節）、乳房腺癌、神経芽腫/星状細胞腫、小細胞肺癌および悪性黒色腫を含む。

【0080】

（14．クローン4339264）

クローン4339264は、1063ヌクレオチド（図14）のポリヌクレオチド（配列番号27）であった。クローンは、48 - 50位で開始コドン、および945 - 947位でTAA終止コドンを含む。このクローンは、299アミノ酸残基（図14）のタンパク質（配列番号28）をコードする残基48 - 944のORFを含む。PSORTプログラムは、4339264タンパク質が0.6000の確からしさで原形質膜に局在することを予測する。SignalPプログラムは、シグナルペプチドが存在すると予測する。その切断部位は、最もおそらく、アミノ酸LQA - RF（すなわち、LeuGlnAla - ArgPhe）の間のダッシュによって表される残基69と70の間に生じる。このクローンは、リンパ節から単離されたDNAに起源を有する。この遺伝子から転写された配列は、以下に見出される：MCF - 7細胞、OVCA R - 3細胞、心臓、前立腺

、子宮、乳腺、唾液腺、視床、骨髄、リンパ節、脾臓、胎児肝臓、胎児胸腺 - CRL7046、およびClontech、Inc.からの10のヒト総RNAライブラリー (Palo Alto, CA; 脳、胎児脳、肝臓、胎児肝臓、骨格筋、膵臓、腎臓、心臓、肺および胎盤)。

【0081】

類似性検索において、4339264タンパク質が、296残基マウスの骨髄上方制御されたタンパク質 (GenBank登録番号035682) に対して、219残基中194残基 (88%) の同一性、および219残基中207残基 (94%) の陽性を有することが見出された。さらに、このタンパク質は、153残基のヒト4回膜貫通ドメインMALTLリンパ球成熟関連タンパク質 (GenBank登録番号P21145) に対して、125残基中39残基 (31%)、および125残基中58% (46%) の陽性を有する。このMALタンパク質は、シグナル伝達レセプターならびに脂質二重層を横切る水溶性分子およびイオンのトランスポーターとして作用すると考えられる。AlonsoおよびWeisman 1987 Proc Natl Acad Sci U.S.A. 84 (7) : 1997 - 2000。

【0082】

定量的リアルタイムPCRを用いて同定された、広汎な正常および癌性の組織のなかの4339264の発現の広さ (実施例11および図23) は、4339264遺伝子によってコードされるタンパク質が細胞恒常性において一般的な役割を有することを示唆する。4339264の発現は、もとの組織に対して選択されたヒト癌細胞株において上昇し、そして生体組織よりもいくつかの胎児組織において上昇している。このことは、器官形成および組織修復における役割を示す。4339264の過剰発現は、腫瘍生成において寄与するはずである。さらに、成体腎臓よりも高い胎児腎臓における4339264の発現は、器官形成における4339264のおそらくの役割を示唆する。

【0083】

4339264および/またはそのスプライス改変体の首尾良い治療的標的化および下方調節は、有意な抗腫瘍活性を生じ、特に、確立された細胞傷害/遺伝

子傷害の治療（すなわち化学感作、放射感作）との組み合わせで生じる。さらに、4339264の首尾良い治療的標的化はまた、転移性散在（すなわち、腫瘍負荷）の程度および頻度を制限し、そして潜在的に腫瘍血管新生を制限する。

【0084】

4339264およびそのスプライス変体の治療的標的化はまた、4339264が同族レセプターと相互作用し、そして膜貫通シグナルを惹起する能力をブロックする、ヒトまたはヒト化されたモノクローナル抗体の生成によって提供される。同様に、低分子の生成（合成、細胞透過性ペプチドなど）であって、リガンドに結合した4339264によって活性化される経路における下流のシグナル伝達成分の1つ以上を特異的に阻害するものは、上記の顕著な抗腫瘍活性を有すると予測される。同様に、アンチセンス構築物（裸のDNA、アデノウイルス構築物）、リボザイムを導入して4339264の発現を阻害することは、上記の顕著な抗腫瘍活性を有すると予測される。

【0085】

クローン4339264は、新生物、細胞増殖および細胞制御に関連する病理において診断および治療上の有用性を有する。4339264遺伝子の発現プロファイル（実施例11および図23を参照のこと）に基づいて、4339264を標的化するための治療適応は、悪性黒色腫、小分子肺癌腫および腎臓細胞癌腫を含む。

【0086】

（核酸）

本発明の1つの局面は、単離された核酸分子（すなわち、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78および80、ならびに29および31）であって、本発明のSECXポリペプチドをコードするものに関する。ここで、SECXポリペプチドは、以下からなる群より選択される：クローン2777610、クローン2864933-1、クローン2864933-2、クローン2982339、クローン3352358-1、クローン33523582、クローン3884846、クローン3884846-1、クローン3884846-2、クローン3911675

、クローン3911675-2、クローン4004056、クローン4004056.0.143u、クローン4004731-1、クローン4009334-1、クローン4009334-2、クローン4035508、およびクローン4339264のポリペプチド(すなわち、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、75、77、79および81ならびに30および32;表1および図1から17を参照のこと)、あるいはその生物学的活性部分、ならびにSECXコード核酸(例えば、SECX mRNA)を同定するためのハイブリダイゼーションプローブとして使用するために十分な核酸フラグメント、およびSECX核酸分子の増幅もしくは変異のためのPCRプライマーとして使用するためのフラグメント。本明細書において使用される用語「核酸分子」とは、DNA分子(例えば、cDNAまたはゲノムDNA)、RNA分子(例えば、mRNA)、ヌクレオチドアナログを用いて生成されたDNAもしくはRNAのアナログ、ならびにそれらの誘導体、フラグメントおよびホモログを含むことが意図される。この核酸分子は、一本鎖であっても二本鎖であってもよいが、好ましくは、二本鎖DNAである。本発明のSECX核酸としては、以下が挙げられる:配列番号1、3、5、7、9.11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78および80、ならびに29および31(表1および図1-17)、ならびにそれらのフラグメント、ホモログおよび誘導体。

【0087】

「プローブ」とは、可変の長さの核酸配列をいい、好ましくは、使用に依存して、少なくとも約10ヌクレオチド(nt)、100nt、または例えば、約6,000ntの間である。プローブは、同一、類似または相補的な核酸配列の検出において使用される。より長いプローブは、通常、天然供給源または組換え供給源から入手され、非常に特異的であり、そしてオリゴマーよりもはるかに遅くハイブリダイズする。プローブは、一本鎖または二本鎖であり得、そしてPCR、メンブレンベースのハイブリダイゼーション技術またはELISAのような技術において特異性を有するように設計される。

【0088】

「単離された」核酸分子は、この核酸の天然の供給源中に存在するその他の核酸分子から分離されているものである。好ましくは、「単離された」核酸は、この核酸が由来する生物のゲノムDNA中でこの核酸に天然に隣接する配列（すなわち、この核酸の5'末端および3'末端に位置する配列）。例えば、種々の実施形態で、SECXポリペプチドの任意の1つをコードする単離された核酸分子は、ケモカインレセプター様タンパク質、セマホリンタンパク質様スプライス改変体、推定のミトコンドリアタンパク質（クローン2982339）、SLITタンパク質様スプライス改変体、推定のマイクロボディ（ペルオキシソーム）関連タンパク質（クローン3884846）、テトラスパニン様タンパク質、推定のプロリンリッチ膜タンパク質（クローン4004056）、ラミニン 鎖前駆体様タンパク質、AVENAタンパク質様スプライス改変体（クローン4009334-1および4009334-2）、胎児肺関連タンパク質（クローン4035508）および骨髄性の上方制御されたタンパク質（クローン4339264）を含み、この核酸が由来する細胞（（例えば、骨髄を含む）骨組織、心臓、リンパ節、膵臓、脾臓、胸腺、胎盤、腎臓、肝臓、視床、脳、下垂体、胸部、肺、唾液腺および副腎を含む組織からの成体細胞および胎児細胞）のゲノムDNA中の核酸分子に天然で隣接する核酸配列の約5 kb、4 kb、3 kb、2 kb、1 kb、0.5 kbまたは0.1 kbより少ない核酸配列を含み得る。さらに、「単離された」核酸分子、例えば、cDNA分子は、組換え技法により産生されるとき、その他の細胞物質または培養培地を実質的に含まないか、または化学的に合成されるとき、化学物質前駆体もしくはその他の化学物質を実質的に含まないものであり得る。

【0089】

本発明の核酸分子、例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25または27、それに加えて29または31のヌクレオチド配列を有するSECX核酸分子、またはこれらのヌクレオチド配列の任意の相補物は、標準的な分子生物学的技法および本明細書で提供される配列情報を用いて単離され得る。ハイブリダイゼーションプローブとして、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25または2

7、それに加えて29または31のSECX核酸配列のすべてもしくは一部分、またはこれらのヌクレオチド配列の任意の相補物を用い、上記SECX分子は、標準的なハイブリダイゼーションおよびクローニング技法(例えば、Sambrookら(編)、MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、NY、1989; およびAusubelら、(編)、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、New York、NY、1993)を用いて単離され得る。

【0090】

本発明の核酸は、標準的なPCR増幅技法に従って、テンプレートとしてcDNA、mRNAあるいはゲノムDNA、および適切なオリゴヌクレオチドプライマーを用いて増幅され得る。このように増幅された核酸は、適切なベクター中にクローン化され、そしてDNA配列分析により特徴付けられ得る。さらに、SECXヌクレオチド配列に対応するオリゴヌクレオチドは、標準的な合成技法、例えば、自動化DNA合成機を用いることにより調製され得る。

【0091】

本明細書で用いられる用語「オリゴヌクレオチド」は、一連の連結されたヌクレオチド残基をいい、このオリゴヌクレオチドは、PCR反応で用いられ得る十分な数のヌクレオチド塩基を有する。短いオリゴヌクレオチド配列は、ゲノム配列もしくはcDNA配列を基礎にし得るか、またはそれから設計され得、そして特定の細胞もしくは組織において、同一、類似もしくは相補的DNAまたはRNAを増幅し、確認し、もしくはその存在を示すために用いられる。オリゴヌクレオチドは、約10nt、50nt、または100ヌクレオチドの長さ、好ましくは約15ヌクレオチド~30ヌクレオチドの長さを有する核酸配列の部分を含む。1つの実施形態では、100ヌクレオチドより少ない長さの核酸分子を含むオリゴヌクレオチドは、さらに、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78および80、それに加えて29および31の少なくとも6つの連続ヌクレオチド、またはその相補物

を含み得る。オリゴヌクレオチドは、化学的に合成され得、そしてプローブとして用いられ得る。

【0092】

1つの実施形態では、本発明の単離された核酸分子は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78および80、それに加えて29または31に示されるヌクレオチド配列の相補物であるSECX核酸分子、またはこのヌクレオチド配列の一部を含む。このSECSヌクレオチド配列に相補的である核酸分子は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78および80、それに加えて29または31に示されるヌクレオチド配列に十分相補的であるか、またはこのヌクレオチド配列の一部であり、所定のSECXヌクレオチド配列に対しミスマッチがないかまたはほとんどなく、それによって安定な二本鎖を形成する。

【0093】

本明細書で用いる用語「相補的」は、核酸分子のヌクレオチド単位間のWatson-CrickまたはHoogsteen塩基対合をいい、そして用語「結合」は、2つのポリペプチドまたは化合物または関連ポリペプチドまたは化合物またはその組合せ間の物理的または化学的相互作用を意味する。結合は、イオンの、非イオンの、Von der Waals的、疎水的相互作用などを含む。物理的相互作用は直接的であるかまたは間接的であり得る。間接的相互作用は、別のポリペプチドまたは化合物によるか、またはその影響に起因し得る。直接的結合は、別のポリペプチドもしくは化合物によらないか、またはその影響に起因せず生じるか、あるいはその他の実質的な化学的中間体がない相互作用をいう。

【0094】

さらに、本発明の核酸分子は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78および80、それに加えて29または31の核酸配列の一部のみか、またはプラスミド、例えば、実施例3に記載のpSecTag2BおよびpSecV5HisベクターのD

NA挿入片のヌクレオチド配列を含み得、ここで、例えば、フラグメントは、プローブまたはプライマーまたはSECXの生物学的に活性な部分をコードするフラグメントとして用いられ得る。本発明で提供されるフラグメントは、少なくとも6の(連続する)核酸または少なくとも4の(連続する)アミノ酸として規定され、それぞれ、核酸の場合特異的ハイブリダイゼーションを、またはアミノ酸の場合エピトープの特異的認識を可能にするに十分な長さであり、そして多くとも完全長配列より少ない特定の部分である。フラグメントは、選択される核酸またはアミノ酸配列の任意の連続する部分に由来し得る。誘導体は、直接的であるかまたは部分的置換によるかのいずれかでネイティブな化合物から形成される核酸配列またはアミノ酸配列である。アナログは、ネイティブな化合物と類似ではあるが、同一ではなく、特定の成分または側鎖に関してそれとは異なる構造を有する核酸配列またはアミノ酸配列である。アナログは、合成によるか、または異なる進化的起源に由来し得、そして野生型と比較して類似であるかまたは反対の代謝活性を有し得る。ホモログは、異なる種由来である特定の遺伝子の核酸配列またはアミノ酸配列である。

【0095】

誘導体またはアナログが、以下に記載のように、改変された核酸またはアミノ酸を含む場合、誘導体およびアナログは、完全長であるかまたは完全長以外であり得る。本発明の核酸またはタンパク質の誘導体またはアナログは、種々の実施形態で、本発明の核酸またはタンパク質に、同じサイズの核酸またはアミノ酸配列に対して、またはアラインメントが当該分野で公知のコンピューター相同性プログラム(例えば以下を参照のこと)によりなされるアラインされた配列に比較するとき、少なくとも約30%、50%、70%、80%、または95%同一性(80-95%同一性が好適である)で実質的に相同である領域を含む分子であるか、またはそのコードする核酸配列が、前記のタンパク質をコードする配列の相補物に、ストリンジェントな条件下、中程度にストリンジェントな条件下、または低いストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る分子を含むが、これらに限定される訳ではない。例えば、Ausubelら、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wi

ley & Sons, New York, NY, 1993、および以下を参照のこと。

【0096】

「相同的核酸配列」または「相同的アミノ酸配列」またはその改変体は、上記で論議されたような、ヌクレオチドレベルまたはアミノ酸レベルの相同性によって特徴付けられる配列をいう。相同的ヌクレオチド配列は、SECXポリペプチドのイソ型をコードするような配列をコードする。イソ型は、RNAのオルターナティブなスプライシングの結果として同じ生物の異なる組織中で発現され得る。あるいは、イソ型は異なる遺伝子によりコードされ得る。本発明では、相同的ヌクレオチド配列は、哺乳動物を含むがそれに限定されないヒト以外の種、そしてそれ故、例えば、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、およびその他の生物のSECXポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。相同的ヌクレオチド配列はまた、本明細書に提示されるヌクレオチド配列の天然に存在する対立遺伝子改変体および変異体を含むがこれらに限定されるわけではない。しかし、相同的ヌクレオチド配列は、ヒトSECXタンパク質をコードするヌクレオチド配列を含まない。相同的核酸配列は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78および80、それに加えて29または31における保存的アミノ酸置換（以下を参照のこと）、およびSECX活性を有するポリペプチドをコードするような核酸配列を含む。個々のSECXタンパク質の生物学的活性は上記に記載されている。相同的アミノ酸配列は、ヒトSECXポリペプチドのアミノ酸配列をコードしない。

【0097】

SECXポリペプチドは、SECX核酸のオープンリーディングフレーム（「ORF」）によってコードされる。本発明は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78および80、それに加えて29および31の核酸配列のストレッチを含む核酸配列を含み、これは、そのアミノ酸配列のORFを含み、そして配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、75、77

、79および81、それに加えて30および32のポリペプチドをコードする。

【0098】

「オープンリーディングフレーム」(「ORF」)は、潜在的にポリペプチドに翻訳され得るヌクレオチドに対応する。ORFを含む核酸のストレッチは、終止コドンにより中断されない。完全タンパク質のコード配列を示すORFは、ATG「開始」コドンで始まり、そして3つの停止コドン、すなわち、TAA、TAG、またはTGAの1つで停止する。本発明の目的には、ORFは、開始コドン、ストップコドン、またはその両方をともなうか、またはそれらのないコード配列の任意の部分であり得る。真実の細胞タンパク質をコードするための良好な候補として考慮されるべきORFには、最小サイズの要求(例えば、50アミノ酸またはそれ以上のタンパク質をコードするDNAのストレッチ)がしばしば設定される。

【0099】

ヒトSECX遺伝子のクローニングから決定されるヌクレオチド配列は、例えば他の組織からの他の細胞型におけるSECX相同体、および他の哺乳動物からのSECX相同体の同定および/またはクローニングにおける使用のために設計されたプローブおよびプライマーの生成を可能にする。代表的には、このプローブ/プライマーは、実質的に精製されたオリゴヌクレオチドを含む。代表的には、このオリゴヌクレオチドは、ストリンジентな条件下で、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78および80、それに加えて29および31の少なくとも約12、25、50、100、150、200、250、300、350または400の連続的なセンス鎖ヌクレオチド配列にハイブリダイズするヌクレオチド配列、または実施例3に記載の、例えば、pSecTag2BおよびpSecV5HisベクターのようなプラスミドのDNA挿入片のヌクレオチド配列；またはSECXヌクレオチドのアンチセンス鎖ヌクレオチド配列または当該分野で公知のプラスミドのDNA挿入片のアンチセンス鎖SECXヌクレオチド配列；またはSECXヌクレオチドの天然に存在する変異体、または当該分野で公知のプラスミドベクターのDNA挿入片の天然に存在する変異体の領域を含む。

【0100】

ヒトSECXヌクレオチド配列を基にするプローブを用いて、転写物またはこのタンパク質または相同体タンパク質をコードするゲノム配列を検出し得る。種々の実施形態において、このプローブはさらに、それに結合した標識基をさらに含み、例えば、この標識基は、放射線同位体、蛍光化合物、酵素、または酵素補因子であり得る。このようなプローブは、例えば、被験体からの細胞のサンプル中のSECXをコードする核酸のレベルを測定することにより、例えば、SECX mRNAレベルを検出することかまたはゲノムSECX遺伝子の変異したかまたは欠失したかどうかを検出して、SECXタンパク質を誤発現する細胞または組織を同定するための診断試験キットの一部として用いられ得る。

【0101】

「SECXの生物学的に活性な部分を有するポリペプチド」は、特定の生物学的アッセイで測定したとき、用量依存性であるかまたは用量依存性でない、成熟形態を含む、本発明のポリペプチドの活性に類似の（必ずしも同一である必要はない）活性を示すポリペプチドをいう。「SECXの生物学的に活性な部分」をコードする核酸フラグメントは、SECXの生物学的活性を有するポリペプチドをコードするSECXの部分を単離すること（ここで、SECXタンパク質の生物学的活性は上記に記載されている）、（例えば、インビトロの組換え発現により）SECXタンパク質のコードされた部分を発現すること、およびSECXのコードされた部分の活性を評価することにより調製され得る。例えば、SECXの生物学的に活性な部分をコードする核酸フラグメントは、細胞外ドメイン、例えば、配列番号4である、クローン2864933-1のアミノ酸残基19-644を含む。別の実施形態では、細胞外ドメインを含むSECXの生物学的に活性な部分をコードする核酸フラグメントは、このようなドメイン（例えば、配列番号10のアミノ酸残基42-486により示されるヒトクローン3352358-1細胞外ドメインをコードする少なくとも配列番号9の核酸）をコードするDNAを含む。

【0102】

（SECX改変体）

本発明はさらに、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78および80、それに加えて29および31の少なくとも1つに示されるSECXヌクレオチド配列とは異なるが、遺伝子コードの縮重、そしてそれ故、上記のヌクレオチド配列の任意によってコードされるのと同じSECXタンパク質をコードする任意の1つ以上の核酸分子を包含する。別の実施形態では、本発明の単離されたSECX核酸分子は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、75、77、79および81、これに加えて30および32に示されるアミノ酸配列の任意の1つを有するタンパク質をコードするヌクレオチド配列を有する。

【0103】

これらのヒトSECXヌクレオチド配列、またはプラスミドまたはベクターのDNA挿入片のSECXヌクレオチド配列に加えて、SECXのアミノ酸配列中の変化に至るDNA配列多形性が集団（例えば、ヒト集団）内に存在し得ることが当業者に認識され得る。SECX遺伝子におけるこのような遺伝的多形性は、自然の対立遺伝子の変動に起因して集団内の個体間で存在し得る。本明細書で用いられる用語「遺伝子」および「組換え遺伝子」は、SECXタンパク質、好ましくは哺乳動物SECXタンパク質をコードするオープンリーディングフレームを含む核酸分子をいう。このような自然の対立遺伝子変動は、代表的には、SECX遺伝子のヌクレオチド配列において1 - 5%の分散を生じ得る。自然の対立遺伝子変動の結果であり、そしてSECXの機能的活性を変えないSECX中のこのようなヌクレオチド変動および得られるアミノ酸多形性の任意およびすべては、本発明の範囲内にあることが意図される。

【0104】

さらに、他の種からのSECXタンパク質をコードし、そしてそれ故、本明細書に開示されるヒト配列とは異なるヌクレオチド配列を有する核酸分子が、本発明の範囲内に含まれることが意図される。本発明のSECX cDNAの自然の対立遺伝子改変体および相同体に相当する核酸分子は、ヒトcDNA、またはその一部分を、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下、標準的なハイブ

リダイゼーション技法によるハイブリダイゼーションプローブとして用い、本明細書に開示されたヒトSECX核酸に対するそれらの相同性を基に単離され得る。例えば、可溶性のヒトSECXcDNAは、ヒトの膜結合SECXに対するその相同性を基に単離され得る。同様に、膜結合ヒトSECXcDNAは、可溶性ヒトSECXに対するその相同性を基に単離され得る。

【0105】

従って、別の実施形態では、本発明の単離された核酸分子は、長さが少なくとも6ヌクレオチドであり、そしてストリンジェントな条件下で、少なくとも1つのSECXヌクレオチド配列を含む核酸分子にハイブリダイズする。別の実施形態では、この核酸は、長さが少なくとも10、25、50、100、250、500または2000ヌクレオチドである。別の実施形態では、本発明の単離された核酸分子はコード領域にハイブリダイズする。本明細書で用いられる用語「ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする」は、その条件下で、互いに少なくとも60%相同性であるヌクレオチド配列が、代表的には互いにハイブリダイズしたままである、ハイブリダイゼーションおよび洗浄のための条件を記載することを意図する。

【0106】

相同体（すなわち、ヒト以外の種に由来するSECXタンパク質をコードする核酸）またはその他の関連配列（例えばパラログ）は、核酸ハイブリダイゼーションおよびクローニングの分野において周知の方法を用い、プローブとして特定のヒト配列のすべてまたは一部分との、低、中程度または高ストリンジェンシーハイブリダイゼーションにより得られ得る。

【0107】

本明細書で用いられる語句「ストリンジェントハイブリダイゼーション条件」は、その条件下で、プローブ、プライマーまたはオリゴヌクレオチドが、その標的配列にハイブリダイズするが、その他の配列にはハイブリダイズしない条件をいう。ストリンジェントな条件は配列依存性であり、そして異なる状況で異なる。より長い配列は、より短い配列より高い温度で特異的にハイブリダイズする。一般に、ストリンジェントな条件は、規定されたイオン強度およびpHで、特定

の配列の熱融解点 (T_m) より約5% 低いように選択される。この T_m は、標的配列に相補的なプローブの50%が、平衡状態で標的配列にハイブリダイズする (規定されたイオン強度、pHおよび核酸濃度下) 温度である。標的配列は一般に過剰で存在するので、 T_m では、50%のプローブが平衡状態で占有されている。代表的には、ストリンジェントな条件は、pH7.0~8.3で、塩濃度が約1.0Mナトリウムイオンより少なく、代表的には約0.01~1.0Mナトリウムイオン (またはその他の塩)、そして温度が短いプローブ、プライマーまたはオリゴヌクレオチド (例えば、10nt~50nt) について少なくとも約30%、そしてより長いプローブ、プライマーおよびオリゴヌクレオチドについて少なくとも約60% であるような条件である。ストリンジェントな条件はまた、ホルムアミドのような、脱安定化材の添加で達成され得る。

【0108】

ストリンジェントな条件は、当業者に公知であり、そしてAusubelら (編)、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、N.Y. (1989)、6.3.1-6.3.6に見出され得る。好ましくは、この条件は、代表的には、互いに少なくとも約65%、70%、75%、85%、90%、95%、98%、または99%相同な配列が、互いにハイブリダイズしたままであるような条件である。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の非制限的な例は、65における、6xSSC、50mM Tris-HCl (pH7.5)、1mM EDTA、0.02% PVP、0.02% Ficoll、0.02% BSA、および500mg/ml変性サケ精子DNA、次いで50% における0.2xSSC、0.01% BSA中の1回以上の洗浄である。SECXヌクレオチド配列にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする本発明の単離された核酸分子は、天然に存在する核酸分子に相当する。本明細書で用いられる「天然に存在する」核酸分子は、天然にある (例えば、天然のタンパク質をコードする) ヌクレオチド配列を有するRNAまたはDNA分子をいう。

【0109】

第2の実施形態では、少なくとも1つのSECX核酸分子、またはそのフラグ

メント、アナログまたは誘導体に、中程度のストリンジェンシーの条件下で、ハイブリダイズ可能である核酸配列が提供される。中程度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件の非制限的な例は、55 における、6×SSC、5×デンハート溶液、0.5% SDS および 100 mg/ml 変性サケ精子DNA 中のハイブリダイゼーション、次いで 37 における 1×SSC、0.1% SDS 中における 1 回以上の洗浄である。用いられ得る中程度のストリンジェンシーのその他の条件は、当該分野で周知である。例えば、Ausubelら(編)、1993、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、NY、および Kriegler、1990、GENE TRANSFER AND EXPRESSION、A LABORATORY MANUAL、Stockton Press、NY を参照のこと。

【0110】

第3の実施形態では、低ストリンジェンシーの条件下で、少なくとも1つのSEX核酸分子、そのフラグメント、アナログまたは誘導体にハイブリダイズ可能である核酸が提供される。低ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件の非制限的な例は、40 における、35%ホルムアミド、5×SSC、50 mM Tris-HCl (pH 7.5)、5 mM EDTA、0.02% PVP、0.02% Ficoll、0.2% BSA、100 mg/ml 変性サケ精子DNA、10% (wt/vol) 硫酸デキストラン中のハイブリダイゼーション、次いで 50 における 2×SSC、25 mM Tris-HCl (pH 7.4)、5 mM EDTA、および 0.1% SDS 中の 1 回以上の洗浄である。用いられ得る(例えば、クロススピーシーズハイブリダイゼーション)低ストリンジェンシーのその他の条件は当該分野で周知である。例えば、Ausubelら(編)、1993、CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、NY、および Kriegler、1990、GENE TRANSFER AND EXPRESSION、A LABORATORY MANUAL、Stockton Press、NY; Shilo および Weinberg、1981、Proc Natl

Acad Sci USA 78:6789-6792を参照のこと。

【0111】

(保存的変異)

集団中に存在し得るSECX配列の天然に存在する対立遺伝子改変体に加えて、当業者は、変化が、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78および80、それに加えて29および31の少なくとも1つのSECXヌクレオチド配列中に変異により導入され得、それによってSECXタンパク質の機能的な能力を改変することなく、コードされたSECXタンパク質のアミノ酸中の変化に至ることをさらに認識する。例えば、「非必須」アミノ酸残基におけるアミノ酸置換に至るヌクレオチド置換が、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、75、77、79および81、それに加えて30および32の配列、または当該分野で公知のプラスミドまたはベクターのDNA挿入片のSECXヌクレオチド配列中に作成され得る。「非必須」アミノ酸残基は、生物学的活性を改変することなく、SECXの野生型配列から改変され得る残基であり、ここで「必須」アミノ酸残基は、生物学的活性に必要である。例えば、本発明のSECXタンパク質間で保存されているアミノ酸残基は、特に改変されにくいことが予測される。

【0112】

本発明の別の局面は、活性に必須ではないアミノ酸残基中の変化を含むSECXタンパク質をコードする核酸分子に関する。このようなSECXタンパク質は、アミノ酸配列において、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、75、77、79および81、それに加えて30および32から異なり、なお生物学的活性を保持する。1つの実施形態では、単離された核酸分子は、タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含み、ここで、このタンパク質は、少なくとも1つのSECXアミノ酸配列に少なくとも約45%相同であるアミノ酸配列を含む。好ましくは、この核酸分子によりコードされるタンパク質は、少なくとも1つのSECXポリペプチドに少なくとも約60%相同であり、より好ましくは少なくとも約70%相同であり、少なく

とも約80%相同であり、少なくとも約90%相同であり、そして最も好ましくはその所定のSECXポリペプチドに少なくとも約95%相同である。

【0113】

所定のSECXタンパク質に相同であるSECXタンパク質をコードする単離された核酸分子は、1つ以上のアミノ酸置換、付加または欠失がコードされたタンパク質中に導入されるように、相当するSECXヌクレオチド配列中に1つ以上のヌクレオチド置換、付加または欠失を導入することにより作成され得る。

【0114】

変異は、標準的な技法、例えば、部位特異的変異誘発およびPCR媒介変異誘発により、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78および80、それに加えて29および31中に導入され得る。好ましくは、保存的アミノ酸置換は、1つ以上の予測された非必須アミノ酸残基において作成される。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が、類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置換されるものである。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは当該分野で規定されている。これらのファミリーは、塩基性側鎖もつアミノ酸（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖もつアミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖もつアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖もつアミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、分岐側鎖もつアミノ酸（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）、および芳香族側鎖もつアミノ酸（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を含む。従って、SECX中の予測された非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリーからの別のアミノ酸残基で置換される。あるいは、別の実施形態では、変異は、SECXコード配列のすべてまたは一部分に沿って、例えば、飽和変異誘発によりランダムに導入され得、そして得られる変異体をSECX生物学的活性についてスクリーニングされ得、活性を保持する変異体を同定する。変異誘発の後、コードされたSECXタンパク質は、当該分野で公知の任意の組換え技法により発現され得、そしてタン

パク質の活性が測定され得る。

【0115】

1つの実施形態では、変異体SECXタンパク質は、(1)他のSECXタンパク質、他の細胞表面タンパク質、またはその生物学的に活性な部分とタンパク質：タンパク質相互作用を形成する能力、(2)変異体SECXタンパク質とSECXリガンドとの間の複合体形成；(3)細胞内標的タンパク質またはその生物学的に活性な部分に結合する変異体SECXタンパク質の能力；(例えばアビジンタンパク質)についてアッセイされ得る。

【0116】

(アンチセンス)

本発明の別の局面は、SECX核酸分子、またはそのフラグメント、アナログもしくは誘導体にハイブリダイズし得るかまたは相補的である単離されたアンチセンス核酸分子に関する。「アンチセンス」核酸は、タンパク質をコードする「センス」核酸に相補的であるヌクレオチド配列、例えば、二本鎖cDNA分子のコード配列に相補的であるか、またはmRNA配列に相補的であるヌクレオチド配列を含む。特定の局面では、SECXコード鎖の少なくとも約10、25、50、100、250または500ヌクレオチドに相補的、またはその一部分にのみ相補的な配列を含むアンチセンス核酸分子が提供される。SECXタンパク質のフラグメント、相補体、誘導体およびアナログをコードする核酸分子、またはSECX核酸配列に相補的なアンチセンス核酸がさらに提供される。

【0117】

1つの実施形態では、アンチセンス核酸分子は、SECXをコードするヌクレオチド配列のコード鎖の「コード領域」に対するアンチセンスである。用語「コード領域」は、アミノ酸残基(例えば、図1-17に示されるORF)に翻訳されるコドンを含むヌクレオチド配列の領域をいう。別の実施形態では、このアンチセンス核酸分子は、SECXをコードするヌクレオチド配列のコード鎖の「非コード領域」に対するアンチセンスである。用語「非コード領域」は、アミノ酸に翻訳されない、コード領域に隣接する5'および3'配列をいう(すなわち、5'および3'非翻訳領域ともいう)。

【0118】

本明細書に開示されるSECXをコードするコード鎖(例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78および80、それに加えて29および31)が与えられれば、本発明のアンチセンス核酸は、WatsonおよびCrickまたはHoogsteen塩基対合の規則に従って設計され得る。このアンチセンス核酸分子は、SECX mRNAの全コード領域に相補的であり得るが、より好ましくは、SECX mRNAのコードまたは非コード領域の一部に対してのみアンチセンスであるオリゴヌクレオチドである。例えば、このアンチセンスオリゴヌクレオチドは、SECX mRNAの翻訳開始部位を取り囲む領域に相補的であり得る。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、例えば、長さが約5、10、15、20、25、30、35、40、45または50ヌクレオチドであり得る。本発明のアンチセンス核酸は、当該分野で公知の手順を用いる化学的合成または酵素的連結を用いて構築され得る。例えば、アンチセンス核酸(例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド)は、天然に存在するヌクレオチド、または分子の生物学的安定性を増大するため、もしくはアンチセンスとセンス核酸との間に形成される二本鎖の物理的安定性を増大するために設計された種々に改変されたヌクレオチド(例えば、ホスホロチオエート誘導体およびアクリジン置換されたヌクレオチドが用いられ得る)を用いて化学的に合成され得る。

【0119】

アンチセンス核酸を生成するために用いられ得る改変されたヌクレオチドの例は：5-フルオロウラシル、5-ブロモウラシル、5-クロロウラシル、5-ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4-アセチルシトシン、5-(カルボキシヒドロキシルメチル)ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、-D-ガラクトシルケオシン、イノシン、N6-イソペンテニルアデニン、1-メチルグアニン、1-メチルイノシン、2,2-ジメチルグアニン、2-メチルアデニン、2-メチルグアニン、3-メチルシトシン、5-メチルシトシン、N6-アデニン、7-メチルグアニン、5-メチルアミノメチルウラシル

、5 - メトキシアミノメチル - 2 - チオウラシル、 - D - マンノシルケオシン、5' - メトキシカルボキシメチルウラシル、5 - メトキシウラシル、2 - メチルチオ - N6 - イソペンテニルアデニン、ウラシル - 5 - オキシ酢酸 (v)、ヴィブトキシシン (wybutoxosin)、プソイドウラシル、ケオシン (queosine)、2 - チオシトシン、5 - メチル - 2 - チオウラシル、2 - チオウラシル、4 - チオウラシル、5 - メチルウラシル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸 (v)、5 - メチル - 2 - チオウラシル、3 - (3 - アミノ - 3 - N - 2 - カルボキシプロピル)ウラシル、(acp3)w、および2, 6 - ジアミノプリンを含む。あるいは、このアンチセンス核酸は、核酸がアンチセンス方向にサブクローン化された発現ベクターを用いて生物学的に産生され得る (すなわち、挿入された核酸から転写されたRNAは、以下のサブセクションでさらに記載されるように、目的の標的核酸に対してアンチセンス配向である)。

【0120】

代表的には、本発明のアンチセンス核酸分子は、それらがSECXタンパク質をコードする細胞mRNAおよび/またはゲノムDNAとハイブリダイズするか、またはそれに結合するように被検体に投与されるか、またはインサイチュ (in situ) で生成され、それによって、例えば、転写および/または翻訳を阻害することによりタンパク質の発現を阻害する。このハイブリダイゼーションは、従来のヌクレオチド相補性により、安定な二本鎖を形成するか、または、例えば、DNA二本鎖に結合するアンチセンス核酸分子の場合、二重らせんの主溝における特異的相互作用を通じてであり得る。本発明のアンチセンス核酸分子の投与の経路の例は、組織部位における直接注入を含む。あるいは、アンチセンス核酸分子は、改変されて、選択された細胞を標的にし、次いで全身的に投与される。例えば、全身投与には、アンチセンス分子は、それらが選択された細胞表面上に発現されたレセプターまたは抗原に特異的に結合するように改変され得る。例えば、これは、このアンチセンス核酸分子を、細胞表面レセプターまたは抗原に結合するペプチドまたは抗体に連結することによる。このアンチセンス核酸分子はまた、本明細書に記載のベクターを用いて細胞に送達され得る。アンチセン

ス分子の十分な細胞内濃度を達成するために、アンチセンス核酸分子が強力な p o l I I I または p o l I I I I プロモーターの制御下に配置されるベクター構築物が好適である。

【0121】

なお別の実施形態では、本発明のアンチセンス核酸分子は、アノマー核酸分子である。アノマー核酸分子は、相補的RNAと特異的な二本鎖ハイブリッドを形成し、そこでは、通常のユニットとは反対に、鎖は互いに平行に走る (G a u l t i e r ら、(1987) N u c l e i c a c i d R e s 15:6625-6641)。このアンチセンス核酸分子はまた、2'-o-メチルリボヌクレオチド (I n o u e ら (1987) N u c l e i c A c i d s R e s 15:6131-6148)、またはキメラRNA-DNAアナログ (I n o u e ら、(1987) F E B S L e t t 215:327-330) を含み得る。

【0122】

(リボザイムおよびPNA成分)

核酸改変は、非制限的な例として、改変された塩基、および糖リン酸骨格が改変または誘導体化されている核酸を含む。これらの改変は、少なくとも一部分、改変された核酸の化学的安定性を、それらが、例えば、被験体における治療的適用にアンチセンス結合性核酸として用いられ得るように増大するために実施される。

【0123】

1つの実施形態では、本発明のアンチセンス核酸はリボザイムである。リボザイムは、それらに対してリボザイムが相補的領域を有する一本鎖核酸、例えばmRNAを切断し得るリボヌクレアーゼ活性をもつ触媒的RNA分子である。従って、リボザイム(例えば、ハンマーヘッドリボザイム(H a s e l h o f f およびG e r l a c h (1988) N a t u r e 334:585-591に記載されている))は、SECX mRNA転写物を触媒的に切断し、それによってSECX mRNAの翻訳を阻害するために用いられ得る。SECXをコードする核酸に特異性を有するリボザイムは、本明細書に開示のSECX cDNAのヌクレオ

チド配列(すなわち、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78および80、それに加えて29および31)に基づいて設計され得る。例えば、Tetrahymena L-19 IVS RNAの誘導体を、活性部位のヌクレオチド配列が、SECXをコードするmRNAにおいて切断されるべきヌクレオチド配列に相補的であるように構築し得る。例えば、Cechら、米国特許第4,987,071号;およびCechら、米国特許第5,116,742号を参照のこと。あるいは、SECX mRNAは、RNA分子のプールから特異的リボヌクレアーゼ活性を有する触媒的RNAを選択するために用いられ得る。例えば、Bartelら(1993) Science 261:1411-1418を参照のこと。

【0124】

あるいは、SECX遺伝子発現は、SECX遺伝子の調節領域(例えば、SECXプロモーターおよび/またはエンハンサー)に相補的であるヌクレオチド配列を標的にし、標的細胞中のSECX遺伝子の転写を妨害する三重らせん構造を形成することによって阻害され得る。一般に、Helene(1991) Anticancer Drug Des. 6:569-84; Heleneら(1992) Ann. N.Y. Acad. Sci. 660:27-36; およびMaher(1992) Bioassays 14:807-15を参照のこと。

【0125】

種々の実施形態では、SECXの核酸は、塩基部分、糖部分またはリン酸骨格で改変され、例えば、分子の安定性、ハイブリダイゼーション、または溶解性を改善し得る。例えば、核酸のデオキシリボースリン酸骨格を改変してペプチド核酸を生成し得る(Hyrupら(1996) Bioorg Med Chem 4:5-23を参照のこと)。本明細書で用いる用語「ペプチド核酸」または「PNA」は、デオキシリボースリン酸骨格がプソイドペプチド(pseudopeptide)骨格で置換され、かつ4つの天然のヌクレオ塩基のみが保持されている、核酸模倣物、例えば、DNA模倣物をいう。PNAの中性の骨格は、低いイオン強度条件下で、DNAおよびRNAへの特異的ハイブリダイゼーションを可能にすることが示されている。PNAオリゴマーの合成は、Hyrupら(19

96) 上述; Perry - O'Keefeら(1996) PNAS 93:14670-675に記載のような、標準的な固相ペプチド合成プロトコルを用いて実施され得る。

【0126】

SECXのPNAは、治療適用および診断適用で用いられ得る。例えば、PNAは、例えば、転写または翻訳抑止(arrest)を誘導すること、または複製を阻害することにより、遺伝子発現の配列特異的調節のためのアンチセンスまたはアンチ遺伝子剤として用いられ得る。SECXのPNAはまた、例えば、PNA特異的PCRクランピングによる、例えば、遺伝子中の1塩基対変異の分析に;他の酵素、例えば、S1ヌクレアーゼと組み合わせて用いる場合、人工の制限酵素として(Hyrup B.(1966) 上述);またはDNA配列およびハイブリダイゼーションのプロブまたはプライマーとして(Hyrupら(1966) 上述; Perry - O'Keefe(1996) 上述)用いられ得る。

【0127】

別の実施形態では、SECXのPNAは、例えば、それらの安定性または細胞の取り込みを増大するために、PNAに親油性基またはその他の補助基を結合することによるか、PNA-DNAキメラの形成によるか、またはリボソームの使用もしくは当該分野で公知のその他の技法によって改変され得る。例えば、PNAとDNAの有利な性質を組み合わせ得る、SECXのPNA-DNAキメラが生成され得る。このようなキメラは、PNA部分の高い結合親和性および特異性を提供しながら、DNA部分と相互作用するために、DNA認識酵素、例えば、RNase HおよびDNAポリメラーゼを可能にする。PNA-DNAキメラは、塩基スタッキング、ヌクレオ塩基間の結合の数、および配向の点から選択された適切な長さのリンカーを用いて連結され得る(Hyrup(1996) 上述)。PNA-DNAキメラの合成は、Hyrup(1966) 上述およびFinnら(1996) Nucl Acids Res 24:3357-63に記載のように実施されえる。例えば、DNA鎖を、標準的なホルホルアミダイトカップリング化学を用いて固体支持体上で合成し得、そして改変ヌクレオシドアナログ、例えば、5'-(4-メトキシトリチル)アミノ-5'-デオキシ-チミジン

ホスホルアミダイトを、PNAとDNAの5'末端との間に用い得る(Magら(1989)Nucl Acid Res 17:5973-88)。次いで、PNAモノマーを段階的様式でカップリングし、5'PNAセグメントと3'DNAセグメントをもつキメラ分子を生成する(Finnら(1996)上述)。あるいは、キメラ分子は、5'DNAセグメントと3'PNAセグメントを有して合成され得る。Petersenら(1975)Bioorg Med Chem Lett 5:1119-11124を参照のこと。

【0128】

その他の実施形態では、このオリゴヌクレオチドは、ペプチド(例えば、インビボで宿主細胞レセプターを標的にするため)、または細胞膜を横切る輸送を容易にする薬剤(例えば、Letsingerら、1989、Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.86:6553-6556;Lemaitreら、1987、Proc.Natl.Acad.Sci.84:648-652;PCT公報番号WO088/09810を参照のこと)もしくは血液脳関門を横切る輸送を容易にする薬剤(例えば、PCT公報番号W089/10134を参照のこと)のような他の付属基を含み得る。さらに、オリゴヌクレオチドは、ハイブリダイゼーショントリガー切断剤(例えば、Krolら、1988、BioTechniques 6:958-976を参照のこと)またはインターカーレーティング剤(例えば、Zon、1988、Pharm.Res.5:539-549を参照のこと)を用いて改変され得る。この目的のために、このオリゴヌクレオチドは、例えば、ペプチド、ハイブリダイゼーショントリガー架橋剤、輸送剤、ハイブリダイゼーショントリガー切断剤などの他の分子に連結され得る。

【0129】

(SECXタンパク質)

本発明の新規タンパク質は、その配列が図1-15および17に提供される(配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、75、77、79および81、それに加えて30および32)SECXタンパク質を含む。本発明はまた、なおそのSECX活性および生理学的機

能を維持するタンパク質、またはその機能的フラグメントをコードしながら、その任意の残基が図1-15および17に示される対応する残基から変化し得る、変異体または改変体タンパク質を含む。この変異体または改変体タンパク質において、20%までまたはそれ以上の残基がそのように変化し得る。

【0130】

一般に、SECX様機能を保持するSECX改変体は、配列中の特定位置の残基が他のアミノ酸により置換され、そしてさらに、親タンパク質の2つの残基間にさらなる残基（単数または複数）を挿入する可能性、および親配列から1つ以上の残基を欠失する可能性を含む。任意のアミノ酸置換、挿入または欠失は、本発明に包含される。好適な状況では、この置換は、上記で規定されるような保存的置換である。

【0131】

本発明の1つの局面は、単離されたSECXタンパク質、およびその生物学的に活性な部分、またはその誘導体、フラグメント、アナログもしくは相同体に関する。抗SECX抗体を惹起するための免疫原としての使用に適するポリペプチドフラグメントもまた提供される。1つの実施形態では、ネイティブSECXタンパク質が、標準的なタンパク質精製技法を用いる適切な精製スキームにより、細胞または組織供給源から単離され得る。別の実施形態では、SECXタンパク質は、組換えDNA技法により生産される。組換え発現の代替えとして、SECXタンパク質またはポリペプチドは、標準的なペプチド合成技法を用いて化学的に合成され得る。

【0132】

「単離された」または「精製された」タンパク質または生物学的に活性なその部分は、SECXタンパク質が由来する細胞または組織供給源からの細胞材料またはその他の夾雑タンパク質を実質的に含まないか、化学的に合成されたとき、化学的前駆体またはその他の化学物質を実質的に含まない。用語「細胞材料を実質的に含まない」は、SECXタンパク質が、単離されるかまたは組換えにより産生された細胞の細胞成分から分離されているこのタンパク質の調製物を含む。1つの実施形態では、用語「細胞材料を実質的に含まない」は、非SECXタン

パク質（本明細書ではまた「汚染タンパク質」と呼ばれる）が約30%（乾燥重量による）より少ない、より好ましくは約20%より少ない非SECXタンパク質、なおより好ましくは約10%より少ない非SECXタンパク質、そして最も好ましくは約5%より少ない非SECXタンパク質を有する、SECXタンパク質の調製物を含む。このSECXタンパク質または生物学的に活性なその部分が組換えにより産生されるとき培養培地を実質的に含まないこともまた好適である。すなわち、培養培地は、タンパク質調製物の容量の約20%より少ないか、より好ましくは約10%より少ないか、そして最も好ましくは約5%より少ない。

【0133】

用語「化学的前駆体またはその他の化学物質を実質的に含まない」は、タンパク質の合成において含まれる化学的前駆体またはその他の化学物質からこのタンパク質が分離されているSECXタンパク質の調製物を含む。1つの実施形態では、用語「化学的前駆体またはその他の化学物質を実質的に含まない」は、化学的前駆体またはその他の化学物質を約30%（乾燥重量による）より少なく、より好ましくは化学的前駆体またはその他の化学物質を約20%より少なく、なおより好ましくは化学的前駆体またはその他の化学物質を約10%より少なく、そして最も好ましくは化学的前駆体またはその他の化学物質を約5%より少なく有するSECXタンパク質の調製物を含む。

【0134】

SECXタンパク質の生物学的に活性な部分は、完全長のSECXタンパク質より少ないアミノ酸配列を含み、そしてSECXタンパク質の少なくとも1つの活性を示す、SECXタンパク質のアミノ酸配列（例えば、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、75、77、79および81、それに加えて30および32）に十分に相同的であるか、またはそれに由来するアミノ酸配列を含む。代表的には、生物学的に活性な部分は、SECXタンパク質の少なくとも1つの活性をともなうドメインまたはモチーフを含む。SECXタンパク質の生物学的に活性な部分は、例えば、10、25、50、100またはそれ以上のアミノ酸の長さのポリペプチドであり得る。

。

【0135】

本発明のSECタンパク質の生物学的活性な部分は、上記セクション1-14で同定された構造的ドメインの少なくとも1つを含み得ることが理解されるべきである。SECタンパク質の代替の生物学的に活性な部分は、SECタンパク質の細胞外ドメインを含み得る。SECタンパク質の別の生物学的に活性な部分は、SECタンパク質の膜貫通ドメインを含み得る。本発明のSECタンパク質のなお別の生物学的に活性な部分は、SECタンパク質の細胞内ドメインを含み得る。

【0136】

さらに、このタンパク質のその他の領域が欠失したその他の生物学的に活性な部分が、組換え技法により調製され、ネイティブなSECタンパク質の1つ以上の機能的活性について評価され得る。

【0137】

ある実施形態では、このSECタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、75、77、79および81、それに加えて30および32に示される任意の1つ以上のアミノ酸配列を有し得る。他の実施形態では、このSECタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、75、77、79および81、それに加えて30および32の任意の1つに実質的に相同であり、そして以下に詳細に記載されるように、天然の対立遺伝子変動または変異誘発に起因してアミノ酸配列がなお異なるが、所定のSECタンパク質の機能的活性を保持する。従って、別の実施形態では、このSECタンパク質は、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、75、77、79および81、それに加えて30および32のアミノ酸配列の任意の1つに少なくとも約75%相同であるアミノ酸配列を含み、そしてSECタンパク質の機能的活性を保持するタンパク質である。

【0138】

本発明はさらに、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25または27、それに加えて29または31の任意の1つの

ヌクレオチド配列を含む核酸分子にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列を有する核酸分子によりコードされる、SECXタンパク質、またはその誘導体、フラグメント、アナログもしくは相同体を特徴にする。

【0139】

(2つ以上の配列間の相同性の決定)

2つのアミノ酸配列または2つの核酸の相同性のパーセントを決定するために、これらの配列を最適な比較の目的にアラインする(例えば、第2のアミノ酸または核酸配列との最適アラインメントのために第1のアミノ酸または核酸配列のも配列中にギャップを導入し得る)。次いで、対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置でアミノ酸またはヌクレオチドを比較する。第1の配列中の位置が第2の配列中の対応する位置と同じアミノ酸残基またはヌクレオチドで占められるとき、この分子はその位置で相同である(すなわち、本明細書で用いるとき、アミノ酸または核酸「相同性」は、アミノ酸または核酸「同一性」と等価である)。

【0140】

核酸配列相同性は、2つの配列間の同一性の程度で決定され得る。この相同性は、GCGプログラムパッケージで提供されるGAPソフトウェアのような当該分野で公知のコンピュータプログラムを用いて決定され得る。NeedlemanおよびWunsch 1970 J Mol Biol 48:443-453を参照のこと。GCG GAPソフトウェアを核酸配列比較のために以下の設定を用い: 5.0のGAP作成ペナルティおよび0.3のGAP伸長ペナルティ、上記で言及した類似の核酸配列のコード領域は、好ましくは、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25または27、それに加えて29または31の任意の1つで示されたDNA配列のCDS(すなわちコードする)部分と、少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性の程度を示す。

【0141】

用語「配列同一性」は、2つのポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列が、比較の特定の領域に亘って残基ごとについて同一である程度をいう。用語「配列

同一性のパーセント」は、その比較の領域に亘り最適にアラインされた配列を比較すること、両方の配列において同一の核酸塩基（例えば、核酸の場合、A、T、C、G、U、またはI）がある位置の数を決定し、一致した位置の数を生成すること、比較領域中の位置の総数（すなわち、ウインドウサイズ）で一致した位置の数を除すること、およびこの結果に100を乗じ配列同一性のパーセントを得ることにより算出される。本明細書で用いる用語「実質的に同一」は、ポリヌクレオチド配列の特徴を示し、ここで、このポリヌクレオチドは、比較領域に亘って参照配列と比較したとき、少なくとも80%の配列同一性、好ましくは少なくとも85%の配列同一性そしてしばしば90~95%の配列同一性、より通常は少なくとも99%の配列同一性を有する配列を含む。ポリペプチド配列中のアミノ酸残基を比較するとき、同様の計算が用いられる。

【0142】

（キメラおよび融合タンパク質）

本発明はまた、SECXキメラまたは融合タンパク質を提供する。本明細書で用いられるとき、SECX「キメラタンパク質」または「融合タンパク質」は、非SECXポリペプチドと作動可能に連結されたSECXポリペプチドを含む。「SECXポリペプチド」は、SECXに相当するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいい、その一方、「非SECXポリペプチド」は、このSECXタンパク質に実質的に相同ではないタンパク質に相当するアミノ酸配列を有するポリペプチドをいう（例えば、SECXタンパク質とは異なり、しかも同一かまたは異なる生物に由来するタンパク質）。SECX融合タンパク質の中で、SECXポリペプチドは、SECXタンパク質のすべてか、またはその一部分に対応する。1つの実施形態では、SECX融合タンパク質は、SECXタンパク質の少なくとも1つの生物学的に活性な部分を含む。別の実施形態では、SECX融合タンパク質は、SECXタンパク質の少なくとも2つの生物学的に活性な部分を含む。なお別の実施形態では、SECX融合タンパク質は、SECXタンパク質の少なくとも3つの生物学的に活性な部分を含む。融合タンパク質において、用語「作動可能に連結される」は、SECXポリペプチドおよび非SECXポリペプチドが互いにインフレームで融合していることを示すことを意図する。非SECX

ポリペプチドは、SECXポリペプチドのN末端またはC末端に融合され得る。

【0143】

例えば、1つの実施形態では、SECX融合タンパク質は、目的の活性に關与することが知られる第2のタンパク質の細胞外ドメインに作動可能に連結されたSECXドメインを含む。このような融合タンパク質はさらに、SECX活性を調節する化合物のためにスクリーニングアッセイにおいて利用され得る（このようなアッセイは以下に詳細に記載される）。

【0144】

1つの実施形態では、この融合タンパク質は、GST-SECX融合タンパク質であり、ここではSECX配列が、GST（すなわち、グルタチオンS-トランスフェラーゼ）配列のC末端に融合される。このような融合タンパク質は、組換えSECXの精製を容易にし得る。

【0145】

別の実施形態では、この融合タンパク質は、そのN末端に異質シグナル配列を含むSECXタンパク質である。例えば、ネイティブなSECXシグナル配列（すなわち、上記セクション1-14に記載のような、ほぼアミノ酸1~26）を除去し、別のタンパク質からのシグナル配列で置き換え得る。特定の宿主では（例えば、哺乳動物宿主細胞）、SECXの発現および/または分泌は、異質シグナル配列の使用により増大され得る。

【0146】

なお別の実施形態では、この融合タンパク質は、SECX-免疫グロブリン融合タンパク質であり、ここでは主に細胞外ドメインを含むSECX配列が、免疫グロブリンタンパク質ファミリーのメンバーに由来する配列に融合される。本発明のこのSECX-免疫グロブリン融合タンパク質は、薬学的組成物中に取り込まれ、そして被験体に投与されて、細胞の表面上でSECXリガントとSECXタンパク質との間の相互作用を阻害し、それによってインビボのSECX媒介信号伝達を抑制し得る。このSECX-免疫グロブリン融合タンパク質を用い、SECX同族リガンドの生体利用性に影響を与え得る。SECXリガント/SECX相互作用の阻害は、増殖障害および分化障害の両方の処置、および細胞生存を

調節（例えば、促進または阻害）することに、治療的に有用であり得る。さらに、本発明のこのSECX-免疫グロブリン融合タンパク質は、被験体中で抗SECX抗体を産生するための免疫原として用い得、SECXリガンドを精製し、そしてSECXリガンドとのSECXの相互作用を阻害する分子を同定するスクリーニングアッセイで用いられ得る。

【0147】

本発明のSECXキメラまたは融合タンパク質は、標準的な組換えDNA技法により産生され得る。例えば、異なるポリペプチド配列をコードするDNAフラグメントを、従来の技法に従って、例えば、連結のための平滑末端または粘着(stagger)末端、適切な末端を提供するための制限酵素消化、必要に応じて粘着(cohesive)末端のフィルイン、所望しない連結を避けるためのアルカリホスファターゼ処理、および酵素的連結を採用することにより、インフレームで一緒に連結する。別の実施形態では、融合遺伝子を、自動化DNA合成機を含む従来技法により合成し得る。あるいは、遺伝子フラグメントのPCR増幅を、キメラ遺伝子配列を生成するために次いでアニールおよび再増幅され得る、2つの連続遺伝子フラグメント間の相補的オーバハングを生じるアンカープライマーを用いて実施し得る（例えば、Ausbelら（編）CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、John Wiley & Sons、1992を参照のこと）。さらに、融合成分（例えば、GSTポリペプチド）をすでにコードした多くの発現ベクターが市販されている。SECXをコードする核酸は、この融合成分がSECXタンパク質にインフレーム連結されるように、このような発現ベクター中にクローン化され得る。

【0148】

本発明はまた、種々のSECXポリペプチド由来のシグナル配列を提供する。このシグナル配列は、例えば、上記の、SECXポリペプチドのためのSignalPソフトウェアプログラムにより推定されるSECXポリペプチドについて同定されるシグナルペプチドを含むポリペプチドを含む。これらのシグナル配列は、所望の細胞内または細胞外（細胞からの分泌が所望される場合）位置に連結されたポリペプチド配列を指向させるために有用である。いくつかの実施形態で

は、このシグナル配列は、連結されたポリペプチドを所望の細胞内区画に指向させるに十分であるSECXシグナル配列の一部を含む。

【0149】

(SECXアゴニストおよびアンタゴニスト)

本発明はまた、SECXアゴニスト(模倣物)として、またはSECXアンタゴニストとして機能するSECXタンパク質の改変体に関する。SECXタンパク質の改変体、例えば、SECXタンパク質の離散した点変異または短縮型が、変異誘発により生成され得る。SECXタンパク質のアゴニストは、天然に存在する形態のSECXタンパク質と実質的に同じ生物学的活性、またはその生物学的活性のサブセットを保持し得る。SECXタンパク質のアンタゴニストは、天然に存在する形態のSECXタンパク質の1つ以上の活性を、例えば、SECXタンパク質を含む細胞シグナル伝達カスケードの下流または上流メンバーに競合的に結合することにより阻害し得る。従って、特異的生物学的効果が、限られた機能の改変体を用いた処理により惹起され得る。1つの実施形態では、このタンパク質の天然に存在する形態の生物学活性のサブセットを有する改変体を用いた被験体の処置は、SECXタンパク質の天然に存在する形態を用いた処置に対して被験体におけるより少ない副作用を有する。

【0150】

SECXアゴニスト(模倣物)として、またはSECXアンタゴニストのいずれかとして機能するSECXタンパク質の改変体は、SECXタンパク質アゴニストまたはアンタゴニスト活性のためのSECXタンパク質の変異体、例えば短縮型変異体のコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることにより同定され得る。1つの実施形態では、SECX改変体の多彩なライブラリーは、核酸レベルのコンビナトリアル変異誘発により生成され、そして多彩な遺伝子ライブラリーによりコードされる。SECX改変体の多彩なライブラリーは、例えば、合成オリゴヌクレオチドの混合物を、潜在的なSECX配列の縮重セットが、個々のポリペプチドとして、あるいは、その中にSECX配列のセットを含む(例えば、ファージディスプレイのための)より大きな融合タンパク質のセットとして発現可能であるように、酵素的に連結することにより産生され得る。縮重オ

リゴヌクレオチド配列から潜在的なSECX変体のライブラリーを産生するために用いられ得る種々の方法がある。縮重遺伝子配列の化学的合成は、自動化DNA合成機中で実施され得、次いでこの合成遺伝子は、適切な発現ベクター中に連結される。遺伝子の縮重セットの使用は、1つの混合物において、潜在的なSECX配列の所望のセットをコードする配列のすべての供給量を可能にする。縮重オリゴヌクレオチドを合成する方法は当該分野で公知である(例えば、Narang(1983)Tetrahedron 39:3;Itakuraら(1984)Annu Rev Biochem 53:323;Itakuraら(1984)Science 198:1056;Ikeら(1983)Nucleic Acid Res 11:477)。

【0151】

(ポリペプチドライブラリー)

さらに、SECXタンパク質コード配列のフラグメントのライブラリーを用いて、SECXタンパク質の変体のスクリーニングおよび引き続く選択のためのSECXフラグメントの多彩な集団を生成し得る。1つの実施形態では、コード配列フラグメントのライブラリーは、SECXコード配列の二本鎖PCRフラグメントを、1分子あたり約1つのみのニックが生じる条件下、ヌクレアーゼで処理すること、二本鎖DNAを変性させること、異なるニック産物からのセンス/アンチセンス対を含み得る二本鎖を形成するためにこのDNAを再生すること、S1ヌクレアーゼを用いた処理により再形成された二本鎖から一本鎖部分を除去すること、および得られるフラグメントライブラリーを発現ベクター中に連結することにより生成し得る。この方法により、SECXタンパク質の種々のサイズのN末端および内部フラグメントをコードする発現ライブラリーが派生し得る。

【0152】

点変異または短縮により作成されたコンビナトリアルライブラリーの遺伝子産物をスクリーニングするため、選択された性質を有する遺伝子産物のcDNAライブラリーをスクリーニングするためのいくつかの技法が当該分野で公知である。このような技法を、SECXタンパク質のコンビナトリアル変異誘発により生成された遺伝子ライブラリーの迅速スクリーニングに適用可能である。大きな遺

伝子ライブラリーをスクリーニングするための、高スループット分析に適した最も広く用いられる技法は、代表的には、遺伝子ライブラリーを複製可能な発現ベクター中にクローニングすること、得られるベクターのライブラリーで適切な細胞を形質転換すること、およびこのコンビナトリアル遺伝子を、所望の活性の検出が、その産物が検出された遺伝子をコードするベクターの単離を容易にする条件下で発現することを含む。ライブラリー中の機能的変異体の頻度を増大する新規技法であるリクルーシブエンセブル変異誘発 (REM) を、スクリーニングアッセイと組み合わせて用い、SECX 変異体を同定し得る (Arklin および Yourvan (1992) PNAS 89:7811-7815; Delgrave ら (1993) Protein Engineering 6:327-331)。

【0153】

1つの実施形態では、細胞を基礎にしたアッセイを開発して、多彩な SECX ライブラリー、例えば、変異体 SECX ポリペプチドのライブラリーを分析し得る。例えば、発現ベクターのライブラリーを、通常、SECX 依存様式 (例えば、シグナル伝達複合体による) で特定のリガンドまたはレセプターに応答する細胞株中にトランスフェクトし得る。次いでトランスフェクトされた細胞を、推定の SECX 相互作用体と接触させ、そしてシグナル伝達複合体によるシグナル伝達に対する変異体 SECX の発現の影響を、例えば、細胞活性または細胞生存を測定することにより検出し得る。次いで、プラスミド DNA を、阻害、あるいは例えばサイトカイン誘導の能力をスコアする細胞から回収し、そして個々のクローンをさらに特徴付け得る。

【0154】

(抗 SECX 抗体)

本発明は、本発明の任意のポリペプチドに免疫特異的に結合する、 F_{ab} または $(F_{ab})_2$ のような抗体または抗体フラグメントを包含する。

【0155】

単離された SECX タンパク質、またはその部分もしくはフラグメントは、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体調製のための標準的な技法を用いて

、SECXに結合する抗体を生成するための免疫原として用いられ得る。完全長のSECXタンパク質が用いられ得るが、あるいは、本発明は、免疫原としての使用のためのSECXの抗原性ペプチドフラグメントを提供する。SECXの抗原性ペプチドは、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、75、77、79および81、それに加えて30および32で示されるアミノ酸配列の少なくとも4アミノ酸残基を含み、そしてこのペプチドに対して惹起された抗体がSECXと特異的な免疫複合体を形成するように、SECXのエピトープを含む。好ましくは、この抗原性ペプチドは、少なくとも6、8、10、15、20、または30のアミノ酸残基を含む。より長い抗原性ペプチドが、使用および当業者に周知の方法により依存して、より短い抗原性ペプチドよりもしばしば好適である。

【0156】

本発明の特定の実施形態では、抗原性ペプチドにより包含される少なくとも1つのエピトープは、SECXタンパク質の表面上に位置する領域、例えば、親水性領域である。ヒトSECXタンパク質配列の疎水性分析は、SECXポリペプチドのどの領域が特に親水性であり、そしてそれ故、抗体産生を標的にするために有用な表面残基をコードするようであることを示す。抗体産生を標的にする手段として、親水性および疎水性の領域を示すヒドロパシープロットを、例えば、フリーエ変換とともにまたはなしの、Kyte DoolittleまたはHopp Woods法を含む、当該分野で周知の任意の方法により生成し得る。例えば、それらの全体が本明細書に参考として援用される、HoppおよびWoods、1981、Proc. Nat. Acad. Sci. USA 78:3824-3828; KyteおよびDoolittle 1982、J. Mol. Biol. 157:105-142を参照のこと。

【0157】

本明細書で開示されるように、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、75、77、79および81、それに加えて30および32のSECXタンパク質配列、またはその誘導体、フラグメント、アナログもしくは相同体を、これらのタンパク質成分に免疫特異的に

結合する抗体の生成における免疫原として利用し得る。本明細書で用いる用語「抗体」は、免疫グロブリン分子、および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、すなわち、SECXのような抗原に特異的に結合（免疫反応）する抗原結合部位を含む分子をいう。このような抗体は、制限されずに、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、単鎖抗体、FabおよびF_{(ab')₂}フラグメント、およびF_{ab}発現ライブラリーを含む。特定の実施形態では、ヒトSECXタンパク質に対する抗体が開示される。当該分野で公知の種々の手順が、SECXタンパク質配列、またはその誘導體、フラグメント、アナログもしくは相同体に対するポリクローナルまたはモノクローナル抗体の産生のために用いられ得る。これらのタンパク質のいくつかを以下で論議する。

【0158】

ポリクローナル抗体の産生のために、種々の適切な宿主動物（例えば、ウサギ、ヤギ、マウスまたはその他の哺乳動物）を、ネイティブタンパク質、またはその合成改変体、または前述の誘導體での注射により免疫化し得る。適切な免疫原調製物は、例えば、組換えにより発現されたSECXタンパク質または化学的に合成されたポリペプチドを含有し得る。この調製物は、アジュバントをさらに含み得る。免疫学的応答を増大するために用いられる種々のアジュバントは、制限されずに、フロイントの完全および不完全アジュバント、ミネラルゲル（例えば、水酸化アルミニウム）、表面活性物質（例えば、リゾレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、オイルエマルジョン、ジニトロフェノールなど）、Bacille Calmette - GuerinおよびCorynebacterium parvumのようなヒトアジュバント、または類似の免疫刺激剤を含む。所望であれば、SECXに対して惹起された抗体分子は、哺乳動物（例えば、血液）から単離され、そしてさらに、IgGフラクションを得るためのプロテインAクロマトグラフィーのような、周知の技法により精製され得る。

【0159】

本明細書で用いられる用語「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」は、SECXの特定のエピトープと免疫反応し得る抗原結合部位の特

定の1種のみを含む抗体分子の集団をいう。従って、代表的には、モノクローナル抗体組成物は、それと免疫反応する特定のSECXタンパク質に対し、単一の結合親和性を示す。特定のSECXタンパク質配列、またはその誘導體、フラグメント、アナログもしくは相同体に対して惹起されたモノクローナル抗体の調製には、連続的な細胞株培養による抗体分子の産生のために提供する任意の技法が利用され得る。このような技法は、制限されずに、ハイブリドーマ技法(Kohler & Milstein, 1975 Nature 256:495-497を参照のこと); トリオーマ技法; ヒトB細胞ハイブリドーマ技法(Kozborら, 1983 Immunol Today 4:72)およびヒトモノクローナル抗体を産生するためのEBVハイブリドーマ技法(Coleら, 1985 MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, Alan R. Liss, Inc. 77-96頁を参照のこと)を含む。ヒトモノクローナル抗体を、本発明の実施において利用し得、そしてヒトハイブリドーマを用いることによるか(Coteら, 1983 Proc Natl Acad Sci USA 80:2026-2030を参照のこと)、またはインビトロでヒトB細胞をエプスタイン-バーウイルスで形質転換することにより(Coteら, 1985 MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, Alan R. Liss, Inc. 77-96頁を参照のこと)産生され得る。上記の引用の各々は、それらの全体が参考として本明細書に援用される。

【0160】

本発明によれば、技法は、SECXタンパク質に特異的な単鎖抗体の産生のために適合され得る(例えば、米国特許第4,946,778号を参照のこと)。さらに、方法は、F_{ab}発現ライブラリーの構築のために適合され得(例えば、Huseら, 1989 Science 246:1275-1281を参照のこと)、SECXタンパク質配列、またはその誘導體、フラグメント、アナログもしくは相同体に対し、所望の特異性を有するモノクローナルF_{ab}フラグメントの迅速かつ有効な同定を可能にする。非ヒト抗体は、当該分野で周知の技法により「ヒト化」され得る。例えば、米国特許第5,225,539号を参照のこと。

SECXタンパク質に対するイディオタイプを含む抗体フラグメントを、当該分野で公知の技法により産生し得、これには、制限されないで：(i)抗体分子のペプシン消化により産生される $F_{(ab')_2}$ フラグメント；(ii) $F_{(ab')_2}$ フラグメントのジスルフィド架橋を還元することにより生成される F_{ab} フラグメント；(iii)抗体分子のパパインおよび還元剤での処理により生成される F_{ab} フラグメントおよび(iv) F_v フラグメントが含まれる。

【0161】

さらに、ヒトおよび非ヒト部分の両方を含むキメラ抗体およびヒト化モノクローナル抗体のような、組換え抗SECX抗体（これらは、標準組換えDNA技術を用いて作製され得る）は、本発明の範囲内である。このようなキメラ抗体およびヒト化モノクローナル抗体は、当該分野で公知の組換えDNA技術により生成され得る。この技術は例えば、以下に記載の方法を用いる：国際出願番号PCT/US86/02269；欧州特許出願番号184,187号；欧州特許出願番号171,496；欧州特許出願番号173,494；PCT国際公開番号WO86/01533；米国特許第4,816,567号；米国特許第5,225,539号；欧州特許出願番号125,023号；Betterら(1988) Science 240:1041~1043；Liuら(1987) PNAS 84:3439~3443；Liuら(1987) J Immunol. 139:3521~3526；Sunら(1987) PNAS 84:214~218；Nishimuraら(1987) Cancer Res 47:999~1005；Woodら(1985) Nature 314:446~449；Shawら(1988) J Natl Cancer Inst 80:1553~1559；Morrison(1985) Science 229:1202~1207；Oiら(1986) BioTechniques 4:214；Jonesら(1986) Nature 321:552~525；Verhoeyanら(1988) Science 239:1534；ならびにBeidlerら(1988) J Immunol 141:4053~4060。上記引用の各々は、それらの全体において参考として本明細書中に援用される。

【0162】

1つの実施形態において、所望の特異性を保有する抗体のスクリーニングのための方法論は、当該分野内で公知の酵素結合抗体免疫吸着アッセイ（ELISA）および他の免疫学的に媒介された技術を含むが、これに限定されない。特定の実施形態において、SECタンパク質の特定のドメインに対して特異的である抗体の選抜は、このようなドメインを所有しているSECタンパク質のフラグメントに結合するハイブリドーマの生成により容易にされる。SECタンパク質、またはそれらの誘導体、フラグメント、アナログまたはホモログ内の上記ドメインについて特異的である抗体がまた、本願明細書において提供される。

【0163】

抗SEC抗体は、SECタンパク質の局在化および/または定量化に関する当該分野で公知の方法において用いられ得る（例えば、適切な生理学的なサンプル内のSECタンパク質のレベルを測定する使用のために、診断的方法における使用のために、タンパク質の画像化における使用のために、など）。所定の実施形態において、SECタンパク質、またはそれらの誘導体、フラグメント、アナログまたはホモログの抗体（抗体由来の結合ドメインを含む）は、薬理的に活性な化合物 [本明細書中、以降において「治療剤」] として利用される。

【0164】

抗SEC抗体（例えば、モノクローナル抗体）は、標準技術（例えばアフィニティークロマトグラフィまたは免疫沈降）によって、SECを単離するために用いられ得る。抗SEC抗体は、細胞からの天然のSEC、そして宿主細胞において発現される組換え的に産生されたSECの精製を容易にし得る。さらに、抗SEC抗体が、（例えば、細胞の溶菌液または細胞上清における）SECタンパク質を検出するために用いられ、SECタンパク質の発現の量およびパターンを評価し得る。抗SEC抗体は、例えば、所定の治療レジメンの有効性を決定するために、臨床試験の手順の一部として組織におけるタンパク質レベルを診断的にモニターするために用いられ得る。検出は、抗体を検出可能物質に連結する（すなわち、物理的に連結する）ことにより容易になり得る。検出可能物質の例としては、種々の酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光材料、生物発光材料および放射性物質が挙げられる。適切な酵素の例としては、西洋ワサビペ

ルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 - ガラクトシダーゼまたはアセチルコリンエステラーゼが挙げられる；適切な補欠分子族複合体の例としては、ストレプトアビジン/ビオチンおよびアビジン/ビオチンが挙げられる；適切な蛍光物質の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミン(dichlorotriazinylamine)フルオレセイン、ダンシルクロリドまたはフィコエリトリンが挙げられる；発光材料の例としては、ルミノールが挙げられる；生物発光材料の例としては、ルシフェラーゼ、ルシフェリンおよびエクオリンが挙げられる；そして、適切な放射性物質の例としては ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S または ^3H が挙げられる。

【0165】

(SECX組換え発現ベクターおよび宿主細胞)

本発明の別の局面は、SECXタンパク質、またはそれらの誘導体、フラグメント、アナログもしくはホモログをコードする核酸を含む、ベクター、好ましくは、発現ベクターに関する。本明細書において使用する場合、用語「ベクター」は、それに連結された別の核酸を輸送し得る核酸分子をいう。1つの型のベクターは、「プラスミド」である。これはさらなるDNAセグメントが連結され得る環状の二本鎖DNAループをいう。他の型のベクターは、ウイルス性ベクターであり、ここでさらなるDNAセグメントが、ウイルスゲノムに連結され得る。特定のベクターは、ベクターが導入される宿主細胞中で自律複製し得る(例えば、細菌性の複製起点を有する細菌ベクター、およびエピソーム性哺乳動物ベクター)。他のベクター(例えば、非エピソーム性哺乳動物ベクター)は、宿主細胞への導入の際、宿主細胞のゲノムに組み込まれ、そして、これにより宿主ゲノムとともに複製される。さらに、特定のベクターは、それらが作動可能に連結される遺伝子の発現を導き得る。このようなベクターは、本明細書において「発現ベクター」と呼ばれる。一般に、組換えDNA技術における有用な発現ベクターは、しばしばプラスミドの形態である。本願明細書において、「プラスミド」および「ベクター」は、プラスミドが最も一般的に用いられる形態のベクターであるので、交換可能に使用され得る。しかし、本発明は、等価の機能を果たす、ウイル

ス性ベクター（例えば、複製欠損レトロウィルス、アデノウィルス、およびアデノ随伴ウィルス）のような、このような他の形態の発現ベクターを含むことを意図する。

【0166】

本発明の組換え発現ベクターは、宿主細胞における核酸の発現に適切な形態の本発明の核酸を含む。これは、組換え発現ベクターが、発現されるべき核酸配列に作動可能に連結されている、発現に用いられるべき宿主細胞に基づいて選択される、1つ以上の調節配列を含むことを意味する。組換え発現ベクター内で、「作動可能に連結する」とは、目的のヌクレオチド配列が、（例えば、インビトロの転写/翻訳系において、またはベクターが宿主細胞に導入される場合は、宿主細胞において）ヌクレオチド配列の発現を可能にする様式で調節配列に連結されるという意味を意図する。用語「調節配列」は、プロモーター、エンハンサーおよび他の発現制御エレメント（例えば、ポリアデニル化シグナル）を含むことを意図する。このような調節配列は、例えば、Goeddel; GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185、Academic Press、San Diego、Calif. (1990)に記載されている。調節配列は、多くの型の宿主細胞においてヌクレオチド配列の構成的発現を指向する配列、および特定の宿主細胞のみにおいてヌクレオチド配列の発現を指向する配列（例えば、組織特異的調節配列）を含む。発現ベクターの設計が形質転換されるべき宿主細胞の選択、所望のタンパク質の発現のレベルなどのような因子に依存し得ることは当業者には明白である。本発明の発現ベクターは、宿主細胞に導入され得、それにより、本明細書に記載される核酸によりコードされるタンパク質またはペプチド（融合タンパク質またはペプチドを含む）（例えば、SECXタンパク質、またはSECXの変異形態、融合タンパク質など）を生成し得る。

【0167】

本発明の組換え発現ベクターは、原核生物細胞または真核生物細胞における、SECX発現のために設計され得る。例えば、SECXは、細菌細胞（例えば、E. coli）、昆虫細胞（バキュロウィルス発現ベクターを用いる）、酵母細

胞または哺乳動物細胞において発現され得る。適切な宿主細胞は、Goedde l ; GENE EXPRESSION TECHNOLOGY : METHODS IN ENZYMOLOGY 185、Academic Press、San Diego、Calif. (1990) にさらに考察されている。あるいは、組換え型発現ベクターは、例えば、T7プロモーター調節配列およびT7ポリメラーゼを用いて、インビトロで転写および翻訳され得る。

【0168】

原核生物におけるタンパク質の発現は、最も頻繁には、融合タンパク質または非融合タンパク質のいずれかの発現を指向する構成的プロモーターまたは誘導性プロモーターを含むベクターを有するE. coliにおいて実行される。融合ベクターは、そこにコードされるタンパク質に、通常、組換えタンパク質のアミノ末端に、多数のアミノ酸を付加する。このような融合ベクターは、代表的には、以下の3つの目的のために役立つ：(1) 組換えタンパク質の発現を増加させること；(2) 組換えタンパク質の可溶性を増加させること；および(3) アフィニティー精製においてリガンドとして作用することによって組換えタンパク質の精製の際に補助すること。しばしば、融合発現ベクターにおいて、タンパク質分解の切断部位が、融合部分の結合部に導入され、そしてこの組換えタンパク質により、融合タンパク質の精製の後に融合部分から組換えタンパク質を分離することが可能になる。このような酵素、およびその同族の認識配列は、第Xa因子、トロンピン、およびエンテロキナーゼを含む。代表的な融合発現ベクターとしては、グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)、マルトース結合タンパク質、またはプロテインAを、それぞれ、標的の組換えタンパク質に融合するpGEX (Pharmacia Biotech Inc.; Smith and Johnson (1988) Gene 67:31-40)、pMAL (New England Biolabs, Beverly, Mass.) およびpRIT5 (Pharmacia, Piscataway, N.J.) が挙げられる。

【0169】

適切な誘導性非融合E. coli発現ベクターの例には、pTrc (Amra

nnら(1988)Gene 69:301-315)およびpET 11d(Studierら、GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185, Academic Press, San Diego, Calif.(1990)60-89)が挙げられる。

【0170】

E.coliにおける組換えタンパク質発現を最大化するための1つの戦略は、組換えタンパク質をタンパク質分解的に切断する能力が損なわれた宿主細菌中でタンパク質を発現することである。Gottesman, GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185, Academic Press, San Diego, Calif.(1990)119-128を参照のこと。別の戦略は、各アミノ酸についての個々のコドンが、E.coliにおいて優先的に利用されるコドンであるように発現ベクターに挿入される核酸の核酸配列を変更することである(Wadara(1992)Nucleic Acids Res. 20:2111-2118)。本発明のこのような核酸配列の変更は、標準的なDNA合成技術によって実行され得る。

【0171】

別の実施形態において、SECX発現ベクターは、酵母発現ベクターである。酵母S.cerevisiaeにおける発現のためのベクターの例には、pYepSec1(Baldariら、(1987)EMBO J 6:229-234)、pMFa(KurjanおよびHerskowitz、(1982)Cell 30:933-943)、pJRY88(Schultzら、(1987)Gene 54:113-123)、pYES2(Invitrogen Corporation, San Diego, Calif.)、およびpicZ(Invitrogen Corp., San Diego, Calif.)が挙げられる。

【0172】

あるいは、SECXは、バキュロウイルス発現ベクターを使用して、昆虫細胞

中で発現され得る。培養昆虫細胞（例えば、SF9細胞）中でのタンパク質の発現のために利用可能なバキュロウイルスベクターには、pAcシリーズ（Smithら（1983）Mol Cell Biol 3:2156-2165）およびpVLシリーズ（LucklowおよびSummers（1989）Virology 170:31-39）が挙げられる。

【0173】

なお別の実施形態において、本発明の核酸は、哺乳動物発現ベクターを使用して、哺乳動物細胞中で発現される。哺乳動物発現ベクターの例には、pCDM8（Seed（1987）Nature 329:840）およびpMT2PC（Kaufmanら（1987）EMBO J 6:187-195）が挙げられる。哺乳動物細胞中で使用される場合、発現ベクターの制御機能は、しばしば、ウイルスの調節エレメントによって提供される。例えば、一般に使用されるプロモーターは、ポリオーマ、アデノウイルス2、サイトメガロウイルス、およびシミアンウイルス40に由来する。原核生物細胞および真核生物細胞の両方のための他の適切な発現系については、例えば、Sambrookら、MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL. 第2版、Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989の第16章および第17章を参照のこと。

【0174】

別の実施形態において、組換え哺乳動物発現ベクターは、特定の細胞型（例えば、組織特異的調節エレメントを使用して核酸を発現する）中で優先的に核酸の発現を指向し得る。組織特異的調節エレメントは、当該分野で公知である。適切な組織特異的なプロモーターの非限定的な例には、アルブミンプロモーター（肝臓特異的；Pinkertら（1987）Genes Dev 1:268-277）、リンパ特異的プロモーター（CalameおよびEaton（1988）Adv Immunol 43:235-275）、T細胞レセプターの特定のプロモーターにおいて（WinotoおよびBaltimore（1989）

EMBO J 8:729-733) および免疫グロブリンの特定のプロモーターにおいて (Banerjiら (1983) Cell 33:729-740; QueenおよびBaltimore (1983) Cell 33:741-748)、ニューロン特異的プロモーター (例えば、ニューロフィラメントプロモーター; ByrneおよびRuddle (1989) PNAS 86:5473-5477)、膵臓特異的プロモーター (Edlundら (1985) Science 230:912-916)、ならびに乳腺特異的プロモーター (例えば、ミルク乳清プロモーター; 米国特許第4,873,316号および欧州出願公開第264,166号) が挙げられる。発生的に調節されるプロモーターもまた含まれる (例えば、マウスホックス (murine hox) プロモーター (KesselおよびGruss (1990) Science 249:374-379) およびa-フェトプロテインプロモーター (CampeoおよびTilghman (1989) Genes Dev 3:537-546))。

【0175】

本発明はさらに、アンチセンス方向で発現ベクターにクローニングされた本発明のDNA分子を含む組換え発現ベクターを提供する。すなわち、そのDNA分子は、SECX mRNAに対するアンチセンスであるRNA分子の発現 (DNA分子の転写によって) を可能にする様式で調節配列に作動可能に連結される。調節配列は、種々の細胞型においてアンチセンスRNA分子の連続的な発現を指向する、アンチセンス方向でクローニングされた核酸に作動可能に連結される調節配列 (ウイルスプロモーターおよび/もしくはエンハンサー) が選択され得るか、または例えば、アンチセンスRNAの構成的発現、組織特異的発現、または細胞特異的発現を指向する調節配列が、選択され得る。アンチセンス発現ベクターは、組換えプラスミド、ファージミド、または弱毒化されたウイルスの形態であり得、ここではアンチセンス核酸は、高効率調節領域の制御下で産生され、その活性は、ベクターが導入される細胞型によって決定され得る。アンチセンス遺伝子を使用する遺伝子発現の調節の議論については、Weintraubら、「Antisense RNA as a molecular tool for genetic analysis」、Reviews - Trends

in Genetics、第1巻(1)1986を参照のこと。

【0176】

本発明の別の局面は、本発明の組換え発現ベクターが導入された宿主細胞に関する。用語「宿主細胞」および「組換え宿主細胞」は、本明細書中で、交換可能に使用される。このような用語は、特定の対象の細胞をいうのみでなく、そのような細胞の子孫または潜在的な子孫をいうことが理解される。変異または環境的影響のいずれかに起因して、特定の改変が次の世代において生じ得るので、このような子孫は、実際、親の細胞と同一でないかもしれないが、なお、本明細書中で使用されるような用語の範囲内に含まれる。

【0177】

宿主細胞は、任意の原核生物細胞または真核生物細胞であり得る。例えば、SEXタンパク質は、細菌細胞(例えば、E. coli)、昆虫細胞、酵母または哺乳動物細胞(例えば、チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)またはCOS細胞)で発現され得る。他の適切な宿主細胞は、当業者に公知である。

【0178】

ベクターDNAは、従来的な形質転換またはトランスフェクション技術を介して原核生物細胞または真核生物細胞に導入され得る。本明細書中で使用される場合、用語「形質転換」および「トランスフェクション」とは、外来性の核酸(例えば、DNA)を宿主細胞に導入するための当該分野で認識される種々の技術をいうことを意図し、これらには、リン酸カルシウムまたは塩化カルシウム共沈殿、DEAEデキストラン媒介トランスフェクション、リポフェクション、またはエレクトロポレーションが含まれる。宿主細胞を形質転換またはトランスフェクションするための適切な方法は、Sambrookら(MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL、第2版、Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989)および他の実験室マニュアルに見出され得る。

【0179】

安定な哺乳動物細胞のトランスフェクションのために、使用される発現ベクターおよびトランスフェクション技術に依存して、細胞のほんの一部のみが外来DNAをそのゲノムに組み込み得ることが知られている。これらの要素を同定および選択するために、選択マーカー（例えば、抗生物質に対する耐性）をコードする遺伝子が、一般的には目的の遺伝子とともに宿主細胞に導入される。種々の選択マーカーには、薬物（例えば、G418、ハイグロマイシン、およびメトトレキサート）に対する耐性を付与するものが含まれる。選択マーカーをコードする核酸は、SECXをコードするベクターと同じベクター上で宿主細胞に導入され得るか、あるいは別々のベクター上で導入され得る。導入された核酸で安定にトランスフェクトされた細胞は、薬物選択によって同定され得る（例えば、選択マーカー遺伝子を取り込んだ細胞は生存し、一方他の細胞は死滅する）。

【0180】

本発明の宿主細胞（例えば、培養中の原核生物宿主細胞および真核生物宿主細胞）は、SECXタンパク質を産生（すなわち、発現）するために使用され得る。従って、本発明はさらに、本発明の宿主細胞を使用して、SECXタンパク質を産生するための方法を提供する。1つの実施形態において、本発明の方法は、SECXタンパク質が産生されるような適切な培地中で、本発明の宿主細胞（ここに、SECXをコードする組換え発現ベクターが導入された）を培養する工程を包含する。別の実施形態において、本発明はさらに、培地または宿主細胞からSECXを単離する工程を包含する。

【0181】

（トランスジェニック動物）

本発明の宿主細胞はまた、非ヒトトランスジェニック動物を作製するために使用され得る。例えば、1つの実施形態において、本発明の宿主細胞は、SECXコード配列が導入された、受精した卵母細胞または胚性幹細胞である。次いで、このような宿主細胞は、外因性のSECX配列がそのゲノムに導入された非ヒトトランスジェニック動物、または内因性のSECX配列が変更された相同組換え動物を作製するために使用され得る。このような動物は、SECXの機能および/または活性を研究するため、ならびにSECX活性のモジュレーターを同定お

よび/または評価するために有用である。本明細書中で使用される場合、「トランスジェニック動物」とは、非ヒト動物であり、好ましくは哺乳動物であり、より好ましくは、ラットまたはマウスのような齧歯類であり、その動物の1つ以上の細胞が、導入遺伝子を含む。トランスジェニック動物の他の例としては、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ヤギ、ニワトリ、両生類などが挙げられる。導入遺伝子は、細胞(この細胞からトランスジェニック動物が発生する)のゲノムに組み込まれかつ成熟動物のゲノムに残存する、外因性のDNAであり、それによって、トランスジェニック動物の1つ以上の細胞型または組織においてコードされた遺伝子産物の発現を指示する。本明細書中で使用される場合、「相同組換え動物」とは、非ヒト動物であり、好ましくは哺乳動物であり、より好ましくはマウスであり、ここで内因性のSECX遺伝子は、内因性の遺伝子と、その動物の発生の前にその動物の細胞(例えば、その動物の胚細胞)に導入された外因性のDNA分子との間の相同組換えによって変更されている。

【0182】

本発明のトランスジェニック動物は、SECXをコードする核酸を、例えば、マイクロインジェクション、レトロウイルス感染によって、受精した卵母細胞の雄性前核に導入すること、および卵母細胞が偽妊娠した雌性養育動物(foster animal)中で発生することを可能にすることによって作製され得る。ヒトのSECX cDNAは、非ヒト動物のゲノムに導入遺伝子として導入され得る。あるいは、ヒトのSECX遺伝子の非ヒトホモログ(例えば、マウスのSECX遺伝子)は、ヒトのSECX cDNAに対するハイブリダイゼーションに基づいて単離され得(以下にさらに記載される)、そして導入遺伝子として使用され得る。イントロン配列およびポリアデニル化シグナルもまた導入遺伝子中に含まれ得、その導入遺伝子の発現の効率を増大させ得る。組織特異的調節配列(単数または複数)は、特定の細胞に対して、SECXタンパク質の発現を指示するように、SECX導入遺伝子に作動可能に連結される。胚の操作およびマイクロインジェクションを介するトランスジェニック動物(特に、マウスのような動物)を生成するための方法は、当該分野で慣習的になっており、そして例えば、米国特許第4,736,866号;同第4,870,009号;および同第

4, 873, 191号; ならびにHogan 1986、MANIPULATING THE MOUSE EMBRYO, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. に記載されている。同様の方法は、他のトランスジェニック動物の作製のために使用される。トランスジェニック初代 (founder) 動物は、そのゲノムにおけるSECX導入遺伝子の存在および/またはその動物の組織または細胞中のSECX mRNAの発現に基づいて同定され得る。次いで、トランスジェニック初代動物は、導入遺伝子を有するさらなる動物を繁殖させるために使用され得る。さらに、SECXをコードする導入遺伝子を有するトランスジェニック動物は、さらに、他の導入遺伝子を有する他のトランスジェニック動物に繁殖させ得る。

【0183】

相同組換え動物を作製するために、SECX遺伝子の少なくとも一部を含むベクターを調製する。この遺伝子において、欠失、付加、または置換が導入されて、それによってそのSECX遺伝子が増加されている(例えば、機能的に破壊される)。SECX遺伝子はヒト遺伝子(例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78および80、ならびに29および31のcDNA)であり得るが、より好ましくは、ヒトのSECX遺伝子の非ヒトホモログである。例えば、配列番号29のヒトのSECX遺伝子のマウスホモログは、マウスゲノムにおいて内因性のSECX遺伝子を変更するのに適切な相同組換えベクターを構築するために使用され得る。1つの実施形態において、そのベクターは、相同組換えに際して、その内因性のSECX遺伝子が、機能的に破壊されるように設計される(すなわち、機能的タンパク質をもはやコードしない; 「ロックアウト」ベクターともいわれる)。

【0184】

あるいは、このベクターは、相同組換えに対して、内因性SECX遺伝子が増変されるか、あるいはさもなければ、変更されるが、なお機能的タンパク質をコードするように、設計され得る(例えば、上流の調節領域が増変され、それによって内因性SECXタンパク質の発現を増変し得る)。相同組換えベクターにお

いて、SECX遺伝子の変更された部分は、SECX遺伝子のさらなる核酸によって、その5'末端および3'末端で隣接され、相同組換えが、ベクターによって保有される外因性SECX遺伝子と胚幹細胞中の内因性SECX遺伝子との間で起こることを可能にする。さらなる隣接するSECX核酸は、内因性遺伝子との首尾よい相同組換えのために十分な長さである。典型的に、数キロベースの隣接するDNA(5'末端および3'末端の両方における)が、ベクターに含まれる。例えば、相同組換えベクターの記述についてThomasら(1987)Cell 51:503を参照のこと。このベクターは、(例えば、エレクトロポレーションによって)胚幹細胞株に導入され、導入されたSECX遺伝子が内因性SECX遺伝子と相同組換えした細胞が、選択される(例えば、Liら(1992)Cell 69:915を参照のこと)。

【0185】

次いで、選択された細胞が、動物(例えば、マウス)の胚盤胞へ注入され、凝集キメラを形成する。例えば、Bradley(1987)のTeratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach、Robertson編、IRL、Oxford、113頁~152頁を参照のこと。次いで、キメラ胚が、適切な偽妊娠雌性養育動物に移植され得、そしてその胚は分娩に到る。その生殖細胞中に相同組換えされたDNAを保有する子孫が、動物を繁殖させるために使用され得、この動物の全ての細胞は、導入遺伝子の生殖系列伝達による、相同組換えされたDNAを含む。相同組換えベクターおよび相同組換え動物を構築するための方法が、さらに以下に記載される; Bradley(1991)Curr Opin Biotechnol 2:823-829; PCT国際公開番号: WO90/11354; WO91/01140; WO92/0968; およびWO/93/04169。

【0186】

別の実施形態において、導入遺伝子の調節された発現を可能にする選択された系を含む非ヒトトランスジェニック動物が産生され得る。このような系の1つの例は、バクテリオファージP1のcre/loxPリコンビナーゼ系である。c

re/loxPリコンビナーゼ系の記述については、例えば、Laksor(1992)PNAS 89:6232-6236を参照のこと。リコンビナーゼ系の別の例は、Saccharomyces cerevisiaeのFLPリコンビナーゼ系である(O'Gormanら(1991)Science 251:1351-1355)。cre/loxPリコンビナーゼ系が導入遺伝子の発現を調節するために使用される場合、Creリコンビナーゼおよび選択されたタンパク質の両方をコードする導入遺伝子を含む動物が必要となる。このような動物は、例えば、2種のトランスジェニック動物(一方は選択されたタンパク質をコードした導入遺伝子を含み、他方はリコンビナーゼをコードした導入遺伝子を含む)を交配することによる「二重の」トランスジェニック動物の構築によって提供され得る。

【0187】

本明細書中に記載されるトランスジェニック非ヒト動物のクローンがまた、Wilmutら(1997)Nature 385:810-813に記載される方法に従って、産生され得る。簡単には、トランスジェニック動物からの細胞(例えば、体細胞)は単離および誘導される、増殖サイクルから出、そしてG₀フェーズに入り得る。次いで、静止性細胞が、例えば、電気パルスの使用により、その静止性細胞が単離される同種の動物から摘出された卵母細胞へ融合され得る。次いで、この再構築された卵母細胞は培養され、これにより、これは桑実胚または未分化胚芽細胞に発達し、次いで、偽妊娠雌性養育動物に移される。この雌性養育動物から生まれた子孫は、その細胞(例えば、その体細胞)が単離された動物のクローンである。

【0188】

(薬学的組成物)

本発明のSECX核酸分子、SECXタンパク質、および抗SECX抗体(これはまた、本明細書中で、「活性な化合物」とも呼ばれる)、ならびにそれらの誘導體、フラグメント、アナログ、および相同体が、投与に適した薬学的組成物に組み込まれ得る。このような組成物は、典型的に、核酸分子、タンパク質または抗体、および薬学的に受容可能なキャリアを含む。本明細書中で使用される場

合、「薬学的に受容可能なキャリア」は、薬学的な投与に適合した、任意および全ての溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤 (delaying agent) などを含むことが意図される。このようなキャリアは、Remington's Pharmaceutical Sciences (当該分野の標準的参考文献) (本明細書中に参考として援用される) の最新版に記載される。このようなキャリアまたは希釈剤の好ましい例としては、水、生理食塩水、finger 溶液、デキストロース溶液、および5% ヒト血清アルブミンが挙げられるが、これらに限定されない。リポソームおよび非水性ビヒクル (例えば、不揮発性油) もまた、使用され得る。薬学的に活性な物質におけるこのような媒体および薬剤の使用は、当該分野で周知である。任意の従来の媒体または薬剤が活性な化合物と不適合である範囲を除いて、組成物におけるその使用が考慮される。補助活性化合物はまた、組成物へ組み込まれ得る。

【0189】

本発明の薬学的組成物は、その意図される投与の経路と適合するように処方される。投与の経路の例には、非経口 (例えば、静脈、皮内、皮下) 投与、経口 (例えば、吸入) 投与、経皮 (局所的) 投与、経粘膜 (transmucosal) 投与、および直腸投与が挙げられる。非経口適用、皮内適用または皮下適用のために使用される溶液または懸濁液は、以下の成分を含み得る：注射用水、生理食塩水溶液、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒のような、滅菌希釈剤；ベンジルアルコールまたはメチルパラベンのような、抗菌剤；アスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウムのような、抗酸化剤；エチレンジアミン四酢酸のような、キレート剤；酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩のような、緩衝液、および塩化ナトリウムまたはデキストロースのような、張度の調節のための薬剤。pHは、塩酸または水酸化ナトリウムのような酸または塩基で調整され得る。非経口調製物は、アンプル、使い捨てシリンジ、あるいはガラスまたはプラスチックから作製される多用量のバイアル中に入れられ得る。

【0190】

注入使用に適した薬学的組成物は、滅菌水性溶液（ここで、水溶解性）または分散液、および滅菌の注入可能な溶液または分散液の即座の調製のための滅菌粉末を含む。静脈投与において、適切なキャリアには、生理食塩水、静菌水、Cremophor EL™（BASF、Parsippany、N.J.）またはリン酸塩緩衝化生理食塩水（PBS）が挙げられる。全ての場合において、組成物は、滅菌性でなければならず、そして容易な注入性（syringability）が存在する程度に流動性であるべきである。これは、製造および保存の条件下で安定でなければならず、そして、細菌および真菌のような微生物の汚染行為に対して保護されるべきである。このキャリアは、例えば、以下を含む溶媒または分散媒であり得る：水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）ならびにそれらの適切な混合物。適切な流動性が、例えば、レシチンのようなコーティングの使用によって、分散液の場合に、要求される粒子サイズを維持することによって、および界面活性剤を使用することによって維持され得る。微生物の作用の防止は、種々の抗菌剤および抗真菌剤（例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなど）によって達成され得る。多くの場合、組成物中に等張剤（例えば、砂糖、ポリアルコール（例えば、マンニトール（mannitol）、ソルビトール）塩化ナトリウム）を含むことが好ましい。注入可能組成物の長時間吸収は、組成物に吸収を遅らせる薬剤（例えば、アルミニウムモノステアレートおよびゼラチン）を含ませることによってもたらされ得る。

【0191】

滅菌注射可能溶液は、必要量のこの活性化合物（例えば、SECXタンパク質あるいは抗SECX抗体）を、適切な溶媒中に、上記で列挙される成分の1つまたは組み合わせと共に組み込み、必要な場合、続いて濾過滅菌することによって調製され得る。一般的に、分散液は、活性化合物を、塩基性分散媒および上記で列挙される成分から必要とされる他の成分を含む滅菌ビヒクル中へ組み込むことによって調製される。滅菌注射可能液剤の調製のための滅菌散剤の場合において、調製方法は、真空乾燥および凍結乾燥であり、これにより、活性成分および

既に滅菌濾過されたその液剤からの任意のさらなる所望の成分の散剤を得る。

【0192】

経口組成物は、一般的に、不活性希釈剤または食用キャリアを含む。これらは、ゼラチンカプセルに封入され得るか、または錠剤へと圧縮され得る。経口治療投与の目的のために、この活性化合物は、賦形剤とともに組み込まれ得、そして錠剤、トローチ剤、またはカプセル剤の形態で使用され得る。経口組成物はまた、マウスウォッシュとしての使用のために流体キャリアを使用して調製され得、ここで、この流体キャリア中のこの化合物は、経口的に適用され、そしてさっと動かされ、そして吐き出されるか、または飲み込まれる。薬学的に適合性の結合剤、および/またはアジュバント材料が、この組成物の一部として含まれ得る。錠剤、丸剤、カプセル剤、トローチ剤などが、任意の以下の成分または同様の性質を有する化合物を含み得る：結合剤（例えば、微結晶セルロース、ガムトラガントまたはゼラチン）；賦形剤（例えば、デンプンまたはラクトース）、崩壊剤（例えば、アルギン酸）、PrimoGel、またはコーンスターチ）；滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウムまたはSterotes）；滑り剤（glidant）（例えば、コロイド状二酸化ケイ素）；甘味剤（例えば、スクロースまたはサッカリン）；あるいは香味剤（例えば、ペパーミント、サリチル酸メチル、またはオレンジフレーバー）。

【0193】

吸入による投与について、この化合物は、適切な噴霧剤（例えば、二酸化炭素のような気体）を含む圧縮容器またはディスペンサー、あるいは噴霧器から、エアロゾル噴霧の形態で送達される。

【0194】

全身的投与はまた、経粘膜手段または経皮手段により得る。経粘膜投与または経皮投与について、浸透される障壁に適切な浸透剤が、処方物において使用される。このような浸透剤は、一般的に、当該分野で公知であり、そして、例えば、経粘膜投与については、界面活性剤、胆汁酸塩、およびフシジン酸誘導体が挙げられる。経粘膜投与は、鼻噴霧または坐剤の使用によって達成され得る。経皮投与については、この活性化合物は、当該分野で一般的に公知である軟膏剤、軟膏

、ゲル、またはクリーム剤へ処方される。

【0195】

この化合物はまた、直腸送達のための坐剤（例えば、ココアバターおよび他のグリセリドのような従来の坐剤ベースと共に）または貯留（*retention*）浣腸の形態で調製され得る。

【0196】

1つの実施形態において、この活性化化合物は、身体からの迅速な排出に対してこの化合物を保護するキャリアを用いて調製され（例えば、制御放出処方物）、これには、移植片およびマイクロカプセル化された送達系が挙げられる。酢酸エチレンビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸のような、生分解性、生体適合性ポリマーが使用され得る。このような処方物の調製のための方法は、当該業者には明らかである。これらの材料はまた、Alza Corporation and Nova Pharmaceuticals, Inc. から市販され、手に入れることができる。リポソーム懸濁剤（ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体を感染させた細胞へ標的化されるリポソームを含む）がまた、薬学的に受容可能なキャリアとして使用され得る。これらは、例えば米国特許第4,522,811号に記載されるような、当業者に公知の方法に従って調製され得る。

【0197】

投与の容易さおよび投薬量の均一性のために、投薬単位形態で、経口組成物または非経口組成物を処方することが、特に有益である。本明細書で使用される投薬単位形態は、処置される被験体のための単位投薬量として適切な物理的に個々の単位をいい；各単位は、必要とされる薬学的キャリアと関連して所望の治療的効果を生じるように計算された、所定量の活性化化合物を含む。本発明の投薬単位形態についての詳細は、この活性化化合物、および達成される特定の治療効果、ならびに個体の処置のためのこのような活性化化合物を調合する当該分野に固有の制限によって決定されるか、あるいはこれらに直接依存する。

【0198】

本発明の核酸分子は、ベクターに挿入され得、そして遺伝子治療ベクターとし

て使用され得る。遺伝子治療ベクターは、被験体へ、例えば静脈注射、局所投与（米国特許第5,328,470号を参照のこと）によって、または定位注射（例えば、Chenら（1994）PNAS 91:3054-3057を参照のこと）によって送達され得る。遺伝子治療ベクターの薬学的調製物には、受容可能な希釈剤中の遺伝子治療ベクターが挙げられ得、または遺伝子送達ビヒクルが組み込まれる除放性マトリックスが挙げられ得る。あるいは、完全な遺伝子送達ベクターが組換え細胞からインタクトで産生され得（例えば、レトロウイルスベクター）、薬学的調製物は、遺伝子送達系を産生する1以上の細胞を含み得る。

【0199】

薬学的組成物は、投与のための使用説明書と共の容器、包装、またはディスプレイに含まれ得る。

【0200】

（発明の使用および方法）

本明細書中で記載される核酸分子、タンパク質、タンパク質相同体、および抗体は、細胞外ドメインおよび膜貫通ドメインを含み、それ故、以下の1つ以上の方法において使用され得る：（a）スクリーニングアッセイ；（b）検出アッセイ（例えば、染色体マッピング、組織タイピング、法医学生物学）；（c）予測医学（例えば、診断アッセイ、予後アッセイ、臨床試験モニタリング、および薬理ゲノミックス）；ならびに（d）処置の方法（例えば、治療および予防）。SECXタンパク質は、他の細胞性タンパク質と相互作用し、従って、以下のために使用され得る：（i）各タンパク質活性の調節；（ii）細胞増殖の制御；（iii）細胞分化の制御；および（iv）細胞生存の制御。

【0201】

本発明の単離された核酸分子は、以下にさらに説明されるように、SECXタンパク質（例えば、遺伝子治療用途における宿主細胞中の組換え発現ベクター）を発現するため、SECX mRNA（例えば、生物学的サンプルにおいて）またはSECX遺伝子における遺伝子損傷を検出するため、ならびにSECX活性を調節するために使用され得る。さらに、SECXタンパク質は、SECX活性または発現を調節する薬物または化合物をスクリーニングするために、ならびに

SECタンパク質の不十分なもしくは過剰な産生によって、あるいはSEC野生型タンパク質と比較して減少したもしくは異常な活性を有するSECタンパク質形態の産生によって特徴付けられる障害（例えば、ガンまたはプレ克蘭プシア（preclampsia）のような増殖性障害あるいは上記1～14節に記載される任意の疾患または障害）を処置するために使用され得る。さらに、本発明の抗SEC抗体が、SECタンパク質を検出して単離するため、およびSEC活性を調節するために使用され得る。

【0202】

本発明は、さらに、上述のスクリーニングアッセイによって同定される新規の薬剤、および本明細書中で記載されるような処置のためのそれらの使用に関する。

【0203】

（スクリーニングアッセイ）

本発明は、調節因子、すなわち、SECタンパク質に結合するか、あるいは例えば、SECの発現またはSECの活性に対して刺激効果または阻害効果を有する、候補または試験化合物または薬剤（例えば、ペプチド、ペプチド模倣物、小分子または他の薬物）を同定するための方法（本明細書中において「スクリーニングアッセイ」とも称される）を提供する。

【0204】

1実施形態において、本発明は、SECタンパク質またはポリペプチド、あるいはその生物学的に活性な部分の膜結合形態に結合するか、または膜結合形態の活性を調節する、候補化合物もしくは試験化合物をスクリーニングするためのアッセイを提供する。本発明の試験化合物は、当該分野において公知のコンビナトリアルライブラリー法における多数のアプローチの任意のものを使用して得られ得、これには、以下が挙げられる：生物学的ライブラリー；空間的にアクセス可能な平行固相もしくは溶液相ライブラリー；逆重畳を要する合成ライブラリー法；「1ビーズ1化合物」ライブラリー法；およびアフィニティークロマトグラフィー選択を使用する合成ライブラリー法。生物学的ライブラリーアプローチはペプチドライブラリーに限定されるが、他の4つのアプローチは、ペプチド、非

ペプチドオリゴマーもしくは化合物の小分子ライブラリーに適用可能である (Lam (1997) *Anticancer Drug Des* 12:145)。

【0205】

分子ライブラリーの合成のための方法の例は、当該分野において、例えば以下に見出され得る: DeWittら (1993) *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 90:6909; Erbら (1994) *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 91:11422; Zuckermannら (1994) *J Med Chem* 37:2678; Choら (1993) *Science* 261:1303; Carrellら (1994) *Angew Chem Int Ed Engl* 33:2059; Carellら (1994) *Angew Chem Int Ed Engl* 33:2061; および Gallopら (1994) *J Med Chem* 37:1233。

【0206】

化合物のライブラリーは、溶液中で (例えば、Houghten (1992) *BioTechniques* 13:412~421)、あるいはビーズ上 (Lam (1991) *Nature* 354:82~84)、チップ上 (Fodor (1993) *Nature* 364:555~556)、細菌 (Ladner 米国特許第5,223,409号)、孢子 (Ladner USP'409)、プラスミド (Cullら (1992) *Proc Natl Acad Sci USA* 89:1865~1869) またはファージ上 (ScottおよびSmith (1990) *Science* 249:386~390; Devlin (1990) *Science* 249:404~406; Cwirllaら (1990) *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 87:6378~6382; Felici (1991) *J Mol Biol* 222:301~310; Ladner 上記) において示され得る。

【0207】

1実施形態において、アッセイは細胞ベースのアッセイであり、ここで、SECタンパク質、またはその生物学的に活性な部分の膜結合形態を細胞表面上に発現する細胞が、試験化合物と接触され、そしてこの試験化合物が、SECタ

ンパク質に結合する能力が、決定される。例えば、細胞は、哺乳動物起源または酵母細胞であり得る。この試験化合物がSECタンパク質に結合する能力の決定は、例えば、その試験化合物を放射性同位体標識または酵素標識とカップリングさせて、この試験化合物のSECタンパク質またはその生物学的に活性な部分に対する結合が複合体におけるその標識化合物を検出することによって検出され得ることによって、達成され得る。例えば、試験化合物は、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、または ^3H で直接的または間接的のいずれかで標識され得、そしてその放射性同位体が、放射線放射の直接の計数により、またはシンチレーション計数により、検出され得る。あるいは、試験化合物は、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、またはルシフェラーゼで酵素的に標識され得、そしてこの酵素的標識が、適切な基質の生成物への転換を決定することにより、検出され得る。1実施形態において、このアッセイは、SECタンパク質、またはその生物学的に活性な部分の膜結合形態をその細胞表面上に発現する細胞を、SECと結合する公知の化合物と接触させて、アッセイ混合物を形成する工程、このアッセイ混合物を試験化合物に接触させる工程、ならびにこの試験化合物がSECタンパク質と相互作用する能力を決定する工程を包含し、ここでこの試験化合物がSECタンパク質と相互作用する能力を決定する工程が、この試験化合物がSEC、またはその生物学的に活性な部分と、公知の化合物と比較して優先的に結合する能力を決定する工程を包含する。

【0208】

別の実施形態において、アッセイは、細胞ベースのアッセイであり、SECタンパク質またはその生物学的に活性な部分の膜結合形態を細胞表面上で発現する細胞を、試験化合物と接触させる工程、ならびにこの試験化合物が、SECタンパク質またはその生物学的に活性な部分の活性を調節（例えば、刺激または阻害）する能力を決定する工程を包含する。この試験化合物がSEC、またはその生物学的に活性な部分の活性を調節する能力の決定は、例えば、SECタンパク質が、SEC標的分子に結合またはこれら標的分子と相互作用する能力を決定することによって、達成され得る。本明細書中において使用する場合には、「標的分子」とは、SECタンパク質が自然に結合または相互作用する分子

であり、例えば、SECX相互作用タンパク質を発現する細胞の表面の分子、第二の細胞の表面上の分子、細胞外の環境の分子、細胞膜の内部表面と会合する分子、または細胞質分子である。SECX標的分子は、本発明の非SECX分子またはSECXタンパク質またはポリペプチドであり得る。1実施形態において、SECX標的分子は、シグナル伝達経路の構成要素であり、これは、細胞膜を通過して細胞内への細胞外シグナル（例えば、化合物が膜結合SECX分子に結合することにより発生するシグナル）の伝達を促進する。その標的は、例えば、触媒活性を有する第二の細胞内タンパク質または下流シグナル分子のSECXとの会合を容易にするタンパク質であり得る。

【0209】

SECXタンパク質がSECX標的分子に結合するかまたはその標的分子と相互作用する能力の決定は、直接の結合を決定するための上記方法の1つにより、達成され得る。1実施形態において、SECXタンパク質がSECX標的分子に結合するかまたはその標的分子と相互作用する能力の決定は、その標的分子の活性を決定することにより、達成され得る。例えば、この標的分子の活性は、その標的の細胞第二メッセンジャー（すなわち、細胞内 Ca^{2+} 、ジアシルグリセロール、 IP_3 など）の誘導を検出すること、適切な基質の標的の触媒活性/酵素活性を検出すること、レポーター遺伝子（検出可能なマーカー（例えば、ルシフェラーゼ）をコードする核酸に作動的に連結されたSECX応答性調節エレメントを含む）の誘導を検出すること、または細胞応答（例えば、細胞生存度、細胞分化、または細胞増殖）を検出することにより、決定され得る。

【0210】

なお別の実施形態において、本発明のアッセイは、無細胞アッセイであり、SECXタンパク質またはその生物学的に活性な部分を試験化合物に接触させる工程、ならびにその試験化合物がSECXタンパク質またはその生物学的に活性な部分と結合する能力を決定する工程を包含する。この試験化合物の、SECXタンパク質への結合は、上記のように、直接的または間接的にのいずれかで決定され得る。1実施形態において、このアッセイは、SECXタンパク質またはその生物学的に活性な部分を、SECXに結合する公知の化合物に接触させて、アッ

セイ混合物を形成する工程、このアッセイ混合物を試験化合物に接触させる工程、ならびにその試験化合物がSECタンパク質と相互作用する能力を決定する工程を包含し、ここで、この試験化合物がSECタンパク質と相互作用する能力を決定する工程は、この試験化合物が、公知の化合物と比較して、SEC、またはその生物学的に活性な部分と優先的に相互作用する能力を決定する工程を包含する。

【0211】

別の実施形態において、アッセイは、無細胞アッセイであり、SECタンパク質またはその生物学的に活性な部分を試験化合物と接触させる工程、ならびにその試験化合物がSECタンパク質またはその生物学的に活性な部分の活性を調節（例えば、刺激または阻害）する能力を決定する工程を包含する。この試験化合物がSECの活性を調節する能力の決定は、例えば、SECタンパク質が、SEC標的分子に結合する能力を、直接的結合の決定のための上記方法の1つによって決定することにより、達成され得る。代替の実施形態において、この試験化合物がSECの活性を調節する能力の決定は、SECタンパク質が、SEC標的分子をさらに調節する能力を決定することにより、達成され得る。例えば、この標的分子の適切な基質に対する触媒活性/酵素活性は、上に記載のように決定され得る。

【0212】

なお別の実施形態において、無細胞アッセイは、SECタンパク質またはその生物学的に活性な部分を、SECに結合する公知の化合物に接触させてアッセイ混合物を形成する工程、このアッセイ混合物を試験化合物と接触させる工程、ならびにこの試験化合物がSECタンパク質と相互作用する能力を決定する工程を包含し、ここで、この試験化合物がSECタンパク質と相互作用する能力の決定は、SECタンパク質が、SEC標的分子と優先的に結合するか、またはその標的分子の活性を優先的に調節する能力を決定する工程を包含する。

【0213】

本発明の無細胞アッセイは、SECの、可溶性の形態または膜結合形態の両方の使用に受け入れられる。膜結合形態のSECを含む無細胞アッセイの場合

には、SECXの膜結合形態が溶液中に維持されるように、可溶化剤を利用することが望ましくあり得る。このような可溶化剤の例には、非イオン性界面活性剤が挙げられ、例えば、n - オクチルグルコシド、n - ドデシルグルコシド、n - ドデシルマルチド、オクタノイル - N - メチルグルカミド、デカノイル - N - メチルグルカミド、Triton (登録商標) X - 100、Triton (登録商標) X - 114、Thesit (登録商標)、イソトリデシルポリ(エチレングリコールエーテル)_n (Isotridecypoly(ethylene glycol ether)_n)、3 - (3 - コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ - 1 - プロパンスルホネート(3 - (3 - cholamidopropyl)dimethylamminiol - 1 - propane sulfonate) (CHAPS)、3 - (3 - コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ - 2 - ヒドロキシ - 1 - プロパンスルホネート(3 - (3 - cholamidopropyl)dimethylamminiol - 2 - hydroxy - 1 - propane sulfonate) (CHAPSO)、またはN - ドデシル - N , N - ジメチル - 3 - アンモニオ - 1 - プロパンスルホネートである。

【0214】

本発明の上記アッセイ方法の1つより多い実施形態において、SECX、またはその標的分子のいずれかを固定して、そのタンパク質の一方または両方の非複合形態からの複合形態の分離を促進し、そしてそのアッセイの自動化に適用させることが、望ましくあり得る。試験化合物の、SECXへの結合、または候補化合物の存在下および非存在下での、SECXの標的分子との相互作用は、これらの反応物を収容するために適切な任意の容器内で、達成され得る。このような容器の例には、マイクロタイタープレート、試験管、および微小遠心管が挙げられる。1実施形態において、そのタンパク質の一方または両方がマトリックスに結合することを可能にするドメインの付加する融合タンパク質が、提供され得る。例えば、GST - SECX融合タンパク質またはGST標的融合タンパク質は、グルタチオンセファロースビーズ(Sigma Chemical, St. Louis, MO)またはグルタチオン誘導体化マイクロタイタープレート上に吸着され得、次いでこれらは、試験化合物と合わせられるか、あるいは試験化合物お

よび吸着されない標的タンパク質、またはSECXタンパク質のいずれかと合わせられ、そしてこの混合物が、複合体形成に貢献する条件下（例えば、塩およびpHに関して生理学的条件）でインキュベートされる。インキュベーションに続いて、ビーズまたはマイクロタイタープレートウェルを洗浄して、結合していないあらゆる成分を除去し、ビーズの場合にはマトリックスを固定し、例えば上記のように、複合体を直接的または間接的のいずれかで決定する。あるいは、複合体がマトリックスから解離され得、そしてSECXの結合レベルまたは活性レベルを、標準的な技術を使用して決定し得る。

【0215】

タンパク質をマトリックスに固定するための他の技術がまた、本発明のスクリーニングアッセイにおいて使用され得る。例えば、SECX、またはその標的分子のいずれかが、ビオチンとストレプトアビジンとの結合を利用して、固定され得る。ビオチニル化SECX、または標的分子は、当該分野において周知の技術を使用して、ビオチンNHS（N-ヒドロキシスクシンイミド）から調製され得（例えば、ビオチニル化キット、Pierce Chemicals、Rockford、Ill.）、そしてストレプトアビジン被覆した96ウェルのプレート（Pierce Chemical）のウェルに固定され得る。あるいは、SECX、または標的分子と反応性であるがSECXタンパク質のその標的分子への結合を妨害しない抗体が、SECXタンパク質の標的分子への結合を妨害せず、そのプレートのウェルに誘導体化され得、そして結合していない標的またはSECXが、抗体の結合によってウェル内にトラップされ得る。このような複合体を検出するための方法には、GST固定複合体に関する上記のものに加えて、SECX、または標的分子と反応性の抗体を使用する、複合体の免疫検出、ならびにSECX、または標的分子に関する酵素活性の検出に依存する酵素結合アッセイが挙げられる。

【0216】

別の実施形態において、SECX発現のモジュレーターは、細胞を候補化合物と接触させ、そして細胞中のSECX mRNAまたはタンパク質の発現を決定する方法において同定される。候補化合物の存在下でのSECX mRNAまた

はタンパク質の発現レベルは、候補化合物の非存在下でのSECX mRNAまたはタンパク質の発現レベルと比較される。次いで、候補化合物は、この比較に基づいて、SECX発現のモジュレーターとして同定され得る。例えば、SECX mRNAまたはタンパク質の発現が候補化合物の非存在下より、その存在下における方が大きい(統計的に有意に大きい)場合、この候補化合物は、SECX mRNAまたはタンパク質の発現の刺激物質として同定される。あるいは、SECX mRNAまたはタンパク質の発現が候補化合物の非存在下よりその存在下の方が少ない(統計的に有意に少ない)場合、この候補化合物は、SECX mRNAまたはタンパク質の発現のインヒビターとして同定される。細胞中のSECX mRNAまたはタンパク質の発現レベルは、SECX mRNAまたはタンパク質を検出するために本明細書中に記載の方法によって決定され得る。

【0217】

本発明のなお別の局面において、SECXタンパク質は、ツーハイブリッドアッセイまたはスリーハイブリッドアッセイにおいて「ベイトタンパク質」として使用されて(例えば、米国特許第5,283,317号; Zervosら(1993) Cell 72:223-232; Maduraら(1993) J Biol Chem 268:12046-12054; Bartelら(1993) BioTechniques 14:920-924; Iwabuschira(1993) Oncogene 8:1693-1696; および Brent WO94/10300を参照のこと)、SECX(「SECX結合タンパク質」または「SECX-bp」)に結合するか、またはこれと相互作用し、そしてSECX活性を調節する他のタンパク質を同定し得る。このようなSECX結合タンパク質はまた、例えば、SECX経路の上流または下流エレメントとしてSECXタンパク質によるシグナル伝達に関与するようである。

【0218】

ツーハイブリッドシステムは、分離可能なDNA結合ドメインおよび活性化ドメインからなる、大部分の転写因子のモジュラー的性質に基づく。簡潔には、このアッセイは、2つの異なるDNA構築物を利用する。一方の構築物においては、SECXをコードする遺伝子が公知の転写因子(例えば、GAL-4)のDN

A結合ドメインをコードする遺伝子に融合される。他方の構築物においては、DNA配列のライブラリー由来の、未同定タンパク質（「プレイ」または「サンプル」）をコードするDNA配列が、公知の転写因子の活性化ドメインをコードする遺伝子に融合される。「ベイト」および「プレイ」タンパク質がインビボで相互作用して、SECX依存性複合体を形成し得る場合、この転写因子のDNA結合ドメインおよび活性化ドメインは、非常に近くにある。近位にあることにより、転写因子に応答性の転写調節部位に作動可能に連結されたレポーター遺伝子（例えば、LacZ）の転写を可能にする。レポーター遺伝子の発現が検出され得、そして機能的転写因子を含む細胞コロニーは、単離され得、そしてSECXと相互作用するタンパク質をコードするクローニングされた遺伝子を得るために使用され得る。

【0219】

本発明は、上記のスクリーニングアッセイにより同定される新規な薬剤および上記の処置のためのこの薬剤の使用に関する。

【0220】

（検出アッセイ）

本明細書中で同定されるcDNA配列のタンパク質またはフラグメント（および対応する完全な遺伝子配列）は、ポリヌクレオチド試薬として多くの方法で使用され得る。例えば、これらの配列を使用して、（i）染色体上にそれぞれの遺伝子をマッピングし得；従って遺伝病と関連する遺伝子領域を位置決定し得る；（ii）微量の生物学的サンプルから個体を同定し得る（組織型決定）；および（iii）生物学的サンプルの法医学的識別を助け得る。これらの適用は、以下の節において記載される。

【0221】

（染色体マッピング）

一旦遺伝子の配列（または配列の一部）が単離されると、この配列を用いて染色体上に遺伝子の位置をマッピングし得る。このプロセスは、染色体マッピングとよばれる。従って、本明細書中に記載のSECX配列の一部またはフラグメントを用いて、それぞれ、SECX遺伝子の位置を染色体上にマッピングし得る

。S E C X配列を染色体にマッピングすることは、これらの配列と、疾患と関連する遺伝子とを相関付ける際の重要な第一歩である。

【0222】

簡潔には、S E C X遺伝子は、S E C X配列からP C Rプライマー（好ましくは、15～25bpの長さ）を調製することにより染色体にマッピングし得る。S E C X配列のコンピューター分析を用いて、ゲノムDNAにおける1つを超えるエクソンにまたがらないプライマーを迅速に選択し得、従って、増幅プロセスを複雑にし得る。次いで、これらのプライマーは、個々のヒト染色体を含む体細胞ハイブリッドのP C Rスクリーニングのために使用され得る。S E C X配列に対応するヒト遺伝子を含むハイブリッドのみが増幅されたフラグメントを生じる。

【0223】

体細胞ハイブリッドは、異なる哺乳動物由来の体細胞（例えば、ヒトおよびマウス細胞）を融合することにより調製される。ヒトおよびマウスのハイブリッドが増殖および分裂するにつれ、それらは、無作為な順序で徐々にヒト染色体を失うが、マウス染色体を維持する。マウス細胞は増殖できないが、ヒト細胞は増殖できる培地を使用することにより、それらは特定の酵素を失うので、必要な酵素をコードする遺伝子を含む1つのヒト染色体が維持される。種々の培地を使用することによって、ハイブリッド細胞株のパネルが確立され得る。パネルにおける各細胞株は、単一のヒト染色体または少数のヒト染色体いずれかおよびマウス染色体の完全なセットを含み、これにより、個々の遺伝子を特定のヒト染色体にマッピングすることが容易に可能になる（D' E u s t a c h i oら（1983）*Science* 220:919-924）。ヒト染色体のフラグメントのみを含む体細胞ハイブリッドはまた、転座および欠失を伴うヒト染色体を使用することにより生成され得る。

【0224】

体細胞ハイブリッドのP C Rマッピングは、特定の染色体に特定の配列を割り当てるためには迅速な手順である。1つのサーマルサイクラーを用いて一日に3つ以上の配列が割り当てられ得る。S E C X配列を使用して、オリゴヌクレオチ

ドプライマーを設計すると、下位位置決定 (sublocalization) は、特定の染色体由来のフラグメントのパネルを用いて達成され得る。

【0225】

中期染色体スプレッドに対するDNA配列の蛍光インサイチュハイブリダイゼーション (FISH) をさらに使用して、一工程で正確な染色体位置を提供し得る。染色体スプレッドは、コルセミド (染色体紡錘体を破壊する) のような化学物質により分裂が中期においてブロックされた細胞を使用して行われ得る。この染色体は、トリプシンで短時間処理され得、次いで、ギムザ染色され得る。薄いバンドおよび濃いバンドのパターンが各染色体で発生し、その結果、この染色体は、個々に同定され得る。FISH技術は、500または600塩基ほどの長さのDNA配列と共に使用され得る。しかし、1,000塩基より大きなクローンは、簡単な検出に十分なシグナル強度で、独特の染色体位置に結合する可能性がより高い。好ましくは、1,000塩基、そしてより好ましくは、2,000塩基が妥当な時間量で良好な結果を得るために十分である。この技術の総説については、Vermaら、HUMAN CHROMOSOMES: A MANUAL OF BASIC TECHNIQUES (Pergamon Press, New York 1988) を参照のこと。

【0226】

染色体マッピングの試薬は、単一の染色体またはその染色体上の単一部位を印付けするために個々に使用され得るか、または試薬のパネルは複数部位および/または複数染色体を印付けするために使用され得る。遺伝子の非コード領域に対応する試薬は、実際に、マッピング目的のために好ましい。コード鎖は、遺伝子ファミリー内に保存されており、従って、染色体マッピングの間に交叉ハイブリダイゼーションの機会が増大する可能性が高い。

【0227】

一旦配列が正確な染色体位置にマッピングされると、その配列の染色体上の物理的位置は、遺伝子マップデータと相関し得る。このようなデータは、例えば、McKusick, MENDELIAN INHERITANCE IN MAN (Johns Hopkins University Welch Med

ical Libraryを通じてオンラインで入手可能)において見いだされる。次いで、同じ染色体領域にマッピングされる遺伝子と疾患との間の関係は、例えば、Egelandら(1987)Nature, 325:783-787に記載される連鎖分析(物理的に隣接する遺伝子の同時遺伝)によって同定され得る。

【0228】

さらに、SECX遺伝子と関連する疾患に罹患した個体と、この疾患に罹患していない個体との間のDNA配列における差異が決定され得る。罹患した個体のいくらかまたは全てにおいて変異が認められるが、非罹患個体のいずれにおいても認められない場合、この変異は特定の疾患の候補薬剤である可能性が高い。罹患個体と非罹患個体の比較は、一般に、染色体における構造的変化(例えば、染色体スプレッドから可視であるか、またはそのDNA配列に基づいたPCRを用いて検出可能な欠失または転座)を最初に探すことを包含する。最終的に、いくらかの個体に由来する遺伝子の完全な配列決定を行って、変異の存在を確認し、かつ多型に由来する変異を区別する。

【0229】

(組織型決定(tissue typing))

本発明のSECX配列はまた、わずかな生物学的サンプルから個体を識別するために使用され得る。この技術において、個体のゲノムDNAは、1つ以上の制限酵素で消化され、そして同定のために独特のバンドを生成するためにサザンブロット上でプローブされる。本発明の配列は、RFLP(米国特許第5,272,057号に記載の「制限フラグメント長多型」)のためのさらなるDNAマーカーとして有用である。

【0230】

さらに、本発明の配列を用いて、個体のゲノムの選択された部分について実際の塩基ごとにDNA配列を決定する代替的技術を提供し得る。従って、本明細書中に記載のSECX配列を用いて、配列の5'末端および3'末端から2つのPCRプライマーを調製し得る。次いで、これらのプライマーを使用して、個体のDNAを増幅し得、そしてこれを逐次的に配列決定し得る。

【0231】

このように調製された個体由来の対応するDNA配列のパネルは、各個体が、対立遺伝子差異に起因するこのようなDNA配列の独特のセットを有するので、唯一の個体識別を提供し得る。本発明の配列は、個体由来および組織由来の配列のこのような識別を得るために使用され得る。本発明のSECX配列は、ヒトゲノムの部分を独特に表す。対立遺伝子のバリエーションは、これらの配列のコード領域においてある程度生じ得、そして非コード領域においてより大きな程度に生じる。個々のヒト間での対立遺伝子のバリエーションは、各500塩基につき約1回の頻度で生じる。対立遺伝子のバリエーションの多さは、制限フラグメント長多型(RFLP)を含む単一ヌクレオチド多型(SNP)に起因する。

【0232】

本明細書中で記載の配列の各々は、標準物質(これに対して個体からのDNAが識別の目的で比較され得る)として使用され得る。より多くの多型が非コード領域で生じるので、個体を区別するために、それほど多くの配列が必要であるわけではない。配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、74、76、78、および80、加えて29および31のいずれか1つ以上の非コード配列は、おそらく10~1,000プライマーのパネルを用いてポジティブな個体識別を不自由なく提供し得る。これらのプライマーは、各々が100塩基の増幅された非コード配列を生じる。推定コード配列が使用される場合、ポジティブな個体識別に関するプライマーのより多くの適切な数は、500~2,000である。

【0233】

SECX配列のさらなる用途は、生物学的サンプルにおける細胞型または組織型を同定することである。上記で議論したように、種々のSECX遺伝子は1つ以上の細胞型において発現される。従って、1つ以上のSECX遺伝子に由来するRNA分子の存在に基づいて細胞型が同定され得る。種々のSECX遺伝子の組織分布は、図19~23および実施例6~11において示され、そして以下で議論される。

【0234】

(法医学的生物学におけるS E C X配列の使用)

DNAに基づく識別技術はまた、法医学的生物学において使用され得る。法医学的生物学は、例えば、犯罪者をポジティブに識別するための手段として、犯罪現場で見いだされた生物学的証拠の遺伝子型決定を利用する科学分野である。このような識別を行うために、PCR技術を用いて非常に少量の生物学的サンプル(例えば、犯罪現場で見いだされた毛髪もしくは皮膚のような組織、または血液、唾液もしくは精液のような体液)から得られたDNA配列を増幅し得る。次いで、増幅された配列は標準物質と比較され、それによって、生物学的サンプルの起源の識別を可能にし得る。

【0235】

本発明の配列を使用して、ヒトゲノムにおける特定の遺伝子座に標的化され得るポリヌクレオチド試薬(例えば、PCRプライマー)を提供し得る。このPCRプライマーは、例えば、別の「識別マーカ―」(すなわち、特定の個体に独特な別のDNA配列)を提供することにより、DNAベースの法医学的識別の信頼性を増大し得る。上記のように、実際の塩基配列情報は、制限酵素で生成したフラグメントにより形成されるパターンに対する正確な代替手段として識別のために使用され得る。S E C X遺伝子の非コード領域に標的化される配列は、より多くの多型が非コード領域に生じ、このことにより、この技術を使用して個体を区別することがより容易になるので、この用途のために特に適切である。ポリヌクレオチド試薬の例としては、S E C X配列またはその部分(例えば、本明細書中に記載のS E C X配列の非コード領域に由来するフラグメント)が挙げられ得、この部分は、少なくとも20塩基、好ましくは30塩基の長さを有する。

【0236】

本明細書中に記載のS E C X配列は、ポリヌクレオチド試薬(例えば、インサイチュハイブリダイゼーション技術において使用され得る標識プローブまたは標識可能プローブ)を提供して、特定の組織(例えば、脳組織など)を同定するためにさらに使用され得る。これは、法医学的病理学者に未知の起源の組織が提示された場合に非常に有用である。このようなS E C Xプローブのパネルを使用して、種により、および/または起源の型により組織を同定し得る。

【0237】

このように、これらの試薬（例えば、SECXプライマーまたはプローブ）を用いて、組織培養物を夾雑物質についてスクリーニングし得る（すなわち、培養物中の異なる型の細胞の混在についてのスクリーニング）。

【0238】

（治療剤の生物学的効果の決定）

本発明の種々の実施形態において、適切なインビトロまたはインビボアッセイを利用して、特定の治療剤の効果およびその投与が罹患組織の処置を示すか否かを決定する。

【0239】

種々の特定の実施形態において、インビトロアッセイが患者の障害に關与する代表的な細胞型で行われ、所定の治療剤がこの細胞型に対して所望の効果を発揮したか否かを決定し得る。治療において使用する化合物は、ヒト被験体において試験する前に適切な動物モデル系において試験され得る。これらの動物モデル系としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：ラット、マウス、ニワトリ、ウシ、サル、ウサギなど。同様に、インビボ試験については、当該分野で公知の任意の動物モデル系が、ヒト被験体に対する投与の前に使用され得る。

【0240】

（悪性疾患）

SECXタンパク質は、細胞膜に位置し、そして細胞の増殖および分化の調節に關与すると考えられている。従って、本発明の治療剤は、細胞の過剰増殖および/または細胞増殖の制御の欠損（例えば、癌、悪性疾患および腫瘍）に關連する疾患または障害の治療的処置または予防的処置において有用であり得る。そのような過剰増殖障害の総説について、例えば、Fishmanら、1985、MEDICINE、第2版、J. B. Lippincott Co., Philadelphia、PAを参照のこと。

【0241】

本発明の治療剤を、悪性疾患および關連する障害の処置または予防における効力について、当該分野内において公知の任意の方法によってアッセイし得る。そ

のようなアッセイとしては、形質転換された細胞または患者の腫瘍由来の細胞を利用するインビトロアッセイ、ならびに癌または悪性疾患の動物モデルを使用するインビボアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。可能性のある有効な治療剤は、例えば、コントロールと比較して、培養物中での腫瘍由来細胞または形質転換細胞の増殖を阻害するか、または動物モデルにおいて腫瘍の後退を生じる治療剤である。

【0242】

本発明の実施において、一旦、悪性疾患または癌が、活性を調節すること（すなわち、阻害するか、アンタゴナイズするか、またはアゴナイズする）による処置に対して感受性であることが示されると、引き続いて、その癌または悪性疾患が、タンパク質機能を調節するように作用する治療剤の投与によって処置または予防され得る。

【0243】

（前悪性状態）

癌または悪性疾患の治療または予防処置において有効な本発明の治療剤はまた、前悪性状態の処置および/または前悪性から新生物状態もしくは悪性疾患状態への進行を防ぐための処置のために投与され得る。そのような予防的用途または治療的用途が、先行する新生物または癌への進行が知られているか、またはそれが疑われる状態（特に、過形成、化生、または最も特に、異形成からなる非新生物細胞増殖が生じた場合）において、示される。そのような異常な細胞増殖の総説について、例えば、RobbinsおよびAngell、1976、BASIC PATHOLOGY、第2版、W.B. Saunders Co.、Philadelphia、PAを参照のこと。

【0244】

過形成は、細胞の構造または機能における有意な変化なしに、組織または器官における細胞数の増加を含む、制御された細胞の増殖の形態である。例えば、子宮内膜の過形成は、しばしば子宮内膜癌に進行することが実証されている。化生は、成熟した細胞または十分に分化した細胞の1つの型が、成熟した細胞の別の型に置換する、制御された細胞増殖の形態である。化生は、上皮組織細胞または

結合組織細胞において生じ得る。異形成は、一般に癌の前駆体であると考えられ、そして上皮において主に見出される。異形成は、非新生物細胞増殖の最も無秩序な形態であり、個々の細胞の均一性および細胞の構築上の配向の損失を含む。異形成は、慢性の刺激または炎症が存在する場所で特徴的に生じ、そしてしばしば、頸部、気道、口腔、および胆嚢において見出される。

【0245】

あるいは、または過形成、化生、または異形成として特徴付けられる異常な細胞増殖の存在に加えて、患者由来の細胞サンプル内で、インビボまたはインビトロのいずれかにおいて示される形質転換表現型または悪性疾患表現型の1つ以上の特徴の存在が、上記のタンパク質の活性を調節する能力を有する治療剤の予防的/治療的投与の望ましさの指標である。形質転換された表現型の特徴としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：(i)形態学的変化；(ii)よりゆるい、下層への付着；(iii)細胞間接触阻止の喪失；(iv)足場依存性の喪失；(v)プロテアーゼ放出；(vi)増加した糖輸送；(vii)減少した血清要求性；(viii)胎児抗原の発現；(ix)250kDa細胞表面タンパク質の消滅など。例えば、Richardsら1986、MOLECULAR PATHOLOGY、W.B.Saunders Co、Philadelphia、PAを参照のこと。

【0246】

本発明の特定の実施形態において、悪性疾患についての以下の1つ以上の素因を示す患者が、治療剤の有効量の投与によって処置される：(i)悪性疾患に関連する染色体転座（例えば、慢性骨髄性白血病についてのフィラデルフィア染色体(bcr/abl)および濾胞性リンパ腫についてのt(14;18)など）；(ii)家族性ポリープ症またはガードナー症候群（結腸癌の可能性のある前兆）；(iii)未確認の重要性の単クローン性高ガンマグロブリン血症（多発性骨髄腫の可能性のある前駆体）；ならびに(vi)メンデル（遺伝子）遺伝パターンを示す癌または前癌疾患（例えば、結腸の家族性ポリープ症、ガードナー症候群、遺伝性外骨腫症、多発性内分泌腺腫症(polyendocrine adenomatosis)、ポイツ-ジェガーズ症候群、フォン・レックリ

ングハウゼン病の神経線維腫症、アミロイド産生および褐色細胞腫をともなう甲状腺髄様癌 (medullary thyroid carcinoma)、網膜芽細胞腫、頸動脈小体腫瘍、皮膚の黒色癌、眼内の黒色癌、色素性乾皮症、毛細血管拡張性運動失調、チェディアック - 東症候群、白子症、ファンコーニ再生不良性貧血およびブルーム症候群) を有する人の一親等。

【0247】

別の実施形態において、本発明の治療剤が、ヒト患者に投与されて、乳癌、結腸癌、肺癌、膵臓癌、または子宮癌、あるいは黒色腫または肉腫の進行を防ぐ。

【0248】

(過剰増殖性障害および異常増殖性 (dysproliferative) 障害)

本発明の1つの実施形態において、治療剤が、過剰増殖性障害または良性の異常増殖性障害の治療的処置または予防的処置において投与される。過剰増殖性疾患または障害の処置または予防における本発明の治療剤の効力が、当該分野において公知の任意の方法によってアッセイされ得る。そのようなアッセイとしては、インビトロの細胞増殖アッセイ、過剰増殖性疾患または障害の動物モデルを使用するインビトロまたはインビボアッセイなどが挙げられる。可能性のある効果的な治療剤は、例えば、コントロールとの比較において、培養物中の細胞増殖を促進し得るか、あるいは動物モデルにおける増殖または細胞増殖を生じ得る。

【0249】

本発明の特定の実施形態は、肝臓の肝硬変 (癒痕が、通常の肝臓再生プロセスを上回る状態) ; 癒痕プロセスが通常の再生を妨げる、皮膚の形状を損じることを生じるケロイド (過形成性癒痕) 形成の処置 ; 乾癬 (皮膚の過剰な増殖および適切な細胞運命の決定の遅延によって特徴付けられる一般的な皮膚の状態) ; 良性腫瘍 ; 線維性嚢状態および組織肥厚 (例えば、良性膵臓肥厚) の処置または予防に関する。

【0250】

(神経変性障害)

SECXタンパク質は、細胞成熟の脱調節およびアポトーシス (この両方が神

経変性疾患の特徴である)に関係し得る。従って、本発明の治療剤(限定されることはないが、特に上記のタンパク質の活性を調節(または供給)する治療剤)が、神経変性疾患の処置または予防において効果的であり得る。神経変性障害に関与する上記のタンパク質の活性を調節する本発明の治療剤を、そのような神経変性疾患または障害を処置または予防することにおける効力について、当該分野において公知の任意の方法によってアッセイし得る。そのようなアッセイとしては、調節された細胞成熟もしくはアポトーシスの阻害についてのインビトロアッセイ、または神経変性疾患または障害の動物モデルを使用するインビボアッセイ、あるいは以下に記載する任意のアッセイが挙げられる。可能性のある効果的な治療剤は、例えば限定されないが、コントロールと比較して、調節された細胞成熟を促進し、培養物中の細胞アポトーシスを防ぎ、あるいは動物モデルにおける神経変性を減少する。

【0251】

一旦、神経変性疾患または障害が、調節活性による処置に対して感受性であることが示されると、その神経変性疾患または障害が、活性を調節する治療剤の投与によって処置または予防され得る。そのような疾患としては、加齢に関与する全ての変性性障害(特に、変形性関節症および神経変性障害)が挙げられる。

【0252】

(器官移植に関連する障害)

SECXは、器官移植に関連する障害(特に、限定されないが、器官拒絶反応)に関係し得る。本発明の治療剤(特に、活性を調節(または供給)する治療剤)は、器官移植に関連する疾患または障害の処置または予防において効果的であり得る。本発明の治療剤(特に、上記タンパク質のレベルまたは活性を調節する治療剤)は、このような器官移植に関連する疾患および障害の処置または予防における効力について、当該分野で公知の任意の方法によってアッセイされ得る。このようなアッセイとしては、下記のような細胞培養モデルを使用するインビトロアッセイ、または器官移植に関連する疾患および障害の動物モデルを使用するインビボアッセイが挙げられ、例えば、以下を参照のこと。潜在的に効果的な治療剤は、例えば、限定されないが、コントロールに対して比較して、動物モデル

における免疫拒絶応答を減少する。

【0253】

従って、一旦、器官移植に関連する疾患および障害が、活性の調節による処置に対して感受性であることが示されると、このような疾患または障害は、活性を調節する治療剤の投与によって処置または予防され得る。

【0254】

(心臓血管疾患)

SECXは、アテローム性動脈硬化症のプラーク形成を含む、心臓血管障害に関係し得る。心臓血管疾患(脳血栓症または脳出血を含む)、虚血性心疾患または虚血性腎疾患、末梢血管疾患、または他の主要な血管の血栓症、および他の疾患(真性糖尿病、高血圧、甲状腺機能不全、コレステロールエステル貯蔵病、全身性エリテマトーデス、ホモシステイン症(homocysteinemia)、および家族性のタンパク質または脂質プロセッシング疾患などを含む)のような疾患は、アテローム性動脈硬化症に直接的または間接的のいずれかで関連する。従って、本発明の治療剤(特に、活性または形成を調節(または供給)する治療剤)は、アテローム性動脈硬化症に関連する疾患または障害の処置または予防に有効であり得る。本発明の治療剤(特に、レベルまたは活性を調節する治療剤)は、このような疾患および障害の処置または予防における効力について、当該分野で公知の任意の方法(以下に記載の方法を含む)によってアッセイされ得る。

【0255】

広範な動物モデルおよび細胞培養モデルが、アテローム性動脈硬化症に関与するプロセスについて存在する。動物モデルの限定的かつ非排他的な列挙としては、以下が挙げられる: 早発性アテローム性動脈硬化症についてのノックアウトマウス(KurabayashiおよびYazaki, 1996, Int. Angiol. 15: 187-194)、アテローム動脈硬化症のトランスジェニックマウスモデル(Kappelら, 1994, FASEB J. 8: 583-592)、動物モデルのアンチセンスオリゴヌクレオチド処置(Callow, 1995, Curr. Opin. Cardiol. 10: 569-576)、アテローム性動脈硬化症についてのトランスジェニックウサギモデル(Taylor,

1997, Ann. N. Y. Acad. Sci. 811:146-152)、高コレステロール血症動物モデル(Rosenfeld, 1996, Diabetes Res. Clin. Pract. 30(補遺):1-11)、高脂血症マウス(Paigenら、1994、Curr. Opin. Lipidol. 5:258-264)、および動物におけるリポキシゲナーゼの阻害(Sigalら、1994、Ann. N. Y. Acad. Sci. 714:211-224)。さらに、インビトロ細胞モデルとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない:低密度リポタンパク質に曝露された単球(Frostegardら、1996、Atherosclerosis 121:93-103)、クローン化された血管平滑筋細胞(Suttlesら、1995、Exp. Cell Res. 218:331-338)、内皮細胞由来の化学誘引物質に曝されたT細胞(Katzら、1994、J. Leukoc. Biol. 55:567-573)、培養されたヒト大動脈内皮細胞(Farberら、1992、Am. J. Physiol. 262:H1088-1085)、および泡沫細胞培養物(Libbyら、1996、Curr Opin Lipidol 7:330-335)。潜在的に効果的な治療剤は、例えば、限定されないが、コントロールに対して比較して、細胞培養モデルにおける泡沫細胞形成、またはアテローム性動脈硬化症の高コレステロール血症マウスモデルにおけるアテローム性動脈硬化症のプラーク形成を減少する。

【0256】

従って、一旦、アテローム性動脈硬化症に関連する疾患または障害が、活性または形成の調節による処置に対して感受性であることが示されると、この疾患または障害は、活性を調節する治療剤の投与によって処置または予防され得る。

【0257】

(サイトカインおよび細胞増殖/分化活性)

本発明のSECタンパク質は、サイトカイン活性、細胞増殖活性(誘導するか、または阻害するかのいずれか)、または細胞分化活性(誘導するか、または阻害するかのいずれか)を示し得るか、あるいは特定の細胞集団における他のサイトカインの産生を誘導し得る。全ての既知のサイトカインを含む、現在までに

発見された多くのタンパク質因子は、因子依存性の1以上の細胞増殖アッセイにおいて活性を示し、従って、これらのアッセイは、サイトカイン活性の簡便な確認法として作用する。本発明のタンパク質の活性は、以下を含むが、これらに限定されない細胞株についての多くの従来の因子依存性細胞増殖アッセイの任意の1つによって確認される：32D、DA2、DA1G、T10、B9、B9/11、BaF3、MC9/G、M+(preB M+)、2E8、RB5、DA1、123、T1165、HT2、CTLL2、TF-1、Mo7eおよびCMK。

【0258】

本発明のタンパク質の活性は、数ある方法でもとりわけ、以下の方法によって測定され得る：以下に記載されるアッセイを含むが、これらに限定されない、T細胞増殖または胸腺細胞増殖についてのアッセイ：Current Protocols in Immunology, Coliganら編、Green Publishing Associates and Wiley-Interscience (第3章および第7章)；Takaiら、J Immunol 137:3494-3500、1986；Bertagnoliら、J Immunol 145:1706-1712、1990；Bertagnoliら、Cell Immunol 133:327-341、1991；Bertagnoliら、J Immunol 149:3778-3783、1992；Bowmanら、J Immunol 152:1756-1761、1994。

【0259】

脾細胞、リンパ節細胞または胸腺細胞のサイトカイン産生および/または増殖についてのアッセイとしては、KruisbeekおよびShevach：Current Protocols in Immunology, Coliganら編、第1巻、3.12.1-14頁、John Wiley and Sons, Toronto 1994；およびSchreiber：Current Protocols in Immunology, Coliganら編、第1巻、6.8.1-8頁、John Wiley and Sons, Toron

to 1994に記載のアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。

【0260】

造血細胞およびリンパ球産生細胞の増殖および分化についてのアッセイとしては、以下によって記載されるアッセイが挙げられるが、これに限定されない：Bottomlyら：Current Protocols in Immunology. Coliganら編、第1巻、6.3.1-6.3.12頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991；deVriesら、J Exp Med 173:1205-1211, 1991；Moreauら、Nature 336:690-692, 1988；Greenbergerら、Proc Natl Acad Sci U.S.A. 80:2931-2938, 1983；Nordanら：Current Protocols in Immunology. Coliganら編、第1巻、6.6.1-5頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991；Smithら、Proc Natl Acad Sci U.S.A. 83:1857-1861, 1986；Measurement of human Interleukin 11 - Bennettら：Current Protocols in Immunology. Coliganら編、第1巻、6.15.1頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991；Ciarlettaら：Current Protocols in Immunology. Coliganら編、第1巻、6.13.1頁、John Wiley and Sons, Toronto 1991。

【0261】

抗原に対するT細胞クローン応答についてのアッセイ（とりわけ、増殖およびサイトカイン産生を測定することによって、APC-T細胞相互作用に影響し、そしてT細胞の効果を指向するタンパク質を同定する）としては、以下に記載されるアッセイが挙げられるが、これらに限定されない：Current Protocols in Immunology. Coliganら編、Green Publishing Associates and Wiley-Interscience（第3章、第6章および第7章）；Weinbergerら

、 Proc Natl Acad Sci USA 77:6091-6095, 1980; Weinbergerら、 Eur J Immun 11:405-411, 1981; Takaiら、 J Immunol 137:3494-3500, 1986; Takaiら、 J Immunol 140:508-512, 1988。

【0262】

(免疫刺激活性または免疫抑制活性)

本発明のSECXタンパク質はまた、免疫刺激活性または免疫抑制活性（アッセイが本明細書中に記載される活性を含むが、これらに限定されない）を示し得る。タンパク質は、種々の免疫不全および免疫障害（重症複合型免疫不全（SCDI）を含む）の処置（例えば、Tリンパ球および/またはBリンパ球の成長および増殖の（上方または下方）調節、ならびにNK細胞および他の細胞集団の細胞溶解活性の誘発）において有用であり得る。これらの免疫不全は、遺伝性であり得るか、またはウイルス（例えば、HIV）および細菌感染または真菌感染によって引き起こされ得るか、あるいは自己免疫障害から生じ得る。より詳細には、ウイルス感染、細菌感染、真菌感染または他の感染によって引き起こされる感染性疾患は、本発明のタンパク質を使用して処置可能であり得、この感染としては、HIV、肝炎ウイルス、ヘルペスウイルス、ミコバクテリア、リーシュマニア種、マラリア種による感染、およびカンジダ症のような種々の真菌感染が挙げられる。もちろん、この点に関して、本発明のタンパク質はまた、免疫系に対するブーストが、一般に所望され得る（すなわち、癌の処置において）場合に有用であり得る。

【0263】

本発明のタンパク質を使用して処置され得る自己免疫障害としては、例えば、以下が挙げられる：結合組織疾患、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ、自己免疫性肺炎、ギヤン-バレー症候群、自己免疫性甲状腺炎、インスリン依存性真性糖尿病、重症筋無力症、対宿主性移植片病および自己免疫性炎症性眼疾患。本発明のこのようなタンパク質はまた、喘息（特に、アレルギー性喘息）または他の呼吸系障害のような、アレルギー反応およびアレルギー

状態の処置に有用であり得る。免疫抑制が所望される他の状態（例えば、器官移植を含む）もまた、本発明のタンパク質を使用して処置可能であり得る。

【0264】

本発明のタンパク質を使用して、多くの方法で、免疫応答することが可能であり得る。下方調節は、すでに進行中の免疫応答を阻害またはブロックする形態であり得るか、免疫応答の誘導を妨げることを含み得る。活性化T細胞の機能は、T細胞応答を抑制することによってか、またはT細胞における特異的寛容を誘導することによってか、あるいはその両方によって阻害され得る。T細胞応答の免疫抑制は、一般に、抑制剤に対するT細胞の連続的曝露を必要とする、能動的な非抗原特異的プロセスである。寛容（T細胞における非応答性またはアネルギー（energy）を誘導することを含む）は、一般的に抗原特異的であり、そして寛容化剤に対する曝露が停止した後で持続するという点で免疫抑制と識別可能である。操作的には、寛容は、寛容化剤の非存在下における特異的抗原に対する再曝露の際に、T細胞応答の欠如によって実証され得る。

【0265】

1以上の抗原機能を（Bリンパ球抗原機能（例えば、B7のような）を含むが、限定されない）を下方調節するか、または妨げる（例えば、活性化T細胞による高レベルのリンホカイン合成を妨げる）ことは、組織、皮膚および器官の移植の状況、ならびに対宿主性移植片病（GVHD）において有用である。例えば、T細胞機能のブロックは、組織移植における組織破壊の減少を生じるはずである。代表的に、組織移植において、移植片の拒絶は、T細胞によるその外来としての認識、それに続く移植片を破壊する免疫反応を介して開始される。移植前に免疫細胞上でB7リンパ球抗原のその天然のリガンドとの相互作用を阻害またはブロックする分子（例えば、B7-2活性を有するペプチドの可溶性モノマー形態単独、あるいは別のBリンパ球抗原（例えば、B7-1、B7-3）またはブロッキング抗体の活性を有するペプチドのモノマー形態との組み合わせ）は、対応する同時刺激シグナルの移行を伴わずに、免疫細胞上でその分子の天然のリガンドへの結合を導き得る。このような形態でBリンパ球抗原機能をブロックすることは、免疫細胞（例えば、T細胞）によるサイトカイン合成を妨げ、従って

、免疫抑制剤として作用する。さらに、同時刺激の欠如はまた、T細胞を活性化して、それによって被験体において寛容を誘導するのに十分であり得る。Bリンパ球抗原ブロッキング試薬による長期の寛容の誘導は、これらのブロッキング試薬の繰り返しの投与の必要性を回避し得る。被験体において十分な免疫抑制または寛容を達成するために、Bリンパ球抗原の機能をブロックすることが必要であり得る。

【0266】

器官移植片拒絶またはGVHDの予防における特定のブロッキング試薬の効力は、ヒトにおける効力を予測する動物モデルを使用して評価され得る。使用され得る適切な系の例としては、ラットにおける同種異系の心臓移植片およびマウスにおける異種膵臓島細胞移植片が挙げられ、その両方は、Lenschowら、*Science* 257:789-792(1992)およびTurkaraら、*Proc Natl Acad Sci USA*, 89:11102-11105(1992)に記載されるようなインビゴでのCTLA4Ig融合タンパク質の免疫抑制効果を試験するために使用されている。さらに、GVHDのマウスモデル(Paul編、*Fundamental Immunology*, Raven Press, New York, 1989, 846~847頁を参照のこと)は、その疾患の発症に対する、インビゴでのBリンパ球抗原機能のブロックの効果を決定するために使用され得る。

【0267】

ブロッキング抗原機能はまた、自己免疫疾患の処置に治療的に有用であり得る。多くの自己免疫疾患は、自己組織に対して反応性であり、そしてその疾患の病理に関係するサイトカインおよび自己抗体の産生を促進する、T細胞の不適切な活性化の結果である。自己反応性T細胞の活性化の予防は、疾患の症状を軽減し得るか、または排除し得る。Bリンパ球抗原のレセプター：リガンド相互作用を破壊することによってT細胞の同時刺激をブロックする試薬の投与は、T細胞の活性化を阻害し、そしてその疾患プロセスに関係し得る自己抗体またはT細胞誘導性サイトカインの産生を妨げるために使用され得る。さらに、ブロッキング試薬は、疾患の長期の軽減を導き得る自己反応性T細胞の抗原特異的寛容を誘導し

得る。自己免疫障害の予防または軽減におけるブロッキング試薬の効力は、ヒト自己免疫疾患のよく特徴付けられた多くの動物モデルを使用して決定され得る。例としては、マウス実験用自己免疫脳炎、MRL/lpr/lprマウスまたはNZBハイブリッドマウスにおける全身性エリテマトーデス、マウス自己免疫コラーゲン関節炎、NODマウスおよびBBラットにおける真性糖尿病、ならびにマウス実験用重症筋無力症が挙げられる(Paul編、Fundamental Immunology、Raven Press、New York、1989、840~856頁を参照のこと)。

【0268】

免疫応答を上方調節する手段として、抗原機能(好ましくは、Bリンパ球抗原機能)の上方調節もまた、治療に有用であり得る。免疫応答の上方調節は、既存の免疫応答を増強するか、または初期免疫応答を誘発する形態であり得る。例えば、Bリンパ球抗原機能の刺激を介して免疫応答を増強することは、ウイルス感染の場合において有用であり得る。さらに、全身性ウイルス疾患(例えば、インフルエンザ、感冒および脳炎)は、Bリンパ球抗原の刺激形態の全身性投与によって軽減され得る。

【0269】

あるいは、抗ウイルス免疫応答は、患者からT細胞を除去し、本発明のペプチドを発現するか、または本発明の可溶性ペプチドの刺激形態を伴うかのいずれかの、ウイルス抗原でパルスしたAPCで、このT細胞をインビトロで同時刺激し、そして患者にこのインビトロ活性化T細胞を再導入することによって、感染患者において増強され得る。抗ウイルス免疫応答を増強する別の方法は、患者から感染細胞を単離し、本明細書中に記載されるような本発明のタンパク質をコードする核酸を、この感染細胞にトランスフェクトして(その結果、これらの細胞がその表面上にこのタンパク質の全てまたは一部を発現する)、そしてこのトランスフェクト細胞を患者に再導入することである。ここで、この感染細胞は、インビボでT細胞に対して同時刺激シグナルを送達し、それによってT細胞を活性化することが可能である。

【0270】

別の適用では、抗原機能（好ましくはBリンパ球抗原機能）の上方調節または増大が腫瘍免疫の誘導において有用であり得る。本発明の少なくとも1つのペプチドをコードする核酸をトランスフェクトされた腫瘍細胞（例えば、肉腫、黒色腫、リンパ腫、白血病、神経芽細胞腫、癌腫）を、被験体中の腫瘍特異的寛容を克服するために被験体に投与し得る。所望であれば、腫瘍細胞はトランスフェクトされてペプチドの組み合わせを発現し得る。例えば、患者から得られた腫瘍細胞に、B7-2-様活性を有するペプチド単独、またはB7-1-様活性および/またはB7-3-様活性を有するペプチドを組み合わせで発現する発現ベクターを用いて、エクスピボでトランスフェクトし得る。このトランスフェクトされた腫瘍細胞は、患者に戻され、トランスフェクトされた細胞の表面上にペプチドの発現を生じる。あるいは、遺伝子治療技法を用いて、インスピボのトランスフェクションのために腫瘍細胞を標的化し得る。

【0271】

腫瘍細胞の表面上のB細胞リンパ球抗原の活性を有する本発明のペプチドの存在は、T細胞に対して必要な同時刺激シグナルを提供し、トランスフェクトされた腫瘍細胞に対するT細胞媒介免疫応答を誘導する。さらに、MHCクラスIまたはMHCクラスII分子を欠くか、または十分な量のMHCクラスIまたはMHCクラスII分子を再発現しない腫瘍細胞は、MHCクラスI a鎖タンパク質および₂マイクログロブリンタンパク質、またはMHCクラスII a鎖タンパク質およびMHCクラスII鎖タンパク質のすべてまたは一部（例えば、細胞質-ドメイン短縮化部分）をコードする核酸でトランスフェクトされ得、それによって細胞表面上にMHCクラスIまたはMHCクラスIIタンパク質を発現する。Bリンパ球抗原（例えば、B7-1、B7-2、B7-3）の活性を有するペプチドと組み合わせた適切なクラスIまたはクラスII MHCの発現は、トランスフェクトされた腫瘍細胞に対するT細胞媒介性免疫応答を誘導する。必要に応じて、不変鎖（invariant chain）のようなMHCクラスII関連タンパク質の発現をブロックするアンチセンス構築物をコードする遺伝子もまた、Bリンパ球抗原の活性を有するペプチドをコードするDNAで同時トランスフェクトされ得、腫瘍関連抗原の提示を促進し、そして腫瘍特異的免疫を誘

導する。従って、ヒト被験体におけるT細胞媒介免疫応答の誘導は、被験体における腫瘍特異的寛容を十分に克服し得る。

【0272】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法により測定され得る：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY. Coliganら編、Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience (第3章、第7章)；Herrmannら、Proc Natl Acad Sci USA 78:2488-2492、1981；Herrmannら、J Immunol 128:1968-1974、1982；Handaら、J Immunol 135:1564-1572、1985；Takaiら、J Immunol 137:3494-3500、1986；Takaiら、J Immunol 140:508-512、1988；Herrmannら、Proc Natl Acad Sci USA 78:2488-2492、1981；Herrmannら、J Immunol 128:1968-1974、1982；Handaら、J Immunol 135:1564-1572、1985；Takaiら、J Immunol 137:3494-3500、1986；Bowmanら、J Virology 61:1992-1998；Takaiら、J Immunol 140:508-512、1988；Bertagnolliら、Cell Immunol 133:327-341、1991；Brownら、J Immunol 153:3079-3092、1994に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない、胸腺細胞または脾細胞の細胞傷害性のための適切なアッセイ。

【0273】

T細胞依存性免疫グロブリン応答およびアイソタイプスイッチングのための(特に、T細胞依存性抗体応答を調節し、しかもTh1/Th2プロフィールに影響するタンパク質を同定する)アッセイとしては、Maliszewski、J Immunol 144:3028-3033、1990；ならびにMondおよびBrunswick、CURRENT PROTOCOLS IN IM

MUNOLOGY、Coliganら編、第1巻、3.8.1.-3.8.16、John Wiley and Sons、Toronto 1994に記載のようなアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

【0274】

混合リンパ球反応(MLR)アッセイ(特に、優先的にTh1およびCTL応答を生成するタンパク質を同定するアッセイ)としては、CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY、Coliganら編、Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience(第3章、第7章); Takaiら、J Immunol 137:3494-3500、1986; Takaiら、J Immunol 140:508-512、1988; Bertagnolliら、J Immunol 149:3778-3783、1992に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

【0275】

樹状細胞依存性アッセイ(特に、ナイーブなT細胞を活性化する樹状細胞により発現されるタンパク質を同定するアッセイ)としては、Gueryら、J Immunol 134:536-544、1995; Inabaら、J Exp Med 173:549-559、1991; Macatoniaら、J Immunol 154:5071-5079、1995; Porgadorら、J Exp Med 182:255-260、1995; Nairら、J Virol 67:4062-4069、1993; Huangら、Science 264:961-965、1994; Macatoniaら、J. Exp Med 169:1255-1264、1989; Bhardwajら、J Clin Investig 94:797-807、1994; および Inabaら、J Exp Med 172:631-640、1990に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

【0276】

リンパ球生存/アポトーシスのためのアッセイ(特に、スーパー抗原誘導後にアポトーシスを妨げるタンパク質およびリンパ球ホメオスタシスを調節するタン

パク質を同定する)としては、Darzynkiewiczら、Cytometry 13:795-808、1992;Gorczycaら、Leukemia 7:659-670、1993;Gorczycaら、Cancer Res 53:1945-1951、1993;Itohら、Cell 66:233-243、1991;Zacharchuk、J Immunol 145:4037-4045、1990;Zamaiら、Cytometry 14:891-897、1993;Gorczycaら、Internat J Oncol 1:639-648、1992に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

【0277】

T細胞の拘束および発生の初期段階に影響するタンパク質のアッセイとしては、Anticaら、Blood 84:111-117、1994;Fineら、Cell Immunol 155:111-122、1994;Galyら、Blood 85:2770-2778、1995;Tokiraら、Proc Nat Acad Sci USA 88:7548-7551、1991に記載のアッセイが挙げられるがこれらに限定されない。

【0278】

(造血調節活性)

本発明のSECXタンパク質は、造血の調節において、そして結果として骨髄細胞不全またはリンパ球細胞不全の処置において有用であり得る。コロニー形成性細胞または因子依存性細胞株を支援する周縁の生物学的活性でさえ、造血を調節することにおける、例えば、単独またはその他のサイトカインとの組み合わせで、赤血球系前駆体細胞の成長および増殖を支援することにおける関与を示し、それによって、例えば、種々の貧血を処置することにおけるか、または赤血球系前駆体細胞および/または赤血球細胞の産生を刺激するための照射/化学的療法と組み合わせた使用のための有用性;例えば、結果として骨髄抑制を防ぐかまたは処置するための化学的療法と組み合わせる有用な、骨髄細胞(例えば、顆粒球および単球/マクロファージ)の成長および増殖を支持する(すなわち伝統的なCSF活性)ことにおける有用性;巨核球そして結果として血小板の成長および

増殖を支持し、それによって血小板減少症のような種々の血小板障害の予防または処置を可能にすること、そして一般に、血小板輸血に代わる使用か、またはそれへの優待のための有用性；および/または上記の任意および全ての造血幹細胞に成熟し得、そしてそれ故、種々の幹細胞障害（再生不良性貧血および発作性夜行性ヘモグロビン尿を含むがこれらに限定されない、通常、移植で処置されるような障害）における治療有用性を見出す、造血幹細胞の成長および増殖を支持することにおける有用性、ならびに正常細胞または遺伝子治療のために遺伝子操作された細胞として、インビボまたはエキソビボ（すなわち、骨髄移植または末梢前駆体細胞移植（同種または異種）と組み合わせた）のいずれかで、照射/化学的療法後に幹細胞区画を再増殖させることにおける有用性を示す。

【0279】

本発明のタンパク質の活性は、特に、以下の方法により測定され得る：
種々の造血株の増殖および分化の適切なアッセイは上記で引用される。

【0280】

胚幹細胞分化のアッセイ（特に、胚分化造血に影響するタンパク質を同定するアッセイ）は、制限されずに：Johanssonら、Cell Biol 15:141-151、1995；Kellerら、Mol Cell Biol 13:473-486、1993；McClanahanら、Blood 81:2903-2915、1993に記載のアッセイを含む。

【0281】

幹細胞生存および分化のアッセイ（特にリンパ-造血を調節するタンパク質を同定するアッセイ）は、制限されずに：メチルセルロースコロニー形成アッセイ、CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 265-268頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y 1994における、Freshney、；Hirayamaら、Proc Natl Acad Sci USA 89:5907-5911、1992；CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 23-39頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y 1994における、McNiec

eおよびBridgeli; Nebenら、Exp Hematol 22:353-359、1994; CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 1-21頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y 1994における、Ploemacher; CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 163-179頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y 1994における、Sponceretら; CULTURE OF HEMATOPOIETIC CELLS. Freshneyら、編、Vol 139-162頁、Wiley-Liss, Inc. New York, N.Y 1994における、Sutherland、に記載のアッセイを含む。

【0282】

(組織増殖活性)

本発明のSECXタンパク質はまた、骨、軟骨、腱、靭帯および/または神経組織成長または再生のために使用される組成物、ならびに創傷治癒および組織修復および組織置換のために使用される組成物、そして火傷、切開および潰瘍の処置における有用性を有し得る。

【0283】

本発明のタンパク質は、骨が正常に形成されない状況で軟骨および/または骨増殖を誘導し、ヒトおよびその他の動物における骨折および軟骨損傷または欠損の治癒における適用を有する。本発明のタンパク質を採用するこのような調製物は、閉鎖骨折整復および開放骨折整復における予防的使用、そしてまた人工関節の改善された固定における使用を有し得る。骨形成剤により誘導されたデノボ骨形成は、先天的、外傷誘導、または腫瘍切除誘導脳顔面頭蓋欠陥の修復に寄与し、そしてまた美容成形手術に有用である。

【0284】

本発明のタンパク質はまた、歯周病の処置において、およびその他の歯修復プロセスで用いられ得る。このような薬剤は、骨形成性細胞を誘因するか、骨形成性細胞の増殖を刺激するか、骨形成性細胞の前駆体の分化を誘導する環境を提供

し得る。本発明のタンパク質はまた、骨および/または軟骨修復の刺激によるか、または炎症プロセスにより媒介される組織破壊の炎症またはプロセス(コラゲナーゼ活性、破骨細胞活性など)をブロックすることによるような、骨粗鬆症または変形性関節炎の処置で有用であり得る。

【0285】

本発明のタンパク質に寄与し得る組織再生活性の別のカテゴリーは、腱/靭帯形成である。このような組織が通常形成されない状況で、腱/靭帯様組織またはその他の組織形成を誘導する本発明のタンパク質は、ヒトおよびその他の動物における、腱または靭帯断裂、変形およびその他の腱または靭帯欠陥の治癒における適用を有する。腱/靭帯様組織誘導性タンパク質を採用するこのような調製物は、腱または靭帯組織への損傷を防ぐことにおける予防的使用、ならびに腱または靭帯の骨またはその他の組織の改善された固定、および腱または靭帯組織への欠陥を修復することにおける使用を有し得る。本発明の組成物により誘導されるデノボの腱/靭帯様組織形成は、先天的、外傷誘導、またはその他の起源のその他の腱または靭帯欠陥の修復に寄与し、そしてまた腱または靭帯の付着または修復のための美容成形手術で有用である。本発明の組成物は、腱形成性細胞または靭帯形成性細胞を誘引するか、腱形成性細胞または靭帯形成性細胞の増殖を刺激するか、腱形成性細胞または靭帯形成性細胞の前駆体の分化を誘導するか、または組織修復を行うためにインビボに戻すためにエキソビボで腱/靭帯の細胞または前駆体の増殖を誘導する環境を提供し得る。本発明の組成物はまた、腱炎、毛根管症候群およびその他の腱または靭帯欠陥の処置において有用であり得る。この組成物はまた、当該分野で周知であるキャリアとして、適切なマトリックスおよび/または金属イオン封鎖剤を含み得る。

【0286】

本発明のタンパク質はまた、ニューロン細胞の増殖のため、および神経および脳組織の再生のために、すなわち、中枢神経系疾患および末梢神経系疾患および神経障害、ならびにニューロン細胞または神経組織への変性、死滅または外傷を含む機械的および外傷障害の処置のために有用であり得る。より詳細には、タンパク質は、末梢神経損傷、末梢神経障害および局所神経障害のような末梢神経系

の疾患、ならびにアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、筋萎縮側索硬化症、およびシャイ - ドレーガー症候群のような中枢神経系の疾患の処置で用いられ得る。本発明に従って処置され得るさらなる症状は、脊髄障害、頭部外傷および発作のような脳血管性疾患のような機械的および外傷的障害を含み得る。化学的療法またはその他の医療治療から生じる抹消神経障害もまた、本発明のタンパク質を用いて治療可能であり得る。

【0287】

本発明のタンパク質はまた、圧迫性潰瘍、血管不全に関連する潰瘍、手術または外傷創傷などを含むがこれらに限定されない非治癒創傷のより良好な、またはより迅速な閉鎖を促進するために有用であり得る。

【0288】

本発明のタンパク質がまた、器官（例えば、脾臓、肝臓、腸、腎臓、皮膚、内皮を含む）、筋肉（平滑筋、骨格筋または心筋）および血管（血管内皮を含む）組織のようなその他の組織の生成または再生に、またはこのような組織を含む細胞の増殖を促進するために活性を示し得ることが予想される。所望の効果の一部は、繊維症瘢痕の阻害または調整によってであり得、正常組織を再生させる。本発明のタンパク質はまた、血管形成活性を示し得る。

【0289】

本発明のタンパク質はまた、腸の保護または再生のため、および肺若しくは肝臓の繊維症、種々の組織における再灌流傷害、および全身サイトカイン損傷から生じる症状の処置のために有用であり得る。

【0290】

本発明のタンパク質はまた、前駆体組織または細胞から上記の組織の分化を促進若しくは阻害するため；または上記の組織の増殖を阻害するために有用であり得る。

【0291】

本発明のタンパク質の活性はまた、特に、以下の方法により測定され得る：
組織生成活性のためのアッセイは、制限されずに：国際特許公開番号WO95/16035（骨、軟骨、腱）；国際特許公開番号WO95/05846（神経

、ニューロン) ; 国際特許公開番号WO91/07491 (皮膚、内皮) に記載されるアッセイを含む。

【0292】

創傷治癒活性のためのアッセイは、制限されずに : E a g l s t e i n および Menz、J . I n v e s t . D e r m a t o l 71 : 382 - 84 (1978) によって改変されるような、W i n t e r、E p i d e r m a l W o u n d H e a l i n g、71 - 112頁 (M a i b a c h および R o v e e 編)、Y e a r B o o k M e d i c a l P u b l i s h e r s、I n c .、C h i c a g o に記載のアッセイを含む。

【0293】

(アクチビン/インヒビン活性)

本発明の S E C X タンパク質はまた、アクチビン関連活性またはインヒビン関連活性を示し得る。インヒビンは、卵胞刺激ホルモン (F S H) の放出を阻害するその能力によって特徴付けられ、一方、アクチビンは、卵胞刺激ホルモン (F S H) の放出を刺激するその能力によって特徴付けられる。従って、本発明のタンパク質は、単独またはインヒビンファミリーのメンバーとのヘテロ二量体において、雌性哺乳動物における受胎能を減少し、そして雄性哺乳動物における精子形成を減少するインヒビンの能力に基づく避妊薬として有用であり得る。他のインヒビンの十分な量の投与は、これら哺乳動物における不妊症を誘導し得る。あるいは、本発明のタンパク質は、ホモ二量体としてか、またはインヒビンb群の他のタンパク質サブユニットとのヘテロ二量体として、下垂体前葉の細胞からの F S H 放出を刺激するアクチビン分子の能力に基づいて、受胎能誘導治療として有用であり得る。例えば、米国特許第 4 , 7 9 8 , 8 8 5 号を参照のこと。本発明のタンパク質はまた、ウシ、ヒツジ、およびブタのような家畜の一生の生殖効率を増加するように、性的に未熟な哺乳動物における受胎能の開始の促進のために有用であり得る。

【0294】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法によって測定され得る :
アクチビン/インヒビン活性のアッセイとしては、以下に記載されるものが挙

げられるが、これらに限定されない：Valeら、Endocrinology 91:562~572、1972；Lingら、Nature 321:779~782、1986；Valeら、Nature 321:776~779、1986；Masonら、Nature 318:659~663、1985；Forageら、Proc.Natl.Acad.Sci.USA 83:3091~3095、1986。

【0295】

(走化性/ケモキネシス活性)

本発明のタンパク質は、哺乳動物細胞（例えば、単球、線維芽細胞、好中球、T細胞、肥満細胞、好酸球、上皮細胞および/または内皮細胞を含む）についての走化性またはケモキネシス活性（例えば、ケモカインとして作用する）を有し得る。走化性およびケモキネシスタンパク質を使用して、所望の細胞集団を所望の作用部位に動員または誘引し得る。走化性またはケモキネシスタンパク質は、組織に対する創傷および他の外傷の処置、ならびに局所的感染の処置において、特に利点を提供する。例えば、リンパ球、単球または好中球の、腫瘍または感染部位への誘引は、腫瘍または感染因子に対する改善された免疫応答を生じ得る。

【0296】

タンパク質またはペプチドは、それが直接的または間接的に、特定の細胞集団の指向された方向付けまたは移動を刺激し得る場合、そのような細胞集団について走化性活性を有する。好ましくは、タンパク質またはペプチドは、細胞の移動を直接刺激する能力を有する。特定のタンパク質が細胞の集団について走化性活性を有するか否かは、細胞の走化性についての任意の公知のアッセイにおいて、そのようなタンパク質またはペプチドを使用することによって、容易に決定され得る。

【0297】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法によって測定され得る。走化性活性についてのアッセイ（走化性を誘導するか、または妨げるタンパク質を同定する）は、細胞の膜を横切った移動を誘導するタンパク質の能力、ならびに1つの細胞集団の別の細胞集団に対する接着を誘導するタンパク質の能力を

測定するアッセイからなる。移動および接着についての適切なアッセイとしては以下に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY、Coliganら編（第6.12章、Measurement of alpha and beta Chemokines 6.12.1~6.12.28）；Taubら、J Clin Invest 95：1370~1376、1995；Lindら、APMIS 103：140~146、1995；Mullerら、Eur J Immunol 25：1744~1748；Gruberetら、J Immunol 152：5860~5867、1994；Johnstonら、J Immunol 153：1762~1768、1994。

【0298】

（うっ血活性および血栓崩壊活性）

本発明のタンパク質はまた、うっ血活性または血栓崩壊活性を示し得る。結果として、そのようなタンパク質は、種々の凝固障害（血友病のような遺伝性疾患を含む）の処置において有用であること、または凝固および外傷、外科手術または他の原因によって生じる創傷の処置における他のうっ血事象を促進することが予測される。本発明のタンパク質はまた、血栓症の溶解または形成阻害のため、およびそこから生じる状態（例えば、心臓血管および中枢神経系血管の梗塞（例えば、発作））の処置および予防のために有用であり得る。

【0299】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法によって測定され得る。うっ血および血栓崩壊活性のアッセイとしては、以下に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない：Linnetら、J Clin Pharmacol 26：131~140、1986；Burdickら、Thrombosis Res 45：413~419、1987；Humphreyら、Fibrinolysis 5：71~79（1991）；Schaub、Prostaglandins 35：467~474、1988。

【0300】

（レセプター/リガンド活性）

本発明のタンパク質はまた、レセプター、レセプターリガンドまたはレセプター/リガンド相互作用のインヒビターもしくはアゴニストとしての活性を実証し得る。そのようなレセプターおよびリガンドの例としては、限定することなく、サイトカインレセプターおよびそのリガンド、レセプターキナーゼおよびそのリガンド、レセプターホスファターゼおよびそのリガンド細胞間相互作用に關与するレセプターおよびそのリガンド(限定することなく、細胞接着分子(セレクチン、インテグリンおよびそのリガンド)、ならびに抗原提示、抗原認識および細胞性免疫応答および液性免疫応答の発生に關与するレセプター/リガンド対を含む)が挙げられる。レセプターおよびリガンドはまた、關連するレセプター/リガンド相互作用の可能性のあるペプチドまたは低分子インヒビターのスクリーニングにおいて有用である。本発明のタンパク質(限定することなく、レセプターおよびリガンドのフラグメントを含む)が、それ自体で、レセプター/リガンド相互作用のインヒビターとして有用であり得る。

【0301】

本発明のタンパク質の活性は、とりわけ、以下の方法によって測定され得る。レセプター-リガンド活性の適切なアッセイとしては、限定することなく、以下に記載されるものが挙げられる：CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY、Coliganら編、Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience (第7.28章、Measurement of Cellular Adhesion under static conditions 7.28.1-7.28.22)、Takaiら、Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 84:6864~6868、1987; Biererら、J.Exp.Med. 168:1145~1156、1988; Rosensteinら、J.Exp.Med. 169:149~160 1989; Stoltenborgら、J.Immunol.Methods 175:59~68、1994; Stittら、Cell 80:661~670、1995。

【0302】

(抗炎症活性)

本発明のタンパク質はまた、抗炎症活性を示し得る。抗炎症活性は、炎症応答に関与する細胞に対する刺激を提供すること（細胞間相互作用（例えば、細胞接着）を阻害するか、または促進することによって）によってか、炎症プロセスに関与する細胞の走化性を阻害するか、または促進することによってか、細胞の血管外遊出を阻害するか、または促進するかによってか、あるいは炎症応答を直接的により阻害するか、またはより促進する他の因子の産生を刺激するか、または抑制することによって、達成され得る。そのような活性を示すタンパク質を使用して、炎症状態（慢性状態または急性状態を含む）（限定することなく、感染に関連する炎症（例えば、敗血症性ショック、敗血症または全身性炎症応答症候群（SIRS））、虚血 - 灌流損傷、内毒素の致死性、関節炎、補体媒介性激症拒絶症、腎炎、サイトカイン誘導性胚損傷またはケモカイン誘導性胚損傷、炎症性腸疾患、クローン病、またはTNFもしくはIL-1のようなサイトカインの過剰産生より生じるものが挙げられる）を処置し得る。本発明のタンパク質はまた、抗原性物質または抗原性材料に対する、アナフィラキシーおよび過敏症の処置のためにも、有用であり得る。

【0303】

（腫瘍阻害活性）

腫瘍の免疫学的処置または予防について上記に記載された活性に加えて、本発明のタンパク質は、他の抗腫瘍活性を示し得る。タンパク質は、直接的または間接的（例えば、ADCCを介して）腫瘍増殖を阻害し得る。タンパク質は、腫瘍組織または腫瘍前駆体組織に作用することによって、腫瘍増殖を支持するために必要な組織の形成を阻害することによって（例えば、新脈管形成を阻害することによって）、腫瘍増殖を阻害する他の因子、物質または細胞型の産生を生じることによって、あるいは腫瘍増殖を促進する因子、物質または細胞型を、抑制、除去または阻害することによって、その腫瘍阻害活性を示し得る。

【0304】

（他の活性）

本発明のタンパク質はまた、以下のさらなる活性または効果の1つ以上を示し得る：限定はされないが、細菌、ウイルス、真菌および他の寄生生物を含む感染

因子の、増殖、感染または機能を阻害するか、あるいは死滅させること；身体的特徴（限定することなく身長、体重、髪の色、目の色、皮膚、赤肉に対する脂肉の比、または他の組織色素沈着、あるいは器官または身体部分のサイズまたは形状（例えば、胸部増大または減少、骨の形態または形状の変化）が挙げられる）を生じること（抑制することまたは増強すること）；バイオリズムあるいはサーカディアンサイクルまたはサーカディアンリズムを生じること；雄性被験体または雌性被験体の受胎能を生じること；食事脂肪、脂質、タンパク質、炭水化物、ビタミン、ミネラル、補因子または他の栄養因子もしくは栄養成分の、代謝、異化作用、同化作用、プロセッシング、利用、貯蔵または除去を生じること；行動的特徴（食欲、性欲、ストレス、認識（認識障害を含む）、うつ病（抑うつ障害を含む）および狂暴症を含むが、これらに限定されない）を生じること；鎮痛性効果または他の疼痛減少効果を提供すること；造血系列以外の系列における胚性幹細胞の分化または増殖を促進すること；ホルモン活性または内分泌活性；酵素の場合、酵素の欠損を矯正すること、および欠損関連疾患を処置すること；過剰増殖障害（例えば、乾癬）の処置；免疫グロブリン様活性（例えば、抗原または補体に結合する活性）；ならびにワクチン組成物において抗原として作用し、そのようなタンパク質または他の物質あるいはそのようなタンパク質と交差反応する実体に対する免疫応答を惹起する能力。

【0305】

（予測医療）

本発明はまた、診断アッセイ、予後アッセイ、薬物ゲノム（*pharmacogenomics*）およびモニタリング臨床試験が、予後（予測）の目的に使用され、これによって個体を予防的に処置する、予測医療の分野に関する。従って、本発明の1つの局面は、SECXタンパク質および/または核酸の発現、ならびにSECXの活性を、生物学的サンプル（例えば、血液、血清、細胞、組織）の関連で決定し、これによって、異常なSECXの発現または活性に関連して、個体が疾患または障害に罹患するかどうか、あるいは障害を発症するリスクがあるかどうかを決定する。本発明はまた、個体が、SECXのタンパク質、核酸の発現または活性と関連した障害を発症するリスクがあるかどうかを決定するため

の予後的（または予測的）アッセイを提供する。例えば、SECXの遺伝子における変異が、生物学的サンプルにおいてアッセイされ得る。このようなアッセイは、予後的または予測的な目的に使用され得、これによってSECXのタンパク質、核酸の発現または活性によって特徴付けられるかまたは関連した障害の発病の前に個体を予防的に処置する。

【0306】

本発明の別の局面は、個体におけるSECXのタンパク質、核酸の発現あるいはSECXの活性を決定するための方法を提供し、これによって、その個体についての適切な治療的または予防的試薬（本明細書において「薬物ゲノム」とよばれる）を選択する。薬物ゲノムは、個体の遺伝型（例えば、特定の試薬に対して応答する個体の能力を決定するために試験された個体の遺伝型）に基づいて個体の治療的または予防的処置のための試薬（例えば、薬物）の選択を可能にする。

【0307】

本発明のなお別の局面は、臨床試験におけるSECXの発現または活性に対する試薬（例えば、薬剤、化合物）の影響をモニタリングすることに関する。

【0308】

これらおよび他の試薬は、以下の節でさらに詳細に記載される。

【0309】

（診断アッセイ）

生物学的サンプルにおけるSECXの存在または非存在を検出するための例示的な方法は、試験被験体から生物学的サンプルを得る工程、およびその生物学的サンプルをSECXのタンパク質またはSECXタンパク質をコードする核酸（例えば、mRNA、ゲノムDNA）を検出し得る化合物もしくは薬剤とを接触させ、その結果、SECXの存在が、その生物学的サンプルにおいて検出される、工程を包含する。SECXのmRNAもしくはゲノムDNAを検出するための薬剤は、SECX mRNAもしくはゲノムDNAにハイブリダイズし得る、標識された核酸プローブである。この核酸プローブは、例えば、全長のSECXの核酸もしくはその部分の核酸（例えば、少なくとも、15、30、50、100、250もしくは500ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドであり、ストリンジ

エントな条件下でSECXのmRNAまたはゲノムDNAと特異的にハイブリダイズするに十分である核酸)であり得る。本発明の診断アッセイにおける使用のための他の適切なプローブは本明細書において記載されている。

【0310】

SECXのタンパク質を検出するための薬剤は、SECXのタンパク質に結合し得る抗体であり、好ましくは、検出可能な標識を有する抗体である。抗体は、ポリクローナルであり得るか、またはより好ましくはモノクローナル抗体であり得る。インタクトな抗体またはそのフラグメント(例えば、FabまたはF(ab')₂)が使用され得る。用語「標識(された)」とは、プローブまたは抗体に関して、検出可能な物質をそのプローブもしくは抗体にカップリングさせる(すなわち、物理的に連結する)ことによってそのプローブまたは抗体を直接標識すること、ならびに、直接標識された別の試薬との反応性によってそのプローブもしくは抗体の間接的な標識をすることを包含することが意図される。間接的な標識の例としては、蛍光標識された二次抗体を用いた一次抗体の検出、および蛍光標識されたストレプトアビジンを用いて検出され得るようにDNAプローブのビオチンを用いた末端標識が挙げられる。用語「生物学的サンプル」とは、被験体から単離された、組織、細胞および生物学的流体ならびに被験体に存在する組織、細胞および流体を含むことが意図される。すなわち、本発明の検出方法を用いて、SECXのmRNA、タンパク質またはゲノムDNAを、生物学的サンプル中で、インビトロおよびインビボで検出し得る。例えば、SECXのmRNAの検出のためのインビトロ技術としては、ノーザンハイブリダイゼーションおよびインサイチュハイブリダイゼーションが挙げられる。SECXのタンパク質の検出のためのインビトロ技術としては、酵素連結免疫吸着アッセイ(ELISA)、ウェスタンブロット、免疫沈降および免疫蛍光が挙げられる。SECXのゲノムDNAを検出するためのインビトロ技術としては、サザンハイブリダイゼーションが挙げられる。さらに、SECXのタンパク質の検出のためのインビボ技術としては、標識された抗SECX抗体を被験体に導入することが挙げられる。例えば、その抗体は、放射性マーカを用いて標識され得る。被験体における放射性マーカの存在および位置は、標準的な画像化技術によって検出され得る。

【0311】

1つの実施形態において、この生物学的サンプルは、その試験被験体からのタンパク質分子を含む。あるいは、その生物学的サンプルは、その試験被験体からのmRNA分子またはその試験被験体からのゲノムDNA分子を含み得る。好ましい生物学的サンプルは、被験体から従来的手段によって単離された末梢血白血球サンプルである。

【0312】

別の実施形態において、本発明の方法はさらに、コントロール被験体からコントロール生物学的サンプルを得る工程、そのコントロールサンプルを、SECXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAを検出し得る化合物もしくは薬剤と接触させ、その結果、SECXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAの存在がその生物学的サンプルにおいて検出される、工程、およびそのコントロールサンプルにおけるSECXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAの存在と、その試験サンプルにおけるSECXのタンパク質、mRNAもしくはゲノムDNAの存在とを比較する工程を包含する。

【0313】

本発明はまた、生物学的サンプルにおけるSECXの存在を検出するためのキットを包含する。例えば、このキットは、以下を備え得る：生物学的サンプルにおいてSECXのタンパク質またはmRNAを検出し得る、標識された化合物もしくは薬剤；そのサンプルにおいてSECXの量を決定するための手段；およびそのサンプルにおいて、標準と、SECXの量とを比較するための手段。この化合物または薬剤は、適切な容器内に包装され得る。このキットは、さらに、SECXのタンパク質または核酸を検出するためにキットを用いるための指示書を備え得る。

【0314】

(予後アッセイ)

本明細書において記載された診断方法をさらに利用して、SECXの異常発現または異常活性に関連した疾患もしくは障害を有するかまたはその発症の危険にある被験体を同定し得る。例えば、本明細書に記載されるアッセイ（例えば、上

述の診断アッセイまたは下記のアッセイ)を利用して、SECXのタンパク質、核酸の発現または活性に関連する障害(例えば、癌または線維症障害)あるいは、上記の節1-14に記載されるような、個体におけるSECX特異的疾患を有するかまたはその発症の危険に有る被験体を同定し得る。あるいは、この予後アッセイを利用して、疾患または障害を有するかまたはその発症の危険に有る被験体を同定し得る。従って、本発明は、SECXの異常発現または異常活性に関連する疾患もしくは障害を同定するための方法を提供する。ここで、試験サンプルは、被験体から得られ、そしてSECXのタンパク質または核酸(例えば、mRNA、ゲノムDNA)が検出され、ここで、SECXのタンパク質または核酸の存在は、SECXの異常発現または異常活性に関連する疾患または障害を有するかまたはその発症の危険にある被験体についての診断指標である。本明細書において使用される「試験サンプル」とは、目的の被験体から得られた生物学的サンプルをいう。例えば、試験サンプルは、生物学的流体(例えば、血清)、細胞サンプル、または組織であり得る。

【0315】

さらに、本明細書に記載される予後アッセイを使用して、被験体が薬剤(例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、ペプチド模倣物、タンパク質、ペプチド、核酸、低分子、または他の薬物候補)が投与されてSECXの異常発現または異常活性に関連する疾患または障害を処置し得るか否かを決定し得る。例えば、そのような方法を用いて、被験体が疾患(例えば、癌または子癇前症(*preclampsia*))あるいは、上記の節1-14に記載されるような、個体におけるSECX特異的疾患)について薬剤を用いて有効に処置され得るか否かを決定し得る。従って、本発明は、SECXの異常発現または異常活性に関連する障害についての薬剤を用いて被験体が有効に処置され得るか否かを決定するための方法を提供する。ここで、試験サンプルが得られ、そしてSECXのタンパク質または核酸が検出される(例えば、ここで、SECXのタンパク質または核酸の存在は、SECXの異常発現または異常活性に関連する障害を処置するための薬剤をその被験体に投与し得ることについての診断指標である)。

【0316】

本発明の方法はまた、SECXの遺伝子における遺伝的損傷を検出し、それによって、その損傷遺伝子を有する被験体が異常な細胞増殖および/または分化によって特徴付けられる障害についての危険に有るか否かを決定するためにも使用され得る。種々の実施形態において、本発明の方法は、その被験体からの細胞のサンプルにおいて、SECXのタンパク質をコードする遺伝子の統合性に影響を与える変更の少なくとも1つによって特徴付けられる遺伝的損傷、あるいはSECXの遺伝子の誤発現の存在または非存在を検出する工程を包含する。例えば、そのような遺伝的損傷は、以下の少なくとも1つの存在を確認することによって検出され得る：(1) SECXの遺伝子からの1つ以上のヌクレオチドの欠失；(2) SECXの遺伝子への1つ以上のヌクレオチドの付加；(3) SECXの遺伝子の1つ以上のヌクレオチドの置換、(4) SECXの遺伝子の染色体再配置；(5) SECXの遺伝子のメッセンジャーRNA転写物のレベルにおける変更、(6) SECXの遺伝子の異常改変(例えば、ゲノムDNAのメチル化パターンの異常改変)、(7) SECXの遺伝子のメッセンジャーRNA転写物の非野生型スプライシングパターンの存在、(8) SECXのタンパク質の非野生型レベル、(9) SECXの遺伝子の対立遺伝子の欠失、ならびに(10) SECXのタンパク質の不適切な翻訳後修飾。本明細書において記載されるように、当該分野において、多数の公知のアッセイ技術が存在し、これらは、SECXの遺伝子における損傷を検出するために使用され得る。好ましい生物学的サンプルは、従来手段によって被験体から単離された末梢血白血球サンプルである。しかし、有核細胞を含む任意の生物学的サンプルが使用され得、これには、例えば、頬粘膜細胞が挙げられる。

【0317】

特定の実施形態において、損傷の検出は、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)におけるプローブ/プライマーの使用を包含する(例えば、米国特許第4,683,195号および同4,683,202号を参照のこと)(例えば、アンカーPCRまたはRACE PCR)あるいは、連結連鎖反応(LCR)(例えば、Landegranら(1988)Science 241:1077-1080;およびNakazawaら(1994)PNAS 91:360-364)を

参照のこと。後者は、SECXの遺伝子における点変異を検出するために特に有用であり得る) (Abravayaら(1995) *Nucleic Acids Res* 23:675-682を参照のこと)。この方法は、患者から細胞のサンプルを収集する工程、核酸(例えば、ゲノム、mRNAまたはその両方)をそのサンプルの細胞から単離する工程、SECXの遺伝子に特異的にハイブリダイズする1つ以上のプライマーと、その核酸サンプルとをSECXの遺伝子のハイブリダイゼーションおよび増幅が(存在する場合)生じるような条件下で、接触させる工程、ならびに増幅産物の存在もしくは非存在を検出する工程、またはその増幅産物の大きさを検出する工程およびその大きさをコントロールサンプルと比較する工程を包含し得る。PCRおよび/またはLCRは、本明細書に記載される変異を検出するために使用される技術のいずれかとともに予備的増幅工程として使用されるために所望され得ることが予想される。

【0318】

代替的な増幅方法としては、以下が挙げられる：自己維持配列複製(Guattelliら、1990、*Proc Natl Acad Sci USA* 87:1874-1878)、転写増幅系(Kwoh、ら、1989、*Proc Natl Acad Sci USA* 86:1173-1177)、Q-レプリカーゼ(Lizardiら、1988、*BioTechnology* 6:1197)、または他の任意の核酸増幅方法、それに続いて、当業者に周知な技術を用いたその増幅された分子の検出。これらの検出スキームは、そのような分子が非常に極少数で存在する場合、核酸分子の検出のために特に有用である。

【0319】

代替の実施形態において、サンプル細胞からのSECXの遺伝子における変異は、制限酵素切断パターンにおける変更によって同定され得る。例えば、サンプルおよびコントロールのDNAが単離され、増幅され(必要に応じて)、1つ以上の制限エンドヌクレアーゼを用いて消化され、そしてフラグメント長の大きさがゲル電気泳動によって決定され、そして比較される。サンプルDNAとコントロールDNAとの間のフラグメント長の大きさにおける差違は、そのサンプルDNAにおける変異を示す。さらに、配列特異的なリボザイムの使用(例えば、米

国特許第5,493,531号を参照のこと)を使用して、リボザイム切断部位の発生または喪失によって特異的な変異の存在についてスコア付けし得る。

【0320】

他の実施形態において、SECXにおける遺伝的変異は、サンプル核酸およびコントロール核酸(例えば、DNAまたはRNA)を、数百または数千のオリゴヌクレオチドプローブを含む高密度アレイに対してハイブリダイズさせることによって同定され得る(Croninら(1996)Human Mutation 7:244-255;Kozalら(1996)Nature Medicine 2:753-759)。例えば、SECXにおける遺伝的変異は、Croninら、上記のように光生成DNAプローブを含む二次元アレイにおいて同定され得る。手短には、第一のプローブハイブリダイゼーションアレイを用いて、サンプルおよびコントロールにおける長いストレッチのDNAを通じて走査して、連続的に重複するプローブの線形アレイを作成することによってその配列の間の塩基変化を同定し得る。この工程は、点変異の同定を可能にする。この工程に続いて、検出される全ての改変体または変異体に相補的な、より小さな特化されたプローブアレイを用いて、特定の変異の特徴付けを可能にする第二のハイブリダイゼーションアレイがある。各変異アレイは、一方が野生型遺伝子に対して相補的であり、そして他方が変異遺伝子に対して相補である並行プローブセットから構成される。

【0321】

なお別の実施形態において、当該分野で公知の種々の配列決定反応のいずれかを使用して、SECX遺伝子を直接配列決定し得、そしてサンプルのSECX配列と対応する野生型(コントロール)配列とを比較することによって、変異を検出し得る。配列決定反応の例としては、MaximおよびGilbert(1977)PNAS 74:560またはSanger(1977)PNAS 74:5463によって開発された技術に基づくものが挙げられる。診断アッセイを実施する場合、種々の自動化配列決定手順のいずれかを利用し得ることもまた意図される(Naeveら、(1995)BioTechniques 19:448)。これらには、質量分析法による配列決定法(例えば、PCT国際公開番

号WO 94/16101; Cohenら(1996) Adv Chromatogr 36:127-162; およびGriffinら(1993) Appl Biochem Biotechnol 38:147-159を参照のこと)が含まれる。

【0322】

SECX遺伝子における変異を検出するための他の方法としては、切断薬剤からの保護を使用して、RNA/RNAもしくはRNA/DNAのヘテロ二重鎖におけるミスマッチ塩基を検出する方法が挙げられる(Myersら(1985) Science 230:1242)。一般に、「ミスマッチ切断」の当該分野の技術は、野生型のSECX配列を含む(標識された)RNAまたはDNAを、組織サンプルから得られた潜在的な変異体RNAまたはDNAとハイブリダイズさせることによって形成されるヘテロ二重鎖を提供する工程によって始まる。この二本鎖の二重鎖を、二重鎖の一本鎖領域(例えば、そのコントロールとサンプルの鎖との間の塩基対ミスマッチに起因して存在するもの)を切断する薬剤を用いて処理する。例えば、RNA/DNA二重鎖を、RNaseを用いて処理し得、そしてDNA/DNAハイブリッドを、そのミスマッチ領域を酵素的に消化することに対して、S1ヌクレアーゼを用いて処理し得る。他の実施形態において、DNA/DNAまたはRNA/DNAのいずれかの二重鎖を、ミスマッチ領域を消化するために、ヒドロキシルアミンまたは四酸化オスミウム、およびピペリジンを用いて処理し得る。次いで、そのミスマッチ領域の消化後、得られた材料を変性ポリアクリルアミドゲル上で、大きさで分離して、変異の部位を決定する。例えば、Cottonら(1988) Proc Natl Acad Sci USA 85:4397; Saleebaら(1992) Methods Enzymol 217:286-295を参照のこと。1つの実施形態において、コントロールのDNAまたはRNAは、検出のために標識され得る。

【0323】

なお別の実施形態において、ミスマッチ切断反応は、二本鎖DNAにおけるミスマッチ塩基対を認識する1つ以上のタンパク質(いわゆる「DNAミスマッチ修復」酵素)を、細胞のサンプルから得られたSECX cDNAにおける点変

異を検出およびマッピングするために規定された系において使用する。例えば、*E. coli*のmutY酵素は、G/AミスマッチでAを切断し、そしてHeLa細胞からのチミジンDNAグリコシダーゼは、G/TミスマッチでTを切断する(Hsuら(1994)Carcinogenesis 15:1657~1662)。例示的な実施形態に従って、SECX配列(例えば、野生型SECX配列)に基づくプローブは、試験細胞由来のcDNAまたは他のDNA産物にハイブリダイズされる。二重鎖は、DNAミスマッチ修復酵素を用いて処理され、そしてその切断産物(もしあれば)は、電気泳動プロトコルなどから検出され得る。例えば、米国特許第5,459,039号を参照のこと。

【0324】

他の実施形態において、電気泳動の移動度における変化は、SECX遺伝子における変異を同定するために使用される。例えば、一本鎖配座多型(SSCP)は、変異体と野生型核酸との間の電気泳動の移動度における差異を検出するために使用され得る(Oritaら(1989)Proc Natl Acad Sci USA:86:2766、またCotton(1993)Mutat Res 285:125~144; Hayashi(1992)Genet Anal Tech Appl 9:73~79を参照のこと)。サンプルおよびコントロールSECX核酸の一本鎖DNAフラグメントは、変性され、そして再生される。一本鎖核酸の二次構造は、配列に従って変化し、電気泳動の移動度において得られる変化は、1つの塩基変化さえも検出し得る。DNAフラグメントは、標識され得るか、または標識されたプローブを用いて検出され得る。アッセイの感度は、二次構造が、配列中の変化に対してより感受的である、(DNAよりもむしろ)RNAを使用することによって増強され得る。1つの実施形態において、本発明の方法は、ヘテロ二重鎖分析を利用して、電気泳動の移動度における変化に基づいて二本鎖のヘテロ二重鎖分子を分離する(Keenら(1991)Trends Genet 7:5)。

【0325】

なお別の実施形態において、一定勾配の変性剤を含有するポリアクリルアミドゲルにおける変異体または野生型フラグメントの移動は、変性勾配ゲル電気泳動

(DGGE)を使用してアッセイされる(Myersら(1985)Nature 313:495)。DGGEが分析の方法として使用される場合、DNAは、例えば、PCRにより約40bpの高融点GCリッチDNAのGCクランプを付加することによって、完全には変性されないことを確実に改変される。さらなる実施形態において、温度勾配は、コントロールおよびサンプルDNAの移動度における差異を同定するために、変性剤勾配の代わりに使用される(RosenbaumおよびReissner(1987)Biophys Chem 265:12753)。

【0326】

点変異を検出するための他の技術の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：選択的オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション、選択的増幅、または選択的プライマー伸長。例えば、オリゴヌクレオチドプライマーは、既知の変異が中心的に配置されるように調製され得、次いで、完全なマッチが見出される場合にのみハイブリダイゼーションを許容する条件下で標的DNAにハイブリダイズされる(Saikiら(1986)Nature 324:163)；Saikiら(1989)Proc Natl Acad Sci USA 86:6230)。このような対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドは、このオリゴヌクレオチドがハイブリダイズ膜に付着され、そして標識された標的DNAがハイブリダイズされる場合に、PCR増幅された標的DNAまたは多くの異なる変異にハイブリダイズされる。

【0327】

あるいは、選択的PCR増幅に依存する対立遺伝子特異的増幅技術は、本発明と合わせて使用され得る。特異的増幅についてのプライマーとして使用されるオリゴヌクレオチドは、分子の中心において(その結果、増幅は、差次的ハイブリダイゼーションに依存する)(Gibbsら(1989)Nucleic Acids Res 17:2437~2448)か、あるいは適切な条件下で mismatches が妨げされ得るかまたはポリメラーゼ伸長を減少し得る、1つのプライマーの3'の最末端で、目的の変異を保有し得る(Prossner(1993)Tibtech 11:238)。さらに、変異の領域において新規な制限部位

を導入することは、切断に基づく検出を行うために望ましくあり得る (Gaspariniら (1992) Mol Cell Probes 6:1)。特定の
実施形態において、増幅はまた、増幅用 Taqリガーゼを使用して実施され得ることが予測される (Barany (1991) Proc Natl Acad Sci USA 88:189)。このような場合において、連結は、5'配列の3'末端に完全なマッチが存在する場合にのみ生じ、増幅の存在または非存在を探索することによって、特定の部位で既知の変異の存在を検出することを可能にする。

【0328】

本明細書中に記載される方法は、例えば、本明細書中に記載される少なくとも1つのプローブ核酸または抗体試薬を含む、予めパッケージングされた診断キットを利用することによって実施され得、これは、例えば、SECX遺伝子を含む疾患または疾病の症状または家族病歴を示す患者を診断するための臨床的設定において簡便に使用され得る。

【0329】

さらに、SECXが発現される任意の細胞型または組織 (好ましくは、末梢白血球) は、本明細書中に記載される予後アッセイにおいて利用され得る。しかし、有核細胞を含む任意の生物学的サンプル (例えば、頬粘膜細胞を含む) が、使用され得る。

【0330】

(薬理ゲノム学 (Pharmacogenomics))

SECX活性 (例えば、SECX遺伝子発現) に対する刺激性または阻害性の影響を有する因子、すなわちモジュレーターは、本明細書中に記載されるスクリーニングアッセイによって同定されるように、異常なSECX活性に関連する障害 (例えば、癌または妊娠性障害、あるいは上記個々の節1~14に記載されるような、SECXに特異的な疾患) を処置 (予防的または治療的に) するために個体に投与され得る。このような処置と合わせて、個体の薬理ゲノム学 (すなわち、個体の遺伝子型と外来化合物または薬物に対するその個体の応答との間の関係についての研究) が、考慮され得る。治療剤の代謝における差異は、薬理的

に活性な薬物の用量と血中濃度との間の関係を変更することによって、重篤な毒性または治療の失敗を導き得る。従って、個体の薬理ゲノム学は、個体の遺伝子型の考慮に基づく予防的または治療的処置のために有効な薬剤（例えば、薬物）の選択を許容する。このような薬理ゲノム学は、さらに、適切な投薬量および治療剤レジメンを決定するために使用され得る。従って、SECXタンパク質の活性、SECX核酸の発現、あるいは個体におけるSECX遺伝子の変異含量が決定されて、それによって個体の治療的または予防的処置のために適切な薬剤を選択し得る。

【0331】

薬理ゲノム学は、罹患された人において変更された薬物の性質および異常な作用に起因する、薬物に応答する臨床的に有意な遺伝性変更を扱う。例えば、Eichelbaum、Clin Exp Pharmacol Physiol, 1996, 23:983~985およびLinder、Clin Chem, 1997, 43:254~266を参照のこと。一般に、2つの型の薬理ゲノム学状態が、区別され得る。遺伝的状态は、薬物が身体に作用する方法を変更する1つの因子として伝達されるか（変更された薬物作用）、または遺伝的状态は、身体が薬物に作用する方法を変更する1つの因子として伝達される（変更された薬物代謝）。これらの薬理ゲノム学状態は、稀な欠損としてか、または多型としてのいずれかで生じ得る。例えば、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ（G6PD）欠損は、一般的な遺伝性酵素病であり、この主な臨床的合併症は、酸化剤薬物（抗マラリア剤、スルホンアミド、鎮痛薬、ニトロフラン）の摂取およびソラマメの摂取（consumption）後の溶血である。

【0332】

例示的な実施形態として、薬物代謝酵素の活性は、薬物作用の強度および期間の両方の主要な決定因子である。薬物代謝酵素（例えば、N-アセチルトランスフェラーゼ2（NAT2）およびシトクロムP450酵素CYP2D6およびCYP2C19）の遺伝的多型の発見は、幾人かの患者が予期される薬物効果を得ないか、または薬物の標準的かつ安全な用量を摂取した後に過大な薬物応答および深刻な毒性を示すことについての説明を提供した。これらの多型は、集団にお

いて2つの表現型(高い代謝能を持つ人(extensive metabolizer)(EM)および低い代謝能を持つ人(poor metabolizer)(PM))で発現される。PMの罹患率は、異なる集団の間で異なる。例えば、CYP2D6をコードする遺伝子は高度に多型であり、そしていくらかの変異がPMにおいて同定されており、この全ては機能的CYP2D6の非存在に至る。CYP2D6およびCYP2C19の低い代謝能を持つ人は、彼らが標準的な用量を受ける場合に、かなり頻繁に過大な薬物応答および副作用を経験する。代謝産物が活性な治療的部分である場合、そのCYP2D6形成代謝産物であるモルヒネによって媒介されるコデインの鎮痛効果について実証されるように、PMは治療的応答を示さない。他の極端なものは、標準的な用量に応答しない、いわゆる超迅速な代謝能を持つ人である。最近、超迅速な代謝の基準となる分子は、CYP2D6遺伝子増幅に起因していることが同定されている。

【0333】

従って、SECXのタンパク質の活性、SECXの核酸の発現、あるいは個体におけるSECXの遺伝子の変異内容を決定されて、それによって、その個体の治療的または予防的処置のために適切な薬剤を選択し得る。さらに、薬理ゲノム学の研究を使用して、個体の薬物応答性の表現型の同定に対して薬物代謝酵素をコードする多型対立遺伝子の遺伝子型を適用し得る。この知見は、用量または薬物選択に適用される場合、有害な反応または治療の失敗を回避し得、従って、被験体をSECXの調節因子(例えば、本明細書中に記載される例示的なスクリーニングアッセイの1つによって同定される調節因子)を用いて処置する場合に治療的または予防的効率を増強し得る。

【0334】

(臨床試験の間の効果のモニタリング)

SECXの発現または活性(例えば、異常な細胞増殖および/または分化を調節する能力)に対する薬剤(例えば、薬物、化合物)の影響をモニタリングすることは、基本的なスクリーニングにおいてのみならず、臨床試験においてもまた適用され得る。例えば、本明細書中に記載されるようなスクリーニングアッセイによって決定される薬剤が、SECXの遺伝子発現、タンパク質レベルを増加す

るため、またはSECX活性をアップレギュレートする効力を、減少したSECXの遺伝子発現、タンパク質レベル、またはダウンレギュレートしたSECXの活性を示す被験体の臨床試験においてモニターし得る。あるいは、スクリーニングアッセイによって決定される薬剤が、SECXの遺伝子発現、タンパク質レベルを減少、またはSECXの活性をダウンレギュレートする効力を、増加したSECXの遺伝子発現、タンパク質レベル、またはアップレギュレートしたSECXの活性を示す被験体の臨床試験においてモニターし得る。このような臨床試験において、SECXの発現または活性、および好ましくは、例えば、細胞性増殖障害、または上記個々の節1~14に記載するような、SECXに特異的な疾患に関与した他の遺伝子が、「リードアウト(読み出し)(read out)」、すなわち、特定の細胞の免疫応答のマーカーとして使用され得る。

【0335】

例えば、限定の目的ではないが、SECXを含む遺伝子(これは、SECX活性(例えば、本明細書中に記載されるようなスクリーニングアッセイにおいて同定される)を調節する薬剤(例えば、化合物、薬物または低分子)を用いる処置によって、細胞内で調節される)が、同定され得る。従って、細胞性増殖障害に対する薬剤の効果を研究するために、例えば、臨床試験において、細胞が単離され得、そしてRNAが調製され得、そしてSECXおよびこの障害に関与する他の遺伝子の発現のレベルについて分析され得る。遺伝子発現のレベル(すなわち、遺伝子発現パターン)は、本明細書中に記載されるように、ノーザンブロット分析もしくはRT-PCRによるか、あるいは産生されるタンパク質の量を測定することによるか、本明細書中に記載されるような方法の1つによるか、あるいはSECXまたは他の遺伝子の活性のレベルを測定することによって、定量され得る。この様式で、この遺伝子発現パターンは、この薬剤に対する細胞の生理学的応答の指標であるマーカーとして作用し得る。従って、この応答状態は、この薬剤を用いる個体の処置の前、および処置の間の種々の時点で、決定され得る。

【0336】

1つの実施形態において、本発明は、薬剤(例えば、アゴニスト、アンタゴニスト、タンパク質、ペプチド、ペプチド模倣物、核酸、低分子、または本明細書

中に記載されるスクリーニングアッセイによって同定される他の薬物候補物)を用いる、被験体の処置の効力をモニタリングするための方法を提供し、これは、以下の工程を包含する：(i)薬剤の投与の前に、被験体から投与前サンプルを得る工程；(ii)この投与前サンプルにおいて、SECXのタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現のレベルを検出する工程；(iii)この被験体から1つ以上の投与後サンプルを得る工程；(iv)この投与後サンプルにおいて、SECXのタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現または活性のレベルを検出する工程；(v)この投与前サンプルにおけるSECXのタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現または活性のレベルを、この投与後サンプルにおけるSECXのタンパク質、mRNA、またはゲノムDNAの発現または活性のレベルと比較する工程；ならびに(vi)従って、この被験体に対する薬剤の投与を変更する工程。例えば、この薬剤の増加した投与は、検出されるよりも高いレベルにSECXの発現または活性を増加するために(すなわち、この薬剤の効力を増加するために)望ましくあり得る。あるいは、この薬剤の減少した投与は、検出されるよりも低いレベルにSECXの発現または活性を減少するために(すなわち、この薬剤の効力を減少するために)望ましくあり得る。

【0337】

(処置の方法)

本発明は、異常なSECXの発現または活性に関連する障害の危険性のある(または感受性)か、またはこの障害を有する被験体を処置する予防的および治療的の両方の方法を提供する。

【0338】

(障害)

(その疾患または障害に罹患していない被験体と比較して)増加したレベルまたは生物学的活性によって特徴付けられる疾患および障害は、活性を拮抗する(すなわち、低減または阻害する)治療剤を用いて処置され得る。活性を拮抗する治療剤は、治療的または予防的な様式で、投与され得る。利用され得る治療剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：(i)上記ペプチド、またはそのアナログ、誘導体、フラグメントもしくはホモログ；(ii)上記ペプ

チドに対する抗体；(iii) 上記ペプチドをコードする核酸；(iv) アンチセンス核酸および「機能不全性」である（すなわち、上記ペプチドに対するコード配列のコード配列内の異種挿入に起因する）核酸の投与が、相同組換えによって上記ペプチドの内因性機能を「ロックアウトする」ために利用される（例えば、Capecci、1989、Science 244:1288~1292を参照のこと）；または(v) 上記ペプチドとその結合パートナーとの間の相互作用を変化させる、調節因子（すなわち、インヒビター、アゴニストおよびアンタゴニスト（本発明のさらなるペプチド模倣物または本発明のペプチドに対して特異的な抗体を含む））。

【0339】

（その疾患または障害に罹患していない被験体と比較して）減少したレベルまたは生物学的活性によって特徴付けられる疾患および障害は、活性を増加させる（すなわち、活性に対するアゴニストである）治療剤を用いて処置され得る。活性をアップレギュレートする治療剤は、治療的または予防的な様式で、投与され得る。利用され得る治療剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：上記ペプチド、またはそのアナログ、誘導體、フラグメントもしくはホモログ；あるいはバイオアベイラビリティーを増加させるアゴニスト。

【0340】

増加したレベルまたは減少したレベルは、ペプチドおよび/またはRNAを定量することによって、容易に検出され得る。この定量は、患者の組織サンプルを（例えば、生検組織から）入手し、そしてそのサンプルを、その発現したペプチド（または上記ペプチドのmRNA）のRNAレベルまたはペプチドレベル、構造および/または活性をインビトロでアッセイすることによる。当該分野において周知の方法としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：イムノアッセイ（例えば、ウェスタンブロット分析、ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）ポリアクリルアミドゲル電気泳動が後に続く免疫沈降、免疫細胞化学などによる）および/またはmRNAの発現を検出するためのハイブリダイゼーションアッセイ（例えば、ノーザンアッセイ、ドットブロット、インサイチュハイブリダイゼーションなど）。

【0341】

(予防的方法)

1つの局面において、本発明は、被験体において異常なSECXの発現または活性と関連する疾患または状態を、SECXの発現または少なくとも1つのSECX活性を調節する薬剤をこの被験体に投与することによって予防するための方法を提供する。異常なSECXの発現または活性によって引き起こされるかまたはこれらに起因する、疾患にかかる危険がある被験体は、例えば、本明細書中に記載の診断アッセイまたは予後アッセイのいずれか、またはそれらの組み合わせによって、同定され得る。予防薬剤の投与は、疾患または障害が予防されるか、あるいはその進行を遅らせられるように、このSECX異常の特徴である症状の発現の前に行い得る。このSECX異常の型に依存して、例えば、SECXアゴニスト薬剤またはSECXアンタゴニスト薬剤が、その被験体を処置するために使用され得る。その適切な薬剤は、本明細書中に記載のスクリーニングアッセイに基づいて決定され得る。本発明の予防方法は、以下の小区分において、さらに議論される。

【0342】

(治療方法)

本発明の調節方法は、細胞を、その細胞に関するSECXタンパク質活性の活性のうちの1つ以上を調節する薬剤と接触させる工程を包含する。SECXタンパク質活性を調節する薬剤は、核酸またはタンパク質、SECXタンパク質の天然に存在する同族リガンド、ペプチド、SECXペプチド模倣物、または他の低分子のような、本明細書中に記載されるような薬剤であり得る。1つの実施形態において、この薬剤は、SECXタンパク質活性のうちの1つ以上を刺激する。このような刺激薬剤の例としては、活性なSECXタンパク質、およびその細胞に導入されたSECXをコードする核酸分子が挙げられる。別の実施形態において、この薬剤は、SECXタンパク質活性のうちの1つ以上を阻害する。このような阻害薬剤の例としては、アンチセンスSECX核酸分子、および抗SECX抗体が挙げられる。これらの調節方法は、インビトロで(例えば、その薬剤とともにその細胞を培養することによって)、あるいはインビボで(例えば、被験体

にその薬剤を投与することによって)実施され得る。このように、本発明は、SECXのタンパク質または核酸分子の、異常な発現または異常な活性によって特徴付けられる、疾患または障害に罹患した個体を処置する方法を提供する。1つの実施形態において、この方法は、SECXの発現または活性を調節する(例えば、アップレギュレートまたはダウンレギュレートする)薬剤(例えば、本明細書中に記載のスクリーニングアッセイによって同定される薬剤)あるいはそのような薬剤の組み合わせを投与する工程を包含する。別の実施形態において、この方法は、SECXのタンパク質または核酸分子を、低減したかまたは異常な、SECXの発現または活性を補償するための治療として、投与する工程を包含する。

【0343】

SECX活性の刺激は、SECXが異常にダウンレギュレートされている状況、および/またはSECX活性の増加が有益な効果を有するようである状況において、望ましい。このような状況の1つの例は、被験体が、異常な細胞増殖および/または細胞分化によって特徴付けられる障害(例えば、癌)を有する場合である。このような状況の別の例は、被験体が妊娠疾患(例えば、プレクランプシア(*preclampsia*))を有する場合である。本発明の他の疾患としては、上記個々の節1~14に記載されるような、SECXに特異的な疾患が挙げられる。

【0344】

本発明は、本明細書に記載される特定の実施形態によって、範囲が限定されることはない。実際、本明細書において記載されたものに加えて、本発明の種々の改変が、上記の記載および添付の図面から、当業者に明らかとなる。そのような改変は、添付の特許請求の範囲の範囲内にあることが意図される。

【0345】

本発明はさらに、以下の実施例によって例示されるが、これらは、限定として解釈されるべきではない。本出願を通じて引用される全ての参考文献、特許および公開された特許出願の内容が、本明細書によって参考として援用される。

【0346】

(実施例)

(実施例1. 放射ハイブリッドマッピングは本発明のクローンの染色体位置を同定する。)

ヒト染色体マーカーを用いる放射ハイブリッドマッピングを、本発明に記載の多数のクローンについて実施した。これらの結果を得るために使用した手順は、当該分野において公知の方法(例えば、Steenら 1999 Genome Research 9: AP1-AP8)に類似する。無作為化した放射により誘導したヒト染色体フラグメントを含む93細胞クローンのパネルを、96ウェルプレート内で、所定のクローンを独特の様式で同定するよう設計したPCRプライマーを使用して、スクリーニングした。これらの結果を表2に示す。この表は、クローン番号、クローンが見出される染色体、マーカー遺伝子から捜査されたクローンまでのcRでの距離、およびマーカー遺伝子の同一性を提供する。

【0347】

【表2】

表2. 本発明のクローンに関する放射ハイブリッドマッピングの結果

クローン番号	染色体番号	距離、 cR	マーカー遺伝子
2777610	3	564.40	AFM320WD1
2864933-1および2864933-2	5	316.40	WI-9907
2982339	3	355.00	AFM320WD1
3911675	10	391.30	IB3079
4004731-1	12	404.60	WI-5272
4035508	11	230.10	WI-4920
4339264	19	311.50	IB1264

(実施例2. 2864933-1の分子クローニング)

2864933-1タンパク質に関して予測されたオープンリーディングフレームは、マウスセマフォリンViaタンパク質に対して全体で95%の同一性を有する939アミノ酸長I型膜貫通タンパク質をコードする。予測したシグナルペプチド配列は、残基1~18の間であり、そして予測した膜貫通ドメインは、残基645~661の間である。残基19~644由来の予測した成熟タンパク質(すなわち、シグナルペプチドの除去後)の細胞外ドメインをコードする、2864933-1タンパク質に対するcDNAのフラグメントを、ヒト胎児脳c

DNAからクローニングした。

【0348】

以下のオリゴヌクレオチドプライマーを、PCRによって、2864933 -
1 4の捜査された成熟形態を増幅するために、設計した：

【0349】

【化1】

2864933 MatF

GGATCC GGT TTC CCA GAA GAT TCT GAG CCA ATC (SEQ ID NO:33)

2864933 F-TOPO-逆方向

CTC GAG CTG GTC GTG GCC TTT GAG GTA ACT TTC (SEQ ID NO:34)

クローニングのために、正方向プライマーは、インフレーション BamHI 制限部位を含み、そして逆方向プライマーは、インフレーション XhoI 制限部位を含む。

【0350】

PCR反応を、5 ngのヒト胎児脳cDNAを用いて設定した。反応混合物は、1 μMの2864933 MatFおよび2864933 F-TOPO-逆方向プライマーの各々、5 μモルのdNTP (Clontech Laboratories, Palo Alto CA) および1マイクロリットルの50× Advantage-HF2ポリメラーゼ (Clontech Laboratories, Palo Alto CA) (50マイクロリットル容量中) を含んだ。以下の反応条件を使用した：

- a) 96 3分間
 - b) 96 30秒間変性
 - c) 60 30秒間、プライマーアニーリング
 - d) 72 3分間伸長
- 工程(b) ~ (d)を45回繰り返す
- e) 72 10分間最終伸長。

【0351】

約1.9 kbpの予測した増幅産物を、アガロースゲル電気泳動により検出した。このフラグメントをゲルから単離し、そしてM13正方向プライマー、M13逆方向プライマーを使用して、ベクターpCR2.1 (Invitrogen、Carlsbad、CA)に連結した。クローニングしたインサートを、以下の遺伝子特異的プライマーを使用して、PCRアンプリコンとして配列決定した：

【0352】

【化2】

2864933-Seq-0 CACAAGCCAGGACGGAACA	(SEQ ID NO:35)
2864933-Seq-1 TGG AAC TAA TGC CTT CAA C	(SEQ ID NO:36)
2864933-Seq-2 GAG TCCTGGAGAAACAGTGGA	(SEQ ID NO:37)
2864933-Seq-3 ATGAGGCAGTGCCCTCCATC	(SEQ ID NO:38)
2864933-Seq-4 CCATATTGTGGATGGATAA	(SEQ ID NO:39)
2864933-Seq-5 GACACTCAATCCAAAGACC	(SEQ ID NO:40)
2864933-Seq-6 CCATCACGCAGCAGGGCTA	(SEQ ID NO:41)

クローニングしたcDNA (配列番号29)が、残基19と残基644との間の2864933の予測した成熟細胞外ドメインをコードするオープンリーディングフレームを有することを確認した (配列番号30) (図15)。図15において、BamHIクローニング部位およびXhoIクローニング部位、ならびにこれらによりコードされるアミノ酸 (従ってクローニングされた配列の一部ではない) は、太字体である。この構築物は、pCR2.1-2864933と呼ばれる。

【0353】

(実施例3. ヒト胚腎臓293細胞におけるh2864933の発現)
オリゴヌクレオチドプライマーである、pSec-V5-His正方向および

pSec-V5-His逆方向を設計し、pCDNA3.1-V5His (Invitrogen、Carlsbad、CA) 発現ベクター由来のフラグメントを増幅した。このPCR産物を、XhoIおよびApaIで消化し、そしてIgリーダー配列 (Invitrogen、Carlsbad、CA) を保有する、XhoI/ApaIで消化したpSecTag2 Bベクターに連結した。得られるベクターpSecV5Hisの正しい構造を、DNA配列分析により確認した。ベクターpSecV5Hisを、PmeIおよびNheIで消化し、そしてPmeI-NheIフラグメントを、BamHI/クレノウおよびNheIで処理したベクターpCEP4 (Invitrogen、Carlsbad、CA) に連結した。得られたベクターを、pCEP4/Secと名付けた。

【0354】

【化3】

pSec-V5-His 正方向

CTCGTCCTCGAGGGTAAGCCTATCCCTAAC (SEQ ID NO:42)

pSec-V5-His 逆方向

CTCGTCGGGCCCTGATCAGCGGGTTTAAAC (SEQ ID NO:43),

h2864933配列を含む2kbのBamHI-XhoIフラグメントを、pCR2.1-2864933 (実施例2) から単離し、そしてBamHI-XhoIで消化したpCEP4/Secにサブクローニングして、発現ベクターpCEP4/Sec-2864933を生成した。pCEP4/Sec-2864933ベクターを、LipofectaminePlus試薬を使用し、製造業者の指示に従って(Gibco/BRL、Life Technologies、Inc.、Rockville、MD) 293細胞内にトランスフェクトした。細胞ペレットおよび上清を、トランスフェクションの72時間後に収集し、そして抗V5抗体を用いるウェスタンブロット(還元条件)によって、h2864933発現について試験した。図16は、293細胞により分泌されるh2864933が、約70kDaおよび約100kDaのV5エピトープを有する2つ

のバンドにおいて検出されることを示す。この70 kDaのバンドは、グリコシル化されていないタンパク質を表すと推定され、そしてV5エピトープを付加した626残基クローンを除いて、 M_r に対応する。プログラムPROSITEは、細胞外h2864933ドメインに、6つのN-グリコシル化部位を予測する。100 kDaのバンドは、このタンパク質のグリコシル化形態を起源とすると考えられる。

【0355】

(実施例4 . 3352358 - 1の分子クローニング)

クローン3352358 - 1の予測されたオープンリーディングフレームは、残基522と残基551との間に膜貫通ドメインがあると予測される、653アミノ酸残基のI型膜貫通タンパク質をコードする。予測した成熟タンパク質の細胞外セグメントをコードするcDNA(すなわち、シグナルペプチドの切断後)を、クローニングした。

【0356】

分泌シグナル予測法(GCG:SPSCAN-Eukaryote)は、3352358 - 1について、シグナルペプチド切断部位を残基41と残基42との間と予測する。従って、以下のオリゴヌクレオチドプライマーを設計して、残基42~486の3352358の予測した成熟細胞外ドメインをPCR増幅した:

【0357】

【化4】

3352358C 正方向

CTCGTCGGATCCAACTGCCCTCCGTCTGCTCGTGCGAG (SEQ ID NO:44), および

3352358C 逆方向

CTCGTCGTCGACCGTGGTAGAGGTGGTATATGCCGGCTG (SEQ ID NO:45)

クローニングのために、正方向プライマーは、インフレームBamHI制限部位を含み、そして逆方向プライマーは、インフレームSalI制限部位を含む。

【0358】

2つの別個のPCR反応を、5 ngのヒト精巣cDNAテンプレートおよびヒト胎児脳cDNAテンプレートをそれぞれ用いて設定した。反応混合物は、1 μ Mの3352358C正方向プライマーおよび3352358C逆方向プライマーの各々、5 μ モルのdNTP (Clontech Laboratories、Palo Alto CA) および1マイクロリットルの50x Advantage-HF2ポリメラーゼ (Clontech Laboratories、Palo Alto CA) (50マイクロリットル容量中) を含んだ。以下の反応条件を使用した：

- a) 96 3分間
 - b) 96 30秒間変性
 - c) 70 30秒間、プライマーアニーリング。この温度を1 / サイクルで次第に低下させた
 - d) 72 3分間伸長
- 工程 (b) ~ (d) を10回繰り返す
- e) 96 30秒間変性
 - f) 60 30秒間アニーリング
 - g) 72 3分間伸長
- 工程 (e) ~ (g) を25回繰り返す
- h) 72 10分間最終伸長。

【0359】

1335 bpの予測した増幅産物を、アガロースゲル電気泳動により、両方のサンプルにおいて検出した。これらのフラグメントをアガロースゲルから精製し、そしてpCR2.1ベクター (Invitrogen、Carlsbad、CA) に連結した。M13正方向ベクタープライマーおよびM13逆方向ベクタープライマー、ならびに以下の遺伝子特異的プライマー：

【0360】

【化5】

3352358 Seq-1	GTGCAGTAACCAGTTCAGCA	(SEQ ID NO:46),
3352358 Seq-2	ACCTGTCCAAGCTGCGGGAG	(SEQ ID NO:47),
3352358 Seq-3	TTGACGGGCTGGCTTCACTT	(SEQ ID NO:48),
3352358 Seq-4	GACAGTGCTCAGCCACGCCT	(SEQ ID NO:49),

を使用して、クローニングしたインサートを、PCRアンプリコンとして配列決定し、そして3352358-S153Aと指定したオープンリーディングフレームとして確認した。このクローンに関して得られたヌクレオチド配列(配列番号31)を、図17パネルAに示す。このクローニング部位は、下線を引いた斜字体である。クローン3352358-S153Aに対して得られた配列は、クローン3352358-1について予測された配列と、6つの部位で異なる。これらは、図17Aにおいて下線を引いた太字体で示される。クローン3352358-S153Aに対して翻訳されたタンパク質配列(配列番号32)を、図17パネルBに示す。ヌクレオチドレベルで見出される配列差異の5つは、アミノ酸差異に翻訳され、クローン3352358-1に対して予測された配列と比較される;これらは同様に、図17Bにおいて、下線を引いた太字体で示される。(図17Bにおいて、各末端においてクローニング部位によりコードされる2つのアミノ酸残基は示されない。図17Bの最初のアミノ酸残基は、図17Aのヌクレオチド7~9によりコードされる)。

【0361】

(実施例5. ヒト胚性腎293細胞におけるh3352358の発現)

ベクターpCEP4/Secを、実施例3に記載のように調製した。h3352358配列を含む1.3kbのフラグメントを、BamHI-SalI消化によってpCR2.1-3352358(実施例4において調製)から単離し、そしてBamHI-XhoI消化pCEP4/Sec中にサブクローン化して、発現ベクターpCEP4/Sec-3352358を作製した。このpCEP4/Sec-3352358ベクターを、製造業者の指示に従ってLipofectamine Plus™試薬(Gibco/BRL)を用いて、293細胞にトランスフェクトした。細胞のペレットおよび上清をトランスフェクションの72時

間後に収集し、そして抗V5抗体を用いるウェスタンブロッティング（還元条件）によって、h3352358の発現について試験した。図18は、293細胞によって分泌されたh3352358が、約98kDaで、V5エピトープを保有するバンドにおいて検出されることを示す。このバンドは、このタンパク質のグリコシル化形態を表すと推定される。なぜなら、プログラムPROSITEが、細胞外h3352358ドメインポリペプチドにおいて8つのN-グリコシル化部位を予想するからである。

【0362】

（実施例6． TaqMan™分析によって決定される、組織における2777610の発現）

2777610の発現を、下記の表3に示される組織において、実時間定量的PCR（real time quantitative PCR）によって評価した。表3の第1欄における番号付けは、図19A～Cから図23におけるヒストグラムのレーンの順序に対応する。

【0363】

【表3】

表3. TaqMan™分析において使用された細胞型のパネル

1	内皮細胞	
2	内皮細胞 (処理)	
3	膵臓	
4	膵臓癌 (Pancreatic ca.)	CAPAN 2
5	脂肪	
6	副腎	
7	甲状腺	
8	唾液腺	
9	下垂体	
10	脳 (胎児)	
11	脳 (全体)	
12	脳 (扁桃)	
13	脳 (小脳)	
14	脳 (海馬)	
15	脳 (視床下部)	
16	脳 (黒質)	
17	脳 (視床)	
18	脊髄	
19	CNS癌 (CNS ca.) (神経膠腫(glio) / 星細胞腫 (astro))	U87-MG
20	CNS癌 (神経膠腫/星細胞腫)	U-118-MG
21	CNS癌 (星細胞腫)	SW1783
22	CNS癌 * (神経; 転移(met))	SK-N-AS
23	CNS癌 (星細胞腫)	SF-539
24	CNS癌 (星細胞腫)	SNB-75
25	CNS癌 (神経膠腫)	SNB-19
26	CNS癌 (神経膠腫)	U251
27	CNS癌 (神経膠腫)	SF-295
28	心臓	
29	骨格筋	
30	骨髄	
31	胸腺	
32	脾臓	
33	リンパ節	
34	結腸 (上行)	
35	胃	
36	小腸	
37	結腸癌 (Colon ca.)	SW480
38	結腸癌* (SW480転移)	SW620
39	結腸癌	HT29
40	結腸癌	HCT-116
41	結腸癌	CaCo-2
42	結腸癌	HCT-15
43	結腸癌	HCC-2998
44	胃癌* (肝臓転移)	NCI-N87
45	膀胱	
46	気管	
47	腎臓	

(表3の続き)

48	腎臓 (胎児)	
49	腎癌 (Renal ca.)	786-0
50	腎癌	A498
51	腎癌	RXF393
52	腎癌	ACHN
53	腎癌	UO-31
54	腎癌	TK-10
55	肝臓	
56	肝臓 (胎児)	
57	肝臓癌 (Liver ca.) (胚芽腫)	HepG2
58	肺	
59	肺 (胎児)	
60	肺癌 (Lung ca.) (小細胞)	LX-1
61	肺癌 (小細胞)	NCI-H69
62	肺癌 (小細胞改変体 (s. cell var.))	SHP-77
63	肺癌 (大細胞)	NCI-H460
64	肺癌 (非小細胞 (non-sm. cell))	A549
65	肺癌 (非小細胞)	NCI-H23
66	肺癌 (非小細胞)	HOP-62
67	肺癌 (非小細胞)	NCI-H522
68	肺癌 (扁平上皮 (squam.))	SW900
69	肺癌 (扁平上皮)	NCI-H596
70	乳腺	
71	乳癌 (Breast ca.)* (胸水 (pl. effusion))	MCF-7
72	乳癌* (胸水)	MDA-MB-231
73	乳癌* (胸水)	T47D
74	乳癌	BT-549
75	乳癌	MDA-N
76	卵巣	
77	卵巣癌 (Ovarian ca.)	OVCAR-3
78	卵巣癌	OVCAR-4
79	卵巣癌	OVCAR-5
80	卵巣癌	OVCAR-8
81	卵巣癌	IGROV-1
82	卵巣癌* (腹水)	SK-OV-3
83	子宮筋層	
84	子宮	
85	胎盤	
86	前立腺	
87	前立腺癌 (Prostate ca.)* (骨転移)	PC3
88	精巣	
89	黒色腫	Hs688 (A).T
90	黒色腫* (転移)	Hs688 (B).T
91	黒色腫	UACC-62
92	黒色腫	M14
93	黒色腫	LOX IMVI
94	黒色腫* (転移)	SK-MEL-5
95	黒色腫	SK-MEL-28
96	黒色腫	UACC-257

使用されたPCRアッセイにおいて、結合されたリポーターおよび消光色素の両方を有するオリゴヌクレオチドからなる蛍光発生的プローブを、順方向プライマーと逆方向プライマーとの間で標的配列に特異的にアニールした。このプローブがDNAポリメラーゼの5'ヌクレアーゼ活性によって切断される場合、レポ

ーター色素は消光色素から分離され、そして配列特異的シグナルが生成される。各サイクルで、さらなるレポーター色素分子がそれらの個々のプローブから切断され、そして蛍光強度における増加を、PCRの間モニターする。

【0364】

プローブおよびプライマーを、入力として2777610の配列を用いて、Perkin Elmer BiosystemのPrimer Expressソフトウェアパッケージ(AppleコンピュータのMacintosh Power PC用バージョンI)に従って設計した。反応条件についてはデフォルト設定を使用し、そして以下のパラメーターをプライマーを選択する前に設定した：プライマー濃度 = 250 nM、プライマー融解温度(T_m) 範囲 = 58 ~ 60、プライマー最適 T_m = 59、最大プライマー差異 = 2、プローブは5' Gを有さない、プローブの T_m はプライマー T_m よりも10 高くなければならない、アプコンサイズは75 bp ~ 100 bp。選択されたプローブおよびプライマー(下記を参照のこと)を合成し、二重HPLC精製してカップリングされていない色素を除去し、そしてそれぞれプローブの5' 末端および3' 末端へのレポーターおよび消光色素の効率的なカップリングについて、質量分析法によって評価した。

【0365】

PCR条件：サンプルRNAを、広範な正常組織および腫瘍組織から得た。各組織由来のRNA(ポリA+RNA、2.8 pg)および細胞株由来のRNA(総RNA、70 ng)を、96ウェルのPCRプレートの各ウェルにスポットした。順方向プライマー、逆方向プライマー、および2777610特異的プローブ(下記を参照のこと；および参照として供するために、別の遺伝子についてのプライマーおよびプローブの別のセット)を含むPCR反応混液を、PE Biosystems 7700用の1x TaqMan™ PCR Master Mixを使用して、5 mM MgCl₂、dNTPs(dA、dG、dC、dU(1:1:1:2の比率にて))、0.25 U/ml AmpliTaq Gold™(PE Biosystems)、および0.4 U/μl RNaseインヒビター、および0.25 U/μl 逆転写酵素と共にセットした。逆転写を48

にて30分間実施し、次いで、以下のように増幅/PCRサイクルを実施した：
95 で10分間、次いで以下の40サイクル：95 で15秒間、60 で1分間。

【0366】

分析において使用されたTaqManプローブおよびプライマー：

【0367】

【化6】

Ag 111 (F): 5'-CCTTTCAAATCCTCTCTGACTCAC-3' (SEQ ID NO:50)

Ag 111 (R): 5'-TCACCGAAGAAAAACGACACAC-3' (SEQ ID NO:51)

Ag 111 (P): TET-5'-CCTGGCACCTGGCAGCTCAGA-3'-TAMRA (SEQ ID NO:52)

(実施例7 . TaqMan™分析によって決定される、組織における2864933の発現)

2864933の発現のTaqMan™分析を、実施例6に記載のように実施した。逆転写を48 にて30分間実施し、次いで、以下のように増幅/PCRサイクルを実施した：95 で10分間、次いで以下の40サイクル：95 で15秒間、60 で1分間。プライマー - プローブのセットは、下記の通りである。結果を図19において、それぞれパネルA、B、およびCに示す。図19の各パネルについての細胞型は、上記の表3に規定される。

【0368】

プライマーおよびプローブ2つのセットは、2864933 - 1および2864933 - 2に共通である核酸の領域を標的化した。プライマー - プローブセット88は、Ag 88 (配列番号53 ~ 55)を含み、そしてプライマー - プローブセット291は、Ag 291 (配列番号56 ~ 58)を含む。

【0369】

【化7】

Ag 88 (F): 5'-CATCTTCAACAGGCCATGGTT-3' (SEQ ID NO:53)

Ag 88 (R): 5'-AGCAGCTGTGTCCACTGCAA-3' (SEQ ID NO:54)

Ag 88 (P): TET-5'-TGAGAACAATGGTCAGATACCGCCTTACCAA-3'-TAMRA
(SEQ ID NO:55)

Ag 291 (F): 5'-CGCAGTCATTTACCGGAGTCTT-3' (SEQ ID NO:56)

Ag 291 (R): 5'-TTCTTTCAACCATTTTGAATCGTG-3' (SEQ ID NO:57)

Ag 291 (P): TET-5'-AGCCCTACCTGCGGACCGTCA-3'-TAMRA (SEQ ID NO:58)

プライマーおよびプローブ第3のセットは、より長いスプライス改変体である2864933-1にのみ特異的に存在するセグメントを標的化した。プライマー-プローブセット341は、Ag 341 (配列番号59~61)を含む。

【0370】

【化8】

Ag 341 (F): 5'-TCCTTTGTGGCACTGAATGG-3' (SEQ ID NO:59)

Ag 341 (R): 5'-CCCTCTTGAGCCGTCGAA-3' (SEQ ID NO:60)

Ag 341 (P): FAM-5'-TCCCTCTTGCCCGAGCACAACCAC-3'-TAMRA (SEQ ID NO:61)

(実施例8. TaqMan™分析によって決定される、組織における3352358の発現)

3352358の発現のTaqMan™分析を、表3に記載のような組織パネルを用いて実施例6に記載のように実施した。逆転写を48にて30分間実施し、次いで、以下のように増幅/PCRサイクルを実施した: 95で10分間、次いで以下の40サイクル: 95で15秒間、60で1分間。

【0371】

3352358の分析において使用されたTaqMan™プローブおよびプライマーを以下に示す(入力配列に対するプライマーおよびプローブのアニーリング位置は、それぞれ呈色および下線で示される)。プライマー-プローブセット42は、Ag 42 (配列番号62~64)を含む。結果を図20に示す。

【0372】

【化9】

Ag 42 (F): 5'-CGCGAAAGTACAAGCCTGTTTC-3'

(SEQ ID NO:62)

Ag 42 (R): 5'-GAATGAGCACCCGTGGTAGAGG-3'

(SEQ ID NO:63)

Ag 42 (P): TET-5'-CGTCCACTGGTTACCAGCCGGCATATA-3'-TAMRA (SEQ ID NO:64)

(実施例9. TaqMan™分析によって決定される、組織における3911675の発現)

3911675の発現のTaqMan™分析を、表3に記載のような組織パネルを用いて実施例6に記載のように実施した。逆転写を48にて30分間実施し、次いで、以下のように増幅/PCRサイクルを実施した：95で10分間、次いで以下の40サイクル：95で15秒間、60で1分間。3911675の発現分析において使用されたTaqManプローブおよびプライマーは、プライマー - プローブセット115であり、これはAg 115 (配列番号65～67)を含む。結果を図21に示す。

【0373】

【化10】

Ag 115 (F): 5'-TGGACTCATCCCCTTGCTCT-3'

(SEQ ID NO:65)

Ag 115 (R): 5'-CCTGCGCAAAAAGTTGTGAA-3'

(SEQ ID NO:66)

Ag 115 (P): TET-5'-CAGCTGAATCCTGACATCATATCCACACTGTGT-3'-TAMRA
(SEQ ID NO:67)

(実施例10. TaqMan™分析によって決定される、組織における4035508の発現)

4035508の発現のTaqMan™分析を、表3に記載のような組織パネルを用いて実施例6に記載のように実施した。逆転写を48にて30分間実施し、次いで、以下のように増幅/PCRサイクルを実施した：95で10分間、次いで以下の40サイクル：95で15秒間、60で1分間。クローン4035508の発現分析において使用されたTaqManプローブおよびプライマーは、プライマー - プローブセット118を含み、Ag 118と名付けた (配列番号68～70)。結果を図22に示す。

【0374】

【化11】

Ag 118 (F): 5'-TCTCTGTCTGCAGTACCTGGCAT-3' (SEQ ID NO:68)
 Ag 118 (R): 5'-GGCAGTGGGTATGGGATGTG-3' (SEQ ID NO:69)
 Ag 118 (P): FAM-5'-ACTTTCCTCCTGATGCCCGGG-3'-TAMRA (SEQ ID NO:70)

(実施例11. TaqMan™分析によって決定される、組織における4339264の発現)

4339264の発現のTaqMan™分析を、表3に記載のような組織パネルを用いて実施例6に記載のように実施した。逆転写を48にて30分間実施し、次いで、以下のように増幅/PCRサイクルを実施した：95で10分間、次いで以下の40サイクル：95で15秒間、60で1分間。クローン4339264の発現分析において使用されたTaqManプローブおよびプライマーは、プライマー-プローブセット120を含み、Ag120と名付けた(配列番号71~73)。結果を図23に示す。

【0375】

【化12】

Ag 120 (F): 5'-AAAGGCGGAGGAAAGAAGTACTC-3' (SEQ ID NO:71)
 Ag 120 (R): 5'-GCTCCCGTTCCTCTCCA-3' (SEQ ID NO:72)
 Ag 120 (P): FAM-5'-CCTCTTTGTTCTTCTTGCCCGAGTTTTCTTT-3'-TAMRA (SEQ ID NO:73)

(等価物)

本発明の特定の実施形態に関する前述の詳細な説明から、SECX遺伝子についての特有のヌクレオチド、ポリペプチド、およびそれらの使用方法が記載されていることは明らかである。特定の実施形態が、本明細書中で詳細に開示されたが、これは例示目的のためのみに例としてなされ、そして上記の添付した特許請求の範囲に関して制限することを意図されない。特に、種々の置換、変更、およ

び改変が、特許請求の範囲によって規定される本発明の精神および範囲から逸脱することなく本発明に対してなされ得ることは、本発明者らによって意図される。例えば、SECXヌクレオチドもしくはポリペプチドまたはそれらの使用方法の選択は、本明細書中に記載される実施形態の見識を有する当業者に慣用的事象であるとみなされる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、クローン2777610のヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図2】

図2は、クローン2864933-1のヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図3】

図3は、クローン2864933-2のヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図4】

図4は、クローン2982339のヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図5】

図5は、クローン3352358-1のヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図6】

図6は、クローン3352358-2のヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図7A】

図7は、クローン3884846(図7A)、クローン3884846-1(図7B)、およびクローン3884846-2(図7C)の、ヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図7B】

図7は、クローン3884846 (図7A)、クローン3884846-1 (図7B)、およびクローン3884846-2 (図7C)の、ヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図7C】

図7は、クローン3884846 (図7A)、クローン3884846-1 (図7B)、およびクローン3884846-2 (図7C)の、ヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図8A】

図8は、クローン3911675 (図8A)およびクローン3911675-2 (図8B)のヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図8B】

図8は、クローン3911675 (図8A)およびクローン3911675-2 (図8B)のヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図9A】

図9は、クローン4004056 (図9A)およびクローン4004056.0.143u (図9B)のヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図9B】

図9は、クローン4004056 (図9A)およびクローン4004056.0.143u (図9B)のヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図10】

図10は、クローン4004731-1のヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図11】

図11は、クローン4009334-1のヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図12】

図12は、クローン4009334-2のヌクレオチドおよびコードされるポ

リペプチドの図である。

【図13】

図13は、クローン4035508のヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図14】

図14は、クローン4339264のヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図15】

図15は、cDNAクローンpCR2.1-2864933のヌクレオチドおよびコードされるポリペプチドの図である。

【図16】

図16は、293細胞におけるpCEP4/Sec2864933ベクターの発現の還元SDS-PAGE後のウェスタンブロットを示す。

【図17】

図17は、cDNAクローン3352358-S153Aについて得られたヌクレオチド(パネルA)およびアミノ酸(パネルB)の配列を示す。このクローンは、3352358-1の細胞外ドメインを含み、ここで、その下線を引いた配列は、隣接配列を示す。

【図18】

図18は、還元SDS-PAGE後の293細胞抽出物のウェスタンブロットにおいて分析された293細胞中のpCEP4/Sec-3352358ベクターの発現を示す。

【図19A】

図19は、プライマープローブセット88(パネルA)、プライマープローブセット291(パネルB)、およびプライマープローブセット341(パネルC)を利用した、クローン2864933の発現のリアルタイム定量PCR(TaqMan™)分析を示す。

【図19B】

図19は、プライマープローブセット88(パネルA)、プライマープローブ

セット291(パネルB)、およびプライマープロブセット341(パネルC)を利用した、クローン2864933の発現のリアルタイム定量PCR(TaqMan™)分析を示す。

【図19C】

図19は、プライマープロブセット88(パネルA)、プライマープロブセット291(パネルB)、およびプライマープロブセット341(パネルC)を利用した、クローン2864933の発現のリアルタイム定量PCR(TaqMan™)分析を示す。

【図20】

図20は、3352358の発現のリアルタイム定量PCR(TaqMan™)分析を示す。

【図21】

図21は、3911675の発現のリアルタイム定量PCR(TaqMan™)分析を示す。

【図22】

図22は、4035508の発現のリアルタイム定量PCR(TaqMan™)分析を示す。

【図23】

図23は、4339264の発現のリアルタイム定量PCR(TaqMan™)分析を示す。

【 図 1 】

7p-1 2777610

ATGACTGCCGCCATAAGAAGACAGAGAGAACTGAGTATCCTCCCAAAGGTGAATTTCAAT
 TTTTGGTTATTATGAGTGTGCTTGCTTATATAAAAAGAATATGCTTAAGGGAAAAAAGGTGC
 TTTAAAGTTAATATTCTACAAACCATAGTTTATGAGCATAAGAAATTACATAATTTACAG
 CAATCTGATGTATTAGTAATAATAATGTATTATTATCTCTTAAACAGTGTTTTTGTTTTAT
 GGCTAACAGTAGCACCTGTGAATGAGGCAGAACCTGTTATTTGGATTTCCACAAGGATGTG
 AAAGTAATGGTACTGTTAAAAGTACCAAAAATGTATTATATGCTTTAAAAATCTAGCCA
 GAAAACAGTATTTTCCTTTTCAACACATCTATTGAAAGTGTGGATAAATGCAGGATGTT
 AATATGCTATAAACATAAAGTCTGTTTTTAAAAAATAGCATTGAAAATCATGAAGGGCT
 TTTTGTTCCTTTTGTGTTATATATGTTTATTGGTAAAAGGTGACACTGGAAGCAATGA
MetAsn

ACACCACAGTGATGCAAGGCTTCAACAGATCTGAGCGGTGCCCCAGAGACACTCGGATAG
 ThrThrValMetGlnGlyPheAsnArgSerGluArgCysProArgAspThrArgIleVal

TACAGCTGGTATTTCCAGCCCTCTACACAGTGGTTTTCTTGACCGGCATCCTGCTGAATA
 GlnLeuValPheProAlaLeuTyrThrValValPheLeuThrGlyIleLeuLeuAsnThr

CTTTGGCTCTGTGGGTGTTTGTTCACATCCCCAGCTCCTCCACCTTCATCATCTACCTCA
 LeuAlaLeuTrpValPheValHisIleProSerSerSerThrPheIleIleTyrLeuLys

AAAACACTTTGGTGGCCGACTTGATAATGACACTCATGCTTCCTTTCAAAATCCTCTCTG
 AsnThrLeuValAlaAspLeuIleMetThrLeuMetLeuProPheLysIleLeuSerAsp

ACTCACACCTGGCACCCCTGGCAGCTCAGAGCTTTTGTGTGTCGTTTTTCTTCGGTGATAT
 SerHisLeuAlaProTrpGlnLeuArgAlaPheValCysArgPheSerSerValIlePhe

TTTATGAGACCATGTATGTGGGCATCGTGTGTTAGGGCTCATAGCCTTTGACAGATTCC
 TyrGluThrMetTyrValGlyIleValLeuLeuGlyLeuIleAlaPheAspArgPheLeu

TCAAGATCATCAGACCTTTGAGAAATATTTTTCTAAAAAACCTGTTTTTGCAAAAACGG
 LysIleIleArgProLeuArgAsnIlePheLeuLysLysProValPheAlaLysThrVal

TCTCAATCTTCATCTGGTTCTTTTTGTTCTTCATCTCCCTGCCAAATATGATCTTGAGCA
 SerIlePheIleTrpPhePheLeuPhePheIleSerLeuProAsnMetIleLeuSerAsn

ACAAGGAAGCAACACCATCGTCTGTGAAAAAGTGTGCTTCCMTAAAGGGGCCTCTGGGGC
 LysGluAlaThrProSerSerValLysLysCysAlaSerLeuLysGlyProLeuGlyLeu

TGAAATGGCATCAAATGGTAAATAACATATGCCAGTTTATTTCTGGACTGTTTTTATCC
 LysTrpHisGlnMetValAsnAsnIleCysGlnPheIlePheTrpThrValPheIleLeu

TAATGCTTGTGTTTTATGTGGTTATTGCAAAAAAGTATATGATTCTTATAGAAAGTCCA
 MetLeuValPheTyrValValIleAlaLysLysValTyrAspSerTyrArgLysSerLys

AAAGTAAGCACAGAAAAACAACAAAAGCTGGAAGGCAAAGTATTTGTTGTGCTGGCTG
 SerLysAspArgLysAsnAsnLysLysLeuGluGlyLysValPheValValValAlaVal

TCTTCTTTGTGTGTTTTGCTCCATTTCTATTTTGCCAGAGTTCATATACTCACAGTCAA
 PhePheValCysPheAlaProPheHisPheAlaArgValProTyrThrHisSerGlnThr

CCAACAATAAGACTGACTGTAGACTGCAAAATCAACTGTTTATTGCTAAAGAAACAACCTC
 AsnAsnLysThrAspCysArgLeuGlnAsnGlnLeuPheIleAlaLysGluThrThrLeu

TCTTTTTGGCAGCAACTAACATTTGTATGGATCCCTTAATATACATATCTTATGTAAAA
 PheLeuAlaAlaThrAsnIleCysMetAspProLeuIleTyrIlePheLeuCysLysLys

【図1】

(図1の続き)

AATTCACAGAAAAGCTACCATGTATGCAAGGGAGAAAGACCACAGCATCAAGCCAAGAAA
PheThrGluLysLeuProCysMetGlnGlyArgLysThrThrAlaSerSerGlnGluAsn

ATCATAGCAGTCAGACAGACAACATAACCTTAGGCTGACAACTGTACATAGGGTTAAGTT
HisSerSerGlnThrAspAsnIleThrLeuGly

CTATTTATTGATGAGACTTCCGTAGATAATGTGGAAATCAAATTTAACCAAGAAAAAAG

ATTGGAACAAATGCTCTCTTACATTTTATTATCCTCGTGACAGAAAAGATTATATAAAA

TTTAAATCCACATAGATCTATTTCATAAGCTGAATGAACCATTAAGAGAATGCAACAG

GATACAAATGGCCACTAGAGGTCATTATTTCTTTCTTTCTTTATTTCAGCGGCCGCTTTTT

TTTTTTTTTTTT

【図2】

7D-1 2864933_1

GCGACTATTTCCCCCAAAGAGACAAGCACACATGTAGGAATGACAAAGGCTTGCGAAGGA
 GAGAGCGCAGCCCGCGGCCCGGAGAGATCCCCTCGATAATGGATTACTAAATGGGATACA
 CGCTGTACCAGTTTCGCTCCGAGCCCCGCGCCCTGTCCGTCGATGCACCGAAAAGGGTGA
 AGTAGAGAAATAAAGTCTCCCCGCTGAACTACTATGAGGTCAGAAGCCTTGCTGCTATAT
 MetArgSerGluAlaLeuLeuLeuTyr
 TTCACACTGCTACACTTTGCTGGGGCTGGTTTCCCAGAAGATTCTGAGCCAATCAGTATT
 PheThrLeuLeuHisPheAlaGlyAlaGlyPheProGluAspSerGluProIleSerIle
 TCGCATGGCAACTATACAAAACAGTATCCGGTGTGTTGGGGCCACAAGCCAGGACCGAAC
 SerHisGlyAsnTyrThrLysGlnTyrProValPheValGlyHisLysProGlyArgAsn
 ACCACACAGAGGCACAGGCTGGACATCCAGATGATTATGATCATGAACGGAAACCCCTCTAC
 ThrThrGlnArgHisArgLeuAspIleGlnMetIleMetIleMetAsnGlyThrLeuTyr
 ATTGCTGCTAGGGACCATATTTATACTGTTGATATAGACACATCACACACGGAAGAAATT
 IleAlaAlaArgAspHisIleTyrThrValAspIleAspThrSerHisThrGluGluIle
 TATTGTAGCAAAAACTGACATGGAAATCTAGACAGGCCGATGTAGACACATGCAGAATG
 TyrCysSerLysLysLeuThrTrpLysSerArgGlnAlaAspValAspThrCysArgMet
 AAGGGAAAACATAAGGATGAGTGCCACAACCTTTATTAAGTTCTTCTAAGAAAAACGAT
 LysGlyLysHisLysAspGluCysHisAsnPheIleLysValLeuLeuLysLysAsnAsp
 GATGCATTGTTTGTCTGTGGAACATAATGCCTTCAACCCCTTCTGCAGAACTATAAGATG
 AspAlaLeuPheValCysGlyThrAsnAlaPheAsnProSerCysArgAsnTyrLysMet
 GATACATTGGAACCATTCGGGGATGAATTCAGCGGAATGGCCAGATGCCCATATGATGCC
 AspThrLeuGluProPheGlyAspGluPheSerGlyMetAlaArgCysProTyrAspAla
 AAACATGCCAACGTTGCACTGTTTGCAGATGGAAAACATACTCAGCCACAGTGAAGTGC
 LysHisAlaAsnValAlaLeuPheAlaAspGlyLysLeuTyrSerAlaThrValThrAsp
 TTCCTFGCCATTGACGCAGTCAITTTACCGGAGTCTTGGAGAAAGCCCTACCCTGCCGACC
 PheLeuAlaIleAspAlaValIleTyrArgSerLeuGlyGluSerProThrLeuArgThr
 GTCAAGCAGGATTCAAATGGTTGAAAGAACCATACTTTGTTCAAGCCGTGGATTACGGA
 ValLysHisAspSerLysTrpLeuLysGluProTyrPheValGlnAlaValAspTyrGly
 GATTATATCTACTTCTTCTCAGGGAAATAGCAGTGGAGTATAACACCATGGGAAAGGTA
 AspTyrIleTyrPhePhePheArgGluIleAlaValGluTyrAsnThrMetGlyLysVal
 GTTTCCCAAGAGTGGCTCAGGTTTGTAAAGAATGATATGGGAGGATCTCAAAGAGTCCCTG
 ValPheProArgValAlaGlnValCysLysAsnAspMetGlyGlySerGlnArgValLeu
 GAGAAACAGTGGACGTCGTTCCCTGAAGGCGCGCTTGAACCTGCTCAGTTCCTGGAGACTCT
 GluLysGlnTrpThrSerPheLeuLysAlaArgLeuAsnCysSerValProGlyAspSer
 CATTTTTATTTCAACATCTCCAGGCAGTTACAGATGTGATTTCGTATCAACGGGCGTGAT
 HisPheTyrPheAsnIleLeuGlnAlaValThrAspValIleArgIleAsnGlyArgAsp
 GTTGTCTGGCAACGTTTCTACACCTTATAACAGCATCCCTGGGTCTGCAGTCTGTGCC
 ValValLeuAlaThrPheSerThrProTyrAsnSerIleProGlySerAlaValCysAla
 TATGACATGCTTGACATFGCCAGTGTGTTTACTGGGAGATTCAAGGAACAGAAGTCTCCT
 TyrAspMetLeuAspIleAlaSerValPheThrGlyArgPheLysGluGlnLysSerPro

【図2】

(図2の続き)

GATTCCACCTGGACACCAGTTCCCTGATGAACGAGTTCCTAAGCCCAGGCCAGGTTGCTGT
 AspSerThrTrpThrProValProAspGluArgValProLysProArgProGlyCysCys

 GCTGGCTCATCCTCCTTAGAAAGATATGCAACCTCCAATGAGTTCCTGATGATACCCTG
 AlaGlySerSerSerLeuGluArgTyrAlaThrSerAsnGluPheProAspAspThrLeu

 AACTTCATCAAGACGCACCCGCTCATGGATGAGGCAGTGCCTCCATCTTCAACAGGCCA
 AsnPheIleLysThrHisProLeuMetAspGluAlaValProSerIlePheAsnArgPro

 TGGTTCCTGAGAACAAATGGTCAGATACCGCCTTACCAAAATGTCAGTGGACACAGCTGCT
 TrpPheLeuArgThrMetValArgTyrArgLeuThrLysIleAlaValAspThrAlaAla

 GGGCCATATCAGAATCACACTGTGGTTTTCTGGGATCAGAGAAGGGAAATCATCTTGAAG
 GlyProTyrGlnAsnHisThrValValPheLeuGlySerGluLysGlyIleIleLeuLys

 TTTTGGCCAGAATAGGAAATAGTGGTTTTCTAAATGACAGCCTTTCTCTGGAGGAGATG
 PheLeuAlaArgIleGlyAsnSerGlyPheLeuAsnAspSerLeuPheLeuGluGluMet

 AGTGTTTACAACCTCTGAAAATGCAGCTATGATGGAGTGAAGACAAAAGGATCATGGGC
 SerValTyrAsnSerGluLysCysSerTyrAspGlyValGluAspLysArgIleMetGly

 ATGCAGCTGGACAGCAAGCAGCTCTCTGTATGTTGCGTCTCTACCTGTGTGATAAAG
 MetGlnLeuAspArgAlaSerSerSerLeuTyrValAlaPheSerThrCysValIleLys

 GTTCCCTTGGCCGGTGTGAACGACATGGGAAGTGTAAAAAACCTGTATTGCCTCCAGA
 ValProLeuGlyArgCysGluArgHisGlyLysCysLysLysThrCysIleAlaSerArg

 GACCCATATTGTGGATGGATAAAGGAAGGTGGTGCCTGCAGCCATTTATCACCCAACAGC
 AspProTyrCysGlyTrpIleLysGluGlyGlyAlaCysSerHisLeuSerProAsnSer

 AGACTGACTTTTGAGCAGGACATAGAGCGTGGCAATACAGATGGTCTGGGGGACTGTCAC
 ArgLeuThrPheGluGlnAspIleGluArgGlyAsnThrAspGlyLeuGlyAspCysHis

 AATTCCTTTGTGGCACTGAATGGCATTCCAGTTCCTCTTGGCCAGCACAAACCACATCA
 AsnSerPheValAlaLeuAsnGlyHisSerSerSerLeuLeuProSerThrThrThrSer

 GATTCGACGGCTCAAGAGGGGTATGAGTCTAGGGGAGGAATGCTGGACTGGAAGCATCTG
 AspSerThrAlaGlnGluGlyTyrGluSerArgGlyGlyMetLeuAspTrpLysHisLeu

 CTTGACTCACCTGACAGCACAGACCCTTGGGGCAGTGTCTTCCCATATCACCAAGAC
 LeuAspSerProAspSerThrAspProLeuGlyAlaValSerSerHisAsnHisGlnAsp

 AAGAAGGGAGTGATTGGGAAAGTTACCTCAAAGGCCACGACCAGCTGGTTCCCGTCACC
 LysLysGlyValIleArgGluSerTyrLeuLysGlyHisAspGlnLeuValProValThr

 CTCTTGGCCATTGCAGTCATCCTGGCTTTCGTTCATGGGGCCGCTTCTCGGGCATCACC
 LeuLeuAlaIleAlaValIleLeuAlaPheValMetGlyAlaValPheSerGlyIleThr

 GTCTACTGCGTCTGTGATCATCGCGCAAAGACGTGGCTGTGGTGCAGCGCAAGGAGAAG
 ValTyrCysValCysAspHisArgArgLysAspValAlaValValGlnArgLysGluLys

 GAGCTCACCCACTCGCGCCGGGGCTCCATGAGCAGCGTCACCAAGCTCAGCGGCTCTTT
 GluLeuThrHisSerArgArgGlySerMetSerSerValThrLysLeuSerGlyLeuPhe

 GGGGACACTCAATCCAAAGACCCAAAGCCGGAGCCATCCTCAGCCACTCATGCACAAC
 GlyAspThrGlnSerLysAspProLysProGluAlaIleLeuThrProLeuMetHisAsn

 GGCAAGCTCGCCACTCCCGCAACACGGCCAAGATGCTCATTAAAGCAGACCAGCACCAC
 GlyLysLeuAlaThrProGlyAsnThrAlaLysMetLeuIleLysAlaAspGlnHisHis

 CTGGACCTGACGGCCCTCCCCACCCAGAGTCAACCCCAACGCTGCAGCAGAAGCGGGAA
 LeuAspLeuThrAlaLeuProThrProGluSerThrProThrLeuGlnGlnLysArgGlu

【図2】

(図2の続き)

CCCAGCCGCGGCACCCGCGAGTGGGAGAGGAACCAGAACCTCATCAATGCCTGCACAAAG
ProSerArgGlyThrArgGluTrpGluArgAsnGlnAsnLeuIleAsnAlaCysThrLys

GACATGCCCCCATGGGCTCCCCTGTGATTCCCACGGACCTGCCCCTGGGGCCCTCCCC
AspMetProProMetGlySerProValIleProThrAspLeuProLeuArgAlaSerPro

AGCCACATCCCCAGCGTGGTGGTCCCTGCCCATCACGCAGCAGGGCTACCAGCATGAGTAC
SerHisIleProSerValValValLeuProIleThrGlnGlnGlyTyrGlnHisGluTyr

GTGGACCAGCCAAAATGAGCGAGGTGGCCAGATGGCGCTGGAGGACCAGGCCGCCACA
ValAspGlnProLysMetSerGluValAlaGlnMetAlaLeuGluAspGlnAlaAlaThr

CTGGAGTATAAGACCATCAAGGAACATCTCAGCAGCAAGAGTCCCAACCATGGGGTGAAC
LeuGluTyrLysThrIleLysGluHisLeuSerSerLysSerProAsnHisGlyValAsn

CTTGTGGAGAACCTGGACAGCCTGCCCCCAAAGTTCCACAGCGGGAGGCCTCCCTGGGT
LeuValGluAsnLeuAspSerLeuProProLysValProGlnArgGluAlaSerLeuGly

CCCCGGGAGCCTCCCTGTCTCAGACCGGTCTAAGCAAGCGGCTGGAAATGCACCACTCC
ProProGlyAlaSerLeuSerGlnThrGlyLeuSerLysArgLeuGluMetHisHisSer

TCTTCCTACGGGGTTGACTATAAGAGGAGCTACCCACGAACTCGCTCAGGAGAAGCCAC
SerSerTyrGlyValAspTyrLysArgSerTyrProThrAsnSerLeuThrArgSerHis

CTGACCACCTACTCTCATCAGAAGCAACACTAACCCCGACAATTCANCTCTGACTTCAA
LeuThrThrTyrSerHisGlnLysGlnHis

GGGACCAGAGCTTTGGCAGGGGAGACAACCCGCGCCCGCCCGCAGAGGGTGGACTCCA
TCCAGGTGCACAGCTCCCAGCCATCTGGCCAGGCCGTGACTGTCTCGAGGCAGCCAGCC

TCAACGCCTACAACCTCACTGACAAGGTGCGGGCTGAAGCGTACGCCCTCGCTAAAGCCGG

ACGTACCCCCCAAACCATCCTTTGCTCCCTTTCCACATCCATGAAGCCCAATGATGCGT

GTACATAATCCCAGGGGGAGGGGGTCAGGTGTGCAACCAGCAGGCAAGGCGAGGTGTCCG

CTCAGCTCAGCAAGGTTCTCAACTGCCTCGAGTACCCACCAAACCAAAAAGGCCTGCCGC

AGAACCAGGGGACGCTGGGTCTCCTCTCTGGGACACAGGGGTACTCACGAAAAGTGGGC

CGCGTGGTTTGGTGAAAG

【 図 3 】

92-1 2864933-2

GCGACTATTTCCCCAAAGAGACAAGCACACATGTAGGAATGACAAAGGCTTGCGAAGGA
 GAGAGCGCAGCCCGCGGCCCGGAGAGATCCCCCTCGATAATGGATTACTAAATGGGATACA
 CGCTGTACCAGTTCGCTCCGAGCCCCGCGCCCTGTCCGTCGATGCACCGAAAAGGGTGA
 AGTAGAGAAATAAAGTCTCCCCGCTGAACTACTATGAGGTGAGAAGCCTTGCTGCTATAT
 MetArgSerGluAlaLeuLeuLeuTyr
 TTCACACTGCTACACTTTGCTGGGGCTGGTTTCCCAGAAGATTCTGAGCCAATCAGTATT
 PheThrLeuLeuHisPheAlaGlyAlaGlyPheProGluAspSerGluProIleSerIle
 TCGCATGGCAACTATACAAAACAGTATCCGGTGTGTGGGGCCACAAGCCAGGACGGAAC
 SerHisGlyAsnTyrThrLysGlnTyrProValPheValGlyHisLysProGlyArgAsn
 ACCACACAGAGGCACAGGCTGGACATCCAGATGATTATGATCATGAACGGAAACCCTCTAC
 ThrThrGlnArgHisArgLeuAspIleGlnMetIleMetIleMetAsnGlyThrLeuTyr
 ATTGCTGCTAGGGACCATATTTATACTGTTGATATAGACACATCACACCGGAAGAAATT
 IleAlaAlaArgAspHisIleTyrThrValAspIleAspThrSerHisThrGluGluIle
 TATTGTAGCAAAAACCTGACATGGAAATCTAGACAGGCCGATGTAGACACATGCAGAATG
 TyrCysSerLysLysLeuThrTrpLysSerArgGlnAlaAspValAspThrCysArgMet
 AAGGGAAAACATAAGGATGAGTGCCACAACCTTTATTAAGTTCTTAAAGAAAACCGAT
 LysGlyLysHisLysAspGluCysHisAsnPheIleLysValLeuLeuLysLysAsnAsp
 GATGCATTGTTTGTCTGTGGAACATAATGCCTTCAACCCTTCCTGCAGAACTATAAGATG
 AspAlaLeuPheValCysGlyThrAsnAlaPheAsnProSerCysArgAsnTyrLysMet
 GATACATTGGAACCATTCGGGGATGAATTCAGCGGAATGGCCAGATGCCCATATGATGCC
 AspThrLeuGluProPheGlyAspGluPheSerGlyMetAlaArgCysProTyrAspAla
 AAACATGCCAACGTTGCACTGTTTGCAGATGGAAAACATACTCAGCCACAGTACTGAC
 LysHisAlaAsnValAlaLeuPheAlaAspGlyLysLeuTyrSerAlaThrValThrAsp
 TCCTTGCCATTGACGCAGTCATTTACCGGAGTCTTGGAGAAAGCCCTACCCTGCGGACC
 PheLeuAlaIleAspAlaValIleTyrArgSerLeuGlyGluSerProThrLeuArgThr
 GTCAAGCACGATTCAAATGGTTGAAGAACCATACTTTGTTCAAGCCGTGGATTACGGA
 ValLysHisAspSerLysTrpLeuLysGluProTyrPheValGlnAlaValAspTyrGly
 GATTATATCTACTTCTTCTCAGGGAAATAGCAGTGGAGTATAACACCATGGGAAAGGTA
 AspTyrIleTyrPhePhePheArgGluIleAlaValGluTyrAsnThrMetGlyLysVal
 GTTTTCCCAAGAGTGGCTCAGGTTTGTAAAGATGATATGGGAGGATCTCAAAGAGTCTG
 ValPheProArgValAlaGlnValCysLysAsnAspMetGlyGlySerGlnArgValLeu
 GAGAAACAGTGGACGTCGTTCTGAAAGGCGCGCTTGAAGTCTCAGTTCCTGGAGACTCT
 GluLysGlnTrpThrSerPheLeuLysAlaArgLeuAsnCysSerValProGlyAspSer
 CATTFTTATTTCAACATTTCTCCAGGCAGTTACAGATGTGATTTCGTATCAACGGGCGTGAT
 HisPheTyrPheAsnIleLeuGlnAlaValThrAspValIleArgIleAsnGlyArgAsp
 GTTGTCTGGCAACGTTTCTACACCTTATAACAGCATCCCTGGGTCTGCAGTCTGTGCC
 ValValLeuAlaThrPheSerThrProTyrAsnSerIleProGlySerAlaValCysAla
 TATGACATGCTTGACATTGCCAGTGTFTTTACTGGGAGATTCAAGGAACAGAAGTCTCCT
 TyrAspMetLeuAspIleAlaSerValPheThrGlyArgPheLysGluGlnLysSerPro

【図3】

(図3の続き)

GATTCCACCTGGACACCCAGTTCCTGATGAACGAGTTCCCTAAGCCCAGGCCAGGTTGCTGT
 AspSerThrTrpThrProValProAspGluArgValProLysProArgProGlyCysCys

 GCTGGCTCATCCTCCTTAGAAAGATATGCAACCTCCAATGAGTTCCTGATGATACCCTG
 AlaGlySerSerSerLeuGluArgTyrAlaThrSerAsnGluPheProAspAspThrLeu

 AACTTCATCAAGACGCACCCGCTCATGGATGAGGCAGTGCCCTCCATCTTCAACAGGCCA
 AsnPheIleLysThrHisProLeuMetAspGluAlaValProSerIlePheAsnArgPro

 TGGTTCCTGAGAACAATGGTCAGATACCGCCTTACCAAATGCGAGTGGACACAGCTGCT
 TrpPheLeuArgThrMetValArgTyrArgLeuThrLysIleAlaValAspThrAlaAla

 GGGCCATATCAGAATCACACTGTGGTTTTCTGGGATCAGAGAAGGGAATCATCTTGAAG
 GlyProTyrGlnAsnHisThrValValPheLeuGlySerGluLysGlyIleIleLeuLys

 TTTTTGGCCAGAATAGGAAATAGTGGTTTTCTAAATGACAGCCTTTCTGGAGGAGATG
 PheLeuAlaArgIleGlyAsnSerGlyPheLeuAsnAspSerLeuPheLeuGluGluMet

 AGTGTTTACAACCTCTGAAAAATGCAGCTATGATGGAGTCCGAAGACAAAAGGATCATGGGC
 SerValTyrAsnSerGluLysCysSerTyrAspGlyValGluAspLysArgIleMetGly

 ATGCAGCTGGACAGCAAGCAGCTCTCTGTATGTTGGCTTCTCTACCTGTGTGATAAG
 MetGlnLeuAspArgAlaSerSerSerLeuTyrValAlaPheSerThrCysValIleLys

 GTTCCCTTGGCCGGTGTGAACGACATGGGAAGTGTAAAAAACCTGTATTGCCTCCAGA
 ValProLeuGlyArgCysGluArgHisGlyLysCysLysLysThrCysIleAlaSerArg

 GACCCATATTGTGGATGGATAAAGGAAGGTGGTGCCTGCAGCCATTTATCACCCAACAGC
 AspProTyrCysGlyTrpIleLysGluGlyGlyAlaCysSerHisLeuSerProAsnSer

 AGACTGACTTTTGAGCAGGACATAGAGCGTGGCAATACAGATGGTCTGGGGGACTGTAC
 ArgLeuThrPheGluGlnAspIleGluArgGlyAsnThrAspGlyLeuGlyAspCysHis

 AATTCCTTTGTGGCACTGAATGGAGTGATTCGGGAAAGTTACCTCAAAGGCCACGACCAG
 AsnSerPheValAlaLeuAsnGlyValIleArgGluSerTyrLeuLysGlyHisAspGln

 CTGTTCCCGTCACCCCTCTTGGCCATTGCAGTCATCCTGGCTTTCTGTCATGGGGCCGTC
 LeuValProValThrLeuLeuAlaIleAlaValIleLeuAlaPheValMetGlyAlaVal

 TTCTCGGGCATCACCGTCTACTGCGTCTGTGATCATCGGCGCAAAGACGTGGCTGTGGTG
 PheSerGlyIleThrValTyrCysValCysAspHisArgArgLysAspValAlaValVal

 CAGCGCAAGGAGAAGGAGCTCACCCACTCGCGCGGGCTCCATGAGCAGCGTCACCAAG
 GlnArgLysGluLysGluLeuThrHisSerArgArgGlySerMetSerSerValThrLys

 CTCAGCGGCTCTTTGGGGACACTCAATCCAAAGACCCAAAGCCGGAGGCCATCCTCAGG
 LeuSerGlyLeuPheGlyAspThrGlnSerLysAspProLysProGluAlaIleLeuThr

 CCACTCATGCACAACGGCAAGCTCGCCACTCCCGGCAACACGGCCAAGATGCTCATATAA
 ProLeuMetHisAsnGlyLysLeuAlaThrProGlyAsnThrAlaLysMetLeuIleLys

 GCAGACCAGCACCACTGGACCTGACGGCCCTCCCCACCCAGAGTCAACCCCAACGCTG
 AlaAspGlnHisHisLeuAspLeuThrAlaLeuProThrProGluSerThrProThrLeu

 CAGCAGAAGCGGGAACCCAGCCGCGGCACCCGCGAGTGGGAGAGGAACCGAACCTCATC
 GlnGlnLysArgGluProSerArgGlyThrArgGluTrpGluArgAsnGlnAsnLeuIle

 AATGCCTGCACAAGGACATGCCCCCATGGGCTCCCCTGTGATCCCACGGACCTGCCC
 AsnAlaCysThrLysAspMetProProMetGlySerProValIleProThrAspLeuPro

 CTGCGGGCTCCCCAGCCACATCCCAGCGTGGTGGTCTGCCATCACCGACGAGGGC
 LeuArgAlaSerProSerHisIleProSerValValValLeuProIleThrGlnGlnGly

【図3】

(図3の続き)

TACCAGCATGAGTACGTGGACCAGCCAAAATGAGCGAGGTGGCCAGATGGCGCTGGAG
TyrGlnHisGluTyrValAspGlnProLysMetSerGluValAlaGlnMetAlaLeuGlu

GACCAGGCCGCCACACTGGAGTATAAGACCATCAAGGAACATCTCAGCAGCAAGAGTCCC
AspGlnAlaAlaThrLeuGluTyrLysThrIleLysGluHisLeuSerSerLysSerPro

AACCATGGGGTGAACCTTGTGGAGAACCTGGACAGCCTGCCCCCAAAGTTCCACAGCGG
AsnHisGlyValAsnLeuValGluAsnLeuAspSerLeuProProLysValProGlnArg

GAGGCCTCCCTGGGTCCCCGGGAGCCTCCCTGTCTCAGACCGGTCTAAGCAAGCGGCTG
GluAlaSerLeuGlyProProGlyAlaSerLeuSerGlnThrGlyLeuSerLysArgLeu

GAAATGCACCACTCCTCTTCTTCTACGGGTTGACTATAAGAGGAGCTACCCACGAACTCG
GluMetHisHisSerSerSerTyrGlyValAspTyrLysArgSerTyrProThrAsnSer

CTCAGGAGAAGCCACCTGACCACCTACTCTCATCAGAAGCAACACTAACCCCGACAATTC
LeuThrArgSerHisLeuThrThrTyrSerHisGlnLysGlnHis

ANCTCTGACTTCAAAGGGACCAGAGCTTTGGCAGGGGAGACAACCCGCGCCCGCCCGC
AGAGGGTGGACTCCATCCAGGTGCACAGCTCCCAGCCATCTGGCCAGGCGGTGACTGTCT

CGAGGCAGCCCAGCCTCAACGCCTACAACCTCACTGACAAGGTCGGGGCTGAAGCGTACGC

CCTCGCTAAAGCCGGACGTACCCCCAAACCATCCTTTGCTCCCCTTTCCACATCCATGA

AGCCCAATGATGCGTGTACATAATCCAGGGGGAGGGGGTCAGGTGTGGAACCAGCAGGC

AAGGCGAGGTGTCCGCTCAGCTCAGCAAGGTTCTCAACTGCCTCGAGTACCCACCAAACC

AAAAAGGCCTGCGGCAGAACCGAGGGACGCTGGGTCTCTCTCTGGGACACAGGGGTAC

TCACGAAAACCTGGGCCCGTGGTTTGGTGAAAG

【 図 4 】

2982339

TCTCCCCCTTCCAGCTGAAAGGCTATTGTTTCATGAGATTAGAATCCAGTCAACACTGST
 AATGGAAACTATTTGCAGTAGTAGACAAGGGAGTTCGCAATCATTTCATATCATTACATT
 TCTGTGTTTTCTCTGTGATGATCATGAACATGCTCAGAGCAATGCTGTGATATCACAGT
 MetIleMetAsnIleAlaGlnSerAsnAlaValIleSerGlnTrp
 GGCTATTTATGATTAGATCATTTCATTGCATGCTTACACTTTTCATGGAAAAATGTAACA
 LeuPheMetIleArgSerPheHisCysMetLeuThrLeuPheMetGluLysCysAsnLys
 AATGTCAAAATATAAATCAGAAATCTTGCTCCAAATAATTGCAAAGAACTTGTTCCTCAA
 CysGlnAsnIleAsnGlnLysPheLeuLeuGlnIleIleAlaLysAsnLeuPheSerThr
 CCCCCTTTTGGAAATATTCAAAAAGTTTAGGGTAATTACCAGGTTTGGTGTGTGTCCT
 ProLeuLeuGluTyrSerLysLysPheArgValIleThrArgPheGlyValCysHisPhe
 TCTGGGCTGAGAGGGATTTTAGGTTTCAGAGAAATAAATGTGTTTTACCGGGAGCCGGT
 TrpAlaGluArgAspPheArgPheGlnArgAsnLysLeuCysPheThrGlySerArgCys
 GTTGTCCATGTAGGTTTCAGGGCTTTTAGAAATTTAGGTGTAATTGTTCCGGCACTTGTG
 CysProCysArgPheArgAlaPheArgAsnPheArgCysAsnCysSerGlyThrCysGly
 GTTCTTTTCAGGTTTGGTTCTTGGCGGTTTGGGCCGGGGCGTCGTTTAGGTGTAGAAGGG
 SerPheArgPheGlySerTrpArgPheGlyProGlyAlaSerPheArgCysArgArgAsp
 ATAGATGTAGTTTCTGGGGAGCAGGTGTCGTAGGCTGCATTTCTGGACTGGTAAAGATT
 ArgCysSerLeuLeuGlySerArgCysArgArgLeuHisPheTrpThrGlyLysAspPhe
 TCCAGTTTTTGGAGAACAAATGGTGTTCACCTGGAGCCAGTGTGCCCCTGGCTGTTC
 GlnPheLeuArgAsnLysTrpCysPheThrTrpSerGlnCysCysProTrpLeuPheLys
 AGAGTTCTAGAAGTTTTAGGTGGATAGAATCCAGAATACGATCACTTGTGCTGGGTAG
 SerSerArgSerPheArgTrpAspArgIleGlnAsnThrIleThrCysCysTrpValGly
 GAATCTGATATCTCAGGCTCATCTAATGTTGTAGGGCTTGAGAAAACATCATAAGTTGCA
 Ile
 GTTTGAGGCTGCAGAACTTTGGAATCTTTCCAGAATTTCCCTGAGGCAAAAACACCCTTCC
 CTTTTGAAAAACCTAG

【 図 5 】

3352358-1

CACTTCCCCTTTTGTAAATTAATAACTAAGAAGTCGGAATGGGAACGAGGTGCCAGCTC
 CCGTGGAGAAAGCTTAAGGACACCACGCCAGTGCTTTCCTGCCTTCCTCCGAGATGGAA
 AGAGGAGCTCCTAGCTCACTTAAGCCGGGTAGGGCTGGTTCTCCTTCCGAGCCAAAT
 CCCAGGCGATGGTGAATTATGAACGTGCCACACCATGAAGCTCTTGTGGCAGGTAACGTG
 MetLysLeuLeuTrpGlnValThrVal
 GCACCACCACACCTGGAATGCCATCCTGCTCCCGTTCGTCTACCTCACGGCGCAAGTGTG
 HisHisHisThrTrpAsnAlaIleLeuLeuProPheValTyrLeuThrAlaGlnValTrp
 GATTCGTGTGTCAGCCATCGCTGCTGCCCGCTCAGCCGGGGCCCCAGAACTGCCCTCCGT
 IleLeuCysAlaAlaIleAlaAlaAlaAlaSerAlaGlyProGlnAsnCysProSerVal
 CTGCTCGTGCAGTAACCGTTTCAGCAAGGTGGTGTGCACGCGCGGGGGCTCTCCGAGGT
 CysSerCysSerAsnGlnPheSerLysValValCysThrArgArgGlyLeuSerGluVal
 CCCGAGGGTATTCCTCGAACCCCGGTACCTCAACCTCATGGAGAACAACATCCAGAT
 ProGlnGlyIleProSerAsnThrArgTyrLeuAsnLeuMetGluAsnAsnIleGlnMet
 GATCCAGGCGACACCTTCGCCACCTCCACCACCTGGAGGTCTGCAGTTGGGCAGGAA
 IleGlnAlaAspThrPheArgHisLeuHisHisLeuGluValLeuGlnLeuGlyArgAsn
 CTCCATCCCGCAGATTGAGGTGGGGCCCTTCAACGGCTGGCCAGCCTCAGCACCTGGA
 SerIleArgGlnIleGluValGlyAlaPheAsnGlyLeuAlaSerLeuSerThrLeuGlu
 GCTGTTTCGACAACCTGGCTGACAGTCACTCCCTAGCGGGCTTTGATACCTGTCCAAGCT
 LeuPheAspAsnTrpLeuThrValIleProSerGlyAlaPheGluTyrLeuSerLysLeu
 GCGGGAGCTCTGGCTTCGCAACAACCCCATCGAAAGCATCCCCTCTTACGCCCTCAACCG
 ArgGluLeuTrpLeuArgAsnAsnProIleGluSerIleProSerTyrAlaPheAsnArg
 GGTGCCCTCCCTCATGCGCCTGGACTTGGGGGAGCTCAAGAAGCTGGAGTATATCTCTGA
 ValProSerLeuMetArgLeuAspLeuGlyGluLeuLysLysLeuGluTyrIleSerGlu
 GGGAGCTTTTGGGGGCTGTTCAACCTCAAGTATCTGAACTTGGGCATGTGCAACATTAA
 GlyAlaPheGluGlyLeuPheAsnLeuLysTyrLeuAsnLeuGlyMetCysAsnIleLys
 AGACATGCCCAATCTCACCCCTGGTGGGGCTGGAGGAGCTGGAGATGTCAGGGAACCA
 AspMetProAsnLeuThrProLeuValGlyLeuGluGluLeuGluMetSerGlyAsnHis
 CTTCCCTGAGATCAGGCTGGCTCCTTCCATGGCTGAGCTCCCTCAAGAAGCTCTGGGT
 PheProGluIleArgProGlySerPheHisGlyLeuSerSerLeuLysLysLeuTrpVal
 CATGAACTCACAGGTGAGCTGATTGAGCGGAATGCTTTTGGCGGCTGGCTTCACTTGT
 MetAsnSerGlnValSerLeuIleGluArgAsnAlaPheAspGlyLeuAlaSerLeuVal
 GGAACCTCAACTGGCCCCAATAACCTCTCTTCTTGGCCCCATGACCTCTTTACCCCGCT
 GluLeuAsnLeuAlaHisAsnAsnLeuSerSerLeuProHisAspLeuPheThrProLeu
 GAGGTACCTGGTGGAGTTGCATCTACACCACAACCCTTGGAACTGTGATTGTGACATTCT
 ArgTyrLeuValGluLeuHisLeuHisHisAsnProTrpAsnCysAspCysAspIleLeu
 GTGGCTAGCCTGGTGGCTTCGAGAGTATATACCCACCAATCCACCTGCTGTGGCCGCTG
 TrpLeuAlaTrpTrpLeuArgGluTyrIleProThrAsnSerThrCysCysGlyArgCys
 TCATGCTCCCATGCACATGCGAGGCCGCTACCTCGTGGAGGTGGACCAGGCCTCCTTCCA
 HisAlaProMetHisMetArgGlyArgTyrLeuValGluValAspGlnAlaSerPheGln
 GTGCTCTGCCCCCTCATCGAGCCACCTCGAGACCTCAACATTTCTGAGGGTGGAT
 CysSerAlaProPheIleMetAspAlaProArgAspLeuAsnIleSerGluGlyArgMet
 GGCAGAACTTAAGTGTGGACTCCCCCTATGTCCTCCGTGAAGTGGTTGCTGCCAAATGG
 AlaGluLeuLysCysArgThrProProMetSerSerValLysTrpLeuLeuProAsnGly
 GACAGTGTCTCAGCCAGCCTCCCGCCACCAAGGATCTCTGTCTCAACGACGGCACCTT
 ThrValLeuSerHisAlaSerArgHisProArgIleSerValLeuAsnAspGlyThrLeu
 GAACTTTTCCACGTGCTGCTTTCAGACACTGGGGTGTACACATGTCATGGGGACCAATGT
 AsnPheSerHisValLeuLeuSerAspThrGlyValTyrThrCysMetGlyThrAsnVal
 TGCAGGCAACTCCAACGCTCGGCTACCTCAATGGGAGCAGGGCTGAGCTTAACACCTC
 AlaGlyAsnSerAsnAlaSerAlaTyrLeuAsnGlySerThrAlaGluLeuAsnThrSer

【図5】

(図5の続き)

CAACTACAGCTTCTTCACCCACAGGAACAGGGGAGACCACGGAGATCTCGCCTGAGGACAC
 AsnTyrSerPhePheThrThrGlyThrGlyGluThrThrGluIleSerProGluAspThr
 AACGCGAAAGTACAAGCCTGTTCTACCACGTCCTACTGGTTACCAGCCGGCATATACCAC
 ThrArgLysTyrLysProValProThrThrSerThrGlyTyrGlnProAlaTyrThrThr
 CTCTACCACGGTGCTCATTCCAGACTACCCGTGTGCCCAAGCAGGTGGCAGTACCCGGGAC
 SerThrThrValLeuIleGlnThrThrArgValProLysGlnValAlaValProAlaThr
 AGACACCCTGACAAAGATGCAGACCAGCCTGGATGAAGTCATGAAGACCACCAAGATCAT
 AspThrThrAspLysMetGlnThrSerLeuAspGluValMetLysThrThrLysIleIle
 CATTGGCTGCTTTGTGGCAGTGACTCTGCTAGCTGCCGCCATGTTGATTGTCTTCTATAA
 IleGlyCysPheValAlaValThrLeuLeuAlaAlaAlaMetLeuIleValPheTyrLys
 ACTTCGTAAAGCGGCACCAGCAGCGGAGTACAGTACAGCCGCCCGGACTGTTGAGATAAT
 LeuArgLysArgHisGlnGlnArgSerThrValThrAlaAlaArgThrValGluIleIle
 CCAGGTGGACGAAGACATCCCAGCAGCAACATCCGCAGCAGCAACAGCAGCTCCGTCCGG
 GlnValAspGluAspIleProAlaAlaThrSerAlaAlaAlaThrAlaAlaProSerGly
 TGTATCAGGTGAAGGGCAGTAGTGCTGCCCCACAATTCATGACCATATTAAGTACAACAC
 ValSerGlyGluGlyAlaValValLeuProThrIleHisAspHisIleAsnTyrAsnThr
 CTACAAACCAGCACATGGGGCCCCACTGGACAGAAAACAGCCTGGGGAAGTCTCTGCACCC
 TyrLysProAlaHisGlyAlaHisTrpThrGluAsnSerLeuGlyAsnSerLeuHisPro
 CACAGTCACCACTATCTCTGAACCTTATATAATTCAGACCCATACCAAGGACAAGGTACA
 ThrValThrThrIleSerGluProTyrIleIleGlnThrHisThrLysAspLysValGln
 GGAAACTCAAATATGACTCCCCTCCCCAAAAAAGTATAAAATGCAATAGAATGCACAC
 GluThrGlnIleEndLeuProSerProLysLysLeuIleLysCysAsnArgMetHisThr
 AAAGACAGCAACTTTTGTACAGAGTGGGGAGAGACTTTTTCTTGTATATGCTTATATATT
 LysThrAlaThrPheValGlnSerGlyGluArgLeuPheLeuValTyrAlaTyrIleLeu
 AAGTCTATGGGCTGGTTAAAAAAAACAGATTATATTAATAATTTAAAGACAAAAAGTCAA
 SerLeuTrpAlaGly

A

【図 6】

70-1: 3352358-2

CACTTCCCCCTTTTGTAAATTAAACTAAGAAGTCGGAATGGGAACGAGGTGCCAGCTC
 CCGTGGAGAAAGCTTAAGGACACCACGCCAGTGCCTTCTCCTTCCGAGATGGAA
 AGAGGAGCTCCTAGCTCACTTAAGCCGGGGTAGGGCTGGTTCTCCTTCCGAGCCAAAAT
 CCCAGGCGATGGTGAATTATGAACGTGCCACACCATGAAGCTCTTGTGGCAGGTAAGTGT
 MetLysLeuLeuTrpGlnValThrVal
 GCACCACCACACTGGAATGCCATCCTGCTCCGTTCTGCTACCTCACGGCGCAAGTGTG
 HisHisHisThrTrpAsnAlaIleLeuLeuProPheValTyrLeuThrAlaGlnValTrp
 GATTCTGTGTGCAGCCATCGCTGCTGCCGCTCAGCCGGGCCCCAGAACTGCCCTCCCT
 IleLeuCysAlaAlaIleAlaAlaAlaAlaSerAlaGlyProGlnAsnCysProSerVal
 CTGCTCGTGCAGTAACCAGTTCAGCAAGGTGGTGTGCACGCGCCGGGGCTCTCCGAGST
 CysSerCysSerAsnGlnPheSerLysValValCysThrArgArgGlyLeuSerGluVal
 CCCGCAAGGTATTCCCTCGAACACCCGGTACCTCAACCTCATGGAGAACAACATCCAGAT
 ProGlnGlyIleProSerAsnThrArgTyrLeuAsnLeuMetGluAsnAsnIleGlnMet
 GATCCAGGCCGACACCTTCCGCCACCTCCACCACCTGGAGGTCTGCAGTGGGCAGGAA
 IleGlnAlaAspThrPheArgHisLeuHisHisLeuGluValLeuGlnLeuGlyArgAsn
 CTCCATCCGGCAGATTGAGGTGGGGCTTCAACGGCCTGGCCAGCCTCAGCACCTGGA
 SerIleArgGlnIleGluValGlyAlaPheAsnGlyLeuAlaSerLeuSerThrLeuGlu
 GCTGTTGACAACCTGGCTGACAGTCATCCCTAGCGGGCCTTTGAATACCTGTCCAAGCT
 LeuPheAspAsnTrpLeuThrValIleProSerGlyAlaPheGluTyrLeuSerLysLeu
 GCGGGAGCTCTGGCTTCGCAACAACCCCATCGAAAGCATCCCCTCTTACGCCTTCAACCG
 ArgGluLeuTrpLeuArgAsnAsnProIleGluSerIleProSerTyrAlaPheAsnArg
 GGTGCCCTCCCTCATGCGCCTGGACTTGGGGGAGCTCAAGAAGCTGGAGTATATCTCTGA
 ValProSerLeuMetArgLeuAspLeuGlyGluLeuLysLysLeuGluTyrIleSerGlu
 GGGAGCTTTTGAGGGGCTGTTCAACCTCAAGTATCTGAACTTGGGCATGTGCAACATTAA
 GlyAlaPheGluGlyLeuPheAsnLeuLysTyrLeuAsnLeuGlyMetCysAsnIleLys
 AGACATGCCCAATCTCACCCCTGGTGGGGCTGGAGGAGCTGGAGATGTCAGGGAACCA
 AspMetProAsnLeuThrProLeuValGlyLeuGluGluLeuGluMetSerGlyAsnHis
 CTTCCCTGAGATCAGGCCCTGGCTCCTTCCATGGCCTGAGCTCCCTCAAGAAGCTCTGGGT
 PheProGluIleArgProGlySerPheHisGlyLeuSerSerLeuLysLysLeuTrpVal
 CATGAACTCACAGGTCAGCCTGATTGAGCGGAATGCTTTTGACGGGCTGGCTTCACTTGT
 MetAsnSerGlnValSerLeuIleGluArgAsnAlaPheAspGlyLeuAlaSerLeuVal
 GGAACCTCAACTTGGCCACAATAACCTCTTCTTTGCCCATGACCTCTTTACCCCGCT
 GluLeuAsnLeuAlaHisAsnAsnLeuSerSerLeuProHisAspLeuPheThrProLeu
 GAGGTACCTGGTGGAGTTGCATCTACACCACAACCTTGGAACTGTGATTGTGACATCT
 ArgTyrLeuValGluLeuHisLeuHisHisAsnProTrpAsnCysAspCysAspIleLeu
 GTGGCTAGCCTGGTGGCTTCGAGAGTATATACCCACCAATCCACCTGCTGTGGCCGCTG
 TrpLeuAlaTrpTrpLeuArgGluTyrIleProThrAsnSerThrCysCysGlyArgCys
 TCATGCTCCCATGCACATGCGAGGCCGCTACCTCGTGGAGGTGGACCAGGCCCTCCTTCCA
 HisAlaProMetHisMetArgGlyArgTyrLeuValGluValAspGlnAlaSerPheGln
 GTGCTCTGCCCCCTTCATCATGGACGCACCTCGAGACCTCAACATTTCTGAGGGTCCGAT
 CysSerAlaProPheIleMetAspAlaProArgAspLeuAsnIleSerGluGlyArgMet
 GGCAGAACTTAAGTGTCCGACTCCCCTATGTCTCCGTGAAGTGGTTGCTGCCCAATGG
 AlaGluLeuLysCysArgThrProProMetSerSerValLysTrpLeuLeuProAsnGly
 GACAGTGTCTAGCCACGCTCCCGCCACCCCAAGGATCTCTGTCTCAACGACGGCACCTT
 ThrValLeuSerHisAlaSerArgHisProArgIleSerValLeuAsnAspGlyThrLeu
 GAACTTTTCCCAGTGTCTGCTTTTCCAGACACTGGGGTGTACACATGCATGGGGACCAATGT
 AsnPheSerHisValLeuLeuSerAspThrGlyValTyrThrCysMetGlyThrAsnVal
 TGCAGGCAACTCCAACGCTCGGCTACCTCAATGGGAGCACGGCTGAGCTTAAACCTC
 AlaGlyAsnSerAsnAlaSerAlaTyrLeuAsnGlySerThrAlaGluLeuAsnThrSer

【図6】

(図6の続き)

CAACTACAGCTTCTTCACCACAGGAACAGGGAGACCACGGAGATCTCGCCTGAGGACAC
 AsnTyrSerPhePheThrThrGlyThrGlyGluThrThrGluIleSerProGluAspThr
 AACGCGAAAGTACAAGCCTGTTCCCTACCACGTCCACTGGTTACCAGCCGGCATATACCAC
 ThrArgLysTyrLysProValProThrThrSerThrGlyTyrGlnProAlaTyrThrThr
 CTCTACCACGGTGCCTCATTACAGACTACCCGTGTGCCCAAGCAGGTGGCAGTACCCGCGAC
 SerThrThrValLeuIleGlnThrThrArgValProLysGlnValAlaValProAlaThr
 AGACACCCTGACAAGATGCAGACCAGCCCTGGATGAAGTCATGAAGACCACCAAGATCAT
 AspThrThrAspLysMetGlnThrSerLeuAspGluValMetLysThrThrLysIleIle
 CATTGGCTGCTTTGTGGCAGTGACTCTGCTAGCTGCCGCCATGTTGATTGTCTTCTATAA
 IleGlyCysPheValAlaValThrLeuLeuAlaAlaAlaMetLeuIleValPheTyrLys
 ACTTCGTAAGCGGCACCAGCAGCGGAGTACAGTACAGCCGCCCCCACACTGGAGAGAAA
 LeuArgLysArgHisGlnGlnArgSerThrValThrAlaAlaProThrLeuGluArgLys
 ACACAGGGACAAAAACACACCACAACAAAAACCCACAACAAAAACAACAGCCCCCCCC
 HisArgAspLysAsnThrProGlnGlnLysHisProGlnGlnLysGlnGlnProProPro
 GGTATAACAGGAAAGGGCACAATAGCGCCCCACAAAACACAACAACATAAAAAACAAAAC
 Val
 ACACACAAACCAGCACATGGGGCCCACTGGACAGAAAACAGCCTGGGGAACTCTGTGCAC
 CCCACAGTCACCACTATCTCTGAACCTTATATAATTTCAGACCCATACCAAGGACAAGGTA
 CAGGAACTCAAATATGACTCCCTCCCCCAAAAACTTATAAAATGCAATAGAAATGCAC
 ACAAGACAGCAACTTTTGTACAGAGTGGGGAGAGACTTTTTCTTGTATATGCTTATATA
 TTAAGTCTATGGGCTGTTAAAAAAAACAGATTATATTAATAATTTAAAGACAAAAAGTCA
 AAACAAAAATATTTCTAACTTGTAAGTTCTATTTAAAGGGGGTGGGGGGAATCTTGGG
 AACGTTGTGGGGTACAAGCCACAAGTTAACTTGCTATGCTGCCAGAAGGGATTTCTGGTA
 TAAGGTTGAAATTGCTGAGATAAAATAAACTAAAACAACAAACATCCTTAAAGAGGTAGG
 GTGTGGGCTGCTGAAGGGCAAGAGGGATAGACTGAATCTGTCAATTTTTAGAGATGCTT
 CATAGGACACAGGACTATCCATTCTA

【図 7 A】

7A. 7P- / 3884846

GGCGTTTGTGGCCGTCCGGCTNCCCTGACATGCAGATTTCCACCCAGAAGACAGAGAAGG
 AGCCAGTGGTCATGGAATGGGCTGGGGTCAAAGACTGGGTGCCTGGGAGCTGAGGCAGCC
 ACCGTTTCAGCCTGGCCAGCCCTCTGGACCCGAGGTTGGACCCTACTGTGACACACCTA
 CCATGCGGACACTCTTCAACCTCCTCTGGCTTGGCCTGGCCTGCAGCCCTGTTCACTA
 CCCTGTCAAAGTCAGATGCCAAAAAGCCGCTCAAAGACGCTGTGGAGAAGAGTCAGT
 TTTCAGATAAGCCGGTGAAGACCCGGGTTTGGTGGTACGGACCTCAAAGCTGAGAGTG
 TGGTCTTGAGCATCGCAGCTACTGCTCGGCAAAGCCCGGGACAGACACTTTGCTGGGC
 ATGTACTGGGCTATGTCACTCCACCAGTGGAAACAGCCATGGCTACGATGTCACCAAGGTC
 MetTyrTrpAlaMetSerLeuHisGlnTrpAsnSerHisGlyTyrAspValThrLysVal

TTTGGGAGCAAGTTCACACAGATCTCACCCGTCTGGCTGCAGCTGAAGAGACGTGGCCGT
 PheGlySerLysPheThrGlnIleSerProValTrpLeuGlnLeuLysArgArgGlyArg

GAGATGTTTGAGGTACGGCCCTCCACGACGTGGACCAAGGGTGGATGCGAGCTGTCCAGG
 GluMetPheGluValThrGlyLeuHisAspValAspGlnGlyTrpMetArgAlaValArg

AAGCATGCCAAGGGCCTGCACATAGTGCCTCGGCTCCTGTTTGAGGACTGGACTTACGAT
 LysHisAlaLysGlyLeuHisIleValProArgLeuLeuPheGluAspTrpThrTyrAsp

GATTTCCGGAACGCTTAGACAGTGGAGATGAGATAGAGGAGCTGAGCAAGACCCGTGGTC
 AspPheArgAsnValLeuAspSerGluAspGluIleGluGluLeuSerLysThrValVal

CAGGTGGCAAAGAACCAGCATTTCGATGGCTTCGTGGTGGAGGTCTGGAACCAGCTGCTA
 GlnValAlaLysAsnGlnHisPheAspGlyPheValValGluValTrpAsnGlnLeuLeu

AGCCAGAAGCGCGTGGCCCTCATCCACATGCTCACCCACTTGGCCGAGGCTCTGCACCAG
 SerGlnLysArgValGlyLeuIleHisMetLeuThrHisLeuAlaGluAlaLeuHisGln

GCCCGCTGTGGCCCTCCTGCTCATCCCGCTGCCATCACCCCGGGACCGACCAGCTG
 AlaArgLeuLeuAlaLeuLeuValIleProProAlaIleThrProGlyThrAspGlnLeu

GGCATGTTACGCACAAGGAGTTTGAGCAGCTGGCCCCGTGCTGGATGGTTTCAGCCTC
 GlyMetPheThrHisLysGluPheGluGlnLeuAlaProValLeuAspGlyPheSerLeu

ATGACCTACGACTACTCTACAGCGCATCAGCCTGGCCCTAATGCACCCCTGTCTGGGTT
 MetThrTyrAspTyrSerThrAlaHisGlnProGlyProAsnAlaProLeuSerTrpVal

CGAGCCTGCGTCCAGGTCCCTGGACCCGAAGTCCAAGTGGCGAAGCAAATCCTCCTGGGG
 ArgAlaCysValGlnValLeuAspProLysSerLysTrpArgSerLysIleLeuLeuGly

CTCACTTCTATGGTATGGACTACGCGACCTCCAAGGATGCCCGTGGCCTGTTGTGGG
 LeuAsnPheTyrGlyMetAspTyrAlaThrSerLysAspAlaArgGluProValValGly

GCCAGGTACATGCAGACACTGAAGTCTGCATTCTGACTCTTAGCAAACCTGGAAAATTTG
 AlaArgTyrMetGlnThrLeuLysSerAlaPheValLeuLeuAlaAsnLeuGluAsnLeu

AGGCGAATTCCTCAAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAATTTTTCTGTTTCTTCTTCTTCT
 ArgArgAsnSerSerAsnLysLysLysLysLysLysAsnPhePheCysPhePheSerSer

GTCTTCTCGTTTGGAGACACAAAACACTAGATCCATTGAATTTGTCCCACAGCTCACGAA
 ValPheSerPheGlyAspHisLysHis

TACACCTTTTACCTTTTGGGA

【図 7 B】

7B. 7a-1 3884846-1

1 GCCTCCCTGACATGCAGCCCTCTGGACCCCGAGGTTGGACCCTAC
AlaSerLeuThrCysSerProLeuAspProGluValGlyProTyr

46 TGTGACACACCTACCATGCGGACACTCTTCAACCTCCTCTGGCTT
CysAspThrProThrMetArgThrLeuPheAsnLeuLeuTrpLeu

91 GCCCTGGCCTGCAGCCCTGTTCCACTACCCTGTCAAAGTCAGAT
AlaLeuAlaCysSerProValHisThrThrLeuSerLysSerAsp

136 GCCAAAAAGCCGCTCAAAGACGCTGCTGGAGAAGAGTCAGTTT
AlaLysLysAlaAlaSerLysThrLeuLeuGluLysSerGlnPhe

181 TCAGATAAGCCGGTGCAAGACCGGGGTTGGTGGTGACGGACCTC
SerAspLysProValGlnAspArgGlyLeuValValThrAspLeu

226 AAAGCTGAGAGTGTGGTCTTGAGCATCGCAGCTACTGCTCGGCA
LysAlaGluSerValValLeuGluHisArgSerTyrCysSerAla

271 AAGCCCCGGACAGACACTTTGCTGGGGATGTACTGGGCTATGTC
LysAlaArgAspArgHisPheAlaGlyAspValLeuGlyTyrVal

316 ACTCCATGGAACAGCCATGGCTACGATGTCACCAAGGTCCTTGGG
ThrProTrpAsnSerHisGlyTyrAspValThrLysValPheGly

361 AGCAAGTTCACACAGATCTCACCCGCTCTGGCTGCAGCTGAAGAGA
SerLysPheThrGlnIleSerProValTrpLeuGlnLeuLysArg

406 CGTGGCCGTGAGATGTTTGAGGTCACGGGCCTCCACGACGTGGAC
ArgGlyArgGluMetPheGluValThrGlyLeuHisAspValAsp

451 CAAGSGTGATGCGAGCTGTCAGGAAGCATGCCAAGGGCCTGCAC
GlnGlyTrpMetArgAlaValArgLysHisAlaLysGlyLeuHis

496 ATAGTGCTCGGCTCCTGTTTGAGGACTGGACTTACGATGATTTTC
IleValProArgLeuLeuPheGluAspTrpThrTyrAspAspPhe

541 CGGAACGCTCTAGACAGTGAAGATGAGATAGAGGAGCTGAGCAAG
ArgAsnValLeuAspSerGluAspGluIleGluGluLeuSerLys

586 ACCGTGGTCCAGGTGGCAAAGAACCAGCATTTTCGATGGCTTCGTG
ThrValValGlnValAlaLysAsnGlnHisPheAspGlyPheVal

631 GTGGAGTCTGGAACCAGCTGCTAAGCCAGAAGCGCTGGGCCCTC
ValGluValTrpAsnGlnLeuLeuSerGlnLysArgValGlyLeu

676 ATCCACATGCTCACCCACTGGCCGAGGCTCTGCACCAGGCCCGG
IleHisMetLeuThrHisLeuAlaGluAlaLeuHisGlnAlaArg

721 CTGCTGGCCCTCCTGGTCATCCCGCCTGCCATCACCCCGGGACC
LeuLeuAlaLeuLeuValIleProProAlaIleThrProGlyThr

766 GACCAGCTGGGCATGTTCCAGCACAAGGAGTTTGGCAGCTGGCC
AspGlnLeuGlyMetPheThrHisLysGluPheGluGlnLeuAla

811 CCCGTGCTGGATGGTTTCAGCCTCATGACCTACGACTACGCAACA
ProValLeuAspGlyPheSerLeuMetThrTyrAspTyrAlaThr

856 CTGTCTGGGTTTCGAGCCTGCGTCCAGGTCCTGGATCCCTGGGGC
LeuSerTrpValArgAlaCysValGlnValLeuAspProTrpGly

【図7B】

(図7Bの続き)

```
901 TCAACTTCTATGGTATGGACTACGCGACCTCCAAGGATGCCCCTG
    SerThrSerMetValTrpThrThrArgProProArgMetProVal

946 AGCCTGTTGTCCGGGCCAGGTACATCCAGACACTGAAGGACCACA
    SerLeuLeuSerGlyProGlyThrSerArgHis

991 GGCCCCGGATGGTGTGGGACGGCCAGGCCTCAGAGCACTTCTTCG
1036 AGTACAAGAAGAGCCCGCAGTGGGAGGCACGTCGTCCTTCTACCCAA
1081 CCCTGAAGTCCCTGCAGGTGCGGCTGGAGCTGGCCCGGGAGCTGG
1126 GCGTTGGGGTCTCNATNTGGGAGCTGGGCCAGGGCCTGGACTACT
1171 TNTACGACCTGCTCTAGGTGGGCATTGCGGCCTCCGCGGTGGACC
1216 TGTCTTTTCTAAGCCATGGAGTGAGTGAGCAGGTGTGAAATACA
1261 GGCCTCCACTCCGTTTACAAAAAAAAA
```

【図7C】

7C. 7A-7 3884846-2

1 GCCTCCCTGACATGCAGCCCTCTGGACCCCGAGGTTGGACCCCTAC
 46 TGTGACACACCTACCATGCGGACACTCTTCAACCTCCTCTGGCTT
 91 GCCCTGGCCTGCAGCCCTGTTCACACTACCCTGTCAAAGTCAGAT
 136 GCCAAAAAAGCCGCTCAAGACGCTGCTGGAGAAGAGTCAGTTF
 181 TCAGATAAGCCGGTGAAGACCGGGGTTTGGTGGTGACGGACCTC
 226 AAAGCTGAGAGTGTGGTTCTTGAGCATCGCAGCTACTGCTCGGCA

 271 AAGGCCCGGGACAGACACTTTGCTGGGGATGTACTGGGCTATGTC
 MetTyrTrpAlaMetSe

 316 ACTCCACCAGTGAACAGCCATGGCTACGATGTCAACCAAGGTCTT
 rLeuHisGlnTrpAsnSerHisGlyTyrAspValThrLysValPh

 361 TGGGAGCAAGTTCACACAGATCTCACCCGTCTGGCTGCAGCTGAA
 eGlySerLysPheThrGlnIleSerProValTrpLeuGlnLeuLys

 406 GAGACGTGGCCGTGAGATGTTTGAGGTCACGGCCCTCCACGACGT
 sArgArgGlyArgGluMetPheGluValThrGlyLeuHisAspVa

 451 GGACCAAGGGTGGATGCGAGCTGTCAGGAAGCATGCCAAGGGCTT
 lAspGlnGlyTrpMetArgAlaValArgLysHisAlaLysGlyLe

 496 GCACATAGTGCCTCGGCTCCTGTTTGAGGACTGGACTTACGATGA
 uHisIleValProArgLeuLeuPheGluAspTrpThrTyrAspAs

 541 TTTCCGGAACGTCTTAGACAGTGAGGATGAGATAGAGGAGCTGAG
 pPheArgAsnValLeuAspSerGluAspGluIleGluGluLeuSe

 586 CAAGACCGTGGTCCAGGTGGCAAAGAACCAGCATTTCCGATGGCTT
 rLysThrValValGlnValAlaLysAsnGlnHisPheAspGlyPh

 631 CGTGGTGGAGGTCTGGAACCAGCTGCTAAGCCAGAAGCCGCTGGG
 eValValGluValTrpAsnGlnLeuLeuSerGlnLysArgValGl

 676 CCTCATCCACATGCTCACCCACTTGGCCGAGGCTCTGCACCAGGC
 yLeuIleHisMetLeuThrHisLeuAlaGluAlaLeuHisGlnAl

 721 CCGGCTGCTGGCCCTCCTGGTCATCCCGCTGCCATCACCCCGG
 aArgLeuLeuAlaLeuLeuValIleProProAlaIleThrProGl

 766 GACCGACCAGCTGGGCATGTTTACGCACAAGGAGTTTGAGCAGCT
 yThrAspGlnLeuGlyMetPheThrHisLysGluPheGluGlnLe

 811 GGCCCCCGTCTGGATGGTTTCAGCCTCATGACCTACGACTACGC
 uAlaProValLeuAspGlyPheSerLeuMetThrTyrAspTyrAl

 856 AACACTGTCCTGGGTTTCGAGCCTGCGTCCAGGTCTGGATCCCTG
 aThrLeuSerTrpValArgAlaCysValGlnValLeuAspProTr

 901 GGGCTCAACTTCTATGGTATGGACTACGGACCTCCAAGGATGCC
 pGlySerThrSerMetValTrpThrThrArgProProArgMetPr

 946 CGTGAGCCTGTTGTCGGGGCCAGGTACATCCAGACACTGAAGGAC
 oValSerLeuLeuSerGlyProGlyThrSerArgHis

【図7C】

(図7Cの続き)

I

```
991 CACAGGCCCCGGATGGTGTGGGACGGCCAGGCCCTCAGAGCACTTC
1036 TTCGAGTACAAGAAGAGCCGCAGTGGGAGGCACGTGCTCTTCTAC
1081 CCAACCCCTGAAGTCCCTGCAGGTGCGGCTGGAGCTGGCCCGGGAG
1126 CTGGGCGTTGGGGTCTCNATNTGGGAGCTGGGCCAGGGCCTGGAC
1171 TACTTNTACGACCTGCTCTAGGTGGGCATTGCGGCCCTCCGCGGTG
1216 GACGTGTTCTTTTCTAAGCCATGGAGTGAGTGAGCAGGTGTGAAA
1261 TACAGGCCTCCACTCCGTTTACAAAAA
```

【 8 A 】

8A. 72- / 3911675

ACGCGTGCAGGTGGCGGAACCTGCTCTAACTTCCTCGGCCGAGCCGGGGCCGCGCCCGCCG
 TGCCCGCCCGCGCGCGGATTCTGCTTCTCAGAAGATGCACTATTATAGATACTCTAACG
 MetHisTyrTyrArgTyrSerAsnAla

CCAAGGTCAGCTGCTGGTACAAGTACCTCCTTTTCAGCTACAACATCATCTTCTGGTTGG
 LysValSerCysTrpTyrLysTyrLeuLeuPheSerTyrAsnIleIlePheTrpLeuAla

CTGGAGTTGTCTTCTTGGAGTCGGGTTGTGGGCATGGAGCGAAAAGGGTGTGCTGTCCG
 GlyValValPheLeuGlyValGlyLeuTrpAlaTrpSerGluLysGlyValLeuSerAsp

ACCTCACCAAAGTGACCCGGATGCATGGAATCGACCCTGCGGTGCTGGTCTCTGATGGTGG
 LeuThrLysValThrArgMetHisGlyIleAspProAlaValLeuValLeuMetValGly

GCGCGGTGATGTTACCCTGGGGTTGCCCGCCGCGTGGGGGCGCGCAGGGAGAATATCT
 AlaValMetPheThrLeuGlyPheAlaGlyArgValGlyAlaArgArgGluAsnIleCys

GCTTGCTCAACTTTTCTGTGGCACCATCGTCTCATCTTCTTCTTCTGGAGCTGGCTGTGG
 LeuLeuAsnPhePheCysGlyThrIleValLeuIlePhePheLeuGluLeuAlaValAla

CCGTGCTGGCCTTCTGTTCAGGACTGGGTGAGGGACCGGTTCCGGGAGTTCTTCGAGA
 ValLeuAlaPheLeuPheGlnAspTrpValArgAspArgPheArgGluPhePheGluSer

GCAACATCAAGTCTACCGGGACGATATCGATCTGCAAAACCTCATCGACTCCCTTCAGA
 AsnIleLysSerTyrArgAspAspIleAspLeuGlnAsnLeuIleAspSerLeuGlnLys

AAGCTAACCAAGTGTGTGGCGCATATGGCCCTGAAGACTGGGACCTCAACGTCTACTTCA
 AlaAsnGlnCysCysGlyAlaTyrGlyProGluAspTrpAspLeuAsnValTyrPheAsn

ATTGCAGCGGTGCCAGCTACAGCCGAGAGAAGTGGGGTCCCCTTCTCTCTGCTGCGTGC
 CysSerGlyAlaSerTyrSerArgGluLysCysGlyValProPheSerCysCysValPro

CAGATCTGCGCAAAAGTTGTGAACACACAGTGTGGATATGATGTCAGGATTCAGCTGA
 AspProAlaGlnLysValValAsnThrGlnCysGlyTyrAspValArgIleGlnLeuLys

AGAGCAAGTGGGATGAGTCCATCTTACGAAAGGCTGCATCCAGGCGCTGGAAAGCTGGC
 SerLysTrpAspGluSerIlePheThrLysGlyCysIleGlnAlaLeuGluSerTrpLeu

TCCCGCGGAACATTTACATTGTGGCTGGCGTCTTCATCGCCATCTCGCTGTTGCAGATAT
 ProArgAsnIleTyrIleValAlaGlyValPheIleAlaIleSerLeuLeuGlnIlePhe

TTGGCATCTTCTGGCAAGGACGCTGATCTCAGACATCGAGGCAGTGAAGACCGGCCATC
 GlyIlePheLeuAlaArgThrLeuIleSerAspIleGluAlaValLysThrGlyHisHis

ACTTCTGAGGAGCAGAGTTGAGGGAGCCGAGCTGAGCCACGCTGGGAGGCCAGAGCCTTT
 Phe

CTCTGCCATCAGCCCTACGTCCAGAGGGAGAGCCGACACCCCCAGAGCCAGTCCCC
 ATCTTAAGCATCAGCSTGACGTGACCTCTCTGTTTCTGCTTGGTGTCTGAAGACCAAG
 GGTCCCCCTTGATACCTGCCCAAACCTTGTGACTGCATCCCTCTGGAGTCTACCCAGAGAC
 AGAGAAATGTGCTTTATGTGGGAGTGGTACTCTGAAAGACAGAGAGGGCTCCTGTGGCT
 GCCAGGAGGGCTTGACTCAGACCCCTGCAGCTCAAGCATGTCTGCAGGACACCCCTGGT
 CCTCTCCACTGGCATCCAGACATCTGCTTGGGTCCATCCACATCTGTGGGTGGGCCGTG
 GGTAGAGGGACCCACAGCCGTGGACAGGGCATCTCTCTCCATCAAGCAAAGCAGCATGGG
 GCCTGCCCGTAACGGGAGGCGGACGTGGCCCCGCTGGGCCTCTCCGA

【図8B】

8B. 3911675-2

1 CCGCGTGGCTGGTCTGATGGTGGGGCGGGTGTATGTTACCCGGGG
 ArgValLeuValLeuMetValGlyAlaValMetPheThrArgG1
 46 TTCGCCGGCCGCGTGGGGCGGCCAGGAGAATATCTGCTTGCT
 ySerProAlaAlaTrpGlyArgAlaArgGluAsnIleCysLeuLe
 91 CAACTTTTTCTGTGGCACCATCGTGCTCATCTTCTTCCTGGAGCT
 uAsnPhePheCysGlyThrIleValLeuIlePhePheLeuGluLe
 136 GGCTGTGGCCGCTGCTGGCCTTCCTGTTCCAGGACTGGGTGAGGA
 uAlaValAlaValLeuAlaPheLeuPheGlnAspTrpValArgAs
 181 CCGGTTCCGGGAGTTCTTCGAGAGCAACATCAAGTCTACCGGGA
 pArgPheArgGluPhePheGluSerAsnIleLysSerTyrArgAs
 226 CGATATCGATCTGCAAAACCTCATCGACTCCCTTCAGAAAGCTAA
 pAspIleAspLeuGlnAsnLeuIleAspSerLeuGlnLysAlaAs
 271 CCAGTGCTGTGGCCATATGGCCCTGAAGACTGGGACCTCAACGT
 nGlnCysCysGlyAlaTyrGlyProGluAspTrpAspLeuAsnVa
 316 CTACTTCAATTGCAGCGGTGCCAGCTACAGCCGAGAGAAGTGGCG
 lTyrPheAsnCysSerGlyAlaSerTyrSerArgGluLysCysG1
 361 GGTCCCCCTTCTCCTGCTGCGTGCCAGATCTGCGCAAAAGTTGT
 yValProPheSerCysCysValProAspProAlaGlnLysValVa
 406 GAACACACAGTGTGGATATGATGTCAGGATTCAGCTGAAGAGCAA
 lAsnThrGlnCysGlyTyrAspValArgIleGlnLeuLysSerLy
 451 GTGGGATGAGTCCATCTTCACGAAAGGCTGCATCCAGGCGCTGGA
 sTrpAspGluSerIlePheThrLysGlyCysIleGlnAlaLeuGl
 496 AAGCTGGCTCCCGGGAACATTTACATTGTGGCTGGCGTCTTCAT
 uSerTrpLeuProArgAsnIleTyrIleValAlaGlyValPheIl
 541 CGCCATCTCGCTGTTGCAGATATTTGGCATCTTCCTGGCAAGGAC
 eAlaIleSerLeuLeuGlnIlePheGlyIlePheLeuAlaArgTh
 586 GCTGATCTCAGACATCGAGGCAGTGAAGGCCGCCATCCTTCTG
 rLeuIleSerAspIleGluAlaValLysAlaGlyHisHisPhe
 631 AGGAGCAGAGTTGAGGGAGCCGAGCTGAGCCACGCTGGGAGGCCA
 676 GAGCCTTTCTCTGCCATCAGCCCTACGTCCAGAGGGAGAGGAGCC
 721 GACACCCCCAGAGCCAGTGCCCCATCTTAAGCATCAGCGTGACGT
 766 GACCTCTCTGTTTCTGCTTGCTGGTGCTGAAGACCAAGGGTCCCC
 811 CTGTT

【図9A】

9A. 72-1/4004056

AACGGCGCAGGTCCCAGCAGCTGGGGTTCCCCCTCAGCCCGTGAGCAGCCATGTCCAACC
 MetSerAsnPro

CCAGCGCCCCACCACCATATGAAGACCGCAACCCCTGTACCCAGGCCCTCTGCCCCCTG
 SerAlaProProProTyrGluAspArgAsnProLeuTyrProGlyProLeuProProGly

GGGGCTATGGGCAGCCATCTGTCTGCCAGGAGGGTATCCTGCCTACCCTGGCTACCCGC
 GlyTyrGlyGlnProSerValLeuProGlyGlyTyrProAlaTyrProGlyTyrProGln

AGCCTGGCTACGGTCACCCCTGCTGGCTACCCACAGCCCATGCCCCCACCACCCGATGC
 ProGlyTyrGlyHisProAlaGlyTyrProGlnProMetProProThrHisProMetPro

CCATGAACCTACGGCCAGGCCATGGCTATGATGGGGAGGAGAGACGGGTGAGTGATAGCT
 MetAsnTyrGlyProGlyHisGlyTyrAspGlyGluGluArgAlaValSerAspSerPhe

TCGGGCCTGGAGAATGGGATGACCGGAAAGTGCACACACTTTTATCCGAAAGGTTTACT
 GlyProGlyGluTrpAspAspArgLysValArgHisThrPheIleArgLysValTyrSer

CCATCATCTCCGGGCAGCTGCTCATCACTGGGGCCATCATTGCTATCTTCACCTTTGGGG
 IleIleSerGlyGlnLeuLeuIleThrGlyAlaIleIleAlaIlePheThrPheGlyGlu

AACCTGTCAGCCCTTTGGCAGGAGAAATGTGGCTGTCTACTACGTGTCCTATGCTGTCT
 ProValSerAlaPheGlyArgArgAsnValAlaValTyrTyrValSerTyrAlaValPhe

TCAGTGTCACCTACCTGATCCTTGCCTGCTGCCAGGGACCCAGACGCCGTTTCCCATGGA
 SerValThrTyrLeuIleLeuAlaCysCysGlnGlyProArgArgArgPheProTrpAsn

ACATCATTCTGCTGACCCCTTTTACTTTTGCATGGGCTTCATGACGGGCACCAATTTCCA
 IleIleLeuLeuThrLeuPheThrPheAlaMetGlyPheMetThrGlyThrIleSerSer

GTATGTACCAAACCAAGCCGTCATCATGCAATGATCATCACTGCGGTGGTATCCATTT
 MetTyrGlnThrLysAlaValIleIleAlaMetIleIleThrAlaValValSerIleSer

CAGTCACCATCTTCTGCTTTCAGACCAAGGTGGACTTCACCTCGTGCACAGGCCTCTTCT
 ValThrIlePheCysPheGlnThrLysValAspPheThrSerCysThrGlyLeuPheCys

GTGTCTGGGAATTGTGCTCCTGGTACTGGGATGTCACTAGCATTGTGCTCTACTTCC
 ValLeuGlyIleValLeuLeuValThrGlyIleValThrSerIleValLeuTyrPheGln

AATACGTTTACTGGCTCCACATGCTCTATGCTGCTCTGGGGCCATTTGTTTACCCTGT
 TyrValTyrTrpLeuHisMetLeuTyrAlaAlaLeuGlyAlaIleCysPheThrLeuPhe

TCCTGGCTTACGACACACAGCTGGTCCTGGGGAACCGGAAGCACACCATCAGCCCCGAGG
 LeuAlaTyrAspThrGlnLeuValLeuGlyAsnArgLysHisThrIleSerProGluAsp

ACTACATCACTGGCGCCCTGCAGATTTACACAGACATCATCTACATCTTCACCTTTGTGC
 TyrIleThrGlyAlaLeuGlnIleTyrThrAspIleIleTyrIlePheThrPheValLeu

TGCAGCTGATGGGGATCGCAATTAAGGAGCAAGCCCCCATTTTCACCCGATCCTGGGCT
 GlnLeuMetGlyAspArgAsn

【図9A】

(図9Aの続き)

CTCCCTTCCAAGCTAGAGGGCTGGGCCCTATGACTGTGGTCTGGGCTTAGGCCCTTTC
CTTCCCTTGAGTAACATGCCAGTTTCCTTTCTGTCTGGAGACAGGTGGCCCTCTTGG
CTATGGATGTGTGGTACTTGGTGGGACGGAGGAGCTAGGGACTAACTGTTGCTCTTGG
TGGGCTTGGCAGGGACTAGGCTGAAGATGTGTCTTCTCCCCGCCACTACTGTATGACAC
CACATTCTTCTAACAGCTGGGGTTGTGAGGAATATGAAAAGAGCCTATTCGATAGCTAG
AAGGGAATATGAAAGGTAGAAGTGAAGTCAAGGTCACGAGGTTCCCTCCCACCTGTGC
ACAGGCTTCTTGACTACGTAGTTGGAGCTATTTCTTCCCCAGCAAAGCCAGAGAGCTTT
GTCCCCGGCCTCCTGGACACATAGGCCATTATCCTGTATTCCTTTGGCTTGGCATCTTTT
AGCTCAGGAAGGTAGAAGAGATCTGTGCCCATGGGTCCTCTGCTTCAATCCCTTCTTGT
TTCAGTGACATATGTATTGTTTATCTGGGTTAGGGATGGGGACAGATAATAGAACGAGC
AAAGTAACCTATACAGGCCAGCATGGAACAGCATCTCCCTGGGCTTGCTCCTGGCTTGT
GACGCTATAAGACAGAGCAGGCCACATGTGGCCATCTGCTCCCCATTCCTGAAAGCTGCT
GGGGCCTCCTTGCAGGCTTCTGGATCC

【図9B】

9B. 72-7 4004056-2

1 CGCTCCGTCTGGAACGGCGCAGGTCCCAGCAGCTGGGGTTCCCCC
 46 TCAGCCCGTGAGCAGCCATGTCCAACCCAGCGCCACCACCAT
 MetSerAsnProSerAlaProProProT
 91 ATGAAGACCGCAACCCCTGTACCCAGGCCCTCTGCCCCCTGGGG
 yrGluAspArgAsnProLeuTyrProGlyProLeuProProGlyG
 136 GCTATGGGCAGCCATCTGTCTGCCAGGAGGTATCCTGCCTACC
 lyTyrGlyGlnProSerValLeuProGlyGlyTyrProAlaTyrP
 181 CTGGCTACCGCAGCCTGGCTACGGTCACCCTGTGGCTACCCAC
 roGlyTyrProGlnProGlyTyrGlyHisProAlaGlyTyrProG
 226 AGCCCATGCCCCCACCACCCGATGCCCATGAACTACGGCCAG
 lnProMetProProThrHisProMetProMetAsnTyrGlyProG
 271 GCCATGGCTATGATGGGGAGGAGAGCGGTGAGTGATAGCTTCG
 lyHisGlyTyrAspGlyGluGluArgAlaValSerAspSerPheG
 316 GGCCTGGAGAGTGGGATGACCGGAAAGTGGACACACTTTTATCC
 lyProGlyGluTrpAspAspArgLysValArgHisThrPheIleA
 361 GAAAGGTTTACTCCATCATCTCCGTGCAGCTGCTCATCACTGTGG
 rgLysValTyrSerIleIleSerValGlnLeuLeuIleThrValA
 406 CCATCATTTGCTATCTTCACCTTTGTGGAACCTGTACGCGCCTTG
 laIleIleAlaIlePheThrPheValGluProValSerAlaPheV
 451 TGAGGAGAAATGTGGCTGTCTACTACGTGCTCCTATGCTGTCTTCG
 alArgArgAsnValAlaValTyrTyrValSerTyrAlaValPheV
 496 TTGTACCTACCTGATCCTTGCCCTGCTGCCAGGGACCCAGACGCC
 alValThrTyrLeuIleLeuAlaCysCysGlnGlyProArgArgA
 541 GTTCCCATGGAAACATCATTCTGCTGACCCTTTTTACTTTTGCCA
 rgPheProTrpAsnIleIleLeuLeuThrLeuPheThrPheAlaM
 586 TGGGCTTCATGACGGGCACCATTTCCAGTATGTACCAAACCAAAG
 etGlyPheMetThrGlyThrIleSerSerMetTyrGlnThrLysA
 631 CCGTCATCATTGCAATGATCATCACTGCGGTGGTATCCATTTTTCAG
 laValIleIleAlaMetIleIleThrAlaValValSerIleSerV
 676 TCACCATCTTCTGCTTTTCAGACCAAGGTGAGGGCATGGAGGGCCC
 alThrIlePheCysPheGlnThrLysValArgAlaTrpArgAlaL
 721 TTCCCTGGCCCCCGACTCCCCTTTCTTATCAGGCCCGGACCCCG
 euProTrpProProAspSerProPheLeuSerGlyProAspProG
 766 GTACACTAGGGATGTTCCCTAGAGACCTGATCCCCTTCTCCTCAT
 lyThrLeuGlyMetPheProArgAspLeuIleProPheSerSerS
 811 CCGCACCTACAAAACCTGTGTCTGTTTCTGTCCTTAGAATGTTGT
 erAlaProThrLysLeuCysProValSerValLeuArgMetLeuT
 856 GGACATTCACATACCCCTAGGAGGCAGCACTGGGACTCCCTGGC
 rpThrPheProTyrProLeuGlyGlySerThrGlyThrProTrpG

【図9B】

(図9Bの続き)

901 AGGGCCAGTCTGACTGGGCTGGTTGTCCACAGCCATCTGACAGGTG
 lnGlyGlnSerAspTrpAlaGlyCysHisSerHisLeuThrGlyA

 946 CCTCTTTCTTGCTTCCTGGCAGGTGGACTTCACCTCGTGCCACAGG
 laSerPheLeuLeuProGlyArgTrpThrSerProArgAlaGlnA

 991 CCTCTTCTGTGTCCTGGGAATTGTGCTCCTGGTGACTGGGATTGT
 laSerSerValSerTrpGluLeuCysSerTrp

 1036 CACTAGCATTTGTGCTCTTAGCATTGTGCTCTACTTCCAATACGTT
 1081 TACTGGCTCCACATGCTCTATGCTGCTCTGGGGCCATTGTGTTTC
 1126 ACCCTGTTCCCTGGCTTACGACACACAGCTGGTCCCTGGGGAACCGG
 1171 AAGCACACCATCAGCCCCGAGGACTACATCACTGGCGCCCTGCAG
 1216 ATTTACACAGACATCATCTACATCTTACCCTTTGTGCTGCAGCTG
 1261 ATGGGGGATCGCAATTAAGGAGCAAGCCCCCATTTTCACCCGATC
 1306 CTGGGCTCTCCCTTCCAAGCTAGAGGGCTGGGCTCAATGACTGTG
 1351 GTCTGGGCTTTAGGCCCTTTCCCTTCCCTTGAGTAACATGCCCA
 1396 GTTTCCTTTCTGTCTGGAGACAGGTGGCTCTCTGGCTATGGAT
 1441 GTGTGGGTACTTGGTGGGGACGGAGGAGCTAGGGACTAAGTGTG
 1486 CTCTGGTGGGCTTGGCAGGACTAGGCTGAAGATGTGTCTTCTC
 1531 CCCGCCACCTACTGTATGACACCACATTTCTTCAACAGCTGGGG
 1576 TTGTGAGGAATATGAAAAGAGCCTATTCGATAGCTAGAAGGGAAT
 1621 ATGAAAGGTAGAAGTGACTTCAAGGTCACGAGGTTCCCTCCAC
 1666 CTCTGTACAGGCTTCTTGACTACGTAGTTGGAGCTATTTCTTCC
 1711 CCCAGCAAAGCCAGAGAGCTTTGTCCCGGCTCCTGGACACATA
 1756 GGCCATTATCCTGTATTCCTTTGGCTTGGCATCTTTTAGCTCAGG
 1801 AAGGTAGAAGAGATCTGTGCCCATGGTCTCCTTGCTTCAATCCC
 1846 TTCTTGTTCAGTGACATATGTATTGTTTATCTGGGTTAGGGATG
 1891 GGGACAGATAATAGAACGAGCAAAGTAACCTATACAGGCCAGCA
 1936 TGGAACAGCATCTCCCTGGGCTTGTCTCCTGGCTTGTGACGCTAT
 1981 AAGACAGAGCAGGCCACATGTGGCCATCTGCTCCCATTTCTTGA
 2026 AAGCTGCTGGGGCCTCCTTGCAGGCTTCTGGATCTCTGGTCAGAG
 2071 TGAACCTTGCTTCTTCTGATTTCAGGCAGCTCAGAGCAGAAAGTAA
 2116 GGGGCAGAGTCATACGTGTGGCCAGGAAGTAGCCAGGGTGAAGAG
 2161 AGACTCGGTGCGGGCAGGGAGAATGCCTGGGGTCCCTCACCTGG
 2206 CTAGGGAGATACCGAAGCCTACTGTGGTACTGAAGACTTCTGGGT
 2251 TCTTTCTTCTGCTAACCCAGGGAGGGTCTAAGAGGAAGGTGAC
 2296 TCTCTCTGTTTGTCTTAAGTTGCACTGGGGGATTTCTGACTTGA
 2341 GGCCCATCTCTCCAGCCAGCCACTGCCCTTCTTTGTAATATTAAGT
 2386 GCCTTGAGCTGGAATGGGAAGGGGACAAGGGTCAGTCTGTCCG
 2431 GTGGGGGCAGAAATCAATCAGCCCAAGGATATAGTTAGGATTA
 2476 TTACTTAATAGAGAAATCCTAACTATATCACACAAAGGGATACAA
 2521 CTATAAATGTAATAAAATTTATGTCTAGAAGTTAAAAA
 2566 AAAAAAAGT

【図 10】

7P-4004731_1

TTCATAACAAAAATCCAGGCCAGGCACGGTGGCTCATTTTTAAAAGTCAAAAGAAAAAT
 AGTACTTAAAAATAGAAAAATAAAATACTGTACACCAAAATAAGCTAGAAAAATGGAAC
 TAAGAAATAATATTTGAAATTAATATAAAATGAAGCTACAGAAGGCATAAGTAAGTCCAA
 ATGTTGGCTCTTTGAAAGACTATTAATAAATTACACAGAAAGTCTAATAAAGAGAAAAGA
 GAGAAAAAACTGTCAGAAATGCTACCGAACTGTACTGCTTCTACAGTGAGAACACGGATC
 TGACTTGTCCGCAGCCCAAGTGTGACAAGTGCAATGCTGCCTATCCTCACCTGGCTCACC
 TGCCATCTGCCATGGCAGACTCATCCTCCGGTTTCCCTCGCACATGGTGGCAGTCTCGCG
 MetAlaAspSerSerPheArgPheProArgThrTrpTrpGlnSerAlaGlu
 AGGATGTGCACAGAGAAAAGATCCAGTTAGACCTGGAAAGCTGAATTTACTTCACTCACC
 AspValHisArgGluLysIleGlnLeuAspLeuGluAlaGluPheTyrPheThrHisLeu
 TAATGTGATGTTCAAGTCCCCAGGCCGGCTGCCATGGTGGTGGACCGCTCCAGGACT
 IleValMetPheLysSerProArgProAlaAlaMetValLeuAspArgSerGlnAspPhe
 TTGGGAAAACATGGAAGCCTTATAAGTACTTTGCGACTAACTGCTCCGCTACATTTGGCC
 GlyLysThrTrpLysProTyrLysTyrPheAlaThrAsnCysSerAlaThrPheGlyLeu
 TGGAAAGATGATGTTGTCAGAAGGGCGCTATTTGTACTTCTAAATACTCCAGTCCTTTTC
 GluAspAspValValLysLysGlyAlaIleCysThrSerLysTyrSerSerProPhePro
 CATGCACTGGAGGAGAGGTTATTTTCAAAGCTTTGTCCACCACCATAACGATACAGAGAACC
 CysThrGlyGlyGluValIlePheLysAlaLeuSerProProTyrAspThrGluAsnPro
 CTTACAGTGCCAAAGTTCAGGAGCAGCTGAAGATCACCAACCTTCGCGTGCAGCTGCTGA
 TyrSerAlaLysValGlnGluGlnLeuLysIleThrAsnLeuArgValGlnLeuLeuLys
 AACGACAGTCTTGTCCCTGTGAGAGAAATGACCTGAACGAAGAGCCTCAACATTTTACAC
 ArgGlnSerCysProCysGlnArgAsnAspLeuAsnGluGluProGlnHisPheThrHis
 ACTATGCAATCTATGATTTTCATTTGTCAAGGGCAGCTGCTTCTGCAATGGCCACGCTGATC
 TyrAlaIleTyrAspPheIleValLysGlySerCysPheCysAsnGlyHisAlaAspGln
 AATGCATACCTGTTTCATGGCTTCAGACCTGTCAAGGCCCCAGGAACATTCACATGGTCC
 CysIleProValHisGlyPheArgProValLysAlaProGlyThrPheHisMetValHis
 ATGGGAAGTGTATGTGTAAGCACACACAGCAGGCAGCCACTGCCAGCACTGTGCCCCGT
 GlyLysCysMetCysLysHisAsnThrAlaGlySerHisCysGlnHisCysAlaProLeu
 TATACAATGACCGCCATGGGAGGCAGCTGATGGCAAAACGGGGCTCCCAACGAGTGCA
 TyrAsnAspArgProTrpGluAlaAlaAspGlyLysThrGlyAlaProAsnGluCysArg
 GAACCTGCAAGTGTAAATGGGCATGCTGATACCTGTCACTTCGACGTTAATGTGTGGGAGG
 ThrCysLysCysAsnGlyHisAlaAspThrCysHisPheAspValAsnValTrpGluAla
 CATCAGGGAATCGTAGTGGTGGTGTCTGTGATGACTGTCAGCACAAACACAGAAGGACAGT
 SerGlyAsnArgSerGlyGlyValCysAspAspCysGlnHisAsnThrGluGlyGlnTyr
 ATTGCCAGAGGTGCAAGCCAGGCTTCTATCGTGACCTGCGGAGACCCTTCTCAGCTCCAG
 CysGlnArgCysLysProGlyPheTyrArgAspLeuArgArgProPheSerAlaProAsp
 ATGCTTGCAAACGTAAGTAACCTGTGGTTTTCCAGAAAATAGGCTGATTTGTACAAGAGAT
 AlaCysLysArgLys

【図10】

(図10の続き)

GAATCTCTTTATCCCTCATTCTGCTAACCCAAGAGAAGGAGGTCATTGAGGTTCTGAGAT
AACACACTTACAGATATCGGTTAATTTCTTCATTGATAAGAAGCAAGAATTTCAACCAT
TGGGTGAAAACAGTATAATATTCAACAAAAGTAATTTCCCTTTCATTCTNCATAAAGTA
AAAATTATCCCTATACGCTGCATTTTGGTAAACAGGATGACTAATAGAAAAAAAAAATGA
TGAANAAGGAGACTATTTAAGAACTTAAGACTACTTGGGAGTAGAAGGTAGACAATAATG
GACTCANCTGATGAAATAAAGGTAAGTACTGGACTTGGAATATCTTTACCTTACAGGGAA
CTTAAC

【図 11】

7P-1/4009334_1

GCTCCGCGACTCGGCCTCTCCACCCCTCCCCAGCCTTTCTCTCGCCCTCTTCTCCACACA
 CTCCCGGCCCGCCCTCGGCTTTGTGCGAGGAGATGGTGTAGCCCCCTGGCCGCCGAAGA
 GGAGCCGGACACTTGTCTCCCGTCTCCGAGCTGCTCCCCACCCCTGGAGGAGAGACCCCC
 CCCTCGGCTCGGCGCCTTCTGCGTCTCCCGGCTGGTGGGAAGCCTCTGCGCCGCCGGCA
 CCATGAGTGAACAGAGTATCTGTCCAGCAAGAGCTGCTGTGATGGTTTATGATGATGCCA
 MetSerGluGlnSerIleCysGlnAlaArgAlaAlaValMetValTyrAspAspAlaAsn
 ATAAGAAGTGGGTGCCAGCTGGTGGCTCAACTGGATTACAGCAGAGTTCATATCTATCACC
 LysLysTrpValProAlaGlyGlySerThrGlyPheSerArgValHisIleTyrHisHis
 ATACAGGCAACAACACATTACAGAGTGGTGGGCAGGAAGATTCAGGACCATCAGGTCGTGA
 ThrGlyAsnAsnThrPheArgValValGlyArgLysIleGlnAspHisGlnValValIle
 TAACTGTGCCATTCCTAAAGGGTTGAAGTACAATCAAGCTACACAGACCTTCCACCAGT
 AsnCysAlaIleProLysGlyLeuLysTyrAsnGlnAlaThrGlnThrPheHisGlnTrp
 GCGGAGATGCTAGACAGGTGTATGGTCTCAACTTTGGCAGCAAAGAGGATGCCAATGTCT
 ArgAspAlaArgGlnValTyrGlyLeuAsnPheGlySerLysGluAspAlaAsnValPhe
 TCGCAAGTGCATGATGCATGCCTTAGAAGTGTAAATTACAGGAAACAGGGCCCAACAT
 AlaSerAlaMetMetHisAlaLeuGluValLeuAsnSerGlnGluThrGlyProThrLeu
 TGCCTAGACAAAACACTCACAACCTACCTGCTCAAGTTCAAAATGGCCCATCCCAAGAAGAAT
 ProArgGlnAsnSerGlnLeuProAlaGlnValGlnAsnGlyProSerGlnGluGluLeu
 TGGAAATTCAAAGAAGACAACACTACAAGAACAGCAACGGCAAAAGGAGCTGGAGCCGGAAA
 GluIleGlnArgArgGlnLeuGlnGluGlnGlnArgGlnLysGluLeuGluArgGluArg
 GGCTGAAGCGAGAAAGAATGGAAGAGAAAGGAAGAAGAGAGAGAGGTTAGAAAAGGAAA
 LeuLysArgGluArgMetGluArgGluArgLysLysArgGluArgLeuGluArgGluArg
 GGCTGGAGAGGGAGCGACTGGAACAAGAACAGCTGGAGAGAGAGACAAGAACGGGAAC
 LeuGluArgGluArgLeuGluGlnGluGlnLeuGluArgGluArgGlnGluArgGluArg
 GGCAGGAACGCCTGGAGCCGGCAGGAACGCCTGGAGCCGGCAGG
 GlnGluArgLeuGluArgGlnGluArgLeuGluArgGlnGluArgLeuGluArgGlnGlu
 AACGCCTGGATCGGAGAGGCAAGAAAGACAAGAACCAGAGAGGCTGGAGAGACTGGAAC
 ArgLeuAspArgGluArgGlnGluArgGlnGluArgGluArgLeuGluArgLeuGluArg
 GGGAGAGGCAAGAAAGGGAGCGACAAGAGCAGTTAGAAAGGGAACAGCTGGAATGGGAGA
 GluArgGlnGluArgGluArgGlnGluGlnLeuGluArgGluGlnLeuGluTrpGluArg
 GAGAGCGCAGAATATCAAGTGTCTGCTGCCCTGCCTCTGTTGAGACTCCTCTAAACTCTG
 GluArgArgIleSerSerAlaAlaAlaProAlaSerValGluThrProLeuAsnSerVal
 TGCTGGGAGACTCCTTCTGCTTCTGAGCCAGGCTTCAGGCAGCCTCTCAGCCGGCCGAGA
 LeuGlyAspSerSerAlaSerGluProGlyLeuGlnAlaAlaSerGlnProAlaGluThr
 CTCCATCCCAACAGGAAGACAATCGCCCTTTAACTGGACTTGCAGCTGCAATTGCCGGAG
 ProSerGlnGlnGluAspAsnArgProLeuThrGlyLeuAlaAlaAlaIleAlaGlyAla
 CAAAACCTTAGAAAGTGTACGGATGGAGGATACCTCTTTCCCAAGTGGAGGGAATGCTA
 LysLeuArgLysValSerArgMetGluAspThrSerPheProSerGlyGlyAsnAlaIle
 TTGGTGTGAACCTCCGCCTCATCTAAAACAGATACAGCCGTGGAAATGGACCCCTTCCTT
 GlyValAsnSerAlaSerSerLysThrAspThrGlyArgGlyAsnGlyProLeuProLeu

【図11】

(図11の続き)

TAGGGGTAGTGGTTAATGGAAGAAATGAGTGCCCTGCTGGCCACGAGGAGAAGAATTG
GlyGlySerGlyLeuMetGluGluMetSerAlaLeuLeuAlaThrArgArgArgIleAla

CTGAAAAGGGATCAACAATAGAAACAGAACAAAAAGAGGACAAAGGTGAAGATTCAGAGC
GluLysGlySerThrIleGluThrGluGlnLysGluAspLysGlyGluAspSerGluPro

CTGTAACTTCTAAGGCCTCTTCAACAAGTACACCTGAACCAACAAGAAAACCTTGGAAA
ValThrSerLysAlaSerSerThrSerThrProGluProThrArgLysProTrpGluArg

GAACAAATACAATGAATGGCAGCAAGTCACCTGTTATCTCCAGACCTCCAAGGAAAAATC
ThrAsnThrMetAsnGlySerLysSerProValIleSerArgProProArgLysAsnGln

AGATTGTTTTTGACAACAGGTCTATGATTCAATACACAGACCAAAATCCACACCCCGTTA
IleValPheAspAsnArgSerTyrAspSerLeuHisArgProLysSerThrProValIle

TCACAGCCCACTGCCAATGGAGTCCAGACGGAAGGACTTGACTATGACAGGCTGAAGCAG
ThrAlaGlnCysGlnTrpSerProAspGlyArgThr

GACATTTTAGATGAAATGAGAAAAGAATTAACAAAGCTAAAAGAAGAGCTCATTGATGCA
ATCAGGCAGGAAGTCAAGTCAAATACTGCATAGAGGAACAGACTAAGGAGAGATAGG

ACTTTAATCTGGAGGAAAAATATCCTACAAACAACAACCTGTTCAACACAGCAAACCCCTA
CATTTATGAGCTGTAAGAAGAAAATGGAGACAAACAGAAGGAGGAAAAACCAACCTACT

CTGAAAGCCTTCAGACATTATGACTCTGGTGATAAGCTCTTCCCTCTCCGTTTGCTGCT
TTTTTCTGGCCAACATCAGAATGGTAACAC

【図 12】

7e-7 4009334_2

GCTCCGCGACTCGGCCTCTCCACCCCTCCCCAGCCTTTCTCTCGCCCTCTTCTCCACA
CTCCCGGCCGCGCCTCGGCTTTGTGCGAGGAGATGGTGTAGCCCCCTGGCCGCCGAAGA
GGAGCCGGACACTTGTCTCCCGTCTCCGAGCTGCTCCCCACCCCTGGAGGAGAGACCCCC
CCCTCGGCTCGGCGCCTTCTGCGTCTCCCGGCTGGTGGGAAGCCTCTGCCGCCCGGCA
CCATGAGTGAACAGAGTATCTGTCAGGCAAGAGCTGCTGTGATGGTTTATGATGATGCCA
MetSerGluGlnSerIleCysGlnAlaArgAlaAlaValMetValTyrAspAspAlaAsn
ATAAGAAGTGGGTGCCAGCTGGTGGCTCAACTGGATTGAGCAGAGTTCATATCTATACC
LysLysTrpValProAlaGlyGlySerThrGlyPheSerArgValHisIleTyrHisHis
ATACAGGCAACAACACATTGAGAGTGGTGGGCAGGAAGATTGAGACCATCAGTCCGCTGA
ThrGlyAsnAsnThrPheArgValValGlyArgLysIleGlnAspHisGlnValValIle
TAAACTGTGCCATTCTAAAGGGTTGAAGTACAATCAAGCTACACAGACCTTCCACCACT
AsnCysAlaIleProLysGlyLeuLysTyrAsnGlnAlaThrGlnThrPheHisGlnTrp
GGCGAGATGCTAGACAGGTGTATGGTCTCAACTTTGGCAGCAAAGAGGATGCCAATGTCT
ArgAspAlaArgGlnValTyrGlyLeuAsnPheGlySerLysGluAspAlaAsnValPhe
TCCGAAGTCCCATGATGCATGCCTTAGAAGTGTAAATTCACAGGAAACAGGGCCAACAT
AlaSerAlaMetMetHisAlaLeuGluValLeuAsnSerGlnGluThrGlyProThrLeu
TGCTTAGACAAAACCTCACAACCTACCTGCTCAAGTTCAAAATGGCCCATCCCAAGAAGAAT
ProArgGlnAsnSerGlnLeuProAlaGlnValGlnAsnGlyProSerGlnGluGluLeu
TGAAATTCAAAGAAGACAACACTACAAGAACAGCAACCGCAAAGGAGCTGGAGCGGGAAA
GluIleGlnArgArgGlnLeuGlnGluGlnGlnArgGlnLysGluLeuGluArgGluArg
GGCTGAAGCGAGAAAGAAATGGAAAGAGAAAGGAAGAAGAGAGAGAGGTTAGAAAGGGAAA
LeuLysArgGluArgMetGluArgGluArgLysLysArgGluArgLeuGluArgGluArg
GGCTGGAGAGGGAGCGACTGGAACAAGAACAGCTGGAGAGAGAGAGACAAGAACGGGAAC
LeuGluArgGluArgLeuGluGlnGluGlnLeuGluArgGluArgGlnGluArgGluArg
GGCAGGAACCGCTGGAGCGGCAGGAACCGCTGGAGCGGCAGGAACCGCTGGAGCGGCAGG
GlnGluArgLeuGluArgGlnGluArgLeuGluArgGlnGluArgLeuGluArgGlnGlu
AACGCCTGGATCGGGAGAGCAAGAAGACAAGAACGAGAGAGGCTGGAGAGACTGGAAC
ArgLeuAspArgGluArgGlnGluArgGlnGluArgGluArgLeuGluArgLeuGluArg
GGGAGAGGCAAGAAAGGGAGCGACAAGAGCAGTTAGAAAGGGAACAGCTGGAATGGGAGA
GluArgGlnGluArgGluArgGlnGluGlnLeuGluArgGluGlnLeuGluTrpGluArg
GAGAGCGCAGAATATCAAGTGCTGCTGCCCTGCCTCTGTTGAGACTCCTCTAAACTCTG
GluArgArgIleSerSerAlaAlaAlaProAlaSerValGluThrProLeuAsnSerVal
TGCTGGGAGACTCTTCTGCTTCTGAGCCAGGCTTGCAGGCAGCCTCTCAGCCGGCCGAGA
LeuGlyAspSerSerAlaSerGluProGlyLeuGlnAlaAlaSerGlnProAlaGluThr
CTCCATCCCAACAGGAAGACAATCGCCCTTTAACTGGACTTGCACTGCAATTGCCGGAG
ProSerGlnGlnGluAspAsnArgProLeuThrGlyLeuAlaAlaAlaIleAlaGlyAla
CAAACCTTAGGAAAGTGTACGGATGGAGGATACCTCTTTCCCAAGTGGAGGGAATGCTA
LysLeuArgLysValSerArgMetGluAspThrSerPheProSerGlyGlyAsnAlaIle

【図12】

(図12の続き)

TTGGTGTGAACTCCGCCTCATCTAAAACAGATACAGGCCGTGGAAATGGACCCCTTCCTT
GlyValAsnSerAlaSerSerLysThrAspThrGlyArgGlyAsnGlyProLeuProLeu

TAGGGGGTAGTGGTTAATGGAAGAAATGAGTGCCCTGCTGGCCACGAGGAGAAGAATTG
GlyGlySerGlyLeuMetGluGluMetSerAlaLeuLeuAlaThrArgArgArgIleAla

CTGAAAAGGGATCAACAATAGAAACAGAACAAAAAGAGGACAAAGGTGAAGATTCAGAGC
GluLysGlySerThrIleGluThrGluGlnLysGluAspLysGlyGluAspSerGluPro

CTGTAACTTCTAAGGCCTCTTCAACAAGTACACCTGAACCAACAAGAAAACCTTGGGAAA
ValThrSerLysAlaSerSerThrSerThrProGluProThrArgLysProTrpGluArg

GAACAAATACAATGAATGGCAGCAAGTCACCTGTTATCTCCAGACCAAAATCCACACCCT
ThrAsnThrMetAsnGlySerLysSerProValIleSerArgProLysSerThrProLeu

TATCACAGCCCAGTGCCAATGGAGTCCAGACGGAAGGACTTGACTATGACAGGCTGAAGC
SerGlnProSerAlaAsnGlyValGlnThrGluGlyLeuAspTyrAspArgLeuLysGln

AGGACATTTTAGATGAAATGAGAAAAGAATTAACAAAGCTAAAAGAAGAGCTCATTGATG
AspIleLeuAspGluMetArgLysGluLeuThrLysLeuLysGluGluLeuIleAspAla

CAATCAGGCAGGAACTGAGCAAGTCAAACTGTCATAGAGGAACAGACTAAGGAGAGATA
IleArgGlnGluLeuSerLysSerAsnThrAla

GGACTTTAATCTGGAGGAAAAATATCCTACAAACAACAACACTGTTCAACAGCAAACCC
TACATTTATGAGCTGTAAGAAGAAAATGGAGACAAACAGAAGGAGGGAAAAACCAACCTA

CTCTGAAAGCCTTCAGACATTATGACTCTGGTGATAAGCTCTTCCCTCTCCGTTTGCTG

CTTTTTTCTGGCCAACATCAGAATGGTAACAC

【図13】

9p-1 4035508

GAATTCGAGCGCAGGAGCTCCGCTTCTCCACCTGCTCCCGGGGAGCTAGTGGGATCCAGA
 GAATCACCCGCTGATGGTTTTTGGCCAGGCCTGAAACAACCAGAGAGCTACGGGAAAGGA
 AGGGCTTGGCTTGCCAGAGGAATTTTCCAAGTGCTCAAACGCCAGGCTTACGGCGCCTGT
 GATCCGTCCAGGAGGACAAAGTGGGATTTGAGGATCCACTCCACTTCTGCTCATGGCGCG
 M A R
 CCAGGGCCTGCCCCCTGCACGTGGCCACACTGCTGACTGGGCTGCTGGAATGCCTGGGCTT
 Q G L P L H V A T L L T G L L E C L G F
 TGCTGGCGTCCCTCTTTGGCTGGCCTTCACTAGTGTGTTGCTTCAAGAATGAAGATTACTT
 A G V L F G W P S L V F V F K N E D Y F
 TAAGGATCTGTGTGGACCAGATGCTGGGCCGATTGGCAATGCCACAGGGCAGGCTGACTG
 K D L C G P D A G P I G N A T G Q A D C
 CAAAGCCAGGATGAGAGGTTCTCACTCATCTTACCCTGGGGTCCCTTCATGAACAACCTT
 K A Q D E R F S L I F T L G S F M N N F
 CATGACATTCCCCACTGGCTACATCTTTGACCGGTTCAAGACCACCGTGGCACGCCTCAT
 M T F P T G Y I F D R F K T T V A R L I
 AGCCATATTTTCTACACCACCGCCACACTCATCATAGCCTTCCCTCTGCAGCTTCTTT
 A I F F Y T T A T L I I A F T S A A S L
 ATGAAAAAGGCATCAGCCTCAGGGCCTCCTTCATCTTCATCTCTGTCTGCAAGTACCTGG
 CATGTAGCACGCACTTTCCTCCTGATGCCCCGGGGCACATCCCATACCCACTGCCCCCC
 AACTACAGCTATGGCCTGTGCCCTGGGAATGGCACCACAAAGGAAGAGAAGGAAACAGCT
 GAGCATGAAAACAGGGAGCTACAGTCAAAGGAGTTTCCTTTCAGCGAA

【図 14】

4339264

CTTTTTCAGATAACATCTTCTGAGTCATAACCAGCCTGGGTCCCCCATGATCGTGGGGTCCCCTCGGGCCCTGACACAG
 MetIleValGlySerProArgAlaLeuThrGln
 CCCCTGGGTCTCCTTCGCCTGCTGCAGCTGGTGTCTACCTGCGTGGCCTTCTCGCTGGTGGCTAGCGTGGGCGCCTGGAC
 ProLeuGlyLeuLeuArgLeuLeuGlnLeuValSerThrCysValAlaPheSerLeuValAlaSerValGlyAlaTrpTh
 GGGGTCCATGGGCAACTGGTCCATGTTACCTGGTGTCTTCTGCTTCTCCGTGACCCTGATCATCCTCATCGTGGAGCTGT
 rGlySerMetGlyAsnTrpSerMetPheThrTrpCysPheSerValThrLeuIleIleLeuIleValGluLeuC
 GCGGGCTCCAGGCCCGCTTCCCCTGTCTTGGCGCAACTTCCCCATCACCTTCGCCTGCTATGCGGCCCTCTTCTGCCTC
 ysGlyLeuGlnAlaArgPheProLeuSerTrpArgAsnPheProIleThrPheAlaCysTyrAlaAlaLeuPheCysLeu
 TCGGCCTCCATCATCTACCCACCACCTATGTCCAGTTCCTGTCCACCGGCCGTTTCGCGGGACCACGCCATCGCCGCCAC
 SerAlaSerIleIleTyrProThrThrTyrValGlnPheLeuSerHisGlyArgSerArgAspHisAlaIleAlaAlaTh
 CTTCTTCTCCTGCATCGCGTGTGGCTTACGCCACCGAAGTGGCCTGGACCCGGGCCCGGCCGGGAGATCACTGGCT
 rPhePheSerCysIleAlaCysValAlaTyrAlaThrGluValAlaTrpThrArgAlaArgProGlyGluIleThrGlyT
 ATATGGCCACCGTACCCGGGCTGCTGAAGGTGCTGGAGACCTTCGTTGCCATCATCTTCGCGTTCATCAGCGACCCC
 yrMetAlaThrValProGlyLeuLeuLysValLeuGluThrPheValAlaCysIleIlePheAlaPheIleSerAspPro
 AACCTGTACCAGCACCAGCCCGCCCTGGAGTGGTGGCGGTGTACGCCATCTGCTTCATCCTAGCGGCCATCGCCAT
 AsnLeuTyrGlnHisGlnProAlaLeuGluTrpCysValAlaValTyrAlaIleCysPheIleLeuAlaAlaIleAlaIle
 CCTGCTGAACCTGGGGAGTGCACCAACGTGCTACCCATCCCCTTCCCAGCTTCCTGTGGGGCTGGCCTGTGCTGTCTG
 eLeuLeuAsnLeuGlyGluCysThrAsnValLeuProIleProPheProSerPheLeuSerGlyLeuAlaLeuLeuSerV
 TCCFCCTCTATGCCACCGCCCTTGTCTCTGGCCCTCTACCAGTTCGATGAGAAGTATGGCGGCCAGCCTCGGCGCTCG
 alLeuLeuTyrAlaThrAlaLeuValLeuTrpProLeuTyrGlnPheAspGluLysTyrGlyGlyGlnProArgArgSer
 AGAGATGTAAGCTGCAGCCCGCAGCCATGCCTACTACGTGTGTGCTGGGACCGCCGACTGGCTGTGGCCATCCTGACGGC
 ArgAspValSerCysSerArgSerHisAlaTyrTyrValCysAlaTrpAspArgArgLeuAlaValAlaIleLeuThrAl
 CATCAACCTACTGGCGTATGTGGCTGACCTGGTGCACCTGCCCCACTGGTTTTTGTCAAGGTCTAAGACTCTCCCAAGA
 aIleAsnLeuLeuAlaTyrValAlaAspLeuValHisSerAlaHisLeuValPheValLysVal
 GGCTCCCGTTCCTCTCCAACCTCTTGTCTTCTTGGCCCGAGTTTTCTTTATGGAGTACTTCTTTCCTCCGCCTTTCCT
 CTGTTTTCTCTTCTCTGCTCCC

【図15】

1 GGATCCGGTTTCCCAGAAGATTCTGAGCCAATCAGTATTTTCGCAT
 GlySerGlyPheProGluAspSerGluProIleSerIleSerHis
 46 GGCAACTATACAAAACAGTATCCGGTGTGTTGTGGGCCACAAGCCA
 GlyAsnTyrThrLysGlnTyrProValPheValGlyHisLysPro
 91 GGACGGAACACCACACAGAGGCACAGGCTGGACATCCAGATGATT
 GlyArgAsnThrThrGlnArgHisArgLeuAspIleGlnMetIle
 136 ATGATCATGAACGGAACCCCTCTACATTGCTGCTAGGGACCATATT
 MetIleMetAsnGlyThrLeuTyrIleAlaAlaArgAspHisIle
 181 TATACTGTTGATATAGACACATCACACACGGAAGAAATTTATTTGT
 TyrThrValAspIleAspThrSerHisThrGluGluIleTyrCys
 226 AGCAAAAACTGACATGGAAATCTAGACAGGCCGATGTAGACACA
 SerLysLysLeuThrTrpLysSerArgGlnAlaAspValAspThr
 271 TGCAGAAATGAAGGGAAAACATAAGGATGAGTGCCACAACTTTATT
 CysArgMetLysGlyLysHisLysAspGluCysHisAsnPheIle
 316 AAAGTTCTTCTAAAGAAAAACGATGATGCATTTGTTGTCGTGGA
 LysValLeuLeuLysLysAsnAspAspAlaLeuPheValCysGly
 361 ACTAATGCCTTCAACCCTTCTGCAGAACTATAAGATGGATACA
 ThrAsnAlaPheAsnProSerCysArgAsnTyrLysMetAspThr
 406 TTGGAACCAATCGGGGATGAATTCAGCGGAATGGCCAGATGCCCA
 LeuGluProPheGlyAspGluPheSerGlyMetAlaArgCysPro
 451 TATGATGCCAAACATGCCAACGTTGCACTGTTTGCAGATGGAAAA
 TyrAspAlaLysHisAlaAsnValAlaLeuPheAlaAspGlyLys
 496 CTATACTCAGCCACAGTGAAGTACTTCCCTTCCATGACGCAGTC
 LeuTyrSerAlaThrValThrAspPheLeuAlaIleAspAlaVal
 541 ATTTACCGGAGTCTTGGAGAAAGCCCTACCCTGCGGACCGTCAAG
 IleTyrArgSerLeuGlyGluSerProThrLeuArgThrValLys
 586 CACGATTCAAAATGGTTGAAAGAACCATACTTTGTTCAAGCCGTG
 HisAspSerLysTrpLeuLysGluProTyrPheValGlnAlaVal
 631 GATTACGGAGATTATATCTACTTCTTCTCAGGGAAATAGCAGTG
 AspTyrGlyAspTyrIleTyrPhePhePheArgGluIleAlaVal
 676 GAGTATAACACCATGGGAAAGGTAGTTTTCCCAAGAGTGGCTCAG
 GluTyrAsnThrMetGlyLysValValPheProArgValAlaGln
 721 GTTTGTAAGAAATGATATGGGAGGATCTCAAAGAGTCCCTGGAGAAA
 ValCysLysAsnAspMetGlyGlySerGlnArgValLeuGluLys
 766 CAGTGGACGTCGTTCTCTGAAGGCGCGCTTGAAGTCTCAGTTCCT
 GlnTrpThrSerPheLeuLysAlaArgLeuAsnCysSerValPro

Fig. 15

【 図 15 】

811 GGAGACTCTCATTTTTATTTC AACATTCTCCAGGCAGTTACAGAT
GlyAspSerHisPheTyrPheAsnIleLeuGlnAlaValThrAsp

856 GTGATTCGTATCAACGGGCGTGATGTTGTCCTGGCAACGTTTTCT
ValIleArgIleAsnGlyArgAspValValLeuAlaThrPheSer

901 ACACCTTATAACAGCATCCCTGGGTCTGCAGTCTGTGCCTATGAC
ThrProTyrAsnSerIleProGlySerAlaValCysAlaTyrAsp

946 ATGCTTGACATTGCCAGTGT TTTTACTGGGAGATTCAAGGAACAG
MetLeuAspIleAlaSerValPheThrGlyArgPheLysGluGln

991 AAGTCTCCTGATTCCACCTGGACACCAGTTCCTGATGAACGAGTT
LysSerProAspSerThrTrpThrProValProAspGluArgVal

1036 CCTAAGCCCAGGCCAGGTTGCTGTGCTGGCTCATCCTCCTTAGAA
ProLysProArgProGlyCysCysAlaGlySerSerSerLeuGlu

1081 AGATATGCAACCTCCAATGAGTTCCTGATGATACCCTGAACTTC
ArgTyrAlaThrSerAsnGluPheProAspAspThrLeuAsnPhe

1126 ATCAAGACGCACCCGCTCATGGATGAGGCAGTGCCTCCATCTTC
IleLysThrHisProLeuMetAspGluAlaValProSerIlePhe

1171 AACAGGCCATGGTTCCTGAGAACAATGGTCAGATACCGCCTTACC
AsnArgProTrpPheLeuArgThrMetValArgTyrArgLeuThr

1216 AAAATTGCAGTGGACACAGCTGCTGGGCCATATCAGAATCACACT
LysIleAlaValAspThrAlaAlaGlyProTyrGlnAsnHisThr

1261 GTGGTTTTTCTGGGATCAGAGAAGGGAATCATCTTGAAGTTTTTG
ValValPheLeuGlySerGluLysGlyIleIleLeuLysPheLeu

1306 GCCAGAATAGGAAATAGTGGTTTTCTAAATGACAGCCTTTTCCTG
AlaArgIleGlyAsnSerGlyPheLeuAsnAspSerLeuPheLeu

1351 GAGGAGATGAGTGT TTTTCAACTCTGAAAAATGCAGCTATGATGGA
GluGluMetSerValTyrAsnSerGluLysCysSerTyrAspGly

1396 GTCGAAGACAAAAGGATCATGGGCATGCAGCTGGACAGAGCAAGC
ValGluAspLysArgIleMetGlyMetGlnLeuAspArgAlaSer

1441 AGCTCTCTGTATGTTGCGTTCTCTACCTGTGTGATAAAGGTTCCC
SerSerLeuTyrValAlaPheSerThrCysValIleLysValPro

1486 CTTGGCCGGTGTGAACGACATGGGAAGTGTA AAAAAACCTGTATT
LeuGlyArgCysGluArgHisGlyLysCysLysLysThrCysIle

1531 GCCTCCAGAGACCCATATTGTGGATGGATAAAGGAAGGTGGTGCC
AlaSerArgAspProTyrCysGlyTrpIleLysGluGlyGlyAla

1576 TGCAGCCATTTATCACC AACAGCAGACTGACTTTTGAGCAGGAC
CysSerHisLeuSerProAsnSerArgLeuThrPheGluGlnAsp

1621 ATAGAGCGTGGCAATACAGATGGTCTGGGGGACTGTCACAATTCC
IleGluArgGlyAsnThrAspGlyLeuGlyAspCysHisAsnSer

Fig. 15 Cont.

【図15】

1666 TTTGTGGCACTGAATGGGCATTCCAGTTCCTCTTGCCCAGCACA
PheValAlaLeuAsnGlyHisSerSerSerLeuLeuProSerThr

1711 ACCACATCAGATTCGACGGCTCAAGAGGGGTATGAGTCTAGGGGA
ThrThrSerAspSerThrAlaGlnGluGlyTyrGluSerArgGly

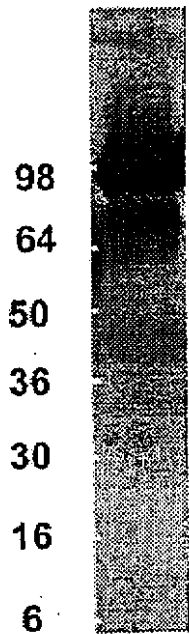
1756 GGAATGCTGGACTGGAAGCATCTGCTTGACTCACCTGACAGCACA
GlyMetLeuAspTrpLysHisLeuLeuAspSerProAspSerThr

1801 GACCCTTTGGGGCAGTGTCTTCCCATAATCACCAAGACAAGAAG
AspProLeuGlyAlaValSerSerHisAsnHisGlnAspLysLys

1846 GGAGTGATTCGGAAAGTTACCTCAAAGGCCACGACCAGCTCGAG
GlyValIleArgGluSerTyrLeuLysGlyHisAspGlnLeuGlu

Fig. 15
(Continued)

【図16】



293 種目による分離で47は 4-2864933タンパク質

【図 17】

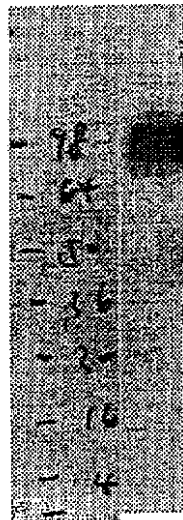
1例/A.

GGATCC AACTGCCCTCCGTCTGCTCGTGCAGTAACCAGTTCAG
 CAAGGTGGTGTGCACGCGCCGGGGCCCTCTCCGAGGTCCCCGAGGGTATCCCTCGAACACCCGGTACCTCAACCTCATGG
 AGAACAAATCCAGATGATCCAGGCCGACACCTTCCGCCACCTCCACCACCTGGAGGTCTCGCAGTTGGGCAGGAACTCC
 ATCCGGCAGATTGAGGTGGGGCCCTTCAACGGCCTGGCCAGCCTCAACACCCCTGGAGCTGTTCGACAACCTGGCTGACAGT
 CATCCCTAGCGGGCCCTTTGAATACCTGTCCAAGCTGCGGGAGCTCTGGCTTCGCAACAACCCCATCGAAAGCATCCCT
 CTTACGCTTCAACCGGGTGCCTCCCTCATGCGCCTGGACTTGGGGGAGCTCAAGAAGCTGGAGTATATCTCTGAGGGA
 GCTTTTGAGGGGCTGTCAACCTCAAGTATCTGAACCTGGGCATGTGCAACATTAAGACATGCCCAATCTCACCCCT
 GGTGGGGCTGGAGGAGCTGGAGATGTCAGGGAACCACTTCCCTGAGATCAGGCCTGGCTCCTTCCATGGCCTGAGCTCCC
 TCAAGAAGCTCTGGGTGATGAACTCACAGGTCAGCCTGATTGAGCGGAATGCTTTTGACGGGCTGGCTTCACTTGTGGAA
 CTCAACTGGCCCAATAACCTCTCTTCTTTGCCCATGACCTCTTTACCCCGCTGAGGTACCTGGTGGAGTTGCATCT
 ACACCACAACCTTGGAACTGTGATTGTGACATTCTGTGGCTAGCCTGGTGGCTTCGAGAGTATATACCCACCAATCCA
 CCTGCTGTGGCCGCTGTATGCTCCCATGCACATGCGAGGCCGCTACCTCGTGGAGGTGGACCAGGCCTCCTTCCAGTGC
 TCTGCCCTTTCATCATGGACGCACCTCGAGACCTCAACATTTCTGAGGGTCCGATGGCAGAAGTAAAGTGTCCGACTCC
 CCCTATGTCCCTCCGTGAAGTGGTTGCTGCCAATGGGACAGTGTCTCAGCCATGCCTCCCGCCACCCCAAGGATCTGTGCC
 TCAACGACGGCACCTTGAACTTTTCCACGTGCTGCTTTCAGACACCGGGGTGTACACATGCATGGTGGACCAATGTTGCA
 GGCAACTCCAACGCCCTCGGCCTACCTCAATGTGAGCACGGCTGAGCTTAACACCTCCAACTACAGCTTCTTCCACACAGT
 AACAGTGGAGACCACGGAGATCTCGCCTGAGGACACAACGCGAAAGTACAAGCCTGTTCTTACCACGTCCACTGGTTACC
 AGCCGGCATATACCACCTTACCACGGTCCGAG

1例/B.

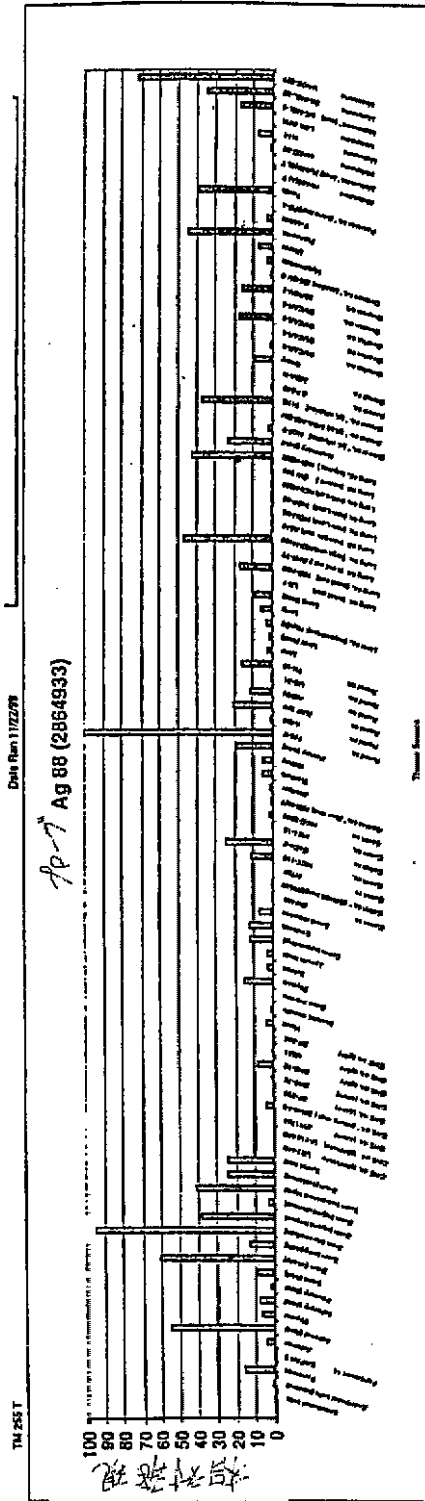
NCPSVCSNSQFSKVCTRRGLSEVPQGI PSNTRYLNLMENNIQMIQADTFRHLHHLEVLQLGRNSIRQIEVGAENG
 LASLNTLELFDNWLTVI PSGAFEYLSKLRLELWLRNPIESIPSYAFNRVPSLMRLDLGELKKLEYISEGAFEGLENL
 KYLNLMGMCNIKDMPNLTPLVGLLEEMSGNHFPPIRPGSFHGLSSLKLLWVMNSQVSLIERNAFDGLASLVELNLAH
 NNLSSLPHDLFTPLRYLVELHLHHPWNDCDILWLAWLREYIPTNSTCCGRCHAPMHRGRYLVEVDQASFOCSA
 PFIMDAPRDLNISEGRMAELKCRTPPMSVVKWLLPNGTIVLSHASRHRISVLDGTLNFSHVLLSDTGVYTCMYTNV
 AGNSNASAYLNVSTAELENTSNYSFFTTVTYVETTHISPEDTTRKYKPVPTTSTGYQPAYTISTT

【図 18】

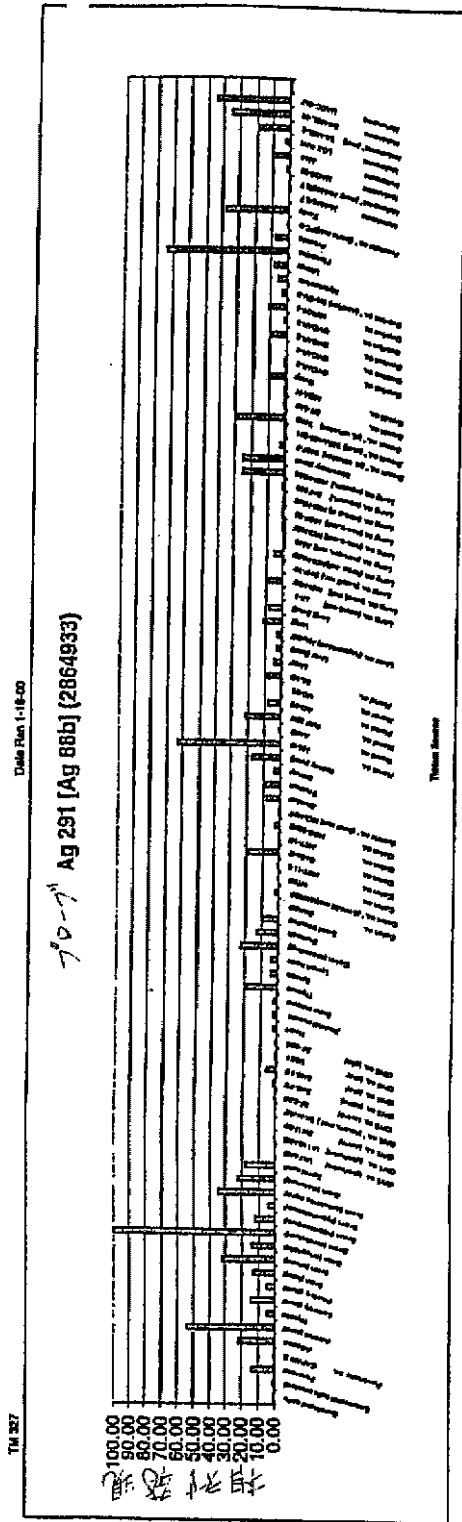


293 細胞1 = 2) 分 = 必 + 4) = 1-335 23587 = 1例

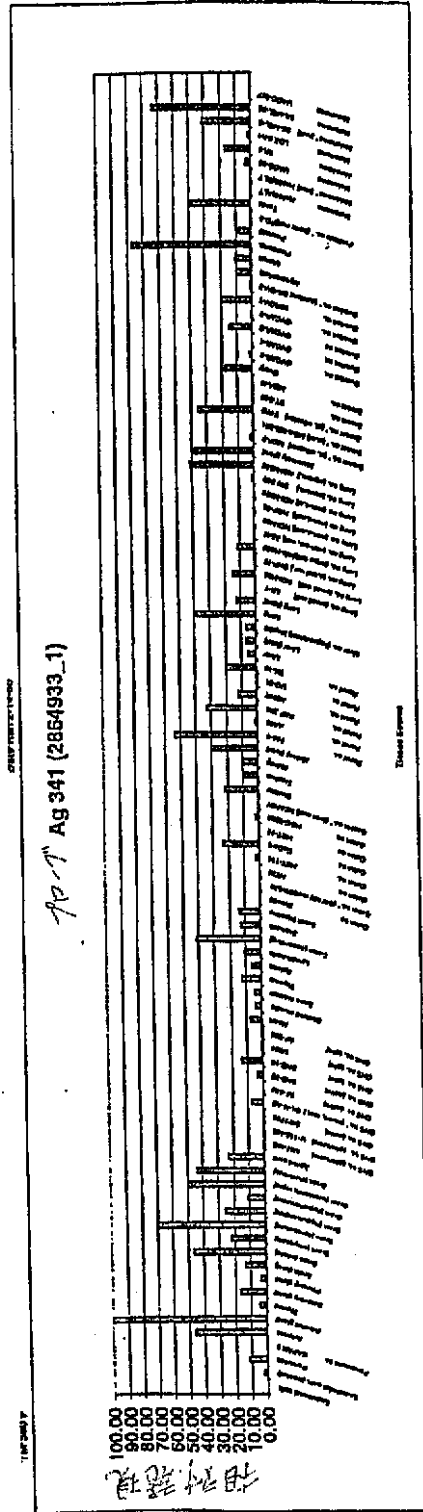
【図 19A】



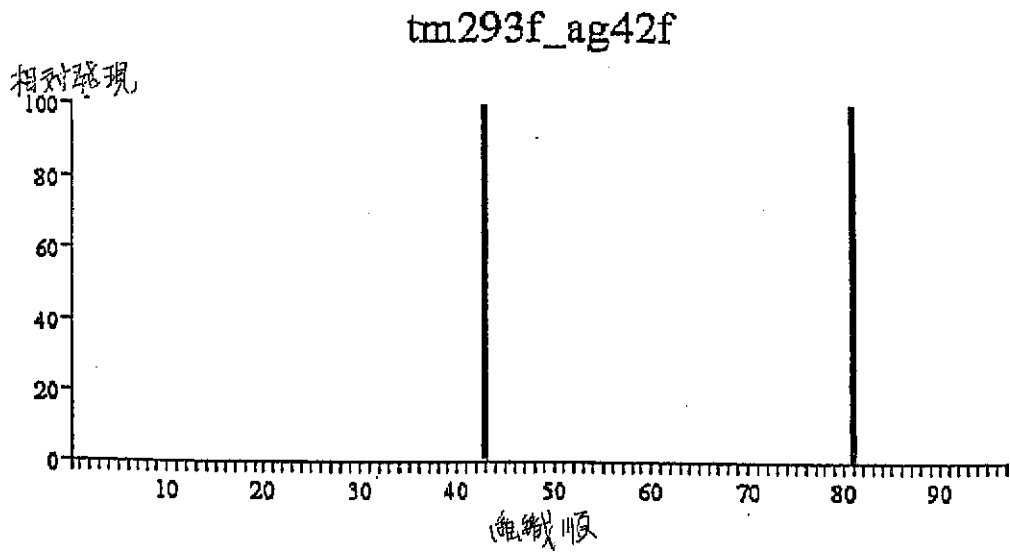
【図 19B】



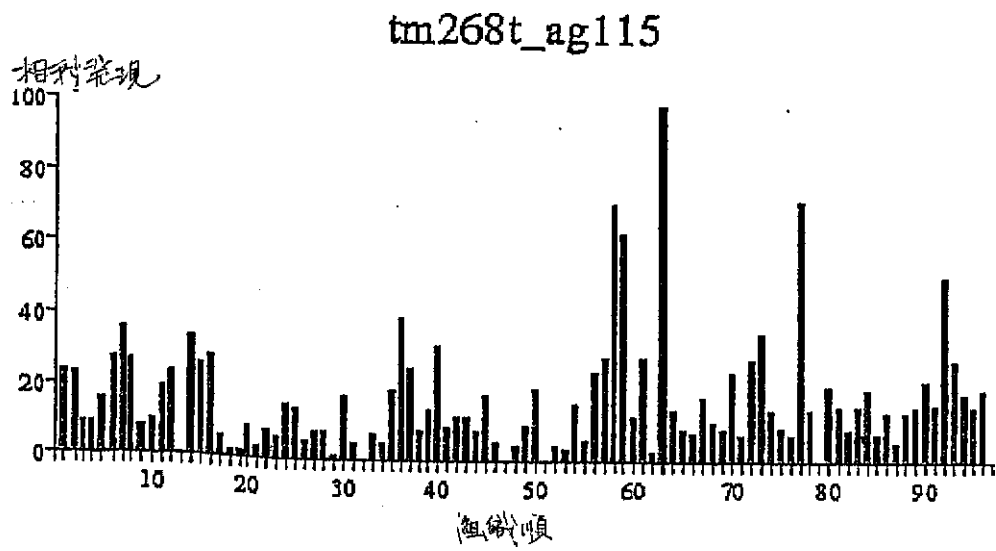
【図 19C】



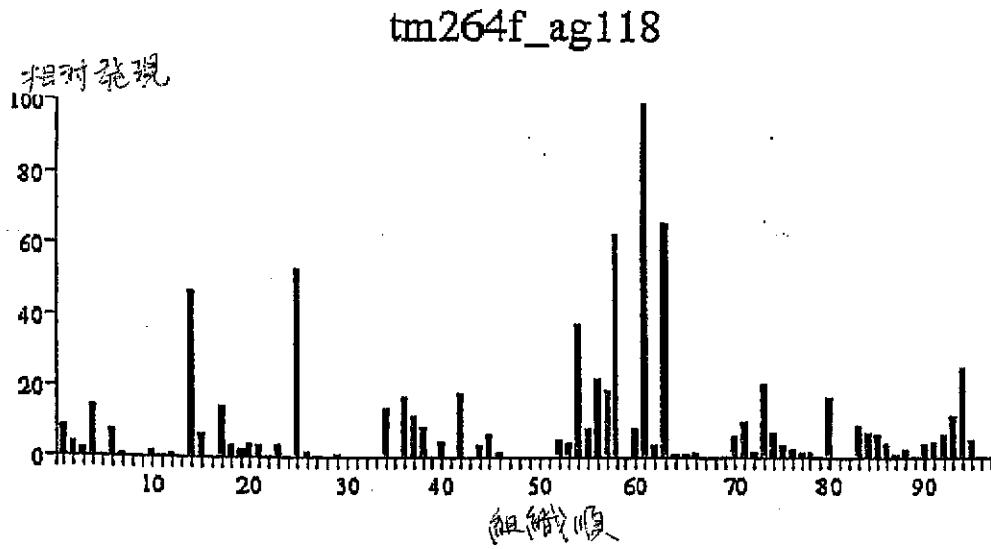
【图20】



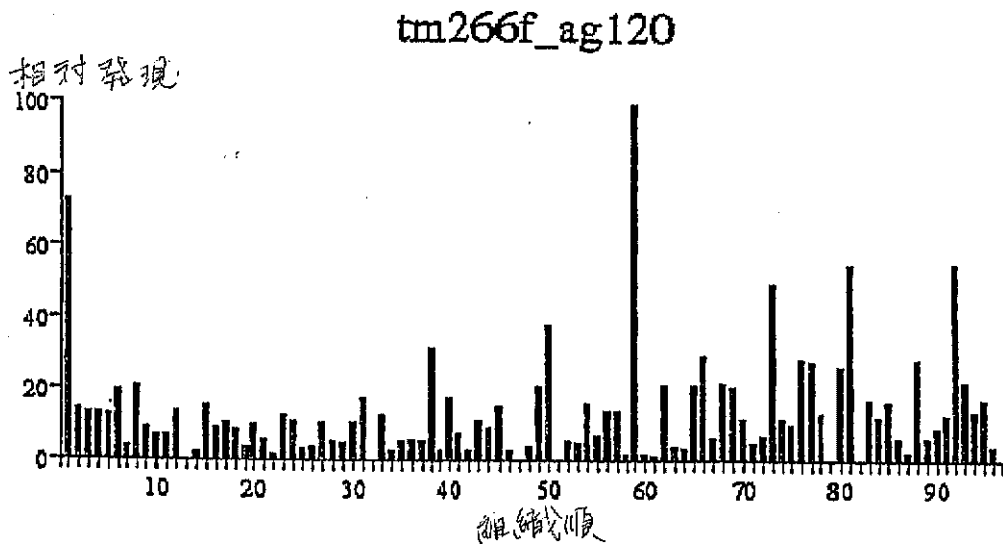
【图21】



【图22】



【图23】



【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International Application No. PCT/US 00/06280
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12H15/10 C07K14/47 C12N9/00 C07K14/705		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	EP 0 913 471 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP) 6 May 1999 (1999-05-06) abstract page 8 claim 11	1-27
X	--- WO 96 30406 A (CAO LIANG ; HUMAN GENOME SCIENCES INC (US); LI YI (US); NI JIAN (US) 3 October 1996 (1996-10-03) abstract page 55 -page 56	1-27
X	--- WO 98 39441 A (INCYTE PHARMA INC ; AU YOUNG JANICE (US); CHENG MUZONG (US); GUEGLE) 11 September 1998 (1998-09-11) abstract claim 1; figure 1 --- -/--	1-27
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		*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
E earlier document but published on or after the international filing date		*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
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)		*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.
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*Z* document member of the same patent family
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 20 July 2000		Date of mailing of the international search report 19.10.00
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Panzica, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/US 00/06280

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>SHIROZU M ET AL: "CHARACTERIZATION OF NOVEL SECRETED AND MEMBRANE PROTEINS ISOLATED BY THE SIGNAL SEQUENCE TRAP METHOD" GENOMICS,US,ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, vol. 37, no. 3, 1 November 1996 (1996-11-01), pages 273-280, XP002054773 ISSN: 0888-7543 the whole document</p> <p>---</p>	
A	<p>JACOBS K A ET AL: "A genetic selection for isolating cDNAs encoding secreted proteins" GENE: AN INTERNATIONAL JOURNAL ON GENES AND GENOMES,GB,ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, vol. 198, no. 1-2, 1 October 1997 (1997-10-01), pages 289-296, XP004116069 ISSN: 0378-1119 the whole document</p> <p>---</p>	
A	<p>KOPCZYNSKI CASEY C ET AL: "A high throughput screen to identify secreted and transmembrane proteins involved in Drosophila embryogenesis." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES, vol. 95, no. 17, 18 August 1998 (1998-08-18), pages 9973-9978, XP002142939 Aug. 18, 1998 ISSN: 0027-8424 the whole document</p> <p>-----</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 00/06280**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

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

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 22-27 are directed to method of diagnosis and therapy to be practised on the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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.:

partially 1-27

Remark on Protest

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

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

1. Claims: partially 1-27

An isolated polypeptide having sequence as set forth in Seq.Id.No.1 of the sequence listing and its encoded protein as set forth in Seq.Id.No.2. Methods of production and uses thereof.

2. Claims: partially 1-27

Inventions 2-20:

Same as for invention no.1 but respectively to each following pair of nucleic acid and aminoacid sequences as listed in claims 1 and 3:

Invention 2: Seq.Id.Nos.3 and 4

Invention 3: Seq.Id.Nos.5 and 6

....

Invention 20: Seq.Id Nos.80 and 81.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.
PCT/US 00/06280

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0913471 A	06-05-1999	CA 2239255 A JP 11235184 A	23-04-1999 31-08-1999
WO 9630406 A	03-10-1996	AU 2236895 A EP 0817800 A JP 11503012 T US 6090575 A US 5998164 A	16-10-1996 14-01-1998 23-03-1999 18-07-2000 07-12-1999
WO 9839441 A	11-09-1998	US 5955303 A AU 6447998 A EP 0973891 A	21-09-1999 22-09-1998 26-01-2000

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)	
A 6 1 P	7/00	A 6 1 P	17/00	4 C 0 8 4
	9/10		17/02	4 C 0 8 5
	17/00		19/02	4 H 0 4 5
	17/02		25/00	
	19/02		25/28	
	25/00		29/00	
	25/28		31/00	
	29/00		35/00	
	31/00		37/06	
	35/00		37/08	
	37/06	C 0 7 K	14/47	
	37/08	C 1 2 N	1/15	
C 0 7 K	14/47		1/19	
C 1 2 N	1/15		1/21	
	1/19	C 1 2 P	21/02	C
	1/21	C 1 2 Q	1/68	A
	5/10	G 0 1 N	33/15	Z
C 1 2 P	21/02		33/50	Z
C 1 2 Q	1/68		33/53	D
G 0 1 N	33/15		33/566	
	33/50	C 0 7 K	16/18	
	33/53	C 1 2 N	15/00	Z N A A
	33/566		5/00	A
// C 0 7 K	16/18	A 6 1 K	37/02	

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

Fターム(参考) 2G045 AA34 AA35 CB01 DA13 DA36
FB02 FB03
4B024 AA01 AA11 BA80 CA04 CA09
CA20 DA03 EA04 FA02 FA18
GA13 HA13 HA14 HA17
4B063 QA01 QA19 QQ02 QQ08 QQ21
QQ43 QQ53 QQ61 QQ79 QQ89
QR08 QR32 QR35 QR40 QR42
QR56 QR62 QR72 QR80 QS16
QS25 QS34 QX02 QX10
4B064 AG01 CA10 CA19 CC01 CC24
DA01 DA13
4B065 AA01X AA58X AA72X AA93X
AA93Y AB01 AC14 BA02
BA05 CA24 CA44 CA46
4C084 AA02 AA06 AA07 AA13 AA17
BA01 BA22 CA53 CA56 DC50
ZA01 ZA16 ZA36 ZA45 ZA51
ZA89 ZA96 ZB02 ZB13 ZB26
ZB32
4C085 AA13 BB31 EE01
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10
CA40 EA20 EA50 FA71 FA74

专利名称(译)	由此编码的多核苷酸和蛋白质		
公开(公告)号	JP2002538786A	公开(公告)日	2002-11-19
申请号	JP2000603363	申请日	2000-03-09
[标]申请(专利权)人(译)	CURAGEN CORP		
申请(专利权)人(译)	Kyurajen公司		
[标]发明人	シムケッツリチャードエイ		
发明人	シムケッツ, リチャード エイ.		
IPC分类号	G01N33/50 A61K38/00 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P7/00 A61P9/10 A61P17/00 A61P17/02 A61P19/02 A61P25/00 A61P25/28 A61P29/00 A61P31/00 A61P35/00 A61P37/06 A61P37/08 C07K14/47 C07K14/705 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N9/00 C12N15/09 C12N15/10 C12P21/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61K38/00 A61K48/00 A61K2039/505 A61P7/00 A61P9/10 A61P17/00 A61P17/02 A61P19/02 A61P25/00 A61P25/28 A61P29/00 A61P31/00 A61P35/00 A61P37/06 A61P37/08 C07K14/47		
FI分类号	A61K39/395.D A61K45/00 A61K48/00 A61P7/00 A61P9/10 A61P17/00 A61P17/02 A61P19/02 A61P25/00 A61P25/28 A61P29/00 A61P31/00 A61P35/00 A61P37/06 A61P37/08 C07K14/47 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/566 C07K16/18 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/CB01 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA20 4B024/DA03 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024/FA18 4B024/GA13 4B024/HA13 4B024/HA14 4B024/HA17 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ21 4B063/QQ43 4B063/QQ53 4B063/QQ61 4B063/QQ79 4B063/QQ89 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR40 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QR72 4B063/QR80 4B063/QS16 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02 4B063/QX10 4B064/AG01 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC01 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA58X 4B065/AA72X 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/BA05 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA22 4C084/CA53 4C084/CA56 4C084/DC50 4C084/ZA01 4C084/ZA16 4C084/ZA36 4C084/ZA45 4C084/ZA51 4C084/ZA89 4C084/ZA96 4C084/ZB02 4C084/ZB13 4C084/ZB26 4C084/ZB32 4C085/AA13 4C085/BB31 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA71 4H045/FA74		
优先权	60/123667 1999-03-09 US 09/520781 2000-03-08 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了新颖的分离的SECX多核苷酸和由SEX多核苷酸编码的膜相关或分泌的多肽。还提供了与SECX多肽或SECX多肽，多核苷酸或抗体的任何衍生物，变体，变体或片段免疫特异性结合的抗体。本发明进一步提供了利用SEX多肽，多核苷酸和抗体来检测和治疗多种病理状况以及其他应用的方法。

表1. 配列および対応する配列番号

クローンまたはプライマーの番号	図	核酸配列番号	タンパク質配列番号
2777610	1	1	2
2864933-1	2	3	4
2864933-2	3	5	6
2982339	4	7	8
3352358-1	5	9	10
3352358-2	6	11	12
3884846	7A	13	14
3884846-1	7B	74	75
3884846-2	7C	76	77
3911675	8A	15	16
3911675-2	8B	78	79
4004056	9A	17	18
4004056, O. 143u	9B	80	81
4004731-1	10	19	20
4009334-1	11	21	22
4009334-2	12	23	24
4035508	13	25	26
4339264	14	27	28
pCR2. 1-2864933	15	29	30
3352358-S153A	17A、17B	31	32
2864933 MatF		33	