

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-41175

(P2004-41175A)

(43) 公開日 平成16年2月12日(2004.2.12)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)	
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	Z N A A	2 G O 4 5
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 45/00		4 B O 2 4
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 48/00		4 B O 6 3
A 6 1 K 48/00	A 6 1 P 3/10		4 B O 6 4
A 6 1 P 3/10	A 6 1 P 25/00		4 B O 6 5
	審査請求 未請求 請求項の数 20 O L	(全 66 頁)	最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-106911 (P2003-106911)	(71) 出願人	597173680
(22) 出願日	平成15年4月10日 (2003. 4. 10)		スミスクライン ビーチャム コーポレーション
(62) 分割の表示	特願平10-286069の分割		アメリカ合衆国 19103 ペンシルベニア州, フィラデルフィア, ワン フランクリン プラザ (番地なし)
原出願日	平成10年9月22日 (1998. 9. 22)		
(31) 優先権主張番号	60/059448	(74) 代理人	100091096
(32) 優先日	平成9年9月22日 (1997. 9. 22)		弁理士 平木 祐輔
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100096183
(31) 優先権主張番号	08/986485		弁理士 石井 貞次
(32) 優先日	平成9年12月8日 (1997. 12. 8)	(74) 代理人	100107168
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 安田 徹夫

(特許庁注：以下のものは登録商標)

Windows

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒト L I G - 1 相同体 (H L I G - 1)

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 H L I G - 1 ポリペプチドおよびポリヌクレオチドの生産方法、並びに疾病の治療と診断アッセイにおけるそれらの使用を提供する。

【解決手段】 特定の配列の H L I G - 1 ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列と全長において少なくとも 80% 同一であり、かつ H L I G - 1 ポリペプチドの活性を有するポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、またはこのヌクレオチド配列に対して相補的なヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチドを単離する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 2 の H L I G - 1 ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列と全長において少なくとも 80% 同一であり、かつ H L I G - 1 ポリペプチドの活性を有するポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、またはこのヌクレオチド配列に対して相補的なヌクレオチド配列を含んでなる単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 2】

前記のポリヌクレオチドが、配列番号 2 の H L I G - 1 ポリペプチドをコードする配列番号 1 中に含まれるヌクレオチド配列を含んでなる、請求項 1 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 3】

前記のポリヌクレオチドが、その全長において配列番号 1 のヌクレオチド配列と少なくとも 80% 同一であるヌクレオチド配列を含んでなる、請求項 1 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 4】

配列番号 1 のポリヌクレオチドである、請求項 3 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 5】

D N A または R N A である、請求項 1 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 6】

配列番号 2 の H L I G - 1 ポリペプチドのアミノ酸配列において 1 もしくは複数のアミノ酸が付加、欠失または置換されており、かつ H L I G - 1 ポリペプチドの活性を有するアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含んでなるポリヌクレオチド。

【請求項 7】

下記発現系が適合性の宿主細胞内に存在するとき配列番号 2 のポリペプチドと少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含む H L I G - 1 ポリペプチドを産生することができる発現系を含んでなる D N A または R N A 分子。

【請求項 8】

請求項 7 に記載の発現系を含有する宿主細胞。

【請求項 9】

H L I G - 1 ポリペプチドを産生させるのに十分な条件下で請求項 8 に記載の宿主細胞を培養し、この培養物から前記ポリペプチドを回収することを含んでなる、H L I G - 1 ポリペプチドの産生方法。

【請求項 10】

宿主細胞が適当な培養条件下で H L I G - 1 ポリペプチドを産生するように、請求項 7 に記載の発現系を用いて宿主細胞を形質転換またはトランスフェクションすることを含んでなる、H L I G - 1 ポリペプチドを産生する細胞の作製方法。

【請求項 11】

全長において配列番号 2 のアミノ酸配列と少なくとも 80% 同一であるアミノ酸配列を含んでなる H L I G - 1 ポリペプチド。

【請求項 12】

配列番号 2 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 H L I G - 1 ポリペプチドに免疫特異的な抗体。

【請求項 14】

請求項 11 に記載の H L I G - 1 ポリペプチドの増大した活性または発現を必要としている患者を治療するための医薬組成物であって、治療上有効な量の、

(a) 前記ポリペプチドに対するアゴニスト、および/または

(b) 前記ポリペプチド活性の *in vivo* 生産をもたらす形の、配列番号 2 の H L I G - 1 ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列と全長において少なくとも 80% 同一であるヌクレオチド配列、または前記ヌクレオチド配列に対して相補的なヌクレオチド配列を含んでなる単離されたポリヌクレオチド、

10

20

30

40

50

を含んでなる医薬組成物。

【請求項 15】

請求項 11 に記載の H L I G - 1 ポリペプチドの活性または発現を抑制する必要がある患者を治療するための医薬組成物であって、治療上有効な量の、

- (a) 前記ポリペプチドに対するアンタゴニスト、および/または
 - (b) 前記ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の発現を抑制する核酸分子、および/または
 - (c) 前記ポリペプチドとそのリガンドについて競合するポリペプチド、
- を含んでなる医薬組成物。

【請求項 16】

請求項 11 に記載の H L I G - 1 ポリペプチドの発現または活性と関連した被験者の疾病またはその罹病性の検出方法であって、

- (a) 前記被験者由来のゲノム中の H L I G - 1 ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列に突然変異があるかどうかを調べる、および/または
 - (b) 前記被験者から得られたサンプル中の H L I G - 1 ポリペプチド発現の存在または量を分析する、
- ことを含んでなる方法。

【請求項 17】

請求項 11 に記載の H L I G - 1 ポリペプチドに対するアゴニストの同定方法であって、

- (a) H L I G - 1 ポリペプチドを産生する細胞と候補化合物とを接触させ、そして
 - (b) その候補化合物が H L I G - 1 ポリペプチドの活性化によりシグナルを発生させるか否かを調べる、
- ことを含んでなる方法。

【請求項 18】

請求項 11 に記載の H L I G - 1 ポリペプチドに対するアンタゴニストの同定方法であって、

- (a) H L I G - 1 ポリペプチドを産生する細胞とアゴニストとを接触させ、そして
 - (b) 前記アゴニストにより発生したシグナルが候補化合物の存在下で減少するか否かを調べる、
- ことを含んでなる方法。

【請求項 19】

請求項 18 に記載の方法により同定されたアンタゴニスト。

【請求項 20】

請求項 10 に記載の方法により作製された組換え宿主細胞または H L I G - 1 ポリペプチドを発現しているその膜。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、新たに同定されたポリヌクレオチド、このポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド、前記のポリヌクレオチドおよびポリペプチドの使用、並びにその生産方法に関する。より詳細には、本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチドは免疫グロブリンスーパーファミリーに関係しており、以後 H L I G - 1 と記す。本発明はまた、このようなポリヌクレオチドおよびポリペプチドの作用を阻害または活性化することに関する。

【0002】

【従来の技術】

免疫グロブリン (I g) 遺伝子スーパーファミリーは、抗体の H 鎖と L 鎖の V および C ドメインとの配列相同性を有する多数の細胞表面糖タンパク質から構成されている。この I g スーパーファミリー分子は、抗原に対する受容体、別の I g スーパーファミリー分子および接着分子を含む他の細胞表面分子に対する受容体またはカウンター受容体 (c o u n

10

20

30

40

50

ter-receptor)、ならびにサイトカインに対する受容体として機能している (A. F. Williamsら、Annu. Rev. Immunol. 6: 381-405, 1988)。

このファミリーの他のタンパク質フォールド (fold) モチーフはロイシンリッチリピート (leucine rich repeat: LRR) であり、4個の共通のロイシンと1個のアスパラギンからなる特徴パターンを有する20~29個のアミノ酸からなるセグメントである。LRRは最も一般的には多重縦列アレイで存在しており、多様な機能を有する60種以上の異なるタンパク質において同定されている (B. KobeおよびJ. Deisenhofer, Trends-Biochem-Sci. 19, 415-21 (1994) ならびにB. KobeおよびJ. Deisenhofer, Curr Opin Struct Biol 5, 409-416 (1995) に概説されている)。このファミリーの例は広範な生物において見いだされ、インスリン結合タンパク質酸不安定サブユニット (ALS)、形態形成タンパク質「18 wheeler」、神経発生タンパク質スリット (slit)、絨毛性ゴナドトロピンの受容体、ルトロピンの受容体、フォイトロピンの受容体、および転写調節因子、CIIITAが含まれる。このファミリーのメンバーの一つ、ブタ・リボヌクレアーゼインヒビター (RI) の結晶構造が決定されており (B. KobeおよびJ. Deisenhofer, Nature 366, 751-756 (1993))、他のタンパク質中のLRR領域のフォールディング (folding) モデルとして使用される。RIはもっぱら15のLRRで構成され、これらのLRRは鎖ターン-ヘリックス-ターン配置をとり、トロイド状の馬蹄形に組み立てられる。機能および細胞局在位置は多様であるにしろ、LRRファミリーのメンバーに共通する特性はタンパク質相互作用であり、いくつかの例では、このタンパク質相互作用がLRRの特異な構造領域にマップされた。この相互作用の性質の一つの指標は、RIとその非天然リガンドであるリボヌクレアーゼAとの複合体の構造により明らかにされた (B. KobeおよびJ. Deisenhofer, Nature 374, 183-186 (1995))。複合体化構造および非複合体化構造の両方において明らかにされたように、LRRリピートの保存残基は内側に入り込んでフォールドのための基盤として役立つ。示差的タンパク質認識の特異性はリピート中の他の非保存残基に存在する。しばしばLRRと関連している第二の配列モチーフは、4個の同様に間隔のあいたシステイン残基および1個のプロリン残基を含有するシステインクラスターである。これらのクラスターは縦列LRRのすぐN-末端側もしくはC-末端側、または両末端側にあり、接着または受容体機能に関連するタンパク質中に最も頻繁に存在する。このサブファミリーの1例は、インスリン結合タンパク質酸不安定サブユニット (ALS) (SR Leongら、Mol Endocrinol 6, 870-876 (1992)) であり、これはインスリン結合タンパク質 (IBP) とダイマー性複合体を、IBPおよびインスリン様成長因子 (IGF) とトリマー性複合体を形成する。これらの複合体はIGFを血管コンパートメント内にとどめてその循環半減期を延長するため、内分泌機能の発達およびグルコースホメオスタシスの調節において非常に重要である。第2の例は、グリア細胞の分泌タンパク質であるショウジョウバエタンパク質スリットで、このタンパク質は軸索経路の発達に関与している (JM Rothbergら、Genes Develop 4, 2169-2187 (1990))。

最近になって、15個のロイシンリッチリピート (LRR) およびフランキングシステインクラスターならびに3個のC2型Ig様ドメインを含有する新規のマウス膜糖タンパク質LIG-1がY. Suzukiらにより同定された (J. Biol. Chem. 271: 22522-22527, (1996))。LIG-1はマウスの脳内で主に発現されるが、その発現はBergmannグリア細胞や嗅球の神経繊維層中のグリア細胞等のグリア細胞の小さなサブセットに限定される。その独特の分子構造および組織特異的発現に基づいて、LIG-1は神経膠分化、発達、および/または神経機能の維持に何らかの役割を果たしうる。このことは、これらの受容体に治療標的としての確立され実証された歴史があることを示している。

10

20

30

40

50

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

明らかに、アルツハイマー病、多発性硬化症および異常な神経発達のような神経障害、糖尿病のような内分泌障害、および心疾患を含むがこれらに限らない、機能障害または疾病を予防し、改善し、治療する上で何らかの役割を果たす新たな受容体を同定して特性付ける必要性が存在している。本発明はこのような受容体を提供するものである。

【0004】

【課題を解決するための手段】

本発明は、一つの態様において、HLIG-1ポリペプチドおよび組換え物質、並びにその生産方法に関する。本発明のもう一つの態様はHLIG-1ポリペプチドおよびポリヌクレオチドの使用方法に関する。こうした使用には、とりわけ、アルツハイマー病、多発性硬化症および異常な神経発達のような神経障害、糖尿病のような内分泌障害、および心疾患の治療が含まれる。他の態様では、本発明は、本発明により提供される物質を用いてアゴニストおよびアンタゴニストを同定する方法、並びに同定された化合物を用いてHLIG-1の平衡異常と関連した状態を治療することに関する。本発明のさらに他の態様は、不適当なHLIG-1活性またはHLIG-1レベルと関連した疾病を検出するための診断アッセイに関する。

10

【0005】

定義

下記の定義は、本明細書中で頻繁に使用される用語を理解しやすくするためのものである。

20

「HLIG-1」とは、特に、一般的には配列番号2で表されるアミノ酸配列を有するポリペプチドまたはそのアレル変異体を意味する。

「受容体活性」または「受容体の生物学的活性」とは、類似の活性、向上した活性、または望ましくない副作用が低下したこれらの活性を含めて、HLIG-1の代謝的または生理的機能を意味する。さらに、前記HLIG-1の抗原的および免疫原的活性も含まれる。

「HLIG-1遺伝子」とは、配列番号1で表されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドまたはそのアレル変異体および/またはそれらの相補体を意味する。

【0006】

本明細書中で用いる「抗体」には、ポリクローナルおよびモノクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、ヒト化抗体、さらにFabまたは他の免疫グロブリン発現ライブラリーの産物を含むFabフラグメントが含まれる。

30

「単離された」とは、天然の状態から「人間の手によって」改変されたことを意味する。

「単離された」組成物または物質が天然に存在するのであれば、それはそのもとの環境から変化しているか移動しており、またはその両方である。例えば、生存している動物の体内に自然界で存在するポリヌクレオチドまたはポリペプチドは「単離された」ものではないが、その天然状態の共存物質から分離されたポリヌクレオチドまたはポリペプチドは、本明細書中で用いられるように、「単離された」ものである。

【0007】

「ポリヌクレオチド」とは、一般に任意のポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドをさし、これは修飾されていないRNAもしくはDNA、または修飾されたRNAもしくはDNAであり得る。「ポリヌクレオチド」には、制限するものではないが、一本鎖および二本鎖DNA、一本鎖領域と二本鎖領域が混じり合ったDNA、一本鎖および二本鎖RNA、一本鎖領域と二本鎖領域が混じり合ったRNA、DNAとRNAを含むハイブリッド分子（一本鎖でも、またはより典型的には二本鎖でもよく、一本鎖領域と二本鎖領域が混じり合ったものでもよい）が含まれる。加えて、「ポリヌクレオチド」はRNAまたはDNAまたはRNAとDNAの両方からなる三重鎖領域を意味する。「ポリヌクレオチド」という用語はまた、1個以上の修飾塩基を含有するDNAまたはRNA、および安定性または他の理由のために修飾された骨格を有するDNAまたはRNAも含む

40

50

。「修飾」塩基としては、例えば、トリチル化された塩基およびイノシンのような特殊な塩基がある。DNAおよびRNAに対してさまざまな修飾が行われてきた。こうして、「ポリヌクレオチド」は、自然界に一般的に存在するポリヌクレオチドの化学的、酵素的または代謝的に修飾された形態、並びにウイルスおよび細胞に特徴的なDNAおよびRNAの化学的形態を包含する。また、「ポリヌクレオチド」は、しばしばオリゴヌクレオチドと称される比較的短いポリヌクレオチドも包含する。

【0008】

「ポリペプチド」とは、ペプチド結合または修飾されたペプチド結合（すなわち、ペプチドアイソスター）により連結された2個以上のアミノ酸を含む任意のペプチドまたはタンパク質を意味する。「ポリペプチド」は短鎖（通常はペプチド、オリゴペプチドまたはオリゴマーという）と長鎖（一般的にはタンパク質という）の両方をさす。ポリペプチドは20種類の受容体コード化アミノ酸以外のアミノ酸を含んでもよい。「ポリペプチド」は、翻訳後プロセッシングのような天然のプロセスで、または当技術分野で公知の化学的修飾法のいずれかで修飾されたアミノ酸配列を含む。このような修飾は基本的な教科書、より詳細な学術論文および研究文献に詳述されている。修飾はペプチド骨格、アミノ酸側鎖、アミノまたはカルボキシル末端を含めてポリペプチドのどこでも行うことができる。同じタイプの修飾が所定のポリペプチドのいくつかの部位に同程度でまたはさまざまに異なる程度で存在してもよい。また、所定のポリペプチドが多くタイプの修飾を含んでいてもよい。ポリペプチドはユビキチン化のために分枝していても、分枝のある又はない環状であってもよい。環状の、分枝した、または分枝した環状のポリペプチドは翻訳後の天然プロセスから生じることがあり、また、合成法によって製造することもできる。修飾としては、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質または脂質誘導体の共有結合、ホスファチジルイノシトールの共有結合、架橋、環化、ジスルフィド結合の形成、脱メチル化、共有架橋の形成、シスチンの形成、ピログルタメートの形成、ホルミル化、 α -カルボキシル化、グリコシル化、GPIアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク質分解処理、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化、硫酸化、アルギニル化のようなタンパク質へのアミノ酸の転移RNA媒介付加、ユビキチン化などがある。例えば、PROTEINS - STRUCTURE AND MOLECULAR PROPERTIES, 2nd Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York, 1993; POSTTRANSLATIONAL COVALENT MODIFICATION OF PROTEINS, B. C. Johnson 編, Academic Press, New York, 1983中のWorld, F., Posttranslational Protein Modifications: Perspectives and Prospects, pgs. 1-12; Seifter B, "Analysis for protein modifications and nonprotein cofactors", Meth Enzymol (1990) 182: 626-646; および Rattan B, "Protein Synthesis: Posttranslational Modifications and Aging", Ann NY Acad Sci (1992) 663: 48-62を参照のこと。

【0009】

本明細書中で用いる「変異体」とは、基準のポリヌクレオチドまたはポリペプチドと異なるが、不可欠な性質を保持しているポリヌクレオチドまたはポリペプチドのことである。典型的なポリヌクレオチドの変異体は基準ポリヌクレオチドとヌクレオチド配列の点で相違する。この変異体のヌクレオチド配列の変化は、基準ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのアミノ酸配列を変更しても、しなくてもよい。ヌクレオチドの変化は、以下で述べるように、基準配列によりコードされるポリペプチドにおいてアミノ酸の置換、付加、欠失、融合および末端切断を生じさせることができる。典型的なポリペプチ

10

20

30

40

50

ドの変異体は基準ポリペプチドとアミノ酸配列の点で相違する。一般的には、基準ポリペプチドの配列と変異体の配列が全般的によく類似しており、多くの領域で同一となるような相違に限られる。変異体と基準ポリペプチドは任意に組み合わせた1以上の置換、付加、欠失によりアミノ酸配列が相違してよい。置換または挿入されるアミノ酸残基は遺伝子コードによりコードされるものであっても、なくてもよい。ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの変異体はアレル変異体のように天然に存在するものでも、天然に存在することが知られていない変異体であってもよい。ポリヌクレオチドおよびポリペプチドの天然に存在しない変異体は、突然変異誘発法または直接合成により調製することができる。

【0010】

「同一性」はヌクレオチド配列またはアミノ酸配列の同一性の尺度である。一般に、最大級のマッチ（一致）が得られるように配列を並べる。「同一性」それ自体は当技術分野で認識された意味をもち、発表された技法を使って計算することができる。例えば、COMPUTATIONAL MOLECULAR BIOLOGY, Lesk, A.M. 編, Oxford University Press, New York, 1988; BIOCOMPUTING: INFORMATICS AND GENOME PROJECTS, Smith, D.W. 編, Academic Press, New York, 1993; COMPUTER ANALYSIS OF SEQUENCE DATA, PART I, Griffin, A.M. and Griffin, H.G. 編, Humana Press, New Jersey, 1994; SEQUENCE ANALYSIS IN MOLECULAR BIOLOGY, vonHeinje, G., Academic Press, 1987; および SEQUENCE ANALYSIS PRIMER, Gribskov, M. and Devereux, J. 編, M Stockton Press, New York, 1991を参照のこと。2つのポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列間の同一性を決定する方法は多数存在していると同時に、「同一性」なる用語は当業者には公知である (Carillo, H. and Lipton, D., SIAM J Applied Math (1988) 48:1073)。2つの配列間の同一性または類似性を決定するために汎用される方法としては、Guide to Huge Computers, Martin J. Bishop 編, Academic Press, San Diego, 1994 および Carillo, H. and Lipton, D., SIAM J Applied Math (1988) 48:1073 に記載される方法があるが、これらに限らない。同一性および類似性の決定方法はコンピュータプログラムに集成されている。2つの配列間の同一性および類似性を決定するための好適なコンピュータプログラム法としては、GCS プログラムパッケージ (Devereux, J.ら, Nucleic Acids Research (1984) 12(1):387)、BLASTP、BLASTN、FASTA (Atschul, S.F.ら, J Molec Biol (1990) 215:403)があるが、これらに限らない。

【0011】

一例として、配列番号1の基準ヌクレオチド配列に対して、例えば、少なくとも95%の「同一性」を有するヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドとは、このポリヌクレオチドのヌクレオチド配列が配列番号1の基準ヌクレオチド配列のそれぞれ100ヌクレオチドにつき最高で5つの点突然変異を含みうることを除けば、基準配列と同一であることを意図している。言い換えると、基準ヌクレオチド配列と少なくとも95%同一であるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを得るには、基準配列中の5%までのヌクレオチドを欠失させるか、他のヌクレオチドで置換するか、または基準配列中の全ヌクレオチドの5%までのヌクレオチド数を基準配列に挿入すればよい。基準配列のこれらの突然変異は、基準ヌクレオチド配列の5'もしくは3'末端位置、またはこれらの末端位置の間のどこかで起こり、基準配列中のヌクレオチドの間に個々に、または基準配列内に1以上の連続するグループとして配置することができる。

【0012】

同様に、配列番号2の基準アミノ酸配列に対して、例えば、少なくとも95%の「同一性」を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドとは、このポリペプチド配列が配列番号2の基準アミノ酸配列のそれぞれ100アミノ酸につき最高で5つのアミノ酸変更を含みうることを除けば、基準配列と同一であることを意図している。言い換えると、基準アミノ酸配列と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチドを得るには、基準配列中の5%までのアミノ酸残基を欠失させるか、他のアミノ酸で置換するか、または基準配列中の全アミノ酸残基の5%までのアミノ酸数を基準配列に挿入すればよい。基準配列のこれらの変更は、基準アミノ酸配列のアミノもしくはカルボキシ末端位置、またはこれらの末端位置の間のどこかで起こり、基準配列中のアミノ酸残基の間に個々に、または基準配列内に1以上の連続するグループとして配置することができる。

10

【0013】

【発明の実施の形態】

本発明のポリペプチド

一つの態様において、本発明はHLIG-1ポリペプチド(またはHLIG-1タンパク質)に関する。このHLIG-1ポリペプチドには、配列番号2および4のポリペプチドだけでなく、配列番号2のアミノ酸配列を含むポリペプチド、その全長において配列番号2のアミノ酸配列と少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドも含まれる。さらに、少なくとも97~99%同一であるものが非常に好適である。また、その全長において配列番号2のアミノ酸配列を有するポリペプチドと少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチドもHLIG-1ポリペプチドに含まれる。さらに、少なくとも97~99%同一であるものが非常に好適である。HLIG-1ポリペプチドはこの受容体の少なくとも1つの生物学的活性を示すことが好ましい。

20

【0014】

HLIG-1ポリペプチドは「成熟」タンパク質の形であっても、融合タンパク質のような、より大きいタンパク質の一部であってもよい。しばしば、追加のアミノ酸配列を含めることが有利であり、このようなアミノ酸配列としては、分泌すなわちリーダー配列、プロ配列、多重ヒスチジン残基のような精製に役立つ配列、または組換え生産の際の安定性を確保する付加的配列などがある。

30

【0015】

また、HLIG-1ポリペプチドの断片も本発明に含まれる。こうした断片は全体的に前記HLIG-1ポリペプチドのアミノ酸配列の一部と同一であるが、全部とは同一でないアミノ酸配列を有するポリペプチドである。HLIG-1ポリペプチドと同様に、断片は「フリースタンディング」(それ自体で独立)していても、より大きいポリペプチド内に含まれていてもよく、つまりその大きいポリペプチドの一部または一領域、最も好ましくは一つの連続領域、を断片が構成していてもよい。本発明のポリペプチド断片の代表的な例として、およそその見当でアミノ酸番号1-20、21-40、41-60、61-80、81-100、および101からHLIG-1ポリペプチドの末端までの断片が挙げられる。ここで、「およそ」とは、上記の範囲の一端または両端で数個、5個、4個、3個、2個または1個のアミノ酸が増えたり減ったりした範囲を含むものである。

40

【0016】

好適な断片としては、例えば、アミノ末端を含む一連の残基もしくはカルボキシル末端を含む一連の残基の欠失、またはアミノ末端を含むものとカルボキシル末端を含むものとの二連の残基の欠失を除いて、HLIG-1ポリペプチドのアミノ酸配列を有する末端切断型(truncation)ポリペプチドが含まれる。また、ヘリックスとヘリックス形成領域、シートとシート形成領域、ターンとターン形成領域、コイルとコイル形成領域、親水性領域、疎水性領域、両親媒性領域、両親媒性領域、可変性領域、表面形成領域、基質結合領域、および高抗原指数領域を含む断片のような、構造的または機能

50

的特性により特徴づけられる断片も好適である。その他の好適な断片は生物学的に活性な断片である。生物学的に活性な断片は、同様の活性をもつ断片、その活性が向上した断片、または望ましくない活性が減少した断片を含めて、HLIG-1活性を媒介するものである。さらに、動物、特にヒトにおいて抗原性または免疫原性がある断片も含まれる。

【0017】

これらのポリペプチド断片はどれも、抗原活性を含めたHLIG-1の生物学的活性を保持することが好ましい。特定された配列および断片の変異型も本発明の一部を構成する。好適な変異型は同類アミノ酸置換により対象物と異なるもの、すなわち、ある残基が同様の性質の他の残基で置換されているものである。典型的なこうした置換は、Ala, Val, Leu と Ileの間; Ser と Thr の間; 酸性残基 AspとGluの間; Asn と Gln の間; 塩基性残基 LysとArg の間; または芳香族残基 PheとTyr の間で起こる。特に、数個、5~10個、1~5個または1~2個のアミノ酸が任意の組合せで置換、欠失または付加されている変異型が好適である。

10

【0018】

本発明のHLIG-1ポリペプチドは任意の適当な方法で製造することができる。このようなポリペプチドには、単離された天然に存在するポリペプチド、組換え的に生産されたポリペプチド、合成的に製造されたポリペプチド、またはこれらの方法の組合せにより製造されたポリペプチドが含まれる。このようなポリペプチドの製造のための手段は当業界でよく理解されている。

【0019】

本発明のポリヌクレオチド

本発明のもう一つの態様はHLIG-1ポリヌクレオチドに関する。HLIG-1ポリヌクレオチドには、HLIG-1ポリペプチドおよび断片をコードする単離されたポリヌクレオチド、並びにこれらと密接に関連したポリヌクレオチドが含まれる。さらに特定すると、本発明のHLIG-1ポリヌクレオチドとしては、配列番号2のHLIG-1ポリペプチドをコードする配列番号1中に含まれるヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、および配列番号1および3の特定配列を有するポリヌクレオチドがある。さらに、HLIG-1ポリヌクレオチドには、配列番号2のHLIG-1ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列とその全長において少なくとも80%同一であるヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、および配列番号1のヌクレオチド配列とその全長において少なくとも80%同一であるヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが含まれる。これに関連して、少なくとも90%同一であるポリヌクレオチドが好適であり、特に少なくとも95%同一であるものが好適である。さらに、少なくとも97%同一であるものがより好ましく、少なくとも98~99%同一であるものがより一層好ましく、少なくとも99%同一であるものが最も好ましい。また、増幅反応に使用できる条件下、またはプローブやマーカーとして使用できる条件下でハイブリダイズするのに十分な、配列番号1中に含まれるヌクレオチド配列との同一性を有するヌクレオチド配列もHLIG-1ポリヌクレオチドに含まれる。本発明はまた、このようなHLIG-1ポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドを提供する。

20

30

【0020】

本発明のHLIG-1は、ヒトHLIG-1をコードするcDNAの配列決定の結果により示されるように、免疫グロブリンスーパーファミリーの他のタンパク質と構造的に関連している。配列番号1のcDNA配列は配列番号2の1101個のアミノ酸からなるポリペプチドをコードするオープンリーディングフレーム(ヌクレオチド番号25-3327)を含んでいる。表2のアミノ酸配列(配列番号2)は1101個のアミノ酸残基においてマウスHLIG-1(Y. Suzukiら、J. Biol. Chem. 271:22522-22527, 1996)と約80.3%同一である(Fasta使用)。さらに、HLIG-1は285個のアミノ酸残基においてラット・インスリン様成長因子結合タンパク質(J. Daiら、Biochem Biophys Res Commun. 188:304-309, 1992)と35.5%の同一性を有し、203個のアミノ酸残

40

50

基においてショウジョウバエ・スリットタンパク質 (J . M . R o t h b e r g ら、 G e n e s D e v . 4 : 2 1 6 9 - 2 1 8 7 , 1 9 9 0) と 3 0 . 4 % の 同 一 性 を 有 し、 又 た 1 3 3 個 の ア ミ ノ 酸 残 基 に お い て キ イ ロ シ ョ ウ ジ ョ ウ バ エ ・ ペ ル オ キ シ ダ シ ン (R . E . N e l s o n ら、 E M B O J . 1 3 : 3 4 3 8 - 3 4 4 7 , 1 9 9 4) と 3 2 . 3 % の 同 一 性 を 有 す る。 表 1 の ヌ ク レ オ チ ド 配 列 (配 列 番 号 1) は 3 5 7 7 個 の ヌ ク レ オ チ ド 残 基 に お い て マ ウ ス l i g - 1 遺 伝 子 (Y . S u z u k i ら、 J . B i o l . C h e m . 2 7 1 : 2 2 5 2 2 - 2 2 5 2 7 , 1 9 9 6) と 約 7 7 . 9 % 同 一 で あ る (F a s t a 使 用)。 さ ら に、 H L I G - 1 は 4 6 8 個 の ヌ ク レ オ チ ド 塩 基 残 基 に お い て ラ ッ ト C H O T 1 遺 伝 子 (W . M a y s e r ら、 F E B S L e t t . 3 0 5 : 3 1 - 3 6 , 1 9 9 2) と 8 6 . 1 % の 同 一 性 を 有 す る。 し た が っ て、 本 発 明 の H L I G - 1 ポ リ ペ プ チ ド お よ び ポ リ ヌ ク レ オ チ ド は、 と り わ け、 そ れ ら の 相 同 ポ リ ペ プ チ ド お よ び ポ リ ヌ ク レ オ チ ド と 同 様 の 生 物 学 的 機 能 / 特 性 を も つ こ と が 予 測 さ れ、 そ れ ら の 有 用 性 は 当 業 者 に は 自 明 で あ る。

10

【 0 0 2 1 】

ヒトH L I G - 1 の ヌ ク レ オ チ ド 配 列 (配 列 番 号 1)

【 表 1 】

1 GCTTCGCGGC GCGTTCCAGA CAAGATGGCG CGGCCGGTCC GGGGAGGGCT
51 CGGGGCCCCG CGCCGCTCGC CTTGCCTTCT CCTTCTCTGG CTGCTTTTGC
101 TTCGGCTGGA GCCGGTGACC GCCGCGGCCG GCCCGCGGGC GCCCTGCGCG
151 GCCGCCTGCA CTTGCGCTGG GGACCCCTGC ACTTGCCTG GGGACTCGCT 10
201 GGACTGCGGT GGGCGCGGGC TGGCTGCGTT GCCCGGGGAC CTGCCCTCCT
251 GGACGCGGAG CCTAAACCTG AGTTACAACA AACTCGCTGA GATTGACCCT
301 GCTGGTTTTG AGGACTTGCC GAACCTACAG GAAGTGACC TCAATAATCA
351 TGAGTTGACA GCGGTAGCAT CACTGGGCGC TGGTTCATCA CAAGTAGTCG 20
401 CTCTCTTTCT GCAGCAGCAA CAGAATCGCA GCCTCGACGG GAGCCAGCTG
451 AAGGCCTACC TCTCCCTAGA AGTGTTAGAT CTGAATCTGA ACAACATCAC
501 GGAAGTGCGG AACACCTACT TTCCACACGG ACCGCCTATA AAGGAGCTCA 30
551 ACCTGGCAGG CAATCGGATT GGCACCCTGG AGTTGGGAGC ATTTGATGGT
601 CTGTCACGGT CGCTGCTAAC TCTTCGCCTG AGCAAAAACA GGATCACCCA
651 GCTTCCTGTA AGAGCATTCA AGCTACCCAG GCTGACACAA CTGGACCTCA
701 ATCGGAACAG GATTCGGCTG ATAGAGGGCC TCACCTTCCA GGGGCTCAAC 40

751 AGCTTGGAGG TGCTGAAGCT TCAGCGAAAC AACATCAGCA AACTGACAGA
801 TGGGGCCTTC TGGGGACTGT CCAAATGCA TGTGCTGCAC CTGGAGTACG
851 ACAGCCTGGT AGAAGTGAAC AGCGGCTCGC TCTACGGCCT CACGGCCCTG
901 CATCAGCTCC ACCTCAGCAA CAATCCATC GCTCGCATT CCGCAAGGG 10
951 CTGGAGCTTC TGCCAGAAGC TGCATGAGTT GGTCCTGTCC TTCAACAACC
1001 TGACACGGCT GGACGAGGAG AGCCTGGCCG AGCTGAGCAG CCTGAGTGTC
1051 CTGCGTCTCA GCCACAATTC CATCAGCCAC ATTGCGGAGG GTGCCTTCAA 20
1101 GGGACTCAGG AGCCTGCGAG TCTTGGATCT GGACCATAAC GAGATTTCCG
1151 GCACAATAGA GGACACGAGC GGCCTTCT CAGGGCTCGA ATTCCGCCAC
1201 AGCAAGCTGA CTCTGTTTGG AAACAAGATC AAGTCTGTGG CTAAGAGAGC
1251 ATTCTCGGGG CTGGAAGGCC TGGAGCACCT GAACCTTGA GGAATGCGA 30
1301 TCAGATCTGT CCAGTTTGAT GCCTTTGTGA AGATGAAGAA TCTTAAAGAG
1351 CTCCATATCA GCAGCGACAG CTCCTGTGT GACTGCCAGC TGAAGTGGCT
1401 GCCCCCGTGG CTAATTGGCA GGATGCTGCA GGCCTTTGTG ACAGCCACCT 40

1451 GTGCCACCC AGAATCACTG AAGGGTCAGA GCATTTTCTC TGTGCCACCA
1501 GAGAGTTTCG TGTGCGATGA CTCCTGAAG CCACAGATCA TCACCCAGCC
1551 AGAAACCACC ATGGCTATGG TGGGCAAGGA CATCCGGTTT ACATGCTCAG
1601 CAGCCAGCAG CAGCAGCTCC CCCATGACCT TTGCCTGGAA GAAAGACAAT 10
1651 GAAGTCCTGA CCAATGCAGA CATGGAGAAC TTTGTCCACG TCCACGCGCA
1701 GGACGGGGAA GTGATGGAGT ACACCACCAT CCTGCACCTC CGTCAGGTCA
1751 CTTTCGGGCA CGAGGGCCGC TACCAATGTG TCATCACCAA CCACTTTGGC 20
1801 TCCACCTATT CACATAAGGC CAGGCTCACC GTGAATGTGT TGCCATCATT
1851 CACCAAAACG CCCACGACA TAACCATCCG GACCACCACC GTGGCCCGCC
1901 TCGAATGTGC TGCCACAGGT CACCCAAACC CTCAGATTGC CTGGCAGAAG
1951 GATGGAGGCA CGGATTTCCC CGCTGCCCGT GAGCGACGCA TGCATGTCAT 30
2001 GCCGGATGAC GACGTGTTTT TCATCACTGA TGTGAAAATA GATGACGCAG
2051 GGGTTTACAG CTGTACTGCT CAGAACTCAG CCGTTCTAT TTCAGCTAAT
2101 GCCACCCTGA CTGTCCTAGA GACCCCATCC TTGGTGGTCC CCTTGAAGA 40
2151 CCGTGTGGIA TCTGTGGGAG AACAGTGGC CCTCCAATGC AAAGCCACGG

2201 GGAACCCTCC GCCCCGCATC ACCTGGTTCA AGGGGGACCG CCCGCTGAGC
2251 CTCACTGAGC GGCACCACCT GACCCCTGAC AACCAGCTCC TGGTGGTTCA
2301 GAACGTGGTG GCAGAGGATG CGGGCCGATA TACCTGTGAG ATGTCCAACA
2351 CCCTGGGCAC GGAGCGAGCT CACAGCCAGC TGAGCGTCCT GCCCGCAGCA
2401 GGCTGCAGGA AGGATGGGAC CACGGTAGGC ATCTTCACCA TTGCTGTCTG
2451 GAGCAGCATC GTCCTGACGT CACTGGTCTG GGTGTGCATC ATCTACCAGA
2501 CCAGGAAGAA GAGTGAAGAG TACAGTGTC ACAAACACAGA TGAAACCGTC
2551 GTGCCACCAG ATGTTCCAAG CTACCTCTCT TCTCAGGGGA CCCTTTCTGA
2601 CCGACAAGAA ACCGTGGTCA GGACCGAGGG TGGCCCTCAG GCCAATGGGC
2651 ACATTGAGAG CAATGGTGTG TGTCCAAGAG ATGCAAGCCA CTTTCCAGAG
2701 CCCGACACTC ACAGCGTTGC CTGCAGGCAG CCAAAGCTCT GTGCTGGGTC
2751 TGGGTATCAC AAAGAGCCGT GGAAAGCGAT GGAGAAAGCT GAAGGGACAC
2801 CTGGGCCACA TAAGATGGAA CACGGTGGCC GGGTCGTATG CAGTGACTGC
2851 AACACCGAAG TGGACTGTTA CTCCAGGGGA CAAGCCTTCC ACCCCCAGCC

10

20

30

40

2901 TGTGTCCAGA GACAGCGCAC AGCCAAGTGC GCCAAATGGC CCGGAGCCGG
2951 GTGGGAGTGA CCAAGAGCAT TCTCCACATC ACCAGTGCAG CAGGACTGCC
3001 GCTGGGTCCT GCCCCGAGTG CCAAGGGTCG CTCTACCCCA GTAACCACGA
3051 TAGAATGCTG ACGGCTGTGA AGAAAAAGCC AATGGCATCT CTAGATGGGA
3101 AAGGGGATTC TTCCTGGACT TTAGCAAGGT TGTATCACCC GGACTIONCACA
3151 GAGCTACAGC CTGCATCTTC ATTAACCTCA GGCAGTCCAG AGCGCGCGGA
3201 AGCCCAGTAC TTGCTTGTTT CCAATGGCCA CCTCCCCAAA GCATGTGACG
3251 CCAGTCCCGA GTCCACGCCA CTGACAGGAC AGCTCCCCGG GAAACAGAGG
3301 GTGCCACTGC TGTGCGCACC AAAAAGCTAG GTTTTGTCTA CCTCAGTTCT
3351 TGTCATACCA ATCTCTACGG GAAAGAGAGG TAGGAGAGGC TCGAGGAAG
3401 CTTGGGTTCA AGCGTCACTC ATCTGTACAT AGTTGTAACCT CCCATGTGGA
3451 GIATCAGTCG CTCACAGGAC TTGGATCTGA AGCACAGTAA ACGCAAGAGG
3501 GGATTTGTGT AAAAAAGGCA AAAAAAGTAT TTGATATCAT TGTACATAAG
3551 AGTTTTCAGA GATTCATAT ATATCTTTTA CAGAGGCTAT TTTAATCTTT
3601 AGTGCATGGT TAACAGAAAA AAATTATACA ATTTTGACAA TATTATTTTT

10

20

30

40

3651 CGTATCAGGT TGCTGTTTAA TTTTGGAGGG GGTGGGGAAA TAGTTCTGGT
3701 GCCTTAACGC ATGGCTGGAA TTTATAGAGG CTACAACCAC ATTTGTTTAC
3751 AGGAGTTTTT GGTGCGGGGT GGAAGGATG GAAGGCCTTG GATTTATATT
3801 GCACTTCATA GACCCCTAGG CTGCTGTGCG GTGGGACTCC ACATGCGCCG
3851 GAAGGAGCTT CAGGTGAGCA CTGCTCATGT GTGGATGCCC CTGCAACAGG
3901 CTTCCCTGTC TGTAGAGCCA GGGGTGCAAG TGCCATCCAC ACTTGCAGTG
3951 AATGGCTTTT CCTTTTAGGT TTAAGTCCTG TCTGTCTGTA AGGCGTAGAA
4001 TCTGTCCGTC TGTAAGGCGT AGAATGAGGG TTGTTAATCC ATCACAAGCA
4051 AAAGGTCAGA ACAGTTAAAC ACTGCCTTTC CTCCTCCTCT TATTTTATGA
4101 TAAAAGCAAA TGTGGCCTTC TCAGTATCAT TCGATTGCTA TTTGAGACTT
4151 TTAAATTAAG GTAAAGGCTG CTGGTGTTGG TACCTGTGGA TTTTTCTATA
4201 CTGATGTTTT CGTTTTGCCA ATATAATGAG TATTACATTG GCCTTGGGGG
4251 ACAGAAAGGA GGAAGTTCTG ACTTTTCAGG GCTACCTTAT TTCTACTAAG
4301 GACCCAGAGC AGGCCTGTCC ATGCCATTCC TTCGCACAAG ATGAAACTGA

10

20

30

40

4351 GCTGGGACTG GAAAGGACAG CCCTTGACCT GGGTTTCTGG GTATAATTTG
4401 CACTTTTGAG ACTGGTAGCT AACCATCTTA TGAGTGCCAA TGTGTCATTT
4451 AGTAAAACTT AAATAGAAAC AAGGTCCTTC AAATGTTCCCT TTGGCCAAAA
4501 GCTGAAGGGA GTTACTGAGA AAATAGTTAA CAATTACTGT CAGGTGTCAT 10
4551 CACTGTTCAA AAGGTAAGCA CATTAGAAT TTTGTTCTTG ACAGTAACT
4601 GACTAATCTT ACTTCCACAA AATATGTGAA TTTGCTGCTT CTGAGAGGCA
4651 ATGTGAAAGA GGGAGTATTA CTTTTATGTA CAAAGTTATT TATTTATAGA 20
4701 AATTTTGGTA CAGTGTACAT TGAAAACCAT GTAAAATATT GAAGTGTCTA
4751 ACAAATGGCA TTGAAGTGTC TTTAATAAAG GTTCATTTAT AAAAGTCAAA
4801 AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAA

【 0 0 2 2 】

ヒトHLIG - 1のアミノ酸配列(配列番号2)

【表2】

30

1 MARPVRGGLG APRRSPCLLL LWLLLLRLEP VTAAAGPRAP CAAACTCAGD
51 PCTCAGDSL D CGGRGLAALP GDLP SWTRSL NLSYNKLA EI DPAGFEDLPN
101 LQEVYLNHE LTAVASLGAG SSQVVALFLQ QQNRS LDGS QLKAYLSLEY
151 LDLNLNNITE VRNTYFPHGP PIKELNLAGN RIGTLELGAF DGLSRSLTL 10
201 RLSENRITQL PVRAFKL PRL TQLDLNRRRI RLIEGLTFQG LNSLEVLKLQ
251 RNNISKLT DG AFWGLSKMHV LHLEYDSLVE VNSGSLYGLT ALHQLHLSNN
301 SIARIHREKW SFCQKLHELV LSFNNLTRL D BESLAELSSL SVLRLSHNSI 20
351 SHIAEGAFKG LRSLRVLDLD HNEISGTIED TSGAFSGLEF GHSKLT LFGN
401 KIKSVAKRAF SGLEGLEHLN LGNAIRSVQ FDAFVKMKNL KELHISSDSF
451 LCDCQLKWL P WLIGRMLQA FVTATCAHPE SLKGQSIFSV PPE SFVCDDF
501 LKPQIITQPE TTMAMVGKDI RFTCSAASSS SSPMTFAWKK DNEVL TNADM 30
551 ENFVHVHAQD GEVMEYTTIL HLRQVTFGHE GRYQCVITNH FGSTYSHKAR
601 LTVNVLP SFT KTPHDITIRT TTVARLECAA TGHPNPQIAW QKDG GTDFPA
651 ARERRMHVMP DDDVFFITDV KIDDAGVYSC TAQNSAGSIS ANATLTVLET 40
701 PSLVVPLEDR VVSGETVAL QCKATGNPPP RITWFKGDRP LSLTERHHLT

751 PDNQLLVVQN VVAEDAGRYT CEMSNTLGTE RAHSQLSVLP AAGCRKDGTT

801 VGIFTIAVVS SIVLTSLVVW CIYQTRKKS EEYSVTNTDE TVVPPDVPSY

851 LSSQGTLSDR QETVVRTEGG PQANGHIESN GVCPRDASHF PEPDTHSVAC

901 RQPKLCAGSA YHKEPWKAME KAEGTPGPHK MEHGGRVVCV DCNTEVDCYS

951 RGQAFHPQPV SRDSAQPSAP NGPEPGGSDQ EHSPHHQCSR TAAGSCPECQ

1001 GSLYPSNHDR MLTAVKKKPM ASLDGKGDSS WTLARLYHPD STELQPASSL

1051 TSGSPERAEE QYLLVSNHGL PKACDASPES TPLTGQLPGK QRVPLLLAPK

1101 S

10

20

【0023】

H L I G - 1 をコードする本発明の一つのポリヌクレオチドは、標準的なクローニングおよびスクリーニングにより、ヒト脳、卵巣、免疫系の細胞中の mRNA から誘導された cDNA ライブラリーから、エクスプレッド・シークエンス・タグ (expressed sequence tag: EST) 分析 (Adams, M. D. ら, Science (1991) 252: 1651 - 1656; Adams, M. D. ら, Nature (1992) 355: 632 - 634; Adams, M. D. ら, Nature (1995) 377 Supp: 3 - 174) を用いて得ることができる。また、本発明のポリヌクレオチドはゲノム DNA ライブラリーのような天然源から得ることができ、商業的に入手可能な公知の技法を用いて合成することもできる。

30

【0024】

配列番号 2 の H L I G - 1 ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、表 1 中に含まれるポリペプチドコード配列 (配列番号 1 のヌクレオチド番号 25 - 3327) と同一であっても、遺伝子コードの重複性 (縮重) のため、やはり配列番号 2 のポリペプチドをコードする配列であってもよい。

40

【0025】

本発明のポリヌクレオチドを H L I G - 1 ポリペプチドの組換え生産のために用いる場合、そのポリヌクレオチドには、成熟ポリペプチドのコード配列またはその断片単独、他のコード配列 (例えば、リーダーもしくは分泌配列、プレ - 、プロ - もしくはプレプロ - タンパク質配列、または他の融合ペプチド部分をコードするもの) と同じリーディングフレーム内にある成熟ポリペプチドのコード配列またはその断片が含まれる。例えば、融合ポリペプチドの精製を容易にするマーカー配列がコードされ得る。本発明のこの態様の好ましい具体例として、マーカー配列は、pQEベクター (Qiagen, Inc.) により提供されかつ Gentz ら, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A (1989) 86: 821 - 824 に記載されるようなヘキサ - ヒスチジンペプ

50

チド、またはHAタグである。また、このポリヌクレオチドは5'および3'非コード配列、例えば、転写されるが翻訳されない配列、スプライシングおよびポリアデニル化シグナル、リボソーム結合部位、およびmRNA安定化配列を含んでいてもよい。

【0026】

さらに好適な具体例は、数個、5~10個、1~5個、1~3個、1~2個、または1個のアミノ酸残基が任意の組合せで置換、欠失または付加されている、表2のHLIG-1ポリペプチドのアミノ酸配列(配列番号2)を含むHLIG-1変異型をコードするポリヌクレオチドである。中でも、本発明の好適なポリヌクレオチドは表4のアミノ酸配列(配列番号4)をコードする表3のヌクレオチド配列(配列番号3)中に含まれるものである。

10

【0027】

ヒトHLIG-1の部分ヌクレオチド配列(配列番号3)

【表3】

1 ACGCCCCACG ACATAACCAT CCGGACCACC ACCGTGGCCC GCCTCGAATG
51 TGCTGCCACA GGTCACCCAA ACCCTCAGAT TGCCTGGCAG AAGGATGGAG
101 GCACGGATT CCCCCTGCC CGTGAGCGAC GCATGCATGT CATGCCGGAT
151 GACGACGTGT TTTTCATCAC TGATGTGAAA ATAGATGACG CAGGGGTTTA
201 CAGCTGTACT GCTCAGAACT CAGCCGGTTC TATTg_nTACA GCTAATGCCA
251 CCCTGACTGT CCTAGAGACC CCATCCTTGG TGGTCCCCTT GGAAGACCCT
301 GTGGTATCTG TGGGAGAAAC AGTGGCCCTC CAATGCAAAG CCACGGGGAA
351 CCCTCTGCCC CGCATCACCT GGTTC AAGGG GGACCTCCCG CTGAAGACCT
401 GCACTGAGCC GGGCACC ACT TGACCCCTGA CAACCAGCTC CTGGTGGTTC
451 AGAACGTGGT GGGCAGAGGA TGC GGGCCGA TATACCTGTG AGATGTCCAA
501 CACCCTGGGC ACGGAGCGAG CTCACAGTCC AGCTGAGCGT CCCTGCCCCG
551 AGACAGGCTG CAGGTAAGGA TTGGAACCAC GGTGGCATC TTCCACCATT
601 GACTGTCGTG AGCCAGCATC GTCCTGACGT CACTGGATCT TGGGTTTGA
651 TTCATCTATC AGAACCAGGA AGAAGAGTGA AGAGTTACAG TTTTCCCAC
701 AACCAGGTTG AAAACCGTTG GTGGCACCAG ATGTTCCAAG CTACCTCTCT

10

20

30

40

751 TCTCAGGGGA CCCTTTCTGA CCGACAAGAA ACCGTGGTCC AGGACCGAGG
801 GTTCGGCCCT GAGGGCAATG GGCACATTGA GAGCAATGGT GTGTGTCCAA
851 GAGATGCAAG CCACTTTCCA GAGCCCGACA CTCACAGCGT TGCCTGCAGG
901 CAGCCAAAGC TCTGTGCTGG GTCTGGGTAT CACAAAGAGC CGTGGAAAGC
951 GATGGAGAAA GCTGGAAGGG ACACCTGGGC CACATGAAGA TGGGAACACG
1001 GTGGACCGGG TCGTATGCAG TGA CTGCAAC ACCGAAGTGG CAGAGACTGT
1051 TTA CTCCAGG GGAACAAGCC TTCCACCCCC AGCCTGTGTC CAGAGGACAG
1101 TGCACAGCCA AGTGGGCCAA AATGGTCCCG GAGCCGGGTG GGGAAAGTGAC
1151 CAAGAGGCAT TCTTCCACAT CACCATTGCA GGAGGATTGC CGTTGGGTCC
1201 TGCCCCGAGT GGCCCAGGGT TGTTTTTAAC CCCATTAACC ACGTTAGAAT
1251 GTTTTTTGAC GGTTTTTGAA GGAAAAGCCA TTGGCATCTC TAGATGGGAA
1301 AGGGGATTCT TCCTGGACTT TAGCAAGGTT GTATCACCCG GACTCCACAG
1351 AGCTACAGCC TGCATCTTCA TTA ACTTCAG GCAGTCCAGA GCGCGCGGAA
1401 GCCCAGTACT TGCTTGTTTC CAATGGCCAC CTCCCCAAAG CATGTGACGC

10

20

30

40

1451 CAGTCCCGAG TCCACGCCAC TGACAGGACA GCTCCCCGGG AAACAGAGGG
1501 TGCCACTGCT GTTGGCACCA AAAAGCTAGG TTTTGTCTAC CTCAGTTCTT
1551 GGTCATACCA ATCTCTACGG GAAAGAGAGG TAGGAGAGGC TGCAGGAAG
1601 CTTGGGTTCA AGCGTCACTC ATCTGTACAT AGTTGTAAC CCCATGTGGA
1651 GTATCCAGTC GTTCACAGGA CTTGGGATCT GAAGCACAGT AAACGCAAGA
1701 GGGGGATTG TGTACCAAAA GGCAAAAAAA AGTATTTGAT ATCCATTGTA
1751 CCATAAGGGT TTTCAGGGGT TTCATATATA TCCTTTAAC AGAGGTTATT
1801 TTAATCTTTA GTGCATGGTT AACCGGAAAA AATTTTCCA TTTTGGCCAT
1851 TTTATTTTTC CGTATCCAGG TTGCTGTTA ATTTTGGAGG GGGTTGGGGA
1901 AATAGTTCTG GTGCCTAAC GCATGGCTGG GAATTTATAG AGGCTACAAC
1951 CACATTTGTT CACAGGAAGT TTTTGGTGC GGGTGGGAAG GATGGAAGGC
2001 CTTGGAATTT ATATTGCACT TCATAGACCC CTAGGCTGCT GTGCGGTGGG
2051 ACTCCACATG CGCCCGGAAG GAGCTTTCAG GTGAGCACTG CTCATGTGTG
2101 GATGCCCTG CAACAGGCTT CCCTGTCTGT AGAGCCAGGG GTGCAAGTGC
2151 CCATCCACAC TTGCAGTGAA TGGCTTTTCC TTTTAGTTTT AAGTCCTGTC

10

20

30

40

2201 TGTITTTAAG GCGTAGGATT TGTCCTTCTG TAAGGCGTGG AATGAGGGTT
2251 GTTAATCCAT CACAAGCAA AGGTCCGAAC CGTTAAACAC TGCCTTTCTT
2301 CCTCCTTATT TTGGTTCCCT TATTTTATGT TAAAAGCAA TGTGGCCTTC
2351 TCAGTATCAT TCGATTGCTA TTTGAGACTT TTAAATTAAG GTAAAGGCTG
2401 CTGGTGTGG TACCTGTGGA TTTTCTATA CTGATGTTTT CGTTTTGCCA
2451 ATATAATGAG TATTACATTG GCCTTGGGGG ACAGAAAGGA GGAAGTTCTG
2501 ACTTTTCAGG GCTACCTTAT TTCTACTAAG GACCCAGAGC AGGCCTGTCC
2551 ATGCCATTCC TTCGCACAGA TGAAACTGAG CTGGGACTGG AAAGGACAGC
2601 CCTTGACCTG GGTTCCTGGT ATAATTTGCA CTTTTGAGAC TGGTAGCTAA
2651 CCATCTTATG AGTGCCAATG TGTCATTTAG TAAAACCTAA ATAGAAACAA
2701 GGTCCCTCAA ATGTTCCCTT GGCCAAAAGC TGAAGGGAGT TACTGAGAAA
2751 ATAGTTAACA ATTACTGTCA GGTGTCATCA CTGTTCAAAA GGTAAGCACA
2801 TTTAGAATTT TGTTCTTGAC AGTTAACTGA CTAATCTTAC TTCCACAAAA
2851 TATGTGAATT TGCTGCTTCT GAGAGGCAAT GTGAAAGAGG GAGTATTACT

10

20

30

40

2901 TTTATGTACA AAGTTATTTA TTTATAGAAA TTTTGGTACA GTGTACATTG

2951 AAAACCATGT AAAATATTGA AGTGTCTAAC AAATGGCATT GAAGTGTCTT

3001 TAATAAAGGT TCATTTATAA ATGTCAAAAT AANNNAAGT TATTTATTTA

3051 TAGAAATTTT GGTACAGTGT ACATTGAAAA CCATGTAAAA TATTGAAGTG

10

3101 TNCTAACAAA TGGCATTGAA GTGTNCTTTA ATAAAGGTTT ATTTATAAAT

3151 GTCNNAAAA

【0028】

ヒトHLIG-1の部分アミノ酸配列(配列番号4)

【表4】

1 TPHDITIRTT TVARLECAAT GHPNPQIAWQ KDGGTDFPAA RERRMHVMPD

20

51 DDVFFITDVK IDDAGVYSCT AQNSAGSIXT ANATLVLET PSLVVPLEDR

101 VVSVGETVAL QCKATGNPLP RITWFKGDLP LKCTEPGTT

【0029】

本発明はさらに、前記の配列とハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。これに関して、本発明は特にストリンジェントな条件下で前記のポリヌクレオチドとハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。本明細書中で用いる「ストリンジェントな条件」とは、配列間に少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも95%、より一層好ましくは少なくとも97~99%の同一性があるときだけハイブリダイゼーションが起こる条件を指す。

30

【0030】

配列番号1中に含まれるヌクレオチド配列またはその断片と同一であるか実質的に同一である本発明のポリヌクレオチドは、HLIG-1ポリペプチドをコードする全長cDNAおよびゲノムクローンを単離するために、また、HLIG-1遺伝子との配列類似性が高い他の遺伝子(ヒト以外の種に由来する相同体およびオーソログ体(ortholog))をコードする遺伝子を含む)のcDNAおよびゲノムクローンを単離するために、cDNAおよびゲノムDNAのハイブリダイゼーションプローブとして用いることができる。このようなハイブリダイゼーション技法は当業者には公知である。一般的に、これらのヌクレオチド配列は対象物のヌクレオチド配列と80%、好ましくは90%、より好ましくは95%同一である。プローブはたいてい15個以上のヌクレオチドを含み、好ましくは30個以上を含み、50個以上のヌクレオチドを有していてもよい。特に好ましいプローブは30~50個の範囲のヌクレオチドを有するものである。

40

【0031】

一実施態様において、HLIG-1ポリペプチド(ヒト以外の種に由来する相同体およびオーソログ体を含む)をコードするポリヌクレオチドを得ることは、配列番号1のヌクレオチド配列またはその断片(配列番号3の断片を含む)を有する標識プローブを用いて、

50

ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で適当なライブラリーをスクリーニングし、前記のポリヌクレオチド配列を含む全長cDNAおよびゲノムクローンを単離する各工程を含んでなる。このようなハイブリダイゼーション技法は当業者に公知である。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は上で定義したとおりであるか、または、50%ホルムアミド、5×SSC(150mM NaCl, 15mM クエン酸三ナトリウム)、50mMリン酸ナトリウム(pH7.6)、5×Denhardt溶液、10%デキストラン硫酸および20μg/mlの変性し切断したサケ精子DNAを含有する溶液中で42℃で一晩インキュベートし、次いでフィルターを0.1×SSC中約65℃で洗浄する条件である。

【0032】

本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチドは、動物およびヒトの疾病に対する治療薬および診断薬を探索するための研究用の試薬および材料として利用することができる。

【0033】

ベクター、宿主細胞、発現

本発明はまた、本発明のポリヌクレオチドを含有するベクター、このベクターにより遺伝子操作された宿主細胞、および組換え法による本発明のポリペプチドの生産に関する。本発明のDNA構築物から誘導されたRNAを用いてこの種のタンパク質を生産するための無細胞翻訳系も使用することができる。

【0034】

組換え体生産に関しては、本発明のポリヌクレオチドの発現系またはその一部を組み入れるために、宿主細胞が遺伝子操作される。宿主細胞へのポリヌクレオチドの導入は、Davisら、BASIC METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY(1986)およびSambrookら、MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.(1989)などの多くの標準的な実験室マニュアルに記載される方法、例えば、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介トランスフェクション、トランスベクション(transvection)、マイクロインジェクション、カチオン性脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、スクレップローディング(scrape loading)、弾丸導入(ballistic introduction)または感染により行うことができる。

【0035】

適当な宿主の代表的な例として、細菌細胞(例:ストレプトコッカス、スタフィロコッカス、大腸菌、ストレプトミセス、枯草菌)、真菌細胞(例:酵母、アスペルギルス)、昆虫細胞(例:ドロソフィラS2、スポドプテラSf9)、動物細胞(例:CHO、COS、HeLa、C127、3T3、BHK、HEK293、Bowesメラノーマ細胞)および植物細胞が挙げられる。

【0036】

多種多様な発現系を使用することができる。こうした発現系として、特に、染色体、エピソームおよびウイルス由来の系、例えば、細菌プラスミド由来、バクテリオファージ由来、トランスポゾン由来、酵母エピソーム由来、挿入エレメント由来、酵母染色体エレメント由来、ウイルス(例:バキュロウイルス、SV40のようなパポバウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、仮性狂犬病ウイルス、レトロウイルス)由来のベクター、およびこれらの組合せに由来するベクター、例えば、コスミドやファージミドのようなプラスミドとバクテリオファージの遺伝的要素に由来するものがある。この発現系は発現を起こさせるだけでなく発現を調節する制御配列を含んでいてもよい。一般的に、宿主内でのポリペプチドの産生のためにポリヌクレオチドを維持し、増やし、発現するのに適した系またはベクターはどれも使用することができる。Sambrookら、MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL

10

20

30

40

50

(前掲) に記載されるような、日常的に用いられる公知の技法のいずれかにより、適当なヌクレオチド配列を発現系に挿入することができる。

【0037】

翻訳されたタンパク質を小胞体の内腔に、細胞周辺腔に、または細胞外の環境に分泌させるために、適当な分泌シグナルを目的のポリペプチドに組み込むことができる。これらのシグナルは目的のポリペプチドに対して内因性であっても、異種シグナルであってもよい。

【0038】

スクリーニングアッセイで使用するためHLIG-1ポリペプチドを発現させようとする場合、そのポリペプチドを細胞の表面に産生させることが好適である。この場合は、スクリーニングアッセイでの使用に先立って細胞を回収する。HLIG-1ポリペプチドが培地に分泌される場合は、そのポリペプチドを回収し精製するために培地を回収する。細胞内に産生される場合は、その細胞をまず溶解し、その後ポリペプチドを回収する必要がある。

10

【0039】

組換え細胞培養物からHLIG-1ポリペプチドを回収し精製するには、硫酸アンモニウムまたはエタノール沈殿、酸抽出、アニオンまたはカチオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィーおよびレクチンクロマトグラフィーを含めた公知の方法を用いることができる。最も好ましくは、高速液体クロマトグラフィーが精製に用いられる。ポリペプチドが単離および/または精製中に変性されるときは、タンパク質を再生させるための公知の技法を用いて、活性のあるコンフォメーションを復元することが可能である。

20

【0040】

診断アッセイ

本発明はまた、診断薬としてのHLIG-1ポリヌクレオチドの使用に関する。機能障害と関連したHLIG-1遺伝子の変異型の検出は、HLIG-1の過少発現、過剰発現または変化した発現により生ずる疾病またはその罹病性の診断に追加しうる、またはその診断を下しうる診断用ツールを提供するだろう。HLIG-1遺伝子に変異がある個体を、さまざまな技法によりDNAレベルで見つけ出すことができる。

30

【0041】

診断用の核酸は、被験者の細胞、例えば血液、尿、唾液、組織の生検または剖検材料から得ることができる。検出のためにゲノムDNAを直接使用しても、分析前にPCRまたは他の増幅法を使って酵素的に増幅してもよい。同様の方法でRNAまたはcDNAを使用することもできる。欠失および挿入変異は、正常な遺伝子型と比較したときの増幅産物のサイズの変化により検出できる。点突然変異は増幅DNAを標識HLIG-1ヌクレオチド配列とハイブリダイズさせることで同定できる。完全にマッチした配列とミスマッチの二重鎖とはRNアーゼ消化により、または融解温度の差異により区別できる。また、DNA配列の差異は、変性剤を用いるもしくは用いないゲルでのDNA断片の電気泳動の移動度の変化により、または直接DNA配列決定によっても検出できる(例えば、Myersら, Science (1985) 230:1242を参照のこと)。特定位置での配列変化はヌクレアーゼプロテクションアッセイ(例えば、RNアーゼおよびS1プロテクション)または化学的開裂法によっても確認できる(Cottonら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1985) 85:4397-4401を参照のこと)。別の実施態様では、例えば、遺伝子変異の効率のよいスクリーニングを行うため、HLIG-1ヌクレオチド配列またはその断片を含むオリゴヌクレオチドプローブのアレイを構築することができる。アレイ技法は公知で、一般的な適用可能性を有し、遺伝子発現、遺伝的連鎖および遺伝的変異性を含めた分子遺伝学のさまざまな問題を解きあかすために用いられている(例えば、M. Cheeら, Science, Vol. 274, pp. 610-613 (1996)を参照のこと)。

40

50

【0042】

診断アッセイは、前記の方法によりHLIG-1遺伝子の変異を検出することで、アルツハイマー病、多発性硬化症および異常な神経発達のような神経障害、糖尿病のような内分泌障害、および心疾患への罹りやすさを診断または判定する方法を提供する。

【0043】

さらに、被験者から得られたサンプルからHLIG-1ポリペプチドまたはHLIG-1 mRNAのレベルの異常な低下または増加を測定する方法により、アルツハイマー病、多発性硬化症および異常な神経発達のような神経障害、糖尿病のような内分泌障害、および心疾患の診断を下すことができる。発現の低下または増加は、当技術分野で公知のポリヌクレオチド定量法のいずれか、例えばPCR、RT-PCR、RNAアーゼプロテクション、ノーザンブロット、その他のハイブリダイゼーション法によりRNAレベルで測定することができる。宿主から得られたサンプル中のHLIG-1ポリペプチドのようなタンパク質のレベルを測定するためのアッセイ法は当業者によく知られている。こうしたアッセイ法として、ラジオイムノアッセイ、競合結合アッセイ、ウエスタンブロット分析、ELISAアッセイなどがある。

【0044】

かくして、もう一つの態様において、本発明は、疾病特に、アルツハイマー病、多発性硬化症および異常な神経発達のような神経障害、糖尿病のような内分泌障害、および心疾患またはこのような疾病への罹りやすさを診断するためのキットに関し、このキットは、

(a) HLIG-1ポリヌクレオチド(好ましくは、配列番号1のヌクレオチド配列)もしくはその断片、

(b) (a) のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列、

(c) HLIG-1ポリペプチド(好ましくは、配列番号2のポリペプチド)もしくはその断片、または

(d) HLIG-1ポリペプチド(好ましくは、配列番号2のポリペプチド)に対する抗体、

を含んでなる。このようなキットにおいて、(a)、(b)、(c) または (d) が実質的な構成成分であることが理解されよう。

【0045】

染色体アッセイ

本発明のヌクレオチド配列はまた、染色体の同定にも有用である。この配列は個々のヒト染色体上の特定の位置を標的指向し、その特定位置とハイブリダイズすることができる。本発明に従って関連配列の染色体地図を作成することは、これらの配列と遺伝子関連疾患とを相関させる上で重要な第一段階である。ひとたび配列が正確な染色体位置にマッピングされたら、その染色体上のその配列の物理的位置を遺伝地図データと相関させることができる。この種のデータは、例えば、V. McKusick, Mendelian Inheritance in Man (Johns Hopkins University Welch Medical Library からオンラインで入手可能) 中に見いだせる。その後、同一の染色体領域にマッピングされた遺伝子と疾患との関係を連鎖分析(物理的に隣接した遺伝子の共遺伝)により同定する。

【0046】

患者と正常個体とのcDNAまたはゲノム配列の差異も調べることができる。患者の一部または全部に変異が観察されるが、どの正常個体にも観察されない場合は、その変異が疾病の原因である可能性がある。

【0047】

抗体

本発明のポリペプチドまたはその断片もしくは類似体、またはそれらを発現する細胞は、HLIG-1ポリペプチドに免疫特異的な抗体を産生するための免疫原としても使用することができる。「免疫特異的」とは、その抗体が従来技術における他の関連ポリペプチドに対するその親和性よりも本発明のポリペプチドに対して実質的に高い親和性を有するこ

10

20

30

40

50

とを意味する。

【0048】

H L I G - 1 ポリペプチドに対する抗体は、慣用のプロトコールを用いて、動物（好ましくはヒト以外）に該ポリペプチドまたはエピトープを含む断片、類似体もしくは細胞を投与することにより得られる。モノクローナル抗体の調製には、連続細胞系の培養物により産生される抗体をもたらす任意の技法を用いることができる。例を挙げると、ハイブリドーマ技法（Kohler, G. および Milstein, C., Nature (1975) 256: 495 - 497）、トリオーマ技法、ヒトB細胞ハイブリドーマ技法（Kozbor, Immunology Today (1983) 4: 72）およびEBV - ハイブリドーマ技法（Cole, MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, pp. 77 - 96, Alan R. Liss, Inc., 1985）などがある。

【0049】

本発明のポリペプチドに対する一本鎖抗体をつくるために、一本鎖抗体の調製法（米国特許第4,946,778号）を適応させることができる。また、ヒト化抗体を発現させるために、トランスジェニックマウスまたは他の哺乳動物を含む他の生物を利用することができる。

前記の抗体を用いて、そのポリペプチドを発現するクローンを単離・同定したり、アフィニティークロマトグラフィーでそのポリペプチドを精製することもできる。

H L I G - 1 ポリペプチドに対する抗体は、とりわけ、アルツハイマー病、多発性硬化症および異常な神経発達のような神経障害、糖尿病のような内分泌障害、および心疾患の治療に使用できる可能性がある。

【0050】

ワクチン

本発明の別の態様は、哺乳動物において免疫学的応答を引き出す方法に関し、この方法は、特にアルツハイマー病、多発性硬化症および異常な神経発達のような神経障害、糖尿病のような内分泌障害、および心疾患から前記動物を防御するための抗体および/またはT細胞免疫応答を生ずるのに十分なH L I G - 1 ポリペプチドまたはその断片を哺乳動物に接種することを含んでなる。本発明のさらに別の態様は、哺乳動物を疾病から防御する抗体を産生させるような免疫学的応答を引き出すために、in vivo でH L I G - 1 ポリヌクレオチドの発現を指令するベクターを介してH L I G - 1 ポリペプチドを供給することを含んでなる、哺乳動物において免疫学的応答を引き出す方法に関する。

【0051】

本発明の更なる態様は、哺乳動物宿主に導入したとき、その哺乳動物においてH L I G - 1 ポリペプチドに対する免疫学的応答を引き出す免疫学的/ワクチン製剤（組成物）に関し、この組成物はH L I G - 1 ポリペプチドまたはH L I G - 1 遺伝子を含む。ワクチン製剤は適当な担体をさらに含んでもよい。H L I G - 1 ポリペプチドは胃の中で分解されうるので、非経口的（皮下、筋肉内、静脈内、皮内等への注射を含む）に投与することが好ましい。非経口投与に適した製剤としては、酸化防止剤、緩衝液、静菌剤およびこの製剤を受容者の血液と等張にする溶質を含みうる水性および非水性の無菌注射液、並びに懸濁化剤または増粘剤を含みうる水性および非水性の無菌懸濁液がある。こうした製剤は1回量容器または数回量容器（例えば、密閉アンプルおよびバイアル）で提供することができる。また、使用直前に無菌の液状担体を添加するだけでよい凍結乾燥状態で保管することもできる。ワクチン製剤はこの製剤の免疫原性を増強するためのアジュバント系、例えば水中油型のアジュバント系や当技術分野で公知の他のアジュバント系を含んでもよい。投与量はワクチンの比活性で変化し、ルーチンな実験操作により簡単に決定できる。

【0052】

スクリーニングアッセイ

本発明のH L I G - 1 ポリペプチドは、このポリペプチドを活性化する化合物（アゴニス

ト) またはその活性を阻害する化合物 (アントゴニスト、または阻害剤ともいう) のスクリーニング法において使用することができる。こうして、本発明のポリペプチドは、例えば、細胞、無細胞調製物、化学物質ライブラリーおよび天然産物の混合物中の小分子基質およびリガンドの結合を評価するためにも用いられる。これらの基質およびリガンドは天然の基質またはリガンドであっても、構造的または機能的な模擬物であってもよい (*Coliganda, Current Protocols in Immunology* 1 (2) : Chapter 5 (1991) を参照のこと) 。

【 0053 】

H L I G - 1 ポリペプチドは多くの病理を含めて多数の生物学的機能に関与している。したがって、一方では H L I G - 1 ポリペプチドを刺激し、他方では H L I G - 1 ポリペプチドの機能を阻害し得る化合物および薬物を見つけ出すことが望まれる。一般的に、アゴニストはアルツハイマー病、多発性硬化症および異常な神経発達のような神経障害、糖尿病のような内分泌障害、および心疾患のような症状の治療および予防目的で用いられる。アントゴニストはアルツハイマー病、多発性硬化症および異常な神経発達のような神経障害、糖尿病のような内分泌障害、および心疾患のような症状のさまざまな治療および予防目的で使用しうる。

【 0054 】

一般に、こうしたスクリーニング法は本発明の受容体ポリペプチドをその表面に発現する適当な細胞を用いるものである。この種の細胞には哺乳動物、酵母、ショウジョウバエ由来の細胞または大腸菌細胞が含まれる。次いで、この受容体を発現する細胞 (もしくは発現された受容体を含む細胞膜) を試験化合物と接触させて、その結合または機能的応答の刺激もしくは阻害を観察する。

【 0055 】

これらのアッセイでは候補化合物の結合を簡単に試験することができ、そこでは候補化合物と直接または間接に結合された標識により、または標識した競合物質との競合を用いるアッセイにより、該受容体を担持する細胞への付着が検出される。さらに、これらのアッセイでは、該受容体をその表面に担持する細胞に適した検出系を用いて、候補化合物が該受容体の活性化により生ずるシグナルを結果的にもたらすか否かを試験することができる。一般的に、活性化の阻害剤は既知のアゴニストの存在下でアッセイされ、そして候補化合物の存在がアゴニストによる活性化に与える影響が調べられる。

【 0056 】

さらに、これらのアッセイは、候補化合物と H L I G - 1 ポリペプチドを含む溶液とを混ぜ合わせて混合物をつくり、この混合物中の H L I G - 1 活性を測定し、そしてこの混合物の H L I G - 1 活性を標準と比較する各ステップを単に含むだけでよい。

【 0057 】

また、H L I G - 1 の c D N A、タンパク質またはこのタンパク質に対する抗体を用いて、細胞内での H L I G - 1 m R N A またはタンパク質の生産に及ぼす添加化合物の作用を検出するためのアッセイを組み立てることができる。例えば、当技術分野で公知の標準方法によりモノクローナルまたはポリクローナル抗体を用いて、H L I G - 1 タンパク質の分泌レベルまたは細胞結合レベルを測定するための E L I S A を構築することができ、これは適切に操作された細胞または組織からの H L I G - 1 の生産を抑制または増強する物質 (それぞれアントゴニストまたはアゴニストともいう) の探索に用いることができる。スクリーニングアッセイを行うための標準的な方法は当技術分野でよく理解されている。

【 0058 】

H L I G - 1 の潜在的なアントゴニストの例としては、抗体、ある場合には、H L I G - 1 のリガンドと密接な関係があるオリゴヌクレオチドもしくはタンパク質 (例えば、リガンドの断片)、または該受容体と結合するが応答を誘導しない (それゆえ該受容体の活性を妨げる) 小分子などがある。

【 0059 】

かくして、他の態様において、本発明は、H L I G - 1 ポリペプチドのアゴニスト、アン

10

20

30

40

50

タゴニスト、リガンド、受容体、基質、酵素など、またはHLIG-1ポリペプチドの生産を低下または増加させる化合物を同定するためのスクリーニングキットに関し、このキットは、

- (a) HLIG-1ポリペプチド(好ましくは、配列番号2のポリペプチド)
- (b) HLIG-1ポリペプチド(好ましくは、配列番号2のポリペプチド)を発現する組換え細胞、
- (c) HLIG-1ポリペプチド(好ましくは、配列番号2のポリペプチド)を発現する細胞膜、または
- (d) HLIG-1ポリペプチド(好ましくは、配列番号2のポリペプチド)に対する抗体、

10

を含んでなる。このようなキットにおいて、(a)、(b)、(c) または (d) が実質的な構成成分であることが理解されよう。

【0060】

予防および治療法

本発明は、HLIG-1活性の過剰量と不足量のどちらにも関係したアルツハイマー病、多発性硬化症および異常な神経発達のような神経障害、糖尿病のような内分泌障害、および心疾患などの異常な状態の治療法を提供する。

HLIG-1の活性が過剰である場合は、いくつかのアプローチが利用可能である。一つのアプローチは、HLIG-1に対するリガンドの結合をブロックすることにより、または第2のシグナルを抑制することで異常な状態を軽減することにより、活性を阻害するの

20

【0061】

さらに別のアプローチでは、発現阻止法を使って内因性HLIG-1ポリペプチドをコードする遺伝子の発現を抑制することができる。こうした公知技術は、体内で生成されるか別個に投与されるアンチセンス配列の使用を必要とする。例えば、*Oligodeoxy nucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression*, CRC Press, Boca Raton, FL (1988)中のO'Connor, J *Neurochem* (1991) 56:560を参照のこと。あるいはまた、この遺伝子と共に三重らせんを形成するオリゴヌクレオチドを供給することもできる。例えば、Lee ら, *Nucleic Acids Res* (1979) 6:3073; Cooney ら, *Science* (1988) 241:456; Dervan ら, *Science* (1991) 251:1360を参照のこと。これらのオリゴマーはそれ自体を投与することもできるし、関連オリゴマーを*in vivo*で発現させることもできる。

30

【0062】

HLIG-1およびその活性の過少発現に関係した異常な状態を治療する場合も、いくつかのアプローチを取ることができる。一つのアプローチは、治療上有効な量のHLIG-1を活性化する化合物(すなわち、前記のアゴニスト)を製剤学上許容される担体とともに患者に投与して、異常な状態を緩和することを含んでなる。別法として、患者の関連細胞においてHLIG-1を内因的に産生させるために遺伝子治療を用いることができる。例えば、上で述べたような複製欠損レトロウイルスベクターによる発現のために本発明のポリヌクレオチドを遺伝子操作する。次にレトロウイルス発現構築物を単離し、本発明のポリペプチドをコードするRNAを含有するレトロウイルスプラスミドベクターで形質導入されたパッケージング細胞に導入する。その結果、パッケージング細胞は対象の遺伝子を含有する感染性のウイルス粒子を産生するようになる。*in vivo*での細胞処理および*in vivo*でのポリペプチド発現のために、これらの産生細胞を患者に投与

40

50

する。遺伝子治療の概論に関しては、Human Molecular Genetics, T Strachan and A P Read, BIOS Scientific Publishers Ltd (1996) 中のChapter 20, Gene Therapy and other Molecular Genetic-based Therapeutic Approaches (およびその中の引用文献)を参照のこと。もう一つのアプローチは治療量のHLIG-1ポリペプチドを適当な製剤学上の担体とともに投与することである。

【0063】

製剤および投与

可溶性形態のHLIG-1ポリペプチドのようなペプチド、アゴニストおよびアンタゴニストペプチド、または小分子は適当な製剤学上の担体と組み合わせて製剤化することができる。このような製剤は治療上有効な量のポリペプチドまたは化合物と、製剤学上許容される担体または賦形剤を含有する。この種の担体としては、食塩水、生理食塩水、デキストロース、水、グリセロール、エタノール、およびこれらの組合せがあるが、これらに限らない。製剤は投与様式に適合させるべきであり、これは当技術分野の技量の範囲内である。本発明はさらに、前記の本発明組成物の1以上の成分を充填した1以上の容器を含んでなる医薬用パックおよびキットに関する。

本発明のポリペプチドおよび他の化合物は単独で使用しても、他の化合物、例えば治療用化合物と一緒に使用してもよい。

【0064】

医薬組成物を全身投与するときの好ましい形態は、注入(注射)、典型的には静注である。皮下、筋肉内または腹腔内のような他の注入経路も使用できる。全身投与の別の手段は、胆汁酸塩、フシジン酸、その他の界面活性剤などの浸透剤を用いた経粘膜および経皮投与である。さらに、腸溶剤またはカプセル剤として適切に製剤化されているのであれば、経口投与も可能である。これらの化合物は軟膏、ペースト、ゲルなどの剤形で局所に投与しても、かつ/または局在化させてもよい。

【0065】

必要な投与量範囲はペプチドの選択、投与経路、製剤の性質、患者の状態、そして医師の判断に左右される。しかし、適当な投与量は患者の体重1kgあたり0.1 ~ 100 μ g の範囲である。利用可能な化合物が多種多様であり、それぞれの投与経路の効率も異なるため、必要とされる投与量は広範に変動することを予想すべきである。例えば、経口投与は静注による投与よりも高い投与量を必要とすることが予想される。こうした投与量レベルの変動は、当技術分野でよく理解されているような、標準的経験的な最適化手順を用いて調整することができる。

【0066】

治療に用いるポリペプチドは、上述したような「遺伝子治療」と称する治療法において、患者の体内で産生させることもできる。例えば、患者由来の細胞を、*ex vivo* でポリペプチドをコードするDNAまたはRNAのようなポリヌクレオチドにより、例えばレトロウイルスプラスミドベクターを用いて、遺伝子工学的に操作する。その後、この細胞を患者に導入する。

【0067】

【実施例】

以下の実施例は、特にことわらない限り、当業者には公知の一般的方法を用いて実施した。実施例は単なる例示であって、本発明を制限するものではない。

【0068】

実施例1. 完全なタンパク質コード領域を含有するcDNAのクローニング

全長cDNAを得るための方法はいくつかあるが、そのうち2つを以下に説明する。

1) cDNA末端の高速増幅(Rapid Amplification of cDNA Ends: RACE)法は、不完全なcDNAクローンの5'末端を伸長するために利用することができる(Frohmanら、Proc. Natl. Acad. Sci. 50

U S A 8 5 , 8 9 9 8 - 9 0 0 2 (1 9 8 8) を参照)。簡単に述べると、不完全なクローンの5'領域に相補的な特定のオリゴヌクレオチドをmRNAにアニーリングし、これによりcDNA鎖の合成を開始させる。RNAアーゼHを用いてmRNAを消化した後、伸長したcDNAの3'末端にポリdCアンカーセグメントを付加し、次いでこの領域を、元のcDNAの5'末端にあって該cDNAプライマーの上流に位置する一組のネステッド(nested)プライマーをアンカープライマーと一緒に用いてPCRにより増幅する。増幅断片は適当なプラスミドベクターにクローニングして、制限分析および配列解析にかける。新たな5'領域と元のcDNAとの結合は、元のcDNAクローン中のプライマーと共に新たな5'配列中に位置するプライマーを用いてRT-PCRにより確認する。

10

2)ポリメラーゼ連鎖反応は、2組のプライマーを用いるネステッドPCRを連続して行なうことで、ヒトcDNAライブラリー由来のcDNAの5'末端を増幅するために使用することができる。1組のアンチセンスプライマーは部分cDNAの5'末端に特異的であり、もう1組のプライマーはベクター特異的配列にアニーリングする。増幅産物は適当なベクターにクローニングして、制限分析および配列解析にかける。新たな配列と元の配列との結合は1)と同様にして確認する。

H L I G - 1 については、そのcDNA配列の大部分がH G S E S T : 2 3 1 0 5 4 により規定されたcDNAクローン中に存在していた。1.8 kbのcDNA配列の欠失5'末端を、ヒトD a u d i B細胞系からのmRNAを鋳型として用いて5' R A C E P C R 法により単離した。これらの2つのDNA断片を組み合わせるH L I G - 1 遺伝子の全長配列を作製した。

20

【0069】

実施例2. H L I G - 1 はマウスL I G - 1 のヒト相同体である。

以下のアライメントに示すように、H L I G - 1 の完全なタンパク質配列はマウスのL I G - 1 タンパク質と80.3%の同一性を有し、その相同性は該タンパク質配列全体にわたるものである。この高い一次の相同性は、H L I G - 1 がマウスL I G - 1 のヒト相同体だということを示している。細胞外ドメインはシステインクラスター領域に挟まれた15個のL R R とその後3個のC 2 型I g 様ドメインを含んでいる。

【0070】

NH₂-フランキング

30

HLIG-1 1 MARPVRGGLGAPRRSPCLLLLWLLLLRLEPVTAAGPRAPCAAACCTCAGDPCTCAGDSL D

|||| :| |||| :| ||||| | : :||:|: | :| :|||:|

MLIG-1 1 MARPGPGVLGAPRLAP-RLLLWLLLLL.I.Q-WPESAGAQRPRAPC---AAACTCAGNSLD

LRR 1

LRR 2

40

LRR 15

COOH- フランキングトレーラー

HLIG-1 421 LGGNAIRSVQFDAPVVKMKNLKLHISSDSFLCDCQLKWLPPWLI GRMLQAFVTATCAHPE

||:|||||||:|||||||:|||:|||||||:|||||||:|||||||

MLIG-1 415 LGENAIRSVQFDAPFAKMKNLKELYISSESFLCDCQLKWLPPWLMGRMLQAFVTATCAHPE

C2型Ig様ドメインI

10

HLIG-1 481 SLKGQSIFSVPPESFVCDDFLKPQIITQPETTMAMVVGKDIRFTCSAASSSSSPMTFAWKK

||||||| |:||||| |||||||||:|||||||:|||||||

MLIG-1 475 SLKGQSIFSVLPDSFVCDDFPKPQIITQPETTMAMVVGKDIRFTCSAASSSSSPMTFAWKK

HLIG-1 541 DNEVLTNADMENFVHVHAQDGEVMEYTTILHLRQVTFGHEGRYQCVITNHF GSTYSHKAR

||||:|||||:|:|||||||:|||||||:|||||||

20

MLIG-1 535 DNEVLANADMENFAHVRAQDGEVMEYTTILHLRHVTFGHEGRYQCIITNHF GSTYSHKAR

C2型Ig様ドメインII

HLIG-1 601 LTVNVLPSFTKTPHDITIRTTTVARLECAATGHPNPQIAWQKDG GTDFPAARERRMHVMP

|||||||:||||:|:|:|:|||||||:|||||||:|||||||

MLIG-1 595 LTVNVLPSFTKIPHDIAIRTGTARLECAATGHPNPQIAWQKDG GTDFPAARERRMHVMP

30

HLIG-1 661 DDDVFFITDVKIDDAGVYSCTAQNSAGSISANATLTVLETPSLVVP LEDRVVSVGETVAL

||||||| ||||| |||||||||:|||||||:|||||||:|||||||

MLIG-1 655 DDDVFFITDVKIDDMGVYSCTAQNSAGSVSANATLTVLETPSLAVP LEDRVVTVGETVAF

C2型Ig様ドメインIII

40

HLIG-1 721 QCKATGNPPPRITWFKGDRPLSLTERHHLTPDNQLLVVQNVVAEDAGRYTCEMSNTLGTE

|||||:|:|||||:|:|||||||:|:|||||||: :|||||||:|||||

配列番号2のアミノ酸(188-367)とペルオキシダシン(POS)との相同性：

HLIG-1 188 GAFDGLSRSLTLRLSKNRITQLPVRAFKLPRLTQLDLNRNRIRLIEGLTFQGLNSLEVL
| : : ||| : |||| | : : | : | : : | : |

POS 49 PGAGCPSRCLCFRTTVRCMHLLEAVPAVAPQTSILDLRFNRIREIQGAFRRLRNLT

HLIG-1 248 KLQRNNISKLTGAFWGLSKMHVHLHEYDSLVEVNSGSLYGLTALHQLHLSNNSIARIHR
| : : | : | : : : || | : | : : : | : | : : : : : : | : : | : | : | | : : : :

POS 109 LLNNQIKRIPSGAFEDLENKYLKNEIQSIDRQAFKGLASLEQLYLFNFQIETLDP

HLIG-1 308 KGWSFCQKLHELVL SFNNLTRLDEESLAELSSLSVLRLSHNSISHIAEGAFKGLRSLRVL
: : : : | : | : | | | : : | : | : : : | : | : | : | : | : :

POS 169 DSFQHLPKLERLFLHNNRITHLVPGTFNHLESMKRLRLDSNTLHCDCEILWLADLLKTYA
(配列番号8)

10

20

【0075】

ヌクレオチド間の比較により、予想された中程度の配列一致がLR R領域でIGP - ALSに対して観察された。しかし、LR Rを含まないコリン輸送体をコードするラットCHOT1 mRNAに対しては、驚くほど高い相同性(マウスLIG-1について93%)が観察された。この相同性は人為的なものであり、恐らくはCHOT1クロニングの最中に生じたものである。何故ならそれは極端にCHOT1の5'非翻訳セグメント中にあり、タンパク質コード領域内のヒトおよびマウスのLIG-1のアンチセンス鎖と一致するからである。

30

【0076】

実施例4. H L I G - 1 の組織発現パターン

複数のヒト組織のノーザンプロット分析により、H L I G - 1 が脾臓、脳、心臓および骨格筋内で約5.0 kbの単一の転写物として高発現されることが示される。

【0077】

本明細書中に引用された、特許および特許出願明細書を含めた全ての刊行物は、あたかも各刊行物が明確にかつ個々に示されているかのように、その全体を参考としてここに組み入れるものとする。

【0078】

【配列表】

40

SEQUENCE LISTING

<110> SmithKline Beecham Corporation

<120> A Human LIG-1 Homolog (HLIG-1)

<130> PA03-188

10

<140> unknown

<141> 1998-9-22

<150> U.S. Provisional Application No. 60/059,448

<151> 1997-9-22

<150> U.S. Non-Provisional Application No. 08/986,485

20

<151> 1997-12-8

<160> 8

<170> FastSEQ for Windows Version 2.0

<210> 1

30

<211> 4843

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 1

GCTTCGCGGC GCGTCCAGA CAAGATGGCG CGGCCGTCC GGGGAGGGCT CGGGGCCCCG 60

40

CGCCGCTCGC CTTGCCTTCT CCTTCTCTGG CTGCTTTTGC TTCGGCTGGA GCCGGTGACC	120	
GCCGCGGCCG GCCCGCGGGC GCCCTGCGCG GCCGCCTGCA CTTGCGCTGG GGACCCCTGC	180	
ACTTGGCGCTG GGGACTCGCT GGACTGCGGT GGGCGCGGGC TGGCTGCGTT GCCCGGGGAC	240	
CTGCCCTCCT GGACGCGGAG CCTAAACCTG AGTTACAACA AACTCGCTGA GATTGACCCT	300	10
GCTGGTTTTG AGGACTTGCC GAACCTACAG GAAGTGTACC TCAATAATCA TGAGTTGACA	360	
GCGGTAGCAT CACTGGGCGC TGGTTCATCA CAAGTAGTCG CTCTCTTCT GCAGCAGCAA	420	
CAGAATCGCA GCCTCGACGG GAGCCAGCTG AAGGCCTACC TCTCCCTAGA AGTGTTAGAT	480	
CTGAATCTGA ACAACATCAC GGAAGTGCGG AACACCTACT TTCCACACGG ACCGCCTATA	540	20
AAGGAGCTCA ACCTGGCAGG CAATCGGATT GGCACCCTGG AGTTGGGAGC ATTTGATGGT	600	
CTGTCACGGT CGCTGCTAAC TCTTCGCCTG AGCAAAAACA GGATCACCCA GCTTCCTGTA	660	
AGAGCATTCA AGCTACCCAG GCTGACACAA CTGGACCTCA ATCGGAACAG GATTGGGCTG	720	30
ATAGAGGGCC TCACCTTCCA GGGGCTCAAC AGCTTGGAGG TGCTGAAGCT TCAGCGAAAC	780	
AACATCAGCA AACTGACAGA TGGGGCCTTC TGGGGACTGT CCAAAATGCA TGTGCTGCAC	840	
CTGGAGTACG ACAGCCTGGT AGAAGTGAAC AGCGGCTCGC TCTACGGCCT CACGGCCCTG	900	40
CATCAGCTCC ACCTCAGCAA CAATTCCATC GCTCGCATTG ACCGCAAGGG CTGGAGCTTC	960	

TGCCAGAAGC TGCATGAGTT GGTCCCTGTCC TTCAACAACC TGACACGGCT GGACGAGGAG 1020
 AGCCTGGCCG AGCTGAGCAG CCTGAGTGTG CTGCGTCTCA GCCACAATTC CATCAGCCAC 1080
 ATTGCGGAGG GTGCCTTCAA GGGACTCAGG AGCCTGCGAG TCTTGGATCT GGACCATAAC 1140
 GAGATTTCCG GCACAATAGA GGACACGAGC GGCGCCTTCT CAGGGCTCGA ATTCGGCCAC 1200
 AGCAAGCTGA CTCTGTTTGG AAACAAGATC AAGTCTGTGG CTAAGAGAGC ATTCTCGGGG 1260
 CTGGAAGGCC TGGAGCACCT GAACCTTGGG GGGAAATGCGA TCAGATCTGT CCAGTTTGAT 1320
 GCCTTTGTGA AGATGAAGAA TCTTAAAGAG CTCCATATCA GCAGCGACAG CTTCTGTGT 1380
 GACTGCCAGC TGAAGTGGCT GCCCCCGTGG CTAATTGGCA GGATGCTGCA GGCCTTTGTG 1440
 ACAGCCACCT GTGCCACCC AGAATCACTG AAGGGTCAGA GCATTTTCTC TGTGCCACCA 1500
 GAGAGTTTCG TGTGCGATGA CTTCTGAAG CCACAGATCA TCACCCAGCC AGAAACCACC 1560
 ATGGCTATGG TGGGCAAGGA CATCCGTTT ACATGCTCAG CAGCCAGCAG CAGCAGCTCC 1620
 CCCATGACCT TTGCCTGGAA GAAAGACAAT GAAGTCCTGA CCAATGCAGA CATGGAGAAC 1680
 CGTCAGGTCA CTTTCGGGCA CGAGGGCCGC TACCAATGTG TCATCACCAA CCACTTTGGC 1800
 TCCACCTATT CACATAAGGC CAGGCTCACC GTGAATGTGT TGCCATCATT CACCAAAACG 1860

10

20

30

40

CCCCACGACA TAACCATCCG GACCACCACC GTGGCCCGCC TCGAATGTGC TGCCACAGGT 1920
 CACCCAAACC CTCAGATTGC CTGGCAGAAG GATGGAGGCA CGGATTTCCC CGCTGCCCGT 1980
 GAGCGACGCA TGCATGTCAT GCCGGATGAC GACGTGTTTT TCATCACTGA TGTGAAAATA 2040
 GATGACGCAG GGGTTTACAG CTGTACTGCT CAGAACTCAG CCGGTTCTAT TTCAGCTAAT 2100
 GCCACCCTGA CTGTCCCTAGA GACCCCATCC TTGGTGGTCC CTTTGAAGA CCGTGTGGTA 2160
 TCTGTGGGAG AAACAGTGGC CCTCCAATGC AAAGCCACGG GGAACCCTCC GCCCCGCATC 2220
 ACCTGGTTCA AGGGGGACCG CCCGCTGAGC CTCACTGAGC GGCACCACCT GACCCCTGAC 2280
 AACCAGCTCC TGGTGGTTCA GAACGTGGTG GCAGAGGATG CGGGCCGATA TACCTGTGAG 2340
 ATGTCCAACA CCCTGGGCAC GGAGCGAGCT CACAGCCAGC TGAGCGTCCT GCCCCGAGCA 2400
 GGCTGCAGGA AGGATGGGAC CACGGTAGGC ATCTTACCA TTGCTGTCGT GAGCAGCATC 2460
 GTCCTGACGT CACTGGTCTG GGTGTGCATC ATCTACCAGA CCAGGAAGAA GAGTGAAGAG 2520
 TACAGTGTC A CAACACAGA TGA AACCCTC GTGCCACCAG ATGTTCCAAG CTACCTCTCT 2580
 TCTCAGGGGA CCCTTTCTGA CCGACAAGAA ACCGTGGTCA GGACCGAGGG TGGCCCTCAG 2640
 GCCAATGGGC ACATTGAGAG CAATGGTGTG TGTCCAAGAG ATGCAAGCCA CTTTCCAGAG 2700
 CCCGACACTC ACAGCGTTGC CTGCAGGCAG CCAAAGCTCT GTGCTGGGTC TCGTATCAC 2760

10

20

30

40

AAAGAGCCGT	GGAAAGCGAT	GGAGAAAGCT	GAAGGGACAC	CTGGGCCACA	TAAGATGGAA	2820
CACGGTGGCC	GGGTCGTATG	CAGTGACTGC	AACACCGAAG	TGGACTGTTA	CTCCAGGGGA	2880
CAAGCCTTCC	ACCCCCAGCC	TGTGTCCAGA	GACAGCGCAC	AGCCAAGTGC	GCCAAATGGC	2940
CCGGAGCCGG	GTGGGAGTGA	CCAAGAGCAT	TCTCCACATC	ACCAGTGCAG	CAGGACTGCC	3000
GCTGGGTCC	GCCCCGAGTG	CCAAGGGTCG	CTCTACCCCA	GTAACCACGA	TAGAATGCTG	3060
ACGGCTGTGA	AGAAAAAGCC	AATGGCATCT	CTAGATGGGA	AAGGGGATTC	TTCCTGGACT	3120
TTAGCAAGGT	TGTATCACCC	GGACTCCACA	GAGCTACAGC	CTGCATCTTC	ATTAACTTCA	3180
GGCAGTCCAG	AGCGCGCGGA	AGCCCAGTAC	TTGCTTGTTT	CCAATGGCCA	CCTCCCCAAA	3240
GCATGTGACG	CCAGTCCCGA	GTCCACGCCA	CTGACAGGAC	AGCTCCCCGG	GAAACAGAGG	3300
GTGCCACTGC	TGTTGGCACC	AAAAAGCTAG	GTTTTGTCTA	CCTCAGTTCT	TGTCATACCA	3360
ATCTCTACGG	GAAAGAGAGG	TAGGAGAGGC	TGCGAGGAAG	CTTGGGTTCA	AGCGTCACTC	3420
ATCTGTACAT	AGTTGTA ACT	CCCATGTGGA	GTATCAGTCG	CTCACAGGAC	TTGGATCTGA	3480
AGCACAGTAA	ACGCAAGAGG	GGATTTGTGT	ACAAAAGGCA	AAAAAAGTAT	TTGATATCAT	3540
TGTACATAAG	AGTTTTCAGA	GATTTTCATAT	ATATCTTTTA	CAGAGGCTAT	TTTAATCTTT	3600

10

20

30

40

AGTGCATGGT TAACAGAAAA AAATTATACA ATTTTGACAA TATTATTTTT CGTATCAGGT	3660	
TGCTGTTTAA TTTTGGAGGG GGTGGGGAAA TAGTTCCTGGT GCCTTAACGC ATGGCTGGAA	3720	
TTTATAGAGG CTACAACCAC ATTTGTTTAC AGGAGTTTTT GGTGCGGGGT GGAAGGATG	3780	
GAAGGCCTTG GATTTATATT GCACTTCATA GACCCCTAGG CTGCTGTGCG GTGGGACTCC	3840	10
ACATGCGCCG GAAGGAGCTT CAGGTGAGCA CTGCTCATGT GTGGATGCCC CTGCAACAGG	3900	
CTTCCCTGTC TGTAGAGCCA GGGGTGCAAG TGCCATCCAC ACTTGCAGTG AATGGCTTTT	3960	
CCTTTTAGGT TTAAGTCCTG TCTGTCTGTA AGGCGTAGAA TCTGTCCGTC TGTAAGGCGT	4020	20
AGAATGAGGG TTGTTAATCC ATCACAAGCA AAAGGTCAGA ACAGTTAAAC ACTGCCTTTC	4080	
CTCCTCCTCT TATTTTATGA TAAAAGCAAA TGTGGCCTTC TCAGTATCAT TCGATTGCTA	4140	
TTTGAGACTT TTAAATTAAG GTAAAGGCTG CTGGTGTGG TACCTGTGGA TTTTCTATA	4200	
CTGATGTTTT CGTTTTGCCA ATATAATGAG TATTACATTG GCCTTGGGGG ACAGAAAGGA	4260	30
GGAAGTTCTG ACTTTTCAGG GCTACCTTAT TTCTACTAAG GACCCAGAGC AGGCCTGTCC	4320	
ATGCCATTCC TTCGCACAAG ATGAAACTGA GCTGGGACTG GAAAGGACAG CCCTTGACCT	4380	
GGGTTTCTGG GTATAATTG CACTTTTGAG ACTGGTAGCT AACCATCTTA TGAGTGCCAA	4440	40
TGTGTCATT AGTAAAACTT AAATAGAAAC AAGGTCCTTC AAATGTTTCT TTGGCCAAAA	4500	

GCTGAAGGGA GTTACTGAGA AAATAGTTAA CAATTACTGT CAGGTGTCAT CACTGTTCAA 4560
 AAGGTAAGCA CATTAGAAT TTTGTTCTTG ACAGTTAACT GACTAATCTT ACTTCCACAA 4620
 AATATGTGAA TTTGCTGCTT CTGAGAGGCA ATGTGAAAGA GGGAGTATTA CTTTTATGTA 4680
 CAAAGTTATT TATTTATAGA AATTTTGGTA CAGTGTACAT TGAAAACCAT GTAAAATATT 4740
 GAAGTGTCTA ACAAATGGCA TTGAAGTGTG TTTAATAAAG GTTCATTTAT AAAAGTCAAA 4800
 AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAA 4843

10

<210> 2

20

<211> 1101

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 2

Met Ala Arg Pro Val Arg Gly Gly Leu Gly Ala Pro Arg Arg Ser Pro 30
 1 5 10 15
 Cys Leu Leu Leu Leu Trp Leu Leu Leu Leu Arg Leu Glu Pro Val Thr
 20 25 30
 Ala Ala Ala Gly Pro Arg Ala Pro Cys Ala Ala Ala Cys Thr Cys Ala
 35 40 45
 Gly Asp Pro Cys Thr Cys Ala Gly Asp Ser Leu Asp Cys Gly Gly Arg 40
 50 55 60
 Gly Leu Ala Ala Leu Pro Gly Asp Leu Pro Ser Trp Thr Arg Ser Leu

40

Ile His Arg Lys Gly Trp Ser Phe Cys Gln Lys Leu His Glu Leu Val	
305	310 315 320
Leu Ser Phe Asn Asn Leu Thr Arg Leu Asp Glu Glu Ser Leu Ala Glu	
	325 330 335
Leu Ser Ser Leu Ser Val Leu Arg Leu Ser His Asn Ser Ile Ser His	
	340 345 350
Ile Ala Glu Gly Ala Phe Lys Gly Leu Arg Ser Leu Arg Val Leu Asp	10
	355 360 365
Leu Asp His Asn Glu Ile Ser Gly Thr Ile Glu Asp Thr Ser Gly Ala	
	370 375 380
Phe Ser Gly Leu Glu Phe Gly His Ser Lys Leu Thr Leu Phe Gly Asn	
385	390 395 400
Lys Ile Lys Ser Val Ala Lys Arg Ala Phe Ser Gly Leu Glu Gly Leu	
	405 410 415
Glu His Leu Asn Leu Gly Gly Asn Ala Ile Arg Ser Val Gln Phe Asp	
	420 425 430
Ala Phe Val Lys Met Lys Asn Leu Lys Glu Leu His Ile Ser Ser Asp	
	435 440 445
Ser Phe Leu Cys Asp Cys Gln Leu Lys Trp Leu Pro Pro Trp Leu Ile	
	450 455 460
Gly Arg Met Leu Gln Ala Phe Val Thr Ala Thr Cys Ala His Pro Glu	30
465	470 475 480
Ser Leu Lys Gly Gln Ser Ile Phe Ser Val Pro Pro Glu Ser Phe Val	
	485 490 495
Cys Asp Asp Phe Leu Lys Pro Gln Ile Ile Thr Gln Pro Glu Thr Thr	
	500 505 510
Met Ala Met Val Gly Lys Asp Ile Arg Phe Thr Cys Ser Ala Ala Ser	
	515 520 525
Ser Ser Ser Ser Pro Met Thr Phe Ala Trp Lys Lys Asp Asn Glu Val	40

Tyr Thr Cys Glu Met Ser Asn Thr Leu Gly Thr Glu Arg Ala His Ser	
770	775 780
Gln Leu Ser Val Leu Pro Ala Ala Gly Cys Arg Lys Asp Gly Thr Thr	
785	790 795 800
Val Gly Ile Phe Thr Ile Ala Val Val Ser Ser Ile Val Leu Thr Ser	
	805 810 815
Leu Val Trp Val Cys Ile Ile Tyr Gln Thr Arg Lys Lys Ser Glu Glu	10
	820 825 830
Tyr Ser Val Thr Asn Thr Asp Glu Thr Val Val Pro Pro Asp Val Pro	
835	840 845
Ser Tyr Leu Ser Ser Gln Gly Thr Leu Ser Asp Arg Gln Glu Thr Val	
850	855 860
Val Arg Thr Glu Gly Gly Pro Gln Ala Asn Gly His Ile Glu Ser Asn	
865	870 875 880
Gly Val Cys Pro Arg Asp Ala Ser His Phe Pro Glu Pro Asp Thr His	
	885 890 895
Ser Val Ala Cys Arg Gln Pro Lys Leu Cys Ala Gly Ser Ala Tyr His	
	900 905 910
Lys Glu Pro Trp Lys Ala Met Glu Lys Ala Glu Gly Thr Pro Gly Pro	
	915 920 925
His Lys Met Glu His Gly Gly Arg Val Val Cys Ser Asp Cys Asn Thr	30
930	935 940
Glu Val Asp Cys Tyr Ser Arg Gly Gln Ala Phe His Pro Gln Pro Val	
945	950 955 960
Ser Arg Asp Ser Ala Gln Pro Ser Ala Pro Asn Gly Pro Glu Pro Gly	
	965 970 975
Gly Ser Asp Gln Glu His Ser Pro His His Gln Cys Ser Arg Thr Ala	
	980 985 990
Ala Gly Ser Cys Pro Glu Cys Gln Gly Ser Leu Tyr Pro Ser Asn His	40

	995		1000		1005	
Asp Arg Met Leu Thr Ala Val Lys Lys Lys Pro Met Ala Ser Leu Asp						
1010		1015		1020		
Gly Lys Gly Asp Ser Ser Trp Thr Leu Ala Arg Leu Tyr His Pro Asp						
025	1030		1035		1040	
Ser Thr Glu Leu Gln Pro Ala Ser Ser Leu Thr Ser Gly Ser Pro Glu						
	1045		1050		1055	
Arg Ala Glu Ala Gln Tyr Leu Leu Val Ser Asn Gly His Leu Pro Lys						
	1060		1065		1070	
Ala Cys Asp Ala Ser Pro Glu Ser Thr Pro Leu Thr Gly Gln Leu Pro						
	1075		1080		1085	
Gly Lys Gln Arg Val Pro Leu Leu Leu Ala Pro Lys Ser						
1090	1095		1100			

10

<210> 3

<211> 3159

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

20

<400> 3

ACGCCCCACG ACATAACCAT CCGGACCACC ACCGTGGCCC GCCTCGAATG TGCTGCCACA 60

GGTCACCCAA ACCCTCAGAT TGCCTGGCAG AAGGATGGAG GCACGGATTT CCCCCTGCC 120

CGTGAGCGAC GCATGCATGT CATGCCGGAT GACGACGTGT TTTTCATCAC TGATGTGAAA 180

ATAGATGACG CAGGGGTTTA CAGCTGTACT GCTCAGAACT CAGCCGGTTC TATTGNTACA 240

30

40

GCTAATGCCA CCCTGACTGT CCTAGAGACC CCATCCTTGG TGGTCCCCTT GGAAGACCGT	300	
GTGGTATCTG TGGGAGAAAC AGTGGCCCTC CAATGCAAAG CCACGGGGAA CCCTCTGCCC	360	
CGCATCACCT GGTTC AAGGG GGACCTCCCG CTGAAGACCT GCACTGAGCC GGGCACCCT	420	
TGACCCCTGA CAACCAGCTC CTGGTGGTTC AGAACGTGGT GGGCAGAGGA TGC GGGCCGA	480	10
TATACCTGTG AGATGTCCAA CACCCTGGGC ACGGAGCGAG CTCACAGTCC AGCTGAGCGT	540	
CCCTGCCCCG AGACAGGCTG CAGGTAAGGA TTGGAACCAC GGTGGCATC TTCCACCATT	600	
GACTGTCTGT AGCCAGCATC GTCCTGACGT CACTGGATCT TGGGTTTGA TTCATCTATC	660	
AGAACCAGGA AGAAGAGTGA AGAGTTACAG TTTTCCCCAC AACCAGGTTG AAAACCGTTG	720	20
GTGGCACCAG ATGTTCCAAG CTACCTCTCT TCTCAGGGGA CCCTTTCTGA CCGACAAGAA	780	
ACCGTGGTCC AGGACCGAGG GTTCGGCCCT GAGGGCAATG GGCACATTGA GAGCAATGGT	840	
GTGTGTCCAA GAGATGCAAG CCACTTTCCA GAGCCCGACA CTCACAGCGT TGCCTGCAGG	900	30
CAGCCAAAGC TCTGTGCTGG GTCTGGGTAT CACAAAGAGC CGTGGAAGC GATGGAGAAA	960	
GCTGGAAGGG ACACCTGGGC CACATGAAGA TGGGAACACG GTGGACCGGG TCGTATGCAG	1020	
TGACTGCAAC ACCGAAGTGG CAGAGACTGT TTA CTCCAGG GGAACAAGCC TTCCACCCCC	1080	
AGCCTGTGTC CAGAGGACAG TGCACAGCCA AGTGGGCCAA AATGGTCCCG GAGCCGGGTG	1140	40

GGGAAGTGAC CAAGAGGCAT TCTTCCACAT CACCATTGCA GGAGGATTGC CGTTGGGTCC 1200
TGCCCCGAGT GGCCCAGGGT TGTTTTTAAC CCCATTAACC ACGTTAGAAT GTTTTTTGAC 1260
GGTTTTTGAA GGAAAAGCCA TTGGCATCTC TAGATGGGAA AGGGGATTCT TCCTGGACTT 1320
TAGCAAGGTT GTATCACCCG GACTCCACAG AGCTACAGCC TGCATCTTCA TTAACTTCAG 1380
GCAGTCCAGA GCGCGCGGAA GCCCAGTACT TGCTTGTTTC CAATGGCCAC CTCCCCAAG 1440
CATGTGACGC CAGTCCCGAG TCCACGCCAC TGACAGGACA GCTCCCCGGG AACAGAGGG 1500
TGCCACTGCT GTTGGCACCA AAAAGCTAGG TTTTGTCTAC CTCAGTTCTT GGTCATACCA 1560
ATCTCTACGG GAAAGAGAGG TAGGAGAGGC TGCGAGGAAG CTTGGGTTCA AGCGTCACTC 1620
ATCTGTACAT AGTTGTAAC CCCATGTGGA GTATCCAGTC GTTCACAGGA CTTGGGATCT 1680
GAAGCACAGT AAACGCAAGA GGGGGATTTG TGTACCAAAA GGCAAAAAAA AGTATTTGAT 1740
ATCCATTGTA CCATAAGGGT TTTCAGGGGT TTCATATATA TCCTTTTAAC AGAGGTTATT 1800
TTAATCTTTA GTGCATGGTT AACCGGAAAA AATTTTTCCA TTTTGGCCAT TTTATTTTTC 1860
CGTATCCAGG TTGCTGTTA ATTTTGGAGG GGGTTGGGA AATAGTTCTG GTGCCTTAAC 1920
GCATGGCTGG GAATTTATAG AGGCTACAAC CACATTTGTT CACAGGAAGT TTTTGGTGCG 1980

10

20

30

40

GGGTGGGAAG GATGGAAGGC CTTGGAATTT ATATTGCACT TCATAGACCC CTAGGCTGCT	2040	
GTGCGGTGGG ACTCCACATG CGCCCGGAAG GAGCTTTCAG GTGAGCACTG CTCATGTGTG	2100	
GATGCCCCTG CAACAGGCTT CCCTGTCTGT AGAGCCAGGG GTGCAAGTGC CCATCCACAC	2160	
TTGCAGTGAA TGGCTTTTCC TTTTAGTTTT AAGTCCTGTC TGTTTTTAAG GCGTAGGATT	2220	10
TGTCCTTCTG TAAGGCGTGG AATGAGGGTT GTTAATCCAT CACAAGCAAA AGGTCCGAAC	2280	
CGTTAAACAC TGCCTTTCCT CCTCCTTATT TTGGTTCCCT TATTTTATGT TAAAAGCAAA	2340	
TGTGGCCTTC TCAGTATCAT TCGATTGCTA TTTGAGACTT TTAAATTAAG GTAAAGGCTG	2400	
CTGGTGTTGG TACCTGTGGA TTTTCTATA CTGATGTTTT CGTTTTGCCA ATATAATGAG	2460	20
TATTACATTG GCCTTGGGGG ACAGAAAGGA GGAAGTCTG ACTTTTCAGG GCTACCTTAT	2520	
TTCTACTAAG GACCCAGAGC AGGCCTGTCC ATGCCATTCC TTCGCACAGA TGAAACTGAG	2580	
CTGGGACTGG AAAGGACAGC CCTTGACCTG GGTTCTGGGT ATAATTTGCA CTTTTGAGAC	2640	30
TGGTAGCTAA CCATCTTATG AGTGCCAATG TGTCATTTAG TAAAACCTAA ATAGAAACAA	2700	
GGTCCTTCAA ATGTTCCITT GGCCAAAAGC TGAAGGGAGT TACTGAGAAA ATAGTTAACA	2760	
ATTACTGTCA GGTGTCATCA CTGTTCAAAA GGTAAGCACA TTTAGAATTT TGTTCTTGAC	2820	40
AGTTAACTGA CTAATCTTAC TTCCACAAAA TATGTGAATT TGCTGCTTCT GAGAGGCAAT	2880	

GTGAAAGAGG GAGTATTACT TTTATGTACA AAGTTATTTA TTTATAGAAA TTTTGGTACA 2940
 GTGTACATTG AAAACCATGT AAAATATTGA AGTGTCTAAC AAATGGCATT GAAGTGTCTT 3000
 TAATAAAGGT TCATTTATAA ATGTCAAAAT AANNNAAGT TATTTATTTA TAGAAATTTT 3060
 GGTACAGTGT ACATTGAAAA CCATGTAAAA TATTGAAGTG TNCTAACAAA TGGCATTGAA 3120
 GTGTNCTTTA ATAAAGGTC ATTTATAAAT GTCNNAAAA 3159

<210> 4

<211> 140

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 4

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

10

20

30

40

	85		90		95
Leu Glu Asp Arg Val Val Ser Val Gly Glu Thr Val Ala Leu Gln Cys					
	100		105		110
Lys Ala Thr Gly Asn Pro Leu Pro Arg Ile Thr Trp Phe Lys Gly Asp					
	115		120		125
Leu Pro Leu Lys Thr Cys Thr Glu Pro Gly Thr Thr					
	130		135		140

10

<210> 5

<211> 1091

<212> PRT

<213> Unknown

<223> From Mouse

20

<400> 5

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

30

40

Thr Thr Ile Leu His Leu Arg His Val Thr Phe Gly His Glu Gly Arg	
565	570
575	
Tyr Gln Cys Ile Ile Thr Asn His Phe Gly Ser Thr Tyr Ser His Lys	
580	585
590	
Ala Arg Leu Thr Val Asn Val Leu Pro Ser Phe Thr Lys Ile Pro His	
595	600
605	
Asp Ile Ala Ile Arg Thr Gly Thr Thr Ala Arg Leu Glu Cys Ala Ala	10
610	615
620	
Thr Gly His Pro Asn Pro Gln Ile Ala Trp Gln Lys Asp Gly Gly Thr	
625	630
635	640
Asp Phe Pro Ala Ala Arg Glu Arg Arg Met His Val Met Pro Asp Asp	
645	650
655	
Asp Val Phe Phe Ile Thr Asp Val Lys Ile Asp Asp Met Gly Val Tyr	
660	665
670	20
Ser Cys Thr Ala Gln Asn Ser Ala Gly Ser Val Ser Ala Asn Ala Thr	
675	680
685	
Leu Thr Val Leu Glu Thr Pro Ser Leu Ala Val Pro Leu Glu Asp Arg	
690	695
700	
Val Val Thr Val Gly Glu Thr Val Ala Phe Gln Cys Lys Ala Thr Gly	
705	710
715	720
Ser Pro Thr Pro Arg Ile Thr Trp Leu Lys Gly Gly Arg Pro Leu Ser	30
725	730
735	
Leu Thr Glu Arg His His Phe Thr Pro Gly Asn Gln Leu Leu Val Val	
740	745
750	
Gln Asn Val Met Ile Asp Asp Ala Gly Arg Tyr Thr Cys Glu Met Ser	
755	760
765	
Asn Pro Leu Gly Thr Glu Arg Ala His Ser Gln Leu Ser Ile Leu Pro	
770	775
780	40
Thr Pro Gly Cys Arg Lys Asp Gly Thr Thr Val Gly Ile Phe Thr Ile	

Cys Ile Asp Leu Lys Pro Ser Pro Thr Leu Ala Ser Gly Ser Pro Glu
 025 1030 1035 1040
 Leu Met Glu Asp Ala Ile Ser Thr Glu Ala Gln His Leu Leu Val Ser
 1045 1050 1055
 Asn Gly His Leu Pro Lys Ala Cys Asp Ser Ser Pro Glu Ser Val Pro
 1060 1065 1070
 Leu Lys Gly Gln Ile Thr Gly Lys Arg Arg Gly Pro Leu Leu Leu Ala
 1075 1080 1085
 Pro Arg Ser
 1090

10

<210> 6

<211> 353

<212> PRT

20

<213> Unknown

<223> From Mammal

<400> 6

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

30

40

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

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 25/28	4 C 0 8 4
A 6 1 P 25/28	C 0 7 K 14/705	4 H 0 4 5
C 0 7 K 14/705	C 0 7 K 16/28	
C 0 7 K 16/28	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/15	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/19	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 1/21	C 1 2 P 21/02	C
C 1 2 N 5/10	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 P 21/02	C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 Q 1/02	G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 Q 1/68	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/15	G 0 1 N 33/68	
G 0 1 N 33/50	C 1 2 N 5/00	A
G 0 1 N 33/68	A 6 1 K 37/02	

(72)発明者 シュージャン, ウー
 アメリカ合衆国 1 9 0 5 4 ペンシルバニア州, レビットタウン, ミル クリーク ロード 9
 0 7 1, アパートメント 8 2 6

(72)発明者 レイモンド, ダブル. スウィート
 アメリカ合衆国 1 9 0 0 4 ペンシルバニア州, バラ シンウィッド, エッジヒル ロード 1
 0 8

(72)発明者 アレムセジド トルーネ
 アメリカ合衆国 1 9 3 8 2 ペンシルバニア州, ウェスト チェスター, ストーンヘム ドライ
 ブ 1 0 0 8

Fターム(参考) 2G045 AA34 AA35 DA13 DA36 FB02
 4B024 AA01 AA11 BA63 CA04 DA02 DA05 DA11 EA02 EA03 EA04
 EA06 GA11 HA14
 4B063 QA01 QA05 QA18 QQ06 QQ08 QQ42 QQ53 QR48 QR51 QR75
 QR77 QS33
 4B064 AG20 CA02 CA10 CA19 CC24 DA01 DA13
 4B065 AA15X AA26X AA49X AA50X AA53X AA60X AA72X AA90X AA93X AA93Y
 AB01 BA02 CA24 CA44 CA46
 4C084 AA02 AA13 AA17 AA19 DA39 MA02 NA14 ZA021 ZA161 ZC351
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA50 DA75 EA20 EA50
 FA74

专利名称(译)	人类lig-1同源物 (hlig-1)		
公开(公告)号	JP2004041175A	公开(公告)日	2004-02-12
申请号	JP2003106911	申请日	2003-04-10
[标]申请(专利权)人(译)	史密斯克莱恩比彻姆公司		
申请(专利权)人(译)	史克必成公司		
[标]发明人	シュージャンウー レイモンドダブルスウィート アテムセジドトルーネ		
发明人	シュージャン,ウー レイモンド,ダブル.スウィート アテムセジド トルーネ		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/00 A61K38/00 A61K39/00 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P3/00 A61P3/10 A61P9/00 A61P9/02 A61P25/00 A61P25/28 C07K14/47 C07K14/705 C07K16/18 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566 G01N33/577 G01N33/68		
CPC分类号	A61K39/00 A61P3/00 A61P3/10 A61P25/00 A61P25/28 C07K14/70503		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K45/00 A61K48/00 A61P3/10 A61P25/00 A61P25/28 C07K14/705 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/68 C12N5/00.A A61K37/02 A61K38/00 C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N5/00.101 C12N5/10		
F-TERM分类号	2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/FB02 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA63 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA11 4B024/EA02 4B024/EA03 4B024/EA04 4B024/EA06 4B024/GA11 4B024/HA14 4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QA18 4B063/QQ06 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ53 4B063/QR48 4B063/QR51 4B063/QR75 4B063/QR77 4B063/QS33 4B064/AG20 4B064/CA02 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA15X 4B065/AA26X 4B065/AA49X 4B065/AA50X 4B065/AA53X 4B065/AA60X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/AA19 4C084/DA39 4C084/MA02 4C084/NA14 4C084/ZA021 4C084/ZA161 4C084/ZC351 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74		
优先权	60/059448 1997-09-22 US 08/986485 1997-12-08 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

产生HLIG-1多肽和多核苷酸的方法及其在疾病治疗和诊断测定中的用途。编码在全长上具有至少80%同一性的多肽的核苷酸序列与编码具有特定序列的HLIG-1多肽的核苷酸序列和编码具有HLIG-1多肽活性的多肽的核苷酸序列，或该核苷酸序列分离包含与之互补的核苷酸序列的多核苷酸。 [选择图]无

