

(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2005-270107

(P2005-270107A)

(43) 公開日 平成17年10月6日(2005.10.6)

(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	4 B O 2 4
C O 7 K 14/47	C O 7 K 14/47	4 B O 6 4
C O 7 K 16/18	C O 7 K 16/18	4 B O 6 5
C O 7 K 16/46	C O 7 K 16/46	4 C O 8 4
C O 7 K 19/00	C O 7 K 19/00	4 H O 4 5
審査請求 未請求 請求項の数 36 O L (全 126 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2005-118968 (P2005-118968)	(71) 出願人	596168317
(22) 出願日	平成17年4月15日 (2005.4.15)		ジェネンテック・インコーポレーテッド
(62) 分割の表示	特願2005-54646 (P2005-54646)		GENENTECH, INC.
原出願日	平成12年8月24日 (2000.8.24)		アメリカ合衆国カリフォルニア・9408
(31) 優先権主張番号	PCT/US99/20111		0-4990・サウス・サン・フランシス
(32) 優先日	平成11年9月1日 (1999.9.1)	(74) 代理人	100109726
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 園田 吉隆
(31) 優先権主張番号	PCT/US99/21090	(74) 代理人	100101199
(32) 優先日	平成11年9月15日 (1999.9.15)		弁理士 小林 義敦
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	イトン, ダン, エル.
(31) 優先権主張番号	60/169,495		アメリカ合衆国 カリフォルニア 949
(32) 優先日	平成11年12月7日 (1999.12.7)		01, サンラファエル, ナイト ドライブ
(33) 優先権主張国	米国 (US)		75
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 分泌及び膜貫通ポリペプチドとそれをコードしている核酸

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 食道腫瘍において過小発現している、新規なポリペプチド、及びそれをコードしている核酸の提供。

【解決手段】 治療又は診断薬剤としての潜在力を有する、新規なポリペプチド、及びこれらのポリペプチドをコードする核酸分子に関し、これら核酸配列を含んでなる宿主細胞及びベクター、異種ポリペプチド配列に融合しているポリペプチドを含んでなるキメラポリペプチド分子、ポリペプチドへ結合するモノクローナル抗体などを含む抗体、及びポリペプチドを生産する方法を提供する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の (a) 又は (b) のヌクレオチド配列を有する単離された核酸：

(a) 配列番号：136 に示されているアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列；及び

(b) (a) のヌクレオチドと配列と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ正常な食道と比べて食道腫瘍において過少発現しているポリペプチドをコードするヌクレオチド配列。

【請求項 2】

以下の (a) 又は (b) のヌクレオチド配列を有する単離された核酸：

10

(a) 配列番号：135 に示されているヌクレオチド配列；及び

(b) (a) のヌクレオチドと配列と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ正常な食道と比べて食道腫瘍において過少発現しているポリペプチドをコードするヌクレオチド配列。

【請求項 3】

以下の (a) 又は (b) のヌクレオチド配列を有する単離された核酸：

(a) 配列番号：135 に示されているヌクレオチド配列の完全長コード化配列；及び

(b) (a) のヌクレオチドと配列と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ正常な食道と比べて食道腫瘍において過少発現しているポリペプチドをコードする完全長コード化配列。

20

【請求項 4】

以下の (a) 又は (b) のヌクレオチド配列を有する単離された核酸：

(a) ATCC 寄託番号 203547 で寄託されている DNA の完全長コード化配列；及び

(b) (a) のヌクレオチドと配列と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ正常な食道と比べて食道腫瘍において過少発現しているポリペプチドをコードする完全長コード化配列。

【請求項 5】

以下の (a) 又は (b) のヌクレオチド配列を有する単離された核酸：

(a) 配列番号：136 に示されているポリペプチドであって、シグナルペプチドを欠くものをコードするヌクレオチド配列；及び

30

(b) (a) のヌクレオチドと配列と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ正常な食道と比べて食道腫瘍において過少発現しているポリペプチドをコードするヌクレオチド配列。

【請求項 6】

以下の (a) 又は (b) のヌクレオチド配列を有する単離された核酸：

(a) 配列番号：136 に示されているポリペプチドの細胞外ドメインであって、シグナルペプチドを有するものをコードするヌクレオチド配列；及び

(b) (a) のヌクレオチドと配列と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ正常な食道と比べて食道腫瘍において過少発現しているポリペプチドをコードするヌクレオチド配列。

40

【請求項 7】

以下の (a) 又は (b) のヌクレオチド配列を有する単離された核酸：

(a) 配列番号：136 に示されているポリペプチドの細胞外ドメインであって、シグナルペプチドを欠くものをコードするヌクレオチド配列；及び

(b) (a) のヌクレオチドと配列と相補的なヌクレオチド配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ正常な食道と比べて食道腫瘍において過少発現しているポリペプチドをコードするヌクレオチド配列。

【請求項 8】

配列番号：136 に示されてい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

50

なる、請求項 1 に記載の単離された核酸。

【請求項 9】

配列番号：135 に示されているヌクレオチド配列を含んでなる、請求項 2 に記載の単離された核酸。

【請求項 10】

配列番号：135 に示されているヌクレオチド配列の完全長コード化配列を含んでなる、請求項 3 に記載の単離された核酸。

【請求項 11】

A T C C 寄託番号 203547 で寄託されている D N A の完全長コード化配列を含んでなる、請求項 4 に記載の単離された核酸。

【請求項 12】

配列番号：136 に示されているポリペプチドであって、そのシグナルペプチドを欠くものをコードするヌクレオチド配列を含んでなる、請求項 5 に記載の単離された核酸。

【請求項 13】

配列番号：136 に示されているポリペプチドの細胞外ドメインであって、そのシグナルペプチドを有するものをコードするヌクレオチド配列を含んでなる、請求項 6 に記載の単離された核酸。

【請求項 14】

配列番号：136 に示されているポリペプチドの細胞外ドメインであって、そのシグナルペプチドを欠くものをコードするヌクレオチド配列を含んでなる、請求項 7 に記載の単離された核酸。

【請求項 15】

請求項 1 ないし 14 の何れか 1 項の核酸を含んでなるベクター。

【請求項 16】

請求項 15 のベクターで形質転換された宿主細胞によって認識されるコントロール配列と、作用可能に連結した請求項 15 のベクター。

【請求項 17】

請求項 15 のベクターを含んでなる宿主細胞。

【請求項 18】

前記細胞が C H O 細胞である、請求項 17 の宿主細胞。

【請求項 19】

前記細胞が大腸菌である、請求項 17 の宿主細胞。

【請求項 20】

前記細胞が酵母菌である、請求項 17 の宿主細胞。

【請求項 21】

請求項 15 のベクターによってコードされているポリペプチドの発現に適した条件下で請求項 17 の宿主細胞を培養し、該細胞培養より前記ポリペプチドを回収することを含んでなる、前記ポリペプチドを産生させる方法。

【請求項 22】

以下の (a) 又は (b) のアミノ酸配列を有する単離されたポリペプチド：

(a) 配列番号：136 に示されているポリペプチドのアミノ酸配列；及び

(b) (a) のアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列であって、かつ正常な食道と比べて食道腫瘍において過少発現しているポリペプチドのアミノ酸配列。

【請求項 23】

以下の (a) 又は (b) のアミノ酸配列を有する単離されたポリペプチド：

(a) A T C C 寄託番号 203547 で寄託された D N A の完全長コード化配列によってコードされているアミノ酸配列；及び

(b) (a) のアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列であって、かつ正常な食道と比べて食道腫瘍において過少発現して

10

20

30

40

50

いるポリペプチドのアミノ酸配列。

【請求項 2 4】

以下の (a) 又は (b) のアミノ酸配列を有する単離されたポリペプチド：

(a) 配列番号：1 3 6 に示されているポリペプチドであって、シグナル配列を欠くもののアミノ酸配列；及び

(b) (a) のアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列であって、かつ正常な食道と比べて食道腫瘍において過少発現しているポリペプチドのアミノ酸配列。

【請求項 2 5】

以下の (a) 又は (b) のアミノ酸配列を有する単離されたポリペプチド：

(a) 配列番号：1 3 6 に示されているポリペプチドの細胞外ドメインであって、シグナル配列を有するもののアミノ酸配列；及び

(b) (a) のアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列であって、かつ正常な食道と比べて食道腫瘍において過少発現しているポリペプチドのアミノ酸配列。

【請求項 2 6】

以下の (a) 又は (b) のアミノ酸配列を有する単離されたポリペプチド：

(a) 配列番号：1 3 6 に示されているポリペプチドの細胞外ドメインであって、シグナル配列を欠くもののアミノ酸配列；及び

(b) (a) のアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列であって、かつ正常な食道と比べて食道腫瘍において過少発現しているポリペプチドのアミノ酸配列。

【請求項 2 7】

配列番号：1 3 6 に示されているアミノ酸配列を含んでなる、請求項 2 2 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 2 8】

A T C C 寄託番号 2 0 3 5 4 7 で寄託されている D N A の完全長コード化配列によってコードされているアミノ酸配列を含んでなる、請求項 2 3 に記載の単離された核酸。

【請求項 2 9】

配列番号：1 3 6 に示されているポリペプチドのアミノ酸配列であって、シグナルペプチドを欠くものを含んでなる、請求項 2 4 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 3 0】

配列番号：1 3 6 に示されているポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列であって、シグナルペプチドを有するものを含んでなる、請求項 2 5 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 3 1】

配列番号：1 3 6 に示されているポリペプチドの細胞外ドメインのアミノ酸配列であって、シグナルペプチドを欠くものを含んでなる、請求項 2 6 に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 3 2】

異種アミノ酸配列と融合した請求項 2 2 ないし 3 1 の何れか 1 項に記載のポリペプチドを含んでなる、キメラ分子。

【請求項 3 3】

前記異種アミノ酸配列がエピトープタグである、請求項 3 2 のキメラ分子。

【請求項 3 4】

前記異種アミノ酸配列が免疫グロブリンの F c 領域である、請求項 3 2 のキメラ分子。

【請求項 3 5】

請求項 2 2 ないし 3 1 の何れか 1 項に記載のポリペプチドと特異的に結合する抗体。

【請求項 3 6】

前記抗体がモノクローナル抗体、ヒト化抗体、又は、一本鎖抗体である、請求項 3 5 の

10

20

30

40

50

抗体。

【発明の詳細な説明】

【発明の開示】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、一般的に、新規なDNAの同定及び単離、及び新規なポリペプチドの組換え生産に関する。

【0002】

(発明の背景)

細胞外タンパク質は、特に、多細胞生物の形成、分化及び維持において重要な役割を担っている。多くの個々の細胞の運命、例えば増殖、遊走、分化又は他の細胞との相互作用は、典型的には、他の細胞及び/又は直近の環境から受け取る情報に支配される。この情報は、しばしば分泌ポリペプチド(例えば、分裂促進因子、生存因子、細胞障害性因子、分化因子、神経ペプチド、及びホルモン)により伝達され、これが、翻って多様な細胞レセプター又は膜結合タンパク質により受け取られ解釈される。これらの分泌ポリペプチド又はシグナル分子は、通常は細胞分泌経路を通過して、細胞外環境におけるその作用部位に到達する。

10

分泌タンパク質は、製薬、診断、バイオセンサー及びバイオリアクターを含む、様々な産業上の利用性を有している。血栓溶解剤、インターフェロン、インターロイキン、エリスロポエチン、コロニー刺激因子、及び種々の他のサイトカインのような、現在入手可能な大抵のタンパク質薬物は分泌タンパク質である。また、膜タンパク質であるこれらレセプターは、治療又は診断薬剤としての潜在力を有する。新規な未変性分泌タンパク質を同定する努力が産業界及び学術界の両方によってなされている。多くの努力が新規な分泌タンパク質のコード配列を同定するために哺乳類組換えDNAライブラリーのスクリーニングに注がれている。スクリーニング方法及び技術の例は文献に記載されている[例えば、Kleinら, Proc. Natl. Acad. Sci. 93;7108-7113(1996); 米国特許第5,536,637号を参照されたい]。

20

【0003】

膜結合タンパク質及びレセプターは、多細胞生物の形成、分化及び維持において重要な役割を担っている。多くの個々の細胞の運命、例えば増殖、遊走、分化又は他の細胞との相互作用は、典型的には他の細胞及び/又は直近の環境から受け取られる情報に支配される。この情報は、しばしば分泌ポリペプチド(例えば、分裂促進因子、生存因子、細胞障害性因子、分化因子、神経ペプチド、及びホルモン)により伝達され、これが次に多様な細胞レセプター又は膜結合タンパク質により受け取られ解釈される。このような膜結合タンパク質及び細胞レセプターは、これらに限定されるものではないが、サイトカインレセプター、レセプターキナーゼ、レセプターホスファターゼ、細胞-細胞間相互作用に関与するレセプター、及びセレクチン及びインテグリンのような細胞接着分子を含む。例えば、細胞の増殖及び分化を調節するシグナルの伝達は、様々な細胞タンパク質のリン酸化により部分的に調節される。そのプロセスを触媒する酵素であるプロテインチロシンキナーゼはまた成長因子レセプターとしても作用する。具体例には、繊維芽細胞増殖因子及び神経成長因子レセプターが含まれる。

30

膜結合タンパク質及びレセプター分子は、製薬及び診断薬を含む、様々な産業上の利用性を有している。例えば、レセプターイムノアドヘシンはレセプター-リガンド間相互作用を阻止する治療薬として使用することができる。膜結合タンパク質はまた、関連するレセプター/リガンド間相互作用の可能性のあるペプチド又は小分子インヒビターをスクリーニングするために使用することもできる。

40

新規な天然のレセプター又は膜結合タンパク質を同定するための努力が産業界と学術界の双方によってなされている。多くの努力が、新規なレセプター又は膜結合タンパク質のコード配列を同定するために、哺乳動物の組換えDNAライブラリーのスクリーニングに注がれている。

50

【 0 0 0 4 】

(発明の概要)

一実施態様では、本発明は、P R Oポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子を提供する。

一側面では、単離された核酸分子は、(a)ここに開示された全長アミノ酸配列、ここに開示されたシグナルペプチドを欠くアミノ酸配列、シグナルペプチドを伴うか伴わないここに開示した膜貫通タンパク質の細胞外ドメイン又はここに開示された全長アミノ酸配列の任意の他の特に定められた断片を有するP R OポリペプチドをコードするD N A分子、又は(b) (a)のD N A分子の<U>相補鎖</U>に対して、少なくとも約80%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約81%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約82%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約83%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約84%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約85%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約86%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約87%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約88%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約89%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約90%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約91%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約92%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約93%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約94%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約95%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約96%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約97%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約98%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約99%の核酸配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む。

【 0 0 0 5 】

他の側面では、単離された核酸分子は、(a)ここに開示された完全長P R Oポリペプチドc D N Aのコード配列、ここに開示されたシグナルペプチドを欠くP R OポリペプチドD N Aのコード配列、又はシグナルペプチドを伴うか伴わないここに開示した膜貫通P R Oポリペプチドの細胞外ドメインのコード配列又はここに開示された全長アミノ酸配列の任意の他の特に定められた断片のコード配列を含むD N A分子、又は(b) (a)のD N A分子の相補鎖に対して、少なくとも約80%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約81%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約82%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約83%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約84%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約85%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約86%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約87%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約88%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約89%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約90%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約91%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約92%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約93%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約94%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約95%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約96%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約97%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約98%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約99%の核酸配列同一性を有しているヌクレオチド配列を含んでなる。

【 0 0 0 6 】

さらなる側面では、本発明は、(a)ここに開示されたA T T Cに寄託している任意のヒトタンパク質c D N Aによってコードされている同じ成熟ポリペプチドをコードするD N A分子、又は(b) (a)のD N A分子の相補鎖に対して、少なくとも約80%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約81%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約82%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約83%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約84%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約85%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約86%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約87%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約88%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約89%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約90%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約91%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約92%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約93%の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約94%の核酸配列同一性、あるいは少な

くとも約 95% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 96% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 97% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 98% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 99% の核酸配列同一性を有しているヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子に関する。

【0007】

本発明の他の側面は、膜貫通ドメインが欠失又は膜貫通ドメインが不活性化のいずれかの PRO ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、或いはそのようなコード化ヌクレオチド配列に相補的な PRO ポリペプチドを含んでなる単離された核酸分子を提供し、そのようなポリペプチドの膜貫通ドメインはここで開示される。従って、ここで記載された PRO ポリペプチドの可溶性細胞外ドメインが考慮される。

10

【0008】

他の実施態様は PRO ポリペプチドコード化配列の断片、又はその相補鎖に向けられ、それらは、例えば、場合によっては抗-PRO 抗体に対する結合部位を含むポリペプチドをコードする PRO ポリペプチドのコード化断片のハイブリダイゼーションプローブとして、又はアンチセンスオリゴヌクレオチドプローブとしての用途が見いだされる。このような核酸断片は、通常は少なくとも約 20 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 30 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 40 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 50 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 60 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 70 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 80 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 90 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 100 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 110 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 120 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 130 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 140 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 150 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 160 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 170 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 180 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 190 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 200 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 250 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 300 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 350 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 400 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 450 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 500 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 600 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 700 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 800 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 900 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 1000 ヌクレオチド長であり、ここで「約」という語の内容は参照する長さのプラス又はマイナス 10% のヌクレオチド配列長を指すことを意味する。PRO ポリペプチドコード化ヌクレオチド配列の新規な断片は、多くの良く知られた配列アラインメントプログラムの任意のものを用いて PRO ポリペプチドコード化ヌクレオチド配列と他の公知のヌクレオチド配列とを整列させ、いずれの PRO ポリペプチドコード化ヌクレオチド配列断片が新規であるかを決定することにより、日常的な手法で同定してもよい。このような PRO ポリペプチドコード化ヌクレオチド配列は、全てここで考慮される。また、これらのヌクレオチド分子断片、好ましくは抗-PRO 抗体に対する結合部位を含む PRO ポリペプチド断片によってコードされる PRO ポリペプチド断片も考慮される。

20

30

40

【0009】

その他の実施態様では、本発明は、上記で特定された単離された核酸配列の任意のものにコードされる単離された PRO ポリペプチドを提供する。

或る側面では、本発明は、ここに開示されている全長アミノ酸配列、ここに開示されているシグナルペプチドを欠くアミノ酸配列、ここに開示されているシグナルペプチド有又は無の膜貫通タンパク質の細胞外ドメイン、又はここに開示されている全長アミノ酸配列の特に同定された他の断片を持つ PRO ポリペプチドに対して少なくとも約 80% のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 81% のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 82% のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 83% のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 84% のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 85% のアミ

50

ノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 86 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 87 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 88 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 89 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 90 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 91 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 92 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 93 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 94 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 95 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 96 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 97 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 98 % のアミノ酸配列同一性、そして、あるいは少なくとも約 99 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O ポリペプチドに関する。

10

【 0 0 1 0 】

さらなる態様では、本発明は、ここに開示されている A T C C に寄託された任意のヒトタンパク質 c D N A によってコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも約 80 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 81 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 82 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 83 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 84 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 85 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 86 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 87 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 88 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 89 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 90 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 91 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 92 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 93 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 94 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 95 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 96 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 97 % のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約 98 % のアミノ酸配列同一性、そして、あるいは少なくとも約 99 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含んでなる単離された P R O ポリペプチドに関する。

20

【 0 0 1 1 】

特別な側面では、本発明は、N-末端シグナル配列及び/又は開始メチオニンを持たず、上記したようなアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列によってコードされる単離された P R O ポリペプチドを提供する。これらを製造する方法もここに記載され、これらの方法は、適当なコード化核酸分子を含むベクターを含む宿主細胞を P R O ポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、培養培地から P R O ポリペプチドを回収することを含む。

30

本発明の他の態様は、膜貫通ドメインが欠失又は膜貫通ドメインが不活性化のいずれかの単離された P R O ポリペプチドを提供する。これを製造する方法もここに記載され、その方法は、適当なコード化核酸分子を含むベクターを含む宿主細胞を P R O ポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、培養培地から P R O ポリペプチドを回収することを含む。

【 0 0 1 2 】

さらに他の実施態様では、本発明は、ここで同定される天然 P R O ポリペプチドのアゴニスト及びアンタゴニストに関する。特別な実施態様では、アゴニスト又はアンタゴニストは抗-P R O 抗体又は小分子である。

40

さらなる実施態様では、本発明は、P R O ポリペプチドのアゴニスト又はアンタゴニストを同定する方法に関し、それは、P R O ポリペプチドを候補分子と接触させ、前記 P R O ポリペプチドによって媒介される生物学的活性をモニターすることを含む。好ましくは、P R O ポリペプチドは天然 P R O ポリペプチドである。

またさらなる実施態様では、本発明は、P R O ポリペプチド、又はここに記載する P R O ポリペプチドのアゴニスト又はアンタゴニスト、又は抗-P R O 抗体を担体と組み合わせて含む組成物に関する。場合によっては、担体は製薬的に許容される担体である。

【 0 0 1 3 】

50

本発明のその他の実施態様は、PROポリペプチド、又は上記したようなそのアゴニスト又はアンタゴニスト、又は抗-PRO抗体の、PROポリペプチド、そのアゴニスト又はアンタゴニスト又は抗-PRO抗体に反応性のある症状の治療に有用な医薬の調製のための使用に向けられる。

本発明のさらなる実施態様では、本発明は、ここに記載の任意のポリペプチドをコードするDNAを含むベクターを提供する。任意のそのようなベクターを含む宿主細胞も提供される。例としては、宿主細胞はCHO細胞、大腸菌、又は酵母であってもよい。ここに記載の任意のポリペプチドの製造方法がさらに提供されており、それは、宿主細胞を所望のポリペプチドの発現に適した条件下で培養し、細胞培地から所望のポリペプチドを回収することを含む。

10

【0014】

他の実施態様では、本発明は、異種ポリペプチド又はアミノ酸配列に融合した、ここに記載の任意のポリペプチドを含んでなるキメラ分子を提供する。そのようなキメラ分子の例は、エプITOタグ配列又は免疫グロブリンのFc領域に融合したここに記載の任意のポリペプチドを含む。

その他の実施態様では、本発明は、上記又は下記のポリペプチドの任意のものに特異的に結合する抗体を提供する。場合によっては、抗体はモノクローナル抗体、ヒト化抗体、抗体断片又は一本鎖抗体である。

さらに他の実施態様では、本発明は、ゲノム及びcDNAヌクレオチド配列又はアンチセンスプローブの単離に有用なオリゴヌクレオチドプローブを提供し、それらのプローブは上記又は下記のヌクレオチド配列の任意のものから誘導されうる。

20

さらに他の実施態様では、本発明は、下記の実施例に示される機能的生物学的アッセイデータに基づく種々の利用についての本発明のPROポリペプチドの利用方法に関する。

【0015】

(好適な実施態様の詳細な説明)

I. 定義

ここで使用される際の「PROポリペプチド」及び「PRO」という用語は、直後に数値符号がある場合に種々のポリペプチドを指し、完全な符号(例えば、PRO/番号)は、ここに記載する特定のポリペプチド配列を意味する。「数字」がここで使用される実際の数値符号である、ここで使用される「PRO/番号ポリペプチド」及び「PRO/番号」という用語は、天然配列ポリペプチド及び変異体(ここで更に詳細に定義する)を含む。ここで記載されているPROポリペプチドは、ヒト組織型又は他の供給源といった種々の供給源から単離してもよく、組換え又は合成方法によって調製してもよい。「PROポリペプチド」という用語は、ここで開示されている各個々のPRO/番号ポリペプチドに指す。「PROポリペプチド」を指すこの明細書中の全ての開示は、各ポリペプチドを個別にも組み合わせとしても言及する。例えば、調製の、精製の、誘導の、抗体の形成、投与の、含有する組成物、疾患の治療、などの記述は、本発明の各ポリペプチドに個別に関係する。また、「PROポリペプチド」という用語は、ここに開示されているPRO/番号ポリペプチドの変異体を含む。

30

【0016】

「天然配列PROポリペプチド」は、天然由来の対応するPROポリペプチドと同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含んでいる。このような天然配列PROポリペプチドは、自然から単離することもできるし、組換え又は合成手段により生産することもできる。「天然配列PROポリペプチド」という用語には、特に、特定のPROポリペプチドの自然に生じる切断又は分泌形態(例えば、細胞外ドメイン配列)、自然に生じる変異形態(例えば、選択的にスプライシングされた形態)及びそのポリペプチドの自然に生じる対立遺伝子変異体が含まれる。本発明の種々の実施態様において、ここに開示されている天然配列PROポリペプチドは、関連する図に示されている全長アミノ酸配列を含有する成熟又は全長天然配列ポリペプチドである。開始及び終止コドンは、太い書体及び下線で図中に示されている。しかし、関連する図に開示されているPROポリペプチドがメチオニン残

40

50

基で開始すると図のアミノ酸位置 1 において示されている一方で、図のアミノ酸位置 1 より上流又は下流のいずれかに位置する他のメチオニン残基が、PROポリペプチドの開始アミノ酸残基として用いられることが考えられるし可能である。

【0017】

PROポリペプチド「細胞外ドメイン」又は「ECD」は、膜貫通及び細胞質ドメインを実質的に有しないPROポリペプチドの形態を意味する。通常、PROポリペプチドECDは、それらの膜貫通及び/又は細胞質ドメインを1%未満、好ましくはそのようなドメインを0.5%未満しか持たない。本発明のPROポリペプチドについて同定された任意の膜貫通ドメインは、疎水性ドメインのその型を同定するために当該分野において日常的に使用される基準に従い同定されることが理解されるであろう。膜貫通ドメインの厳密な境界は変わり得るが、最初に同定されたドメインのいずれかの末端から約5アミノ酸を越えない可能性が高い。従って、PROポリペプチド細胞外ドメインは、場合によっては、実施例又明細書において同定された膜貫通ドメインのいずれかの末端から約5を越えないアミノ酸を含みうるし、付着のシグナルペプチドを有する又は有しないそのようなポリペプチド及びそれらをコードする核酸は、本発明において考慮される。

10

【0018】

ここに開示する種々のPROポリペプチドの「シグナルペプチド」の適切な位置は、本明細書と添付の図面に示される。しかし、注記するように、シグナルペプチドのC-末端境界は変化しうるが、ここで最初に定義したようにシグナルペプチドC-末端境界のいずれかの側で約5アミノ酸未満である可能性が最も高く、シグナルペプチドのC-末端境界は、そのような型のアミノ酸配列成分を同定するのに日常的に使用される基準に従って同定しうる(例えば、Nielsenら, Prot. Eng. 10: 1-6 (1997)及びvon Heinjeら, Nucl. Acids. Res. 14: 4683-4690 (1986))。さらに、幾つかの場合には、分泌ポリペプチドからのシグナルペプチドの切断は完全に均一ではなく、1つ以上の分泌種をもたらすことも認められる。シグナルペプチドがここに定義されるシグナルペプチドのC-末端境界の何れかの側の約5アミノ酸未満内で切断されるこれらの成熟ポリペプチド、及びそれらをコードするポリヌクレオチドは、本発明で考慮される。

20

【0019】

「PROポリペプチド変異体」とは、上記又は下記に定義されるように、ここに開示される全長天然配列PROポリペプチド、ここに開示されたシグナルペプチドを欠く全長天然配列PROポリペプチド配列、シグナルペプチド有無のここに開示されたPROの細胞外ドメイン又はここに開示された全長PROポリペプチドの他の断片と、少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性を有する活性PROポリペプチドを意味する。このようなPROポリペプチド変異体には、例えば、全長天然アミノ酸配列のN-又はC-末端において1つ又は複数のアミノ酸残基が付加、もしくは欠失されたPROポリペプチドが含まれる。通常、PROポリペプチド変異体は、ここに開示される全長天然アミノ酸配列、ここに開示されたシグナルペプチドを欠く全長天然配列PROポリペプチド配列、シグナルペプチドを有する又は有しないここに開示されたPROの細胞外ドメイン又はここに開示された全長PROポリペプチドの特に同定された他の断片と、少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約81%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約82%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約83%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約84%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約85%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約86%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約87%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約88%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約89%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約90%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約91%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約92%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約93%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約94%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約95%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約96%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約97%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約98%のアミノ酸配列同一性、そして

30

40

50

、あるいは少なくとも約 99 % のアミノ酸配列同一性を有している。通常は、PRO 変異体ポリペプチドは、少なくとも約 10 アミノ酸長、あるいは少なくとも約 20 アミノ酸長、あるいは少なくとも約 30 アミノ酸長、あるいは少なくとも約 40 アミノ酸長、あるいは少なくとも約 50 アミノ酸長、あるいは少なくとも約 60 アミノ酸長、あるいは少なくとも約 70 アミノ酸長、あるいは少なくとも約 80 アミノ酸長、あるいは少なくとも約 90 アミノ酸長、あるいは少なくとも約 100 アミノ酸長、あるいは少なくとも約 150 アミノ酸長、あるいは少なくとも約 200 アミノ酸長、あるいは少なくとも約 300 アミノ酸長、又はそれ以上である。

【0020】

ここに定義される PRO ポリペプチドに対してここで同定されている「パーセント(%) アミノ酸配列同一性」は、配列を整列させ、最大のパーセント配列同一性を得るために必要ならば間隙を導入し、如何なる保存的置換も配列同一性の一部と考えないとした、PRO ポリペプチドのアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセントとして定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、当業者の技量の範囲にある種々の方法、例えば BLAST、BLAST-2、ALIGN 又は Megalign (DNASTAR) ソフトウェアのような公に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用することにより達成可能である。当業者であれば、比較される配列の全長に対して最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。しかし、ここでの目的のためには、% アミノ酸配列同一性値は、ALIGN-2 プログラム用の完全なソースコードが下記の表 1 に提供されている配列比較プログラム ALIGN-2 を使用することによって得られる。ALIGN-2 配列比較コンピュータプログラムはジェネンテク社によって作成され、下記の表 1 に示したソースコードは米国著作権事務所、ワシントン D.C., 20559 に使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号 TXU510087 の下で登録されている。ALIGN-2 はジェネンテク社、サウスサンフランシスコ、カリフォルニアから好適に入手可能であり、下記の表 1 に提供されたソースコードからコンパイルしてもよい。ALIGN-2 プログラムは、UNIX (登録商標) オペレーティングシステム、好ましくはデジタル UNIX (登録商標) V4.0D での使用のためにコンパイルされる。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2 プログラムによって設定され変動しない。

【0021】

アミノ酸配列比較に ALIGN-2 が用いられる状況では、与えられたアミノ酸配列 A の、与えられたアミノ酸配列 B との、又はそれに対する % アミノ酸配列同一性 (あるいは、与えられたアミノ酸配列 B と、又はそれに対して或る程度の % アミノ酸配列同一性を持つ又は含む与えられたアミノ酸配列 A と言うこともできる) は次のように計算される：

分率 X/Y の 100 倍

ここで、 X は配列アラインメントプログラム ALIGN-2 の A 及び B のアラインメントによって同一であると一致したスコアのアミノ酸残基の数であり、 Y は B の全アミノ酸残基数である。アミノ酸配列 A の長さがアミノ酸配列 B の長さとは異なる場合、A の B に対する % アミノ酸配列同一性は、B の A に対する % アミノ酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。この方法を用いた % アミノ酸配列同一性の計算の例として、「PRO」が対象となる仮説的 PRO ポリペプチドのアミノ酸配列を表し、「比較タンパク質」が対象となる「比較」タンパク質が比較されているアミノ酸配列を表し、そして「X」、「Y」及び「Z」の各々が異なった仮説的アミノ酸残基を表し、表 2 及び 3 は、「比較タンパク質」と称されるアミノ酸配列の「PRO」と称されるアミノ酸配列に対する % アミノ酸配列同一性の計算方法を示す。

【0022】

特に断らない限りは、ここでの全ての % アミノ酸配列同一性値は上記のように ALIGN-2 配列比較コンピュータプログラムを用いて得られる。しかしながら、% アミノ酸配列同一性値は、WU-BLAST-2 コンピュータプログラム (Altschul ら, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996)) を用いて決定してもよい。さらに、殆どの WU-BLAST-2 検索パラメータは

初期値に設定される。初期値に設定されない、即ち調節可能なパラメータは以下の値に設定する：オーバーラップスパン = 1、オーバーラップフラクション = 0.125、ワード閾値 (T) = 11、及びスコアリングマトリクス = BLOSUM62。ここでの目的のために、% アミノ酸配列同一性値は、(a) 天然 P R O ポリペプチドから誘導された配列を有する対象とする P R O ポリペプチドのアミノ酸配列と、対象とする比較アミノ酸配列 (即ち、対象とする P R O ポリペプチドが比較される P R O ポリペプチド変異体であってもよい配列) との間の、WU-BLAST-2によって決定した一致する同一アミノ酸残基の数を、(b) 対象とする P R O ポリペプチドの残基の総数で除した商によって決定される。例えば、「アミノ酸配列 B に対して少なくとも 80% のアミノ酸配列同一性を持つ又は持っているアミノ酸配列 A を含んでなるポリペプチド」という表現では、アミノ酸配列 A が対象とする比較アミノ酸配列であり、アミノ酸配列 B が対象とする P R O ポリペプチドのアミノ酸配列である。

10

【0023】

また、% アミノ酸配列同一性は、配列比較プログラム NCBI-BLAST2 (Altschulら, Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402 (1997)) を用いて決定してもよい。NCBI-BLAST2配列比較プログラムは、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov> からダウンロードでき、又は別な方法で米国国立衛生研究所、ベセスダ、メリーランドから得ることができる。NCBI-BLAST2は幾つかの検索パラメータを使用し、それら検索パラメータの全ては初期値に設定され、例えば、unmask = 可、鎖 = 全て、予測される発生 = 10、最小低複合長 = 15 / 5、マルチパス e - 値 = 0.01、マルチパスの定数 = 25、最終ギャップアラインメントのドロップオフ = 25、及びスコアリングマトリクス = BLOSUM62を含む。

20

【0024】

アミノ酸配列比較に NCBI-BLAST2 が用いられる状況では、与えられたアミノ酸配列 A の、与えられたアミノ酸配列 B との、又はそれに対する % アミノ酸配列同一性 (あるいは、与えられたアミノ酸配列 B と、又はそれに対して或る程度の % アミノ酸配列同一性を持つ又は含む与えられたアミノ酸配列 A と言うこともできる) は次のように計算される：

分率 X / Y の 100 倍

ここで、X は配列アラインメントプログラム NCBI-BLAST2 の A 及び B のアラインメントによって同一であると一致したスコアのアミノ酸残基の数であり、Y は B の全アミノ酸残基数である。アミノ酸配列 A の長さがアミノ酸配列 B の長さとは異なる場合、A の B に対する % アミノ酸配列同一性は、B の A に対する % アミノ酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。

30

【0025】

「P R O 変異体ポリヌクレオチド」又は「P R O 変異体核酸配列」とは、下記に定義されるように、活性 P R O ポリペプチドをコードする核酸分子であり、ここに開示する全長天然配列 P R O ポリペプチド配列、ここに開示するシグナルペプチドを欠いた全長天然配列 P R O ポリペプチド配列、シグナルペプチドを有する又は有しないここに開示する P R O ポリペプチドの細胞外ドメイン、又はここに開示する全長 P R O ポリペプチド配列の他の任意の断片をコードする核酸配列と少なくとも約 80% の核酸配列同一性、好ましくはあるいは少なくとも約 81% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 82% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 83% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 84% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 85% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 86% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 87% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 88% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 89% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 90% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 91% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 92% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 93% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 94% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 95% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 96% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 97% の核酸配列同一性、あるいは少なくとも約 98% の核酸配列同一性、そして、あるいは少なくとも約 99% の核酸配列同一性を有している。変異体は、天然ヌクレオチ

40

50

ド配列を含まない。

【 0 0 2 6 】

通常は、P R O 変異体ポリヌクレオチドは、少なくとも約 3 0 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 6 0 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 9 0 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 1 2 0 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 1 5 0 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 1 8 0 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 2 1 0 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 2 4 0 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 2 7 0 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 3 0 0 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 4 5 0 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 6 0 0 ヌクレオチド長、あるいは少なくとも約 9 0 0 ヌクレオチド長、又はそれ以上である。

10

【 0 0 2 7 】

ここで同定される P R O コード化核酸配列に対する「パーセント(%)核酸配列同一性」は、配列を整列させ、最大のパーセント配列同一性を得るために必要ならば間隙を導入し、P R O 配列のヌクレオチドと同一である候補配列中のヌクレオチドのパーセントとして定義される。パーセント核酸配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、当業者の知る範囲にある種々の方法、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN又はMegalign(DNASTAR)ソフトウェアのような公に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用することにより達成可能である。ここでの目的のためには、%アミノ酸配列同一性値は、ALIGN-2プログラム用の完全なソースコードが下記の表 1 に提供されている配列比較プログラムのALIGN-2を使用することによって得られる。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムはジェネンテク社によって作成され、下記の表 1 に示したソースコードは米国著作権事務所、ワシントン D. C. , 20559に使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号TXU510087の下で登録されている。ALIGN-2はジェネンテク社、サウス サン フランシスコ、カリフォルニアから好適に入手可能であり、下記の表 1 に提供されたソースコードからコンパイルしてもよい。ALIGN-2プログラムは、U N I X (登録商標)オペレーティングシステム、好ましくはデジタルU N I X (登録商標) V4.0Dでの使用のためにコンパイルされる。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムによって設定され変動しない。

20

【 0 0 2 8 】

核酸配列比較にALIGN-2が用いられる状況では、与えられた核酸配列 C の、与えられた核酸配列 D との、又はそれに対する%核酸配列同一性(あるいは、与えられたアミノ酸配列 D と、又はそれに対して或る程度の%核酸配列同一性を持つ又は含む与えられた核酸配列 C と言うこともできる)は次のように計算される：

30

分率 W / Z の 1 0 0 倍

ここで、Wは配列アラインメントプログラムALIGN-2のC及びDのアラインメントによって同一であると一致したスコアの核酸残基の数であり、ZはDの全核酸残基数である。核酸配列Cの長さがアミノ酸配列Dの長さと異なる場合、CのDに対する%核酸配列同一性は、DのCに対する%核酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。この方法を用いた%核酸配列同一性の計算の例として、「P R O - D N A」が対象となる仮説的P R O コード化核酸配列を表し、「比較D N A」が対象となる「P R O - D N A」核酸分子が比較されている核酸配列を表し、そして「N」、「L」及び「V」の各々が異なった仮説的アミノ酸残基を表し、表 4 及び 5 が「比較D N A」と称される核酸配列の「P R O - D N A」と称される核酸配列に対する%核酸配列同一性の計算方法を示す。

40

【 0 0 2 9 】

特に断らない限りは、ここでの全ての%核酸配列同一性値は、直上のパラグラフに示したようにALIGN-2配列比較コンピュータプログラムを用いて得られる。しかしながら、%核酸配列同一性値は、WU-BLAST-2コンピュータプログラム(Altschulら, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996))を用いて決定してもよい。さらに、殆どのWU-BLAST-2検索パラメータは初期値に設定される。初期値に設定されない、即ち調節可能なパラメータは以下の値に設定する：オーバーラップスパン = 1、オーバーラップフラクション = 0 . 1 2 5、ワード閾値 (T) = 1 1、及びスコアリングマトリクス = BLOSUM62。WU-BLAST-2

50

が用いられた場合、%核酸配列同一性値は、(a)天然配列PROポリペプチドコード化核酸から誘導された配列を有する対象とするPROポリペプチドコード化核酸分子の核酸配列と、対象とする比較核酸配列(即ち、対象とするPROポリペプチドコード化核酸分子が比較されるPROポリペプチド変異体であってもよい配列)との間の、WU-BLAST-2によって決定した一致する同一核酸残基の数を、(b)対象とするPROポリペプチドコード化核酸分子のヌクレオチドの総数で除した商によって決定される。例えば、「核酸配列Bに対して少なくとも80%の核酸配列同一性を持つ又は持っている核酸配列Aを含んでなるポリペプチド」という表現では、核酸配列Aが対象とする比較核酸配列であり、核酸配列Bが対象とするPROポリペプチドコード化核酸分子の核酸配列である。

【0030】

10

また、%核酸配列同一性は、配列比較プログラムNCBI-BLAST2(Altschulら, Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402 (1997))を用いて決定してもよい。NCBI-BLAST2配列比較プログラムは、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>からダウンロードでき、又は別な方法で米国国立衛生研究所、ベセスダ、メリーランドから得ることができる。NCBI-BLAST2は幾つかの検索パラメータを使用し、それら検索パラメータの全ては初期値に設定され、例えば、unmask = 可、鎖 = 全て、予測される発生 = 10、最小低複合長 = 15 / 5、マルチパス e-値 = 0.01、マルチパスの定数 = 25、最終ギャップアラインメントのドロップオフ = 25、及びスコアリングマトリクス = BLOSUM62を含む。

【0031】

核酸配列比較にNCBI-BLAST2が用いられる状況では、与えられた核酸配列Cの、与えられた核酸配列Dとの、又はそれに対する%核酸配列同一性(あるいは、与えられた核酸配列Dと、又はそれに対して或る程度の%核酸配列同一性を持つ又は含む与えられた核酸配列Cと言うこともできる)は次のように計算される：

20

分率W/Zの100倍

ここで、Wは配列アラインメントプログラムNCBI-BLAST2のC及びDのアラインメントによって同一であると一致したスコアの核酸残基の数であり、ZはDの全核酸残基数である。核酸配列Cの長さが核酸配列Dの長さとは異なる場合、CのDに対する%核酸配列同一性は、DのCに対する%核酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。

【0032】

他の実施態様では、PRO変異体ポリペプチドヌクレオチドは、活性PROポリペプチドをコードし、好ましくはストリンジェントなハイブリダイゼーション及び洗浄条件下で、ここに開示する全長PROポリペプチドをコードするヌクレオチド配列にハイブリダイゼーションする核酸分子である。PRO変異体ポリペプチドは、PRO変異体ポリヌクレオチドにコードされるものであってもよい。

30

「単離された」とは、ここで開示された種々のポリペプチドを記述するために使用するときは、その自然環境の成分から同定され分離され及び/又は回収されたポリペプチドを意味する。その自然環境の汚染成分とは、そのポリペプチドの診断又は治療への使用を典型的には妨害する物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質様又は非タンパク質様溶質が含まれる。好ましい実施態様において、ポリペプチドは、(1)スピニングカップシークエネーターを使用することにより、少なくとも15残基のN末端あるいは内部アミノ酸配列を得るのに十分なほど、あるいは、(2)クーマシーブルーあるいは好ましくは銀染色を用いた非還元あるいは還元条件下でのSDS-PAGEによる均一性まで精製される。単離されたポリペプチドには、PROポリペプチドの自然環境の少なくとも1つの成分が存在しないため、組換え細胞内のインサイツのタンパク質が含まれる。しかしながら、通常は、単離されたポリペプチドは少なくとも1つの精製工程により調製される。

40

【0033】

「単離された」PROポリペプチドコード化核酸は、同定され、PROポリペプチドをコードする核酸の天然源に通常付随している少なくとも1つの汚染核酸分子から分離された核酸分子である。単離されたPROポリペプチドコード化核酸分子は、天然に見出される形態あるいは設定以外のものである。ゆえに、単離されたPROポリペプチドコード化

50

核酸分子は、天然の細胞中に存在する P R O ポリペプチドコード化核酸分子とは区別される。しかし、単離された P R O ポリペプチドコード化核酸分子は、例えば、核酸分子が天然細胞のものとは異なった染色体位置にある P R O ポリペプチドを通常発現する細胞に含まれる P R O ポリペプチド核酸分子を含む。

「コントロール配列」という表現は、特定の宿主生物において作用可能に結合したコード配列を発現するために必要な D N A 配列を指す。例えば原核生物に好適なコントロール配列は、プロモーター、場合によってはオペレータ配列、及びリボソーム結合部位を含む。真核生物の細胞は、プロモーター、ポリアデニル化シグナル及びエンハンサーを利用することが知られている。

【 0 0 3 4 】

核酸は、他の核酸配列と機能的な関係にあるときに「作用可能に結合し」ている。例えば、ブレ配列あるいは分泌リーダーの D N A は、ポリペプチドの分泌に参画するプレタンパク質として発現されているなら、そのポリペプチドの D N A に作用可能に結合している；プロモーター又はエンハンサーは、配列の転写に影響を及ぼすならば、コード配列に作用可能に結合している；又はリボソーム結合部位は、もしそれが翻訳を容易にするような位置にあるなら、コード配列と作用可能に結合している。一般的に、「作用可能に結合している」とは、結合した D N A 配列が近接しており、分泌リーダーの場合には近接して読みフェーズにあることを意味する。しかし、エンハンサーは必ずしも近接している必要はない。結合は簡便な制限部位でのライゲーションにより達成される。そのような部位が存在しない場合は、従来手法に従って、合成オリゴヌクレオチドアダプターあるいはリンカーが使用される。

「抗体」という用語は最も広い意味において使用され、例えば、単一の抗-P R O ポリペプチドモノクローナル抗体(アゴニスト、アンタゴニスト、及び中和抗体を含む)、多エピトープ特異性を持つ抗-P R O 抗体組成物、一本鎖抗-P R O 抗体、及び抗-P R O 抗体の断片を包含している(下記参照)。ここで使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体の集団、すなわち、構成する個々の抗体が、少量存在しうる自然に生じる可能性のある突然変異を除いて同一である集団から得られる抗体を称する。

【 0 0 3 5 】

ハイブリダイゼーション反応の「ストリンジェンシー」は、当業者によって容易に決定され、一般的にプローブ長、洗浄温度、及び塩濃度に依存する経験的な計算である。一般に、プローブが長くなると適切なアニーリングのための温度が高くなり、プローブが短くなると温度は低くなる。ハイブリダイゼーションは、一般的に、相補的鎖がその融点に近いがそれより低い環境に存在する場合における変性 D N A の再アニールする能力に依存する。プローブとハイブリダイゼーション可能な配列との間の所望の相同性の程度が高くなると、使用できる相対温度が高くなる。その結果、より高い相対温度は、反応条件をよりストリンジェントにするが、低い温度はストリンジェンシーを低下させる。さらに、ストリンジェンシーは塩濃度に逆比例する。ハイブリダイゼーション反応のストリンジェンシーの更なる詳細及び説明は、Ausubelら、Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience Publishers, (1995)を参照のこと。

【 0 0 3 6 】

ここで定義される「ストリンジェントな条件」又は「高度にストリンジェントな条件」は、(1)洗浄のために低イオン強度及び高温、例えば、50℃において0.015 Mの塩化ナトリウム/0.0015 Mのクエン酸ナトリウム/0.1%のドデシル硫酸ナトリウムを用いるもの；(2)ハイブリダイゼーション中にホルムアミド等の変性剤、例えば、42℃において50%(v/v)ホルムアミドと0.1%ウシ血清アルブミン/0.1%フィコール/0.1%のポリビニルピロリドン/50 mMのpH 6.5のリン酸ナトリウムバッファー、及び750 mMの塩化ナトリウム、75 mMクエン酸ナトリウムを用いるもの；(3)42℃における50%ホルムアミド、5x SSC(0.75 MのNaCl、0.075 Mのクエン酸ナトリウム)、50 mMのリン酸ナトリウム(pH 6.8)、0.1%のピロリン酸ナトリウム、5xデンハード液、超音波処理サケ精子D N A (5

10

20

30

40

50

0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)、0.1% SDS、及び10%のデキストラン硫酸と、42 における 0.2 x SSC (塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム) 中の洗浄及び55 での50%ホルムアミド、次いで55 における EDTA を含む 0.1 x SSC からなる高度にストリンジेंटな洗浄を用いるものによって同定される。

【0037】

「中程度にストリンジेंटな条件」は、Sambrookら, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (New York: Cold Spring Harbor Press, 1989)に記載されているように同定され、上記のストリンジェンシーより低い洗浄溶液及びハイブリダイゼーション条件(例えば、温度、イオン強度及び% SDS)の使用を含む。中程度にストリンジेंटな条件は、20%ホルムアミド、5 x SSC (150 mM の NaCl、15 mM のクエン酸三ナトリウム)、50 mM リン酸ナトリウム (pH 7.6)、5 x デンハード液、10% デキストラン硫酸、及び20 mg/ml の変性剪断サケ精子DNAを含む溶液中の37 での終夜インキュベーション、次いで1 x SSC 中37 - 50 でのフィルターの洗浄といった条件である。当業者であれば、プローブ長などの因子に適合させる必要に応じて、どのようにして温度、イオン強度等を調節するかを認識するであろう。

「エピトープタグ」なる用語は、ここで用いられるときは、「タグポリペプチド」に融合したPROポリペプチド、又はそれらのドメイン配列を含んでなるキメラポリペプチドを指す。タグポリペプチドは、その抗体が産生され得るエピトープ、又は幾つかの他の試薬によって同定できるエピトープを提供するに十分な数の残基を有しているが、その長さは対象とするPROポリペプチドの活性を阻害しないよう十分に短い。また、タグポリペプチドは、好ましくは、抗体が他のエピトープと実質的に交差反応をしないようになくかなり独特である。適切なタグポリペプチドは、一般に、少なくとも6のアミノ酸残基、通常は約8 ~ 約50のアミノ酸残基(好ましくは約10 ~ 約20の残基)を有する。

【0038】

ここで用いられる「イムノアドヘシン」なる用語は、異種タンパク質(「アドヘシン」)の結合特異性と免疫グロブリン定常ドメインとを結合した抗体様分子を指す。構造的には、イムノアドヘシンは、所望の結合特異性を持ち、抗体の抗原認識及び結合部位以外である(即ち「異種の」)アミノ酸配列と、免疫グロブリン定常ドメイン配列との融合物を含む。イムノアドヘシン分子のアドヘシン部分は、典型的には少なくともレセプター又はリガンドの結合部位を含む隣接アミノ酸配列である。イムノアドヘシンの免疫グロブリン定常ドメイン配列は、IgG - 1、IgG - 2、IgG - 3又はIgG - 4サブタイプ、IgA (IgA - 1及びIgA - 2を含む)、IgE、IgD又はIgMなどの任意の免疫グロブリンから得ることができる。

ここで意図している「活性な」及び「活性」とは、天然又は天然発生PROポリペプチドの生物学的及び/又は免疫学的活性を保持するPROの形態を意味し、「生物学的」活性とは、天然又は天然発生PROによって生ずる(阻害性又は刺激性の)生物学的機能であって、天然又は天然発生PROが有する抗原性エピトープに対して抗体を生成する能力を除くものを意味し、「免疫学的」活性とは、天然又は天然発生PROが有する抗原性エピトープに対して抗体を生成する能力を意味する。

【0039】

「アンタゴニスト」なる用語は最も広い意味で用いられ、ここに開示した天然PROポリペプチドの生物学的活性を阻止、阻害、又は中和する任意の分子を指す。同様に「アゴニスト」なる用語は最も広い意味で用いられ、ここに開示した天然PROポリペプチドの生物学的活性を模倣する任意の分子を指す。好適なアゴニスト又はアンタゴニスト分子は特に、アゴニスト又はアンタゴニスト抗体又は抗体断片、天然PROポリペプチドの断片又はアミノ酸配列変異体、ペプチド、有機小分子、などを含む。PROポリペプチドのアゴニスト又はアンタゴニストの同定方法は、PROポリペプチドを候補アンタゴニスト又はアゴニストと接触させ、PROポリペプチドに通常付随する1つ又は複数の生物学的活性の変化を測定することを含む。

【0040】

ここで使用される「治療」とは、治癒的処置、予防的療法及び防止的療法の両方を意味し、患者は標的とする病理学的状態又はしっかんを防止又は低下（減少）させられる。治療が必要なものとは、既に疾患に罹っているもの、並びに疾患に罹りやすいもの又は疾患が防止されているものを含む。

「慢性」投与とは、急性様式とは異なり連続的な様式での薬剤を投与し、初期の治療効果（活性）を長時間に渡って維持することを意味する。「間欠」投与とは、中断無く連続的になされるのではなく、むしろ本質的に周期的になされる処理である。

治療の対象のための「哺乳動物」は、ヒト、家庭及び農業用動物、動物園、スポーツ、又はペット動物、例えばイヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタ、ウサギなどを含む哺乳類に分類される任意の動物を意味する。好ましくは、哺乳動物はヒトである。

1つ又は複数の治療薬と「組み合わせた」投与とは、同時（同時期）及び任意の順序での連続した投与を含む。

【0041】

ここで用いられる「担体」は、製薬的に許容されうる担体、賦形剤、又は安定化剤を含み、用いられる用量及び濃度でそれらに暴露される細胞又は哺乳動物に対して非毒性である。生理学的に許容されうる担体は、水性pH緩衝溶液であることが多い。生理学的に許容されうる担体の例は、リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸塩のバッファー；アスコルビン酸を含む酸化防止剤；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；タンパク質、例えば血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリン；疎水性ポリマー、例えばポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えばグリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン又はリシン；グルコース、マンノース又はデキストランを含む単糖類、二糖類、及び他の炭水化物；EDTA等のキレート剤；マンニトール又は祖ルビトール等の糖アルコール；ナトリウム等の塩形成対イオン；及び/又は非イオン性界面活性剤、例えば、TWEEN（商品名）、ポリエチレングリコール（PEG）、及びPLURONICS（商品名）を含む。

【0042】

「抗体断片」は、無傷の抗体の一部、好ましくは無傷の抗体の抗原結合又は可変領域を含む。抗体断片の例は、Fab、Fab'、F(ab')₂、及びFv断片；ダイアボディ(diabodies)；直鎖状抗体（Zapataら, Protein Eng. 8(10): 1057-1062 [1995]）；一本鎖抗体分子；及び抗体断片から形成された多重特異性抗体を含む。

抗体のパパイン消化は、「Fab」断片と呼ばれる2つの同一の抗体結合断片を生成し、その各々は単一の抗原結合部位を持ち、残りは容易に結晶化する能力を反映して「Fc」断片と命名される。ペプシン処理はF(ab')₂断片を生じ、それは2つの抗原結合部位を持ち、抗原を交差結合することができる。

「Fv」は、完全な抗原認識及び結合部位を含む最小の抗体断片である。この領域は、密接に非共有結合した1本の重鎖と1本の軽鎖の可変領域の二量体からなる。この配置において各ドメインの3つのCDRが相互作用してV_H-V_Lに量体の表面に抗原結合部位を決定する。正しくは、6つのCDRsが抗体にたいする抗原結合特異性を持つ。しかしながら、単一の可変ドメイン（又は抗原に特異的な3つのCDRのみを含んでなるFvの半分）でさえ、結合部位全体よりは低い親和性であるが、抗原を認識し結合する能力を持つ。

【0043】

またFab断片は、軽鎖の定常ドメイン及び重鎖の第1の定常ドメイン（CH1）も含む。Fab断片は、抗体ヒンジ領域からの1つ又は複数のシステインを含む重鎖CH1ドメインのカルボキシ末端に幾つかの残基が付加されていることによりFab'断片と相違する。ここで、Fab'-SHは、定常ドメインのシステイン残基が遊離のチオール基を持つFab'を表す。F(ab')₂抗体断片は、最初はFab'断片の対として生成され、それらの間にヒンジシステインを有する。抗体断片の他の化学的結合も知られている。

任意の脊椎動物種からの抗体（免疫グロブリン）の「軽鎖」は、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ及びラムダと呼ばれる二つの明らかに異なる型の一方

10

20

30

40

50

に分類される。

それらの重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に依存して、免疫グロブリンは異なるクラスに分類できる。免疫グロブリンの五つの主要なクラス：I g A、I g D、I g E、I g G 及び I g M があり、それらの幾つかは更にサブクラス（アイソタイプ）、例えば I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 及び I g A 2 に分類される。

【 0 0 4 4 】

「一本鎖 F v」又は「s F v」抗体断片は、抗体の V_H 及び V_L ドメインを含む抗体断片を含み、これらのドメインは単一のポリペプチド鎖に存在する。好ましくは、F v ポリペプチドは V_H 及び V_L ドメイン間にポリペプチドリンカーを更に含み、それは s F v が抗原結合に望まれる構造を形成するのを可能にする。s F v の概説については、The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg 及び Moore 編, Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994) の Pluckthun を参照のこと。 10

用語「ダイアボディ(diabodies)」は、二つの抗原結合部位を持つ小型の抗体断片を指し、その断片は同じポリペプチド鎖 (V_H - V_L) 内で軽鎖可変ドメイン (V_L) に結合した重鎖可変ドメイン (V_H) を含む。同じ鎖の二つのドメイン間に対形成するには短すぎるリンカーを用いることにより、ドメインは強制的に他の鎖の相補的ドメインと対形成して二つの抗原結合部位を生成する。ダイアボディは、例えば、E P 4 0 4 , 0 9 7 ; W O 9 3 / 1 1 1 6 1 ; 及び Hollinger 他, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 6444-6448 (1993) により十分に記載されている。

【 0 0 4 5 】

「単離された」抗体は、その自然環境の成分から同定され分離及び/又は回収されたものである。その自然環境の汚染成分とは、その抗体の診断又は治療への使用を妨害する物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質様又は非タンパク質様溶質が含まれる。好ましい実施態様において、抗体は、(1) ローリー法で測定した場合 95% を越える抗体、最も好ましくは 99 重量% を越えるまで、(2) スピニングカップシークエネーターを使用することにより、少なくとも 15 残基の N 末端あるいは内部アミノ酸配列を得るのに十分なほど、あるいは、(3) クーマシーブルーあるいは好ましくは銀染色を用いた非還元あるいは還元条件下での SDS - PAGE による均一性まで精製される。単離された抗体には、抗体の自然環境の少なくとも 1 つの成分が存在しないため、組換え細胞内のインサイツの抗体が含まれる。しかしながら、通常は、単離された抗体は少なくとも 1 つの精製 30 工程により調製される。

「特異的に結合する」抗体、又は特定のポリペプチド又は特定のポリペプチド上のエピトープへ特異的な抗体とは、他のポリペプチド又はポリペプチドエピトープとは実質的に結合せずに、特定のポリペプチド又は特定のポリペプチド上のエピトープへ結合するものである。

【 0 0 4 6 】

「標識」なる語は、ここで用いられる場合、抗体に直接又は間接的に結合させて「標識」抗体を生成する検出可能な化合物又は組成物を意味する。標識は、それ自身検出可能でもよく（例えば、放射性標識又は蛍光標識）、又は酵素標識の場合、検出可能な基質化合物又は組成物の化学変換を触媒してもよい。 40

「固相」とは、本発明の抗体がそれに付着することのできる非水性マトリクスを意味する。ここに意図する固相の例は、部分的又は全体的に、ガラス（例えば、孔制御ガラス）、多糖類（例えばアガロース）、ポリアクリルアミド、ポリスチレン、ポリビニルアルコール及びシリコンから形成されたものを含む。或る種の実施態様では、内容に応じて、固相はアッセイプレートのウェルを構成することができ；その他では精製カラム（例えばアフィニティークロマトグラフィーカラム）とすることもできる。また、この用語は、米国特許第 4 , 2 7 5 , 1 4 9 号に記載されたような、別個の粒子の不連続な固相も包含する。

「リボソーム」は、種々の型の脂質、リン脂質及び/又は界面活性剤からなる小型の小胞であり、哺乳動物への薬物（PRO ポリペプチド又はその抗体など）の輸送に有用であ 50

る。リボソームの成分は、通常は生体膜の脂質配列に類似する二層形式に配列させる。

「小分子」とは、ここで、約500ダルトン未満の分子量を持つと定義される。

【0047】

表1

```

/*
 *
 * C-C increased from 12 to 15
 * Z is average of EQ
 * B is average of ND
 * match with stop is _M; stop-stop = 0; J (joker) match = 0
 */
#define _M      -8      /* value of a match with a stop */

int      _day[26][26] = {
/*  A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z */
/* A */      { 2, 0, -2, 0, 0, -4, 1, -1, -1, 0, -1, -2, -1, 0, _M, 1, 0, -2, 1, 1, 0, 0, -6, 0, -3, 0},
/* B */      { 0, 3, -4, 3, 2, -5, 0, 1, -2, 0, 0, -3, -2, 2, _M, -1, 1, 0, 0, 0, 0, -2, -5, 0, -3, 1},
/* C */      {-2, -4, 15, -5, -5, -4, -3, -3, -2, 0, -5, -6, -5, -4, _M, -3, -5, -4, 0, -2, 0, -2, -8, 0, 0, -5},
/* D */      { 0, 3, -5, 4, 3, -6, 1, 1, -2, 0, 0, -4, -3, 2, _M, -1, 2, -1, 0, 0, 0, -2, -7, 0, -4, 2},
/* E */      { 0, 2, -5, 3, 4, -5, 0, 1, -2, 0, 0, -3, -2, 1, _M, -1, 2, -1, 0, 0, 0, -2, -7, 0, -4, 3},
/* F */      {-4, -5, -4, -6, -5, 9, -5, -2, 1, 0, -5, 2, 0, -4, _M, -5, -5, -4, -3, -3, 0, -1, 0, 0, 7, -5},
/* G */      { 1, 0, -3, 1, 0, -5, 5, -2, -3, 0, -2, -4, -3, 0, _M, -1, -1, -3, 1, 0, 0, -1, -7, 0, -5, 0},
/* H */      {-1, 1, -3, 1, 1, -2, -2, 6, -2, 0, 0, -2, -2, 2, _M, 0, 3, 2, -1, -1, 0, -2, -3, 0, 0, 2},
/* I */      {-1, -2, -2, -2, -2, 1, -3, -2, 5, 0, -2, 2, 2, -2, _M, -2, -2, -2, -1, 0, 0, 4, -5, 0, -1, -2},
/* J */      { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, _M, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* K */      {-1, 0, -5, 0, 0, -5, -2, 0, -2, 0, 5, -3, 0, 1, _M, -1, 1, 3, 0, 0, 0, -2, -3, 0, -4, 0},
/* L */      {-2, -3, -6, -4, -3, 2, -4, -2, 2, 0, -3, 6, 4, -3, _M, -3, -2, -3, -3, -1, 0, 2, -2, 0, -1, -2},
/* M */      {-1, -2, -5, -3, -2, 0, -3, -2, 2, 0, 0, 4, 6, -2, _M, -2, -1, 0, -2, -1, 0, 2, -4, 0, -2, -1},
/* N */      { 0, 2, -4, 2, 1, -4, 0, 2, -2, 0, 1, -3, -2, 2, _M, -1, 1, 0, 1, 0, 0, -2, -4, 0, -2, 1},
/* O */      {_M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M, _M},
/* P */      { 1, -1, -3, -1, -1, -5, -1, 0, -2, 0, -1, -3, -2, -1, _M, 6, 0, 0, 1, 0, 0, -1, -6, 0, -5, 0},
/* Q */      { 0, 1, -5, 2, 2, -5, -1, 3, -2, 0, 1, -2, -1, 1, _M, 0, 4, 1, -1, -1, 0, -2, -5, 0, -4, 3},
/* R */      {-2, 0, -4, -1, -1, -4, -3, 2, -2, 0, 3, -3, 0, 0, _M, 0, 1, 6, 0, -1, 0, -2, 2, 0, -4, 0},
/* S */      { 1, 0, 0, 0, 0, -3, 1, -1, -1, 0, 0, -3, -2, 1, _M, 1, -1, 0, 2, 1, 0, -1, -2, 0, -3, 0},
/* T */      { 1, 0, -2, 0, 0, -3, 0, -1, 0, 0, 0, -1, -1, 0, _M, 0, -1, -1, 1, 3, 0, 0, -5, 0, -3, 0},
/* U */      { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, _M, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* V */      { 0, -2, -2, -2, -2, -1, -1, -2, 4, 0, -2, 2, 2, -2, _M, -1, -2, -2, -1, 0, 0, 4, -6, 0, -2, -2},
/* W */      {-6, -5, -8, -7, -7, 0, -7, -3, -5, 0, -3, -2, -4, -4, _M, -6, -5, 2, -2, -5, 0, -6, 17, 0, 0, -6},
/* X */      { 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, _M, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0},
/* Y */      {-3, -3, 0, -4, -4, 7, -5, 0, -1, 0, -4, -1, -2, -2, _M, -5, -4, -4, -3, -3, 0, -2, 0, 0, 10, -4},
/* Z */      { 0, 1, -5, 2, 3, -5, 0, 2, -2, 0, 0, -2, -1, 1, _M, 0, 3, 0, 0, 0, 0, -2, -6, 0, -4, 4}
};

```

10

20

30

【0048】

表1(続き)

```

/*
*/
#include <stdio.h>
#include <ctype.h>

#define MAXJMP      16      /* max jumps in a diag */
#define MAXGAP      24      /* don't continue to penalize gaps larger than this */
#define JMPS        1024    /* max jmps in an path */
#define MX          4       /* save if there's at least MX-1 bases since last jmp */

#define DMAT         3       /* value of matching bases */
#define DMIS         0       /* penalty for mismatched bases */
#define DINS0         8       /* penalty for a gap */
#define DINS1         1       /* penalty per base */
#define PINS0         8       /* penalty for a gap */
#define PINS1         4       /* penalty per residue */

struct jmp {
    short          n[MAXJMP];    /* size of jmp (neg for dely) */
    unsigned short x[MAXJMP];    /* base no. of jmp in seq x */
};
/* limits seq to 2^16 -1 */

struct diag {
    int            score;        /* score at last jmp */
    long           offset;       /* offset of prev block */
    short          ijmp;         /* current jmp index */
    struct jmp      jp;          /* list of jmps */
};

struct path {
    int            spc;          /* number of leading spaces */
    short          n[JMPS];      /* size of jmp (gap) */
    int            x[JMPS];      /* loc of jmp (last elem before gap) */
};

char             *ofile;        /* output file name */
char             *namex[2];     /* seq names: getseqs() */
char             *prog;         /* prog name for err msgs */
char             *seqx[2];      /* seqs: getseqs() */
int              dmax;          /* best diag: nw() */
int              dmax0;         /* final diag */
int              dna;           /* set if dna: main() */
int              endgaps;       /* set if penalizing end gaps */
int              gapx, gapy;     /* total gaps in seqs */
int              len0, len1;     /* seq lens */
int              ngapx, ngapy;   /* total size of gaps */
int              smax;          /* max score: nw() */
int              *xbm;          /* bitmap for matching */
long             offset;        /* current offset in jmp file */
struct           diag          *dx;    /* holds diagonals */
struct           path          pp[2];   /* holds path for seqs */

char             *calloc(), *malloc(), *index(), *strcpy();
char             *getseq(), *g_calloc();

```

10

20

30

40

表1(続き)

```

/* Needleman-Wunsch alignment program
*
* usage: progs file1 file2
* where file1 and file2 are two dna or two protein sequences.
* The sequences can be in upper- or lower-case and may contain ambiguity
* Any lines beginning with ';', '>' or '<' are ignored
* Max file length is 65535 (limited by unsigned short x in the jmp struct)
* A sequence with 1/3 or more of its elements ACGTU is assumed to be DNA
* Output is in the file "align.out"
*
* The program may create a tmp file in /tmp to hold info about traceback.
* Original version developed under BSD 4.3 on a vax 8650
*/
#include "nw.h"
#include "day.h"

static _dbval[26] = {
    1,14,2,13,0,0,4,11,0,0,12,0,3,15,0,0,0,5,6,8,8,7,9,0,10,0
};

static _pbval[26] = {
    1, 2|(1<<('D'-'A'))|(1<<('N'-'A')), 4, 8, 16, 32, 64,
    128, 256, 0xFFFFFFFF, 1<<10, 1<<11, 1<<12, 1<<13, 1<<14,
    1<<15, 1<<16, 1<<17, 1<<18, 1<<19, 1<<20, 1<<21, 1<<22,
    1<<23, 1<<24, 1<<25|(1<<('E'-'A'))|(1<<('Q'-'A'))
};

main(ac, av)
int ac;
char *av[];
{
    prog = av[0];
    if (ac != 3) {
        fprintf(stderr, "usage: %s file1 file2\n", prog);
        fprintf(stderr, "where file1 and file2 are two dna or two protein sequences.\n");
        fprintf(stderr, "The sequences can be in upper- or lower-case\n");
        fprintf(stderr, "Any lines beginning with ';' or '<' are ignored\n");
        fprintf(stderr, "Output is in the file \"align.out\"\n");
        exit(1);
    }
    namex[0] = av[1];
    namex[1] = av[2];
    seqx[0] = getseq(namex[0], &len0);
    seqx[1] = getseq(namex[1], &len1);
    xbm = (dna)? _dbval : _pbval;

    endgaps = 0; /* 1 to penalize endgaps */
    ofile = "align.out"; /* output file */

    nw(); /* fill in the matrix, get the possible jmps */
    readjmps(); /* get the actual jmps */
    print(); /* print stats, alignment */

    cleanup(0); /* unlink any tmp files */
}

【 0 0 5 0 】

```

10

20

30

40

表1(続き)

```

/* do the alignment, return best score: main()
* dna: values in Fitch and Smith, PNAS, 80, 1382-1386, 1983
* pro: PAM 250 values
* When scores are equal, we prefer mismatches to any gap, prefer
* a new gap to extending an ongoing gap, and prefer a gap in seqx
* to a gap in seq y.
*/
nw()
{
    char          *px, *py;          /* seqs and ptrs */
    int            *ndely, *dely;     /* keep track of dely */
    int            ndelx, delx;       /* keep track of delx */
    int            *tmp;              /* for swapping row0, row1 */
    int            mis;               /* score for each type */
    int            ins0, ins1;        /* insertion penalties */
    register       id;                /* diagonal index */
    register       ij;               /* jmp index */
    register       *col0, *col1;      /* score for curr, last row */
    register       xx, yy;            /* index into seqs */

    dx = (struct diag *)g_calloc("to get diags", len0+len1+1, sizeof(struct diag));

    ndely = (int *)g_calloc("to get ndely", len1+1, sizeof(int));
    dely = (int *)g_calloc("to get dely", len1+1, sizeof(int));
    col0 = (int *)g_calloc("to get col0", len1+1, sizeof(int));
    col1 = (int *)g_calloc("to get col1", len1+1, sizeof(int));
    ins0 = (dna)? DINS0 : PINS0;
    ins1 = (dna)? DINS1 : PINS1;

    smax = -10000;
    if (endgaps) {
        for (col0[0] = dely[0] = -ins0, yy = 1; yy <= len1; yy++) {
            col0[yy] = dely[yy] = col0[yy-1] - ins1;
            ndely[yy] = yy;
        }
        col0[0] = 0; /* Waterman Bull Math Biol 84 */
    }
    else
        for (yy = 1; yy <= len1; yy++)
            dely[yy] = -ins0;

    /* fill in match matrix
    */
    for (px = seqx[0], xx = 1; xx <= len0; px++, xx++) {
        /* initialize first entry in col
        */
        if (endgaps) {
            if (xx == 1)
                col1[0] = delx = -(ins0+ins1);
            else
                col1[0] = delx = col0[0] - ins1;
            ndelx = xx;
        }
        else {
            col1[0] = 0;
            delx = -ins0;
            ndelx = 0;
        }
    }
}

```

10

20

30

40

【 0 0 5 1 】

表1(続き)

...nw

```

for (py = seqx[1], yy = 1; yy <= len1; py++, yy++) {
    mis = col0[yy-1];
    if (dna)
        mis += (xbm[*px-'A']&xbm[*py-'A'])? DMAT : DMIS;
    else
        mis += _day[*px-'A'][*py-'A'];

    /* update penalty for del in x seq;
     * favor new del over ongong del
     * ignore MAXGAP if weighting endgaps
     */
    if (endgaps || ndely[yy] < MAXGAP) {
        if (col0[yy] - ins0 >= dely[yy]) {
            dely[yy] = col0[yy] - (ins0+ins1);
            ndely[yy] = 1;
        } else {
            dely[yy] -= ins1;
            ndely[yy]++;
        }
    } else {
        if (col0[yy] - (ins0+ins1) >= dely[yy]) {
            dely[yy] = col0[yy] - (ins0+ins1);
            ndely[yy] = 1;
        } else
            ndely[yy]++;
    }

    /* update penalty for del in y seq;
     * favor new del over ongong del
     */
    if (endgaps || ndelx < MAXGAP) {
        if (col1[yy-1] - ins0 >= delx) {
            delx = col1[yy-1] - (ins0+ins1);
            ndelx = 1;
        } else {
            delx -= ins1;
            ndelx++;
        }
    } else {
        if (col1[yy-1] - (ins0+ins1) >= delx) {
            delx = col1[yy-1] - (ins0+ins1);
            ndelx = 1;
        } else
            ndelx++;
    }

    /* pick the maximum score; we're favoring
     * mis over any del and delx over dely
     */

```

10

20

30

【 0 0 5 2 】

表1(続き)

...nw

```

id = xx - yy + len1 - 1;
if (mis >= delx && mis >= dely[yy])
    col1[yy] = mis;
else if (delx >= dely[yy]) {
    col1[yy] = delx;
    ij = dx[id].ijmp;
    if (dx[id].jp.n[0] && (!dna || (ndelx >= MAXJMP
    && xx > dx[id].jp.x[ij]+MX) || mis > dx[id].score+DINS0)) {
        dx[id].ijmp++;
        if (++ij >= MAXJMP) {
            writejumps(id);
            ij = dx[id].ijmp = 0;
            dx[id].offset = offset;
            offset += sizeof(struct jmp) + sizeof(offset);
        }
        dx[id].jp.n[ij] = ndelx;
        dx[id].jp.x[ij] = xx;
        dx[id].score = delx;
    }
    else {
        col1[yy] = dely[yy];
        ij = dx[id].ijmp;
        if (dx[id].jp.n[0] && (!dna || (ndely[yy] >= MAXJMP
        && xx > dx[id].jp.x[ij]+MX) || mis > dx[id].score+DINS0)) {
            dx[id].ijmp++;
            if (++ij >= MAXJMP) {
                writejumps(id);
                ij = dx[id].ijmp = 0;
                dx[id].offset = offset;
                offset += sizeof(struct jmp) + sizeof(offset);
            }
            dx[id].jp.n[ij] = -ndely[yy];
            dx[id].jp.x[ij] = xx;
            dx[id].score = dely[yy];
        }
        if (xx == len0 && yy < len1) {
            /* last col
            */
            if (endgaps)
                col1[yy] -= ins0+ins1*(len1-yy);
            if (col1[yy] > smax) {
                smax = col1[yy];
                dmax = id;
            }
        }
        if (endgaps && xx < len0)
            col1[yy-1] -= ins0+ins1*(len0-xx);
        if (col1[yy-1] > smax) {
            smax = col1[yy-1];
            dmax = id;
        }
        tmp = col0; col0 = col1; col1 = tmp;
    }
}
(void) free((char *)ndely);
(void) free((char *)dely);
(void) free((char *)col0);
(void) free((char *)col1);
}

```

10

20

30

40

表1(続き)

```

/*
 *
 * print() -- only routine visible outside this module
 *
 * static:
 * getmat() -- trace back best path, count matches: print()
 * pr_align() -- print alignment of described in array p[ ]: print()
 * dumpblock() -- dump a block of lines with numbers, stars: pr_align()
 * nums() -- put out a number line: dumpblock()
 * putline() -- put out a line (name, [num], seq, [num]): dumpblock()
 * stars() -- put a line of stars: dumpblock()
 * stripname() -- strip any path and prefix from a seqname
 */

#include "nw.h"

#define SPC      3
#define P_LINE  256 /* maximum output line */
#define P_SPC    3 /* space between name or num and seq */

extern _day[26][26];
int olen; /* set output line length */
FILE *fx; /* output file */

print()
{
    int lx, ly, firstgap, lastgap; /* overlap */

    if ((fx = fopen(ofile, "w")) == 0) {
        fprintf(stderr, "%s: can't write %s\n", prog, ofile);
        cleanup(1);
    }
    fprintf(fx, "< first sequence: %s (length = %d)\n", namex[0], len0);
    fprintf(fx, "< second sequence: %s (length = %d)\n", namex[1], len1);
    olen = 60;
    lx = len0;
    ly = len1;
    firstgap = lastgap = 0;
    if (dmax < len1 - 1) { /* leading gap in x */
        pp[0].spc = firstgap = len1 - dmax - 1;
        ly -= pp[0].spc;
    }
    else if (dmax > len1 - 1) { /* leading gap in y */
        pp[1].spc = firstgap = dmax - (len1 - 1);
        lx -= pp[1].spc;
    }
    if (dmax0 < len0 - 1) { /* trailing gap in x */
        lastgap = len0 - dmax0 - 1;
        lx -= lastgap;
    }
    else if (dmax0 > len0 - 1) { /* trailing gap in y */
        lastgap = dmax0 - (len0 - 1);
        ly -= lastgap;
    }
    getmat(lx, ly, firstgap, lastgap);
    pr_align();
}

```

10

print

20

30

【 0 0 5 4 】

40

表1(続き)

```

/*
 * trace back the best path, count matches
 */
static
getmat(lx, ly, firstgap, lastgap)
    int    lx, ly;                /* "core" (minus endgaps) */
    int    firstgap, lastgap;     /* leading trailing overlap */
{
    int      nm, i0, i1, siz0, siz1;
    char     outx[32];
    double   pct;
    register n0, n1;
    register char *p0, *p1;

    /* get total matches, score
    */
    i0 = i1 = siz0 = siz1 = 0;
    p0 = seqx[0] + pp[1].spc;
    p1 = seqx[1] + pp[0].spc;
    n0 = pp[1].spc + 1;
    n1 = pp[0].spc + 1;

    nm = 0;
    while ( *p0 && *p1 ) {
        if (siz0) {
            p1++;
            n1++;
            siz0--;
        }
        else if (siz1) {
            p0++;
            n0++;
            siz1--;
        }
        else {
            if (xbm[*p0-'A']&xbm[*p1-'A'])
                nm++;
            if (n0++ == pp[0].x[i0])
                siz0 = pp[0].n[i0++];
            if (n1++ == pp[1].x[i1])
                siz1 = pp[1].n[i1++];
            p0++;
            p1++;
        }
    }

    /* pct homology:
    * if penalizing endgaps, base is the shorter seq
    * else, knock off overhangs and take shorter core
    */
    if (endgaps)
        lx = (len0 < len1)? len0 : len1;
    else
        lx = (lx < ly)? lx : ly;
    pct = 100.*(double)nm/(double)lx;
    fprintf(fx, "\n");
    fprintf(fx, "<%d match%s in an overlap of %d: %.2f percent similarity\n",
        nm, (nm == 1)? "" : "es", lx, pct);
}

```

getmat

10

20

30

40

【 0 0 5 5 】

表1(続き)

```

fprintf(fx, "< gaps in first sequence: %d", gapx);
if (gapx) {
    (void) sprintf(outx, "(%d %s%s)",
        ngapx, (dna)? "base":"residue", (ngapx == 1)? "" : "s");
    fprintf(fx, "%s", outx);

    fprintf(fx, ", gaps in second sequence: %d", gapy);
    if (gapy) {
        (void) sprintf(outx, "(%d %s%s)",
            ngapy, (dna)? "base":"residue", (ngapy == 1)? "" : "s");
        fprintf(fx, "%s", outx);
    }
    if (dna)
        fprintf(fx,
            "\n< score: %d (match = %d, mismatch = %d, gap penalty = %d + %d per base)\n",
            smax, DMAT, DMIS, DINS0, DINS1);
    else
        fprintf(fx,
            "\n< score: %d (Dayhoff PAM 250 matrix, gap penalty = %d + %d per residue)\n",
            smax, PINS0, PINS1);
    if (endgaps)
        fprintf(fx,
            "< endgaps penalized. left endgap: %d %s%s, right endgap: %d %s%s\n",
            firstgap, (dna)? "base" : "residue", (firstgap == 1)? "" : "s",
            lastgap, (dna)? "base" : "residue", (lastgap == 1)? "" : "s");
    else
        fprintf(fx, "< endgaps not penalized\n");
}

static      nm;          /* matches in core -- for checking */
static      lmax;        /* lengths of stripped file names */
static      ij[2];       /* jmp index for a path */
static      nc[2];       /* number at start of current line */
static      ni[2];       /* current elem number -- for gapping */
static      siz[2];
static char *ps[2];      /* ptr to current element */
static char *po[2];      /* ptr to next output char slot */
static char out[2][P_LINE]; /* output line */
static char star[P_LINE]; /* set by stars() */

/*
 * print alignment of described in struct path pp [ ]
 */
static
pr_align()
{
    int      nn;          /* char count */
    int      more;
    register i;

    for (i = 0, lmax = 0; i < 2; i++) {
        nn = stripname(namex[i]);
        if (nn > lmax)
            lmax = nn;

        nc[i] = 1;
        ni[i] = 1;
        siz[i] = ij[i] = 0;
        ps[i] = seqx[i];
        po[i] = out[i];
    }
}

```

...getmat

10

20

30

pr_align

40

【 0 0 5 6 】

表1(続き)

...dumpblock

```

(void) putc('\n', fx);
for (i = 0; i < 2; i++) {
    if (*out[i] && (*out[i] != ' ' || *(po[i]) != ' ')) {
        if (i == 0)
            nums(i);
        if (i == 0 && *out[1])
            stars();
        putline(i);
        if (i == 0 && *out[1])
            fprintf(fx, star);
        if (i == 1)
            nums(i);
    }
}

/*
 * put out a number line: dumpblock()
 */
static
nums(ix)
{
    int ix; /* index in out[] holding seq line */
    char nline[P_LINE];
    register i, j;
    register char *pn, *px, *py;

    for (pn = nline, i = 0; i < lmax + P_SPC; i++, pn++)
        *pn = ' ';
    for (i = nc[ix], py = out[ix]; *py; py++, pn++) {
        if (*py == ' ' || *py == '-')
            *pn = ' ';
        else {
            if (i % 10 == 0 || (i == 1 && nc[ix] != 1)) {
                j = (i < 0)? -i : i;
                for (px = pn; j /= 10, px--)
                    *px = j % 10 + '0';
                if (i < 0)
                    *px = '-';
            }
            else
                *pn = ' ';
            i++;
        }
    }
    *pn = '\0';
    nc[ix] = i;
    for (pn = nline; *pn; pn++)
        (void) putc(*pn, fx);
    (void) putc('\n', fx);
}

/*
 * put out a line (name, [num], seq, [num]): dumpblock()
 */
static
putline(ix)
{
    int ix;
    {

```

10

20

30

40

表1(続き)

```

for (nn = nm = 0, more = 1; more; ) {
    for (i = more = 0; i < 2; i++) {
        /*
         * do we have more of this sequence?
         */
        if (!*ps[i])
            continue;

        more++;

        if (pp[i].spc) { /* leading space */
            *po[i]++ = ' ';
            pp[i].spc--;
        }
        else if (siz[i]) { /* in a gap */
            *po[i]++ = '-';
            siz[i]--;
        }
        else { /* we're putting a seq element
                */
            *po[i] = *ps[i];
            if (islower(*ps[i]))
                *ps[i] = toupper(*ps[i]);
            po[i]++;
            ps[i]++;

            /*
             * are we at next gap for this seq?
             */
            if (ni[i] == pp[i].x[ij[i]]) {
                /*
                 * we need to merge all gaps
                 * at this location
                 */
                siz[i] = pp[i].n[ij[i] + +];
                while (ni[i] == pp[i].x[ij[i]])
                    siz[i] += pp[i].n[ij[i] + +];
            }
            ni[i]++;
        }
    }
    if (++nn == olen || !more && nn) {
        dumpblock();
        for (i = 0; i < 2; i++)
            po[i] = out[i];
        nn = 0;
    }
}

/*
 * dump a block of lines, including numbers, stars: pr_align()
 */
static
dumpblock()
{
    register i;

    for (i = 0; i < 2; i++)
        *po[i]-- = '\0';
}

```

...pr_align

10

20

30

dumpblock

40

【 0 0 5 8 】

表1(続き)

...putline

```

int          i;
register char *px;

for (px = namex[ix], i = 0; *px && *px != '.'; px++, i++)
    (void) putc(*px, fx);
for (; i < lmax+P_SPC; i++)
    (void) putc(' ', fx);

/* these count from 1:
 * ni[] is current element (from 1)
 * nc[] is number at start of current line
 */
for (px = out[ix]; *px; px++)
    (void) putc(*px&0x7F, fx);
(void) putc('\n', fx);
}

```

10

```

/*
 * put a line of stars (seqs always in out[0], out[1]): dumpblock()
 */

```

```

static
stars()
{

```

stars

```

    int          i;
    register char *p0, *p1, cx, *px;

    if (!*out[0] || (*out[0] == ' ' && *(po[0]) == ' ') ||
        !*out[1] || (*out[1] == ' ' && *(po[1]) == ' '))
        return;
    px = star;
    for (i = lmax+P_SPC; i; i--)
        *px++ = ' ';

    for (p0 = out[0], p1 = out[1]; *p0 && *p1; p0++, p1++) {
        if (isalpha(*p0) && isalpha(*p1)) {
            if (xbm[*p0-'A']&xbm[*p1-'A']) {
                cx = '*';
                nm++;
            }
            else if (!dna && _day[*p0-'A'][*p1-'A'] > 0)
                cx = '.';
            else
                cx = ' ';
        }
        else
            cx = ' ';
        *px++ = cx;
    }
    *px++ = '\n';
    *px = '\0';
}

```

20

30

【 0 0 5 9 】

表1(続き)

```
/*
 * strip path or prefix from pn, return len: pr_align()
 */
static
stripname(pn)
    char    *pn;    /* file name (may be path) */
{
    register char    *px, *py;

    py = 0;
    for (px = pn; *px; px++)
        if (*px == '/')
            py = px + 1;
    if (py)
        (void) strcpy(pn, py);
    return(strlen(pn));
}
```

stripname

10

【 0 0 6 0 】

表1(続き)

```

/*
 * cleanup() -- cleanup any tmp file
 * getseq() -- read in seq, set dna, len, maxlen
 * g_malloc() -- calloc() with error checkin
 * readjumps() -- get the good jumps, from tmp file if necessary
 * writejumps() -- write a filled array of jumps to a tmp file: nw()
 */
#include "nw.h"
#include <sys/file.h>

char *jname = "/tmp/homgXXXXXX"; /* tmp file for jumps */
FILE *fj;

int cleanup(); /* cleanup tmp file */
long lseek();

/*
 * remove any tmp file if we blow
 */
cleanup(i)
int i;
{
    if (fj)
        (void) unlink(jname);
    exit(i);
}

/*
 * read, return ptr to seq, set dna, len, maxlen
 * skip lines starting with ';', '<', or '>'
 * seq in upper or lower case
 */
char *
getseq(file, len)
char *file; /* file name */
int *len; /* seq len */
{
    char line[1024], *pseq;
    register char *px, *py;
    int natgc, tlen;
    FILE *fp;

    if ((fp = fopen(file, "r")) == 0) {
        fprintf(stderr, "%s: can't read %s\n", prog, file);
        exit(1);
    }
    tlen = natgc = 0;
    while (fgets(line, 1024, fp)) {
        if (*line == ';' || *line == '<' || *line == '>')
            continue;
        for (px = line; *px != '\n'; px++)
            if (isupper(*px) || islower(*px))
                tlen++;
    }
    if ((pseq = malloc((unsigned)(tlen+6))) == 0) {
        fprintf(stderr, "%s: malloc() failed to get %d bytes for %s\n", prog, tlen+6, file);
        exit(1);
    }
    pseq[0] = pseq[1] = pseq[2] = pseq[3] = '\0';

```

10

cleanup

20

getseq

30

40

【 0 0 6 1 】

表1(続き)

```

py = pseq + 4;
*len = tlen;
rewind(fp);

while (fgets(line, 1024, fp)) {
    if (*line == ';' || *line == '<' || *line == '>')
        continue;
    for (px = line; *px != '\n'; px++) {
        if (isupper(*px))
            *py++ = *px;
        else if (islower(*px))
            *py++ = toupper(*px);
        if (index("ATGCU",*(py-1)))
            natgc++;
    }
    *py++ = '\0';
    *py = '\0';
    (void) fclose(fp);
    dna = natgc > (tlen/3);
    return(pseq+4);
}

char *
g_alloc(msg, nx, sz)
char *msg; /* program, calling routine */
int nx, sz; /* number and size of elements */
{
    char *px, *calloc();

    if ((px = calloc((unsigned)nx, (unsigned)sz)) == 0) {
        if (*msg) {
            fprintf(stderr, "%s: g_alloc() failed %s (n=%d, sz=%d)\n", prog, msg, nx, sz);
            exit(1);
        }
    }
    return(px);
}

/*
 * get final jmps from dx[] or tmp file, set pp[], reset dmax: main()
 */
readjmps()
{
    int fd = -1;
    int siz, i0, i1;
    register i, j, xx;

    if (fj) {
        (void) fclose(fj);
        if ((fd = open(jname, O_RDONLY, 0)) < 0) {
            fprintf(stderr, "%s: can't open() %s\n", prog, jname);
            cleanup(1);
        }
    }
    for (i = i0 = i1 = 0, dmax0 = dmax, xx = len0; i++) {
        while (1) {
            for (j = dx[dmax].ijmp; j >= 0 && dx[dmax].jp.x[j] >= xx; j--)

```

...getseq

10

g_alloc

20

readjmps

30

40

【 0 0 6 2 】

表1(続き)

...readjumps

```

    if (j < 0 && dx[dmax].offset && fj) {
        (void) lseek(fd, dx[dmax].offset, 0);
        (void) read(fd, (char *)&dx[dmax].jp, sizeof(struct jmp));
        (void) read(fd, (char *)&dx[dmax].offset, sizeof(dx[dmax].offset));
        dx[dmax].ijmp = MAXJMP-1;
    }
    else
        break;
}
if (i >= JMPS) {
    fprintf(stderr, "%s: too many gaps in alignment\n", prog);
    cleanup(1);
}
if (j >= 0) {
    siz = dx[dmax].jp.n[j];
    xx = dx[dmax].jp.x[j];
    dmax += siz;
    if (siz < 0) { /* gap in second seq */
        pp[1].n[i1] = -siz;
        xx += siz;
        /* id = xx - yy + len1 - 1
        */
        pp[1].x[i1] = xx - dmax + len1 - 1;
        gapy++;
        ngapy -= siz;
/* ignore MAXGAP when doing endgaps */
        siz = (-siz < MAXGAP || endgaps)? -siz : MAXGAP;
        i1++;
    }
    else if (siz > 0) { /* gap in first seq */
        pp[0].n[i0] = siz;
        pp[0].x[i0] = xx;
        gapx++;
        ngapx += siz;
/* ignore MAXGAP when doing endgaps */
        siz = (siz < MAXGAP || endgaps)? siz : MAXGAP;
        i0++;
    }
}
else
    break;
}

/* reverse the order of jumps
*/
for (j = 0, i0--; j < i0; j++, i0--) {
    i = pp[0].n[j]; pp[0].n[j] = pp[0].n[i0]; pp[0].n[i0] = i;
    i = pp[0].x[j]; pp[0].x[j] = pp[0].x[i0]; pp[0].x[i0] = i;
}
for (j = 0, i1--; j < i1; j++, i1--) {
    i = pp[1].n[j]; pp[1].n[j] = pp[1].n[i1]; pp[1].n[i1] = i;
    i = pp[1].x[j]; pp[1].x[j] = pp[1].x[i1]; pp[1].x[i1] = i;
}
if (fd >= 0)
    (void) close(fd);
if (fj) {
    (void) unlink(jname);
    fj = 0;
    offset = 0;
}
}

```

10

20

30

40

表1(続き)

```

/*
 * write a filled jmp struct offset of the prev one (if any): nw()
 */
writejumps(ix)
{
    int ix;
    char *mktemp();

    if (!fj) {
        if (mktemp(jname) < 0) {
            fprintf(stderr, "%s: can't mktemp() %s\n", prog, jname);
            cleanup(1);
        }
        if ((fj = fopen(jname, "w")) == 0) {
            fprintf(stderr, "%s: can't write %s\n", prog, jname);
            exit(1);
        }
    }
    (void) fwrite((char *)&dx[ix].jp, sizeof(struct jmp), 1, fj);
    (void) fwrite((char *)&dx[ix].offset, sizeof(dx[ix].offset), 1, fj);
}

```

writejumps

10

【 0 0 6 4 】

表2

PRO	XXXXXXXXXXXXXXXXXX (長さ=15 アミノ酸)	20
比較タンパク質	XXXXXXXXYYYYYYY (長さ=12 アミノ酸)	

% アミノ酸配列同一性=

(ALIGN-2で決定された、2つのポリペプチド配列間で一致したアミノ酸残基の数) を(PROポリペプチドのアミノ酸残基の総数)で割る =

$$5 \div 15 = 33.3\%$$

30

【 0 0 6 5 】

表3

PRO	XXXXXXXXXXXX (長さ=10 アミノ酸)
比較タンパク質	XXXXXXXXYYYYZZYZ (長さ=15 アミノ酸)

% アミノ酸配列同一性=

(ALIGN-2で決定された、2つのポリペプチド配列間で一致したアミノ酸残基の数) を(PROポリペプチドのアミノ酸残基の総数)で割る =

$$5 \div 10 = 50\%$$

40

【 0 0 6 6 】

表4

PRO-DNA	NNNNNNNNNNNNNN	(長さ=14ヌクレオチド)
比較DNA	NNNNNNLLLLLLLL	(長さ=16ヌクレオチド)

% 核酸配列同一性=

(ALIGN-2で決定された、2つの核酸配列間で一致したヌクレオチドの数)を(PRO-DNA核酸配列のヌクレオチドの総数)で割る =

$$6 \div 14 = 42.9\%$$

【0067】

表5

PRO-DNA	NNNNNNNNNNNN	(長さ=12ヌクレオチド)
比較DNA	NNNNLLLVV	(長さ=9ヌクレオチド)

% 核酸配列同一性=

(ALIGN-2で決定された、2つの核酸配列間で一致したヌクレオチドの数)を(PRO-DNA核酸配列のヌクレオチドの総数)で割る =

$$4 \div 12 = 33.3\%$$

【0068】

II. 本発明の組成物と方法

A. 全長PROポリペプチド

本発明は、本出願でPROポリペプチドと呼ばれるポリペプチドをコードする新規に同定され単離された核酸配列を提供する。特に下記の実施例でさらに詳細に説明するように、種々のPROポリペプチドをコードするcDNAが同定され単離された。別々の発現ラウンドで生成されたタンパク質には異なるPRO番号が与えられるが、UNQ番号は全ての与えられたDNA及びコード化タンパク質に独特であり、変わることはないことを記しておく。しかしながら、単純化のために、本明細書において、ここに開示した完全長天然核酸分子にコードされるタンパク質並びに上記のPROの定義に含まれるさらなる天然相同体及び変異体は、それらの起源又は調製形式に関わらず、「PRO/番号」で呼称する。

下記の実施例に開示するように、種々のcDNAクローンがATCCに寄託されている。これらのクローンの正確なヌクレオチド配列は、この分野で日常的な方法を用いて寄託されたクローンを配列決定することにより容易に決定することができる。予測されるアミノ酸配列は、ヌクレオチド配列から常套的技量を用いて決定できる。ここに記載したPROポリペプチド及びコード化核酸について、本出願人は、現時点で入手可能な配列情報と最も良く一致するリーディングフレームであると考えられるものを同定した。

【0069】

B. PROポリペプチド変異体

ここに記載した全長天然配列PROポリペプチドに加えて、PRO変異体も調製できる

10

20

30

40

50

と考えられる。PRO変異体は、PROポリペプチドDNAに適当なヌクレオチド変化を導入することにより、あるいは所望のPROポリペプチドを合成することにより調製できる。当業者は、グリコシル化部位の数又は位置の変化あるいは膜固着特性の変化などのアミノ酸変化がPROポリペプチドの翻訳後プロセスを変えうることを理解するであろう。

【0070】

天然全長配列PRO又はここに記載したPROポリペプチドの種々のドメインにおける変異は、例えば、米国特許第5,364,934号に記載されている保存的及び非保存的変異についての任意の技術及び指針を用いてなすことができる。変異は、結果として天然配列PROと比較してPROポリペプチドのアミノ酸配列が変化するPROポリペプチドをコードする1つ又は複数のコドンの置換、欠失又は挿入であってよい。場合によっては、変異は少なくとも1つのアミノ酸のPROポリペプチドの1つ又は複数のドメインの任意の他のアミノ酸による置換である。いずれのアミノ酸残基が所望の活性に悪影響を与えることなく挿入、置換又は欠失されるかの指針は、PROポリペプチドの配列を相同性の知られたタンパク質分子の配列と比較し、相同性の高い領域内でなされるアミノ酸配列変化を最小にすることによって見出される。アミノ酸置換は、1つのアミノ酸の類似した構造及び/又は化学特性を持つ他のアミノ酸での置換、例えばロイシンのセリンでの置換、即ち保存的アミノ酸置換の結果とすることができる。挿入及び欠失は、場合によっては1から5のアミノ酸の範囲内とすることができる。許容される変異は、配列においてアミノ酸の挿入、欠失又は置換を系統的に作成し、得られた変異体を下記の実施例に記載するインビトロアッセイの任意のもので活性について試験することにより決定される。

【0071】

PROポリペプチド断片がここに提供される。このような断片は、例えば、全長天然タンパク質と比較した際に、N-末端又はC-末端で切断されてもよく、又は内部残基を欠いていてもよい。或る種の断片は、PROポリペプチドの所望の生物学的活性に必須ではないアミノ酸残基を欠いている。

PRO断片は、多くの従来技術の任意のものによって調製してよい。所望のペプチド断片は化学合成してもよい。代替的方法は、酵素的消化、例えば特定のアミノ酸残基によって決定される部位のタンパク質を切断することが知られた酵素でタンパク質を処理することにより、あるいは適当な制限酵素でDNAを消化して所望の断片を単離することによるPRO断片の生成を含む。さらに他の好適な技術は、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により、所望のポリペプチド断片をコードするDNA断片を単離し増幅することを含む。DNA断片の所望の末端を決定するオリゴヌクレオチドは、PCRの5'及び3'プライマーで用いられる。好ましくは、PROポリペプチド断片は、ここに開示した天然PROポリペプチドと少なくとも1つの生物学的及び/又は免疫学的活性を共有する。

特別の実施態様では、対象とする保存的置換を、好ましい置換を先頭にして表6に示す。このような置換が生物学的活性の変化をもたらす場合、表6に例示的置換と名前を付けた又は以下にアミノ酸分類でさらに記載するように、より置換的な変化が導入され生成物がスクリーニングされる。

【0072】

表 6

元の残基	例示的置換	好ましい置換
Ala(A)	val; Leu; ile	val
Arg(R)	lys; gln; asn	lys
Asn(N)	gln; his; lys; arg	gln
Asp(D)	glu	glu
Cys(C)	ser	ser
Gln(Q)	asn	ans
Glu(E)	asp	asp
Gly(G)	pro; ala	ala
His(H)	asn; gln; lys; arg	arg

Ile(I)	leu; val; met; ala; phe; ノルロイシン	leu
Leu(L)	ノルロイシン; ile; val; met; ala; phe	ile
Lys(K)	arg; gln; asn	arg
Met(M)	leu; phe; ile	leu
Phe(F)	leu; val; ile; ala; tyr	leu
Pro(P)	ala	ala
Ser(S)	thr	thr
Thr(T)	ser	ser
Trp(W)	tyr; phe	tyr
Tyr(Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val(V)	ile; leu; met; phe; ala; ノルロイシン	leu

10

20

30

40

50

【 0 0 7 3 】

ポリペプチドの機能及び免疫学的同一性の置換的修飾は、(a) 置換領域のポリペプチド骨格の構造、例えばシート又は螺旋配置、(b) 標的部位の電荷又は疎水性、又は(c) 側鎖の高を維持しながら、それらの効果において実質的に異なる置換基を選択することにより達成される。天然発生残基は共通の側鎖特性に基づいてグループに分けることができる：

- (1) 疎水性：ノルロイシン, met, ala, val, leu, ile;
- (2) 中性の親水性：cys, ser, thr;
- (3) 酸性：asp, glu;
- (4) 塩基性：asn, gln, his, lys, arg;
- (5) 鎖配向に影響する残基：gly, pro; 及び
- (6) 芳香族：trp, tyr, phe。

【 0 0 7 4 】

非保存的置換は、これらの分類の一つのメンバーを他の分類に交換することを必要とするであろう。また、そのように置換された残基は、保存的置換部位、好ましくは残された(非保存)部位に導入されうる。

変異は、オリゴヌクレオチド媒介(部位特異的)突然変異誘発、アラニンスキャンニング、及びPCR突然変異誘発[Carterら, Nucl. Acids Res., 13: 4331 (1986); Zollerら, Nucl. Acids Res., 10: 6487 (1987)]、カセット突然変異誘発[Wellsら, Gene, 34: 315 (1985)]、制限的選択突然変異誘発[Wellsら, Philos. Trans. R. Soc. London SerA, 317: 415 (1986)]等のこの分野で知られた方法を用いてなすことができ、又は他の知られた技術をクローニングしたDNAに実施してPRO変異体DNAを作成することもできる。

【 0 0 7 5 】

また、隣接配列に沿って1つ又は複数のアミノ酸を同定するのにスキャンニングアミノ酸分析を用いることができる。好ましいスキャンニングアミノ酸は比較的小さく、中性のアミノ酸である。そのようなアミノ酸は、アラニン、グリシン、セリン、及びシステインを含む。アラニンは、ベータ炭素を越える側鎖を排除し変異体の主鎖構造を変化させにくいので、この群の中で典型的に好ましいスキャンニングアミノ酸である[Cunningham及びWells, Science, 244: 1081-1085 (1989)]。また、アラニンは最もありふれたアミノ酸であるため典型的には好ましい。さらに、それは埋もれた及び露出した位置の両方に見られることが多い[Creighton, The Proteins, (W.H. Freeman & Co., N.Y.); Chothia, J. Mol. Biol., 150: 1 (1976)]。アラニン置換が十分な量の変異体を生じない場合は、アイソテリック(isotERIC)アミノ酸を用いることができる。

【 0 0 7 6 】

C . P R O の修飾

P R Oポリペプチドの共有結合的修飾は本発明の範囲内に含まれる。共有結合的修飾の1つの型は、P R Oポリペプチドの標的とするアミノ酸残基を、P R Oポリペプチドの選択された側鎖又はN又はC末端残基と反応できる有機誘導体化試薬と反応させることである。二官能性試薬での誘導体化が、例えばP R Oを水不溶性支持体マトリクスあるいは抗-P R O抗体の精製方法又はその逆で用いるための表面に架橋させるのに有用である。通常用いられる架橋剤は、例えば、1, 1-ビス(ジアゾアセチル)-2-フェニルエタン、グルタルアルデヒド、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、例えば4-アジドサリチル酸とのエステル、3, 3'-ジチオビス(スクシンイミジルプロピオネート)等のジスクシンイミジルエステルを含むホモ二官能性イミドエステル、ビス-N-マレイミド-1, 8-オクタン等の二官能性マレイミド、及びメチル-3-[(p-アジドフェニル)-ジチオ]プロピオイミダート等の試薬を含む。 10

【0077】

他の修飾は、グルタミル及びアスパラギン残基の各々対応するグルタミル及びアスパルチル残基への脱アミノ化、プロリン及びリシンのヒドロキシル化、セリル又はトレオニン残基のヒドロキシル基のリン酸化、リシン、アルギニン、及びヒスチジン側鎖の α -アミノ基のメチル化[T.E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W.H. Freeman & Co., San Francisco, pp.79-86 (1983)]、N末端アミンのアセチル化、及び任意のC末端カルボキシル基のアミド化を含む。

本発明の範囲内に含まれるP R Oポリペプチドの共有結合的修飾の他の型は、ポリペプチドの天然グリコシル化パターンの変更を含む。「天然グリコシル化パターンの変更」とは、ここで意図されるのは、天然配列P R Oに見られる1又は複数の炭水化物部分の欠失(存在するグリコシル化部位の除去又は化学的及び/又は酵素的手段によるグリコシル化の削除のいずれかによる)、及び/又は天然配列P R Oに存在しない1又は複数のグリコシル化部位の付加を意味する。さらに、この文節は、存在する種々の炭水化物部分の性質及び特性の変化を含む、天然タンパク質のグリコシル化における定性的変化を含む。 20

【0078】

P R Oポリペプチドへのグリコシル化部位の付加はアミノ酸配列の変更を伴ってもよい。この変更は、例えば、1又は複数のセリン又はトレオニン残基の天然配列P R O(O-結合グリコシル化部位)への付加、又は置換によってなされてもよい。P R Oアミノ酸配列は、場合によっては、DNAレベルでの変化、特に、P R OポリペプチドをコードするDNAを予め選択された塩基において変異させ、所望のアミノ酸に翻訳されるコドンを生 30

成させることを通して変更されてもよい。P R Oポリペプチド上に炭水化物部分の数を増加させる他の手段は、グリコシドのポリペプチドへの化学的又は酵素的結合による。このような方法は、この技術分野において、例えば、1987年9月11日に発行されたW O 8 7 / 0 5 3 3 0、及びAplin及びWriston, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, pp. 259-306 (1981)に記載されている。

【0079】

P R Oポリペプチド上に存在する炭水化物部分の除去は、化学的又は酵素的に、あるいはグリコシル化の標的として提示されたアミノ酸残基をコードするコドンの変異的置換によってなすことができる。化学的脱グリコシル化技術は、この分野で知られており、例えば、Hakimuddinら, *Arch. Biochem. Biophys.*, 259:52 (1987)により、及びEdgeら, *Anal. Biochem.*, 118: 131 (1981)により記載されている。ポリペプチド上の炭水化物部分の酵素的切断は、Thotakuraら, *Meth. Enzymol.* 138:350 (1987)に記載されているように、種々のエンド及びエキソグリコシダーゼを用いることにより達成される。 40

本発明のP R Oの共有結合的修飾の他の型は、P R Oポリペプチドの、種々の非タンパク質様ポリマー、例えばポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、又はポリオキシアルキレンの一つへの、米国特許第4, 640, 835号;第4, 496, 689号;第4, 301, 144号;第4, 670, 417号;第4, 791, 192号又は第4, 179, 337号に記載された方法での結合を含む。

また、本発明のP R Oポリペプチドは、他の異種ポリペプチド又はアミノ酸配列に融合 50

したPROポリペプチドを含むキメラ分子を形成する方法で修飾してもよい。

【0080】

一実施態様では、このようなキメラ分子は、抗タグ抗体が選択的に結合できるエピトープを提供するタグポリペプチドとPROポリペプチドとの融合を含む。エピトープタグは、一般的にはPROポリペプチドのアミノ又はカルボキシル末端に位置する。このようなPROポリペプチドのエピトープタグ形態の存在は、タグポリペプチドに対する抗体を用いて検出することができる。また、エピトープタグの提供は、抗タグ抗体又はエピトープタグに結合する他の型の親和性マトリクスを用いたアフィニティ精製によってPROポリペプチドを容易に精製できるようにする。種々のタグポリペプチド及びそれら各々の抗体はこの分野で良く知られている。例としては、ポリ-ヒスチジン（ポリ-his）又はポリ-ヒスチジン-グリシン（poly-his-gly）タグ；flu HAタグポリペプチド及びその抗体12CA5 [Fieldら, Mol. Cell. Biol., 8:2159-2165 (1988)]；c-mycタグ及びそれに対する8F9、3C7、6E10、G4、B7及び9E10抗体 [Evanら, Molecular and Cellular Biology, 5:3610-3616(1985)]；及び単純ヘルペスウイルス糖タンパク質D（gD）タグ及びその抗体 [Paborskyら, Protein Engineering, 3(6):547-553 (1990)]を含む。他のタグポリペプチドは、フラッグペプチド [Hoppら, BioTechnology, 6:1204-1210(1988)]；KT3エピトープペプチド [Martinら, Science, 255:192-194 (1992)]；α-チューブリンエピトープペプチド [Skinnerら, J. Biol. Chem., 266:15163-15166 (1991)]；及びT7遺伝子10タンパク質ペプチドタグ [Lutz-Freyermuthら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6393-6397(1990)]を含む。

10

20

【0081】

それに換わる実施態様では、キメラ分子はPROの免疫グロブリン又は免疫グロブリンの特定領域との融合体を含んでもよい。キメラ分子の二価形態（「イムノアドヘシン」とも呼ばれる）については、そのような融合体はIgG分子のFc領域であり得る。Ig融合体は、好ましくはIg分子内の少なくとも1つの可変領域に換えてPROポリペプチドの可溶化（膜貫通ドメイン欠失又は不活性化）形態を含む。特に好ましい実施態様では、免疫グロブリン融合体は、IgG1分子のヒンジ、CH2及びCH3、又はヒンジ、CH1、CH2及びCH3領域を含む。免疫グロブリン融合体の製造については、1995年6月27日発行の米国特許第5,428,130号を参照のこと。

30

【0082】

D. PROの調製

以下の説明は、主として、PRO核酸を含むベクターで形質転換又は形質移入された細胞を培養することによりPROを生産する方法に関する。もちろん、当該分野においてよく知られている他の方法を用いてPROを調製することができると考えられる。例えば、PRO配列、又はその一部は、固相技術を用いた直接ペプチド合成によって生産してもよい [例えば、Stewartら, Solid-Phase Peptide Synthesis, W.H. Freeman Co., サンフランシスコ, カリフォルニア(1969)；Merrifield, J. Am. Chem. Soc., 85:2149-2154 (1963)参照]。手動技術又は自動によるインビトロタンパク質合成を行ってもよい。自動合成は、例えば、アプライド・バイオシステムズ・ペプチド合成機（Foster City, カリフォルニア）を用いて、製造者の指示により実施してもよい。PROの種々の部分は、別々に化学的に合成され、化学的又は酵素的な方法を用いて結合させて全長PROを生産してもよい。

40

【0083】

1. PROをコードするDNAの単離

PROをコードするDNAは、PRO mRNAを保有してそれを検出可能なレベルで発現すると考えられる組織から調製されたcDNAライブラリから得ることができる。従って、ヒトPRO DNAは、実施例に記載されるように、ヒトの組織から調製されたcDNAライブラリから簡便に得ることができる。またPRO-コード化遺伝子は、ゲノムライブラリから又は公知の合成方法（例えば、自動化核酸合成）により得ることもできる。

50

ライブラリは、対象となる遺伝子あるいはその遺伝子によりコードされるタンパク質を同定するために設計されたプローブ(P R Oに対する抗体又は少なくとも約20 - 80塩基のオリゴヌクレオチド等)によってスクリーニングできる。選択されたプローブによるc D N A又はゲノムライブラリのスクリーニングは、例えばSambrookら, Molecular Cloning: A Laboratory Manual(New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)に記載されている標準的な手順を使用して実施することができる。所望のP R Oポリペプチドをコードする遺伝子を単離する他の方法はP C R法を使用するものである[Sambrookら, 上掲; Dieffenbachら, PCR Primer: A Laboratory Manual(Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1995)]。

【0084】

10

下記の実施例には、c D N Aライブラリのスクリーニング技術を記載している。プローブとして選択されたオリゴヌクレオチド配列は、十分な長さで、疑陽性が最小化されるよう十分に明瞭でなければならない。オリゴヌクレオチドは、スクリーニングされるライブラリ内のD N Aとのハイブリダイゼーション時に検出可能であるように標識されていることが好ましい。標識化の方法は当該分野において良く知られており、³²P標識されたA T Pのような放射線標識、ビオチン化あるいは酵素標識の使用が含まれる。中程度のストリンジェンシー及び高度のストリンジェンシーを含むハイブリダイゼーション条件は、上掲のSambrookら, に示されている。

このようなライブラリスクリーニング法において同定された配列は、Genbankら, の公共データベース又は個人の配列データベースに寄託され公衆に利用可能とされている周知の配列と比較及びアラインメントすることができる。分子の決定された領域内又は全長に渡っての(アミノ酸又は核酸レベルのいずれかでの)配列同一性は、当該分野で知られた、及びここに記載した方法を用いて決定することができる。

20

タンパク質コード化配列を有する核酸は、初めてここで開示された推定アミノ酸配列を使用し、また必要ならば、c D N Aに逆転写されていないm R N Aの生成中間体及び先駆物質を検出する上掲のSambrookら, に記述されているような従来のプライマー伸張法を使用して選択されたc D N A又はゲノムライブラリをスクリーニングすることによって得られる。

【0085】

2. 宿主細胞の選択及び形質転換

30

宿主細胞を、ここに記載したP R O生産のための発現又はクローニングベクターで形質移入又は形質転換し、プロモーターを誘導し、形質転換体を選択し、又は所望の配列をコードする遺伝子を増幅するために適当に変性された常套的栄養培地で培養する。培養条件、例えば培地、温度、p H等々は、過度の実験をすることなく当業者が選ぶことができる。一般に、細胞培養の生産性を最大にするための原理、プロトコール、及び実用技術は、Mammalian Cell Biotechnology: a Practical Approach, M.Butler編 (IRL Press, 1991)及びSambrookら, 上掲に見出すことができる。

【0086】

原核生物細胞形質移入及び真核生物細胞形質移入の方法、例えば、C a C l₂、C a P O₄、リボソーム媒介及びエレクトロポレーションは当業者に知られている。用いられる宿主細胞に応じて、その細胞に対して適した標準的な方法を用いて形質転換はなされる。前掲のSambrookら, に記載された塩化カルシウムを用いるカルシウム処理又はエレクトロポレーションが、一般的に原核生物に対して用いられる。アグロバクテリウム・トゥメファシエンスによる感染が、Shawら, Gene, 23:315(1983)及び1989年6月29日公開のW O 89 / 05859に記載されているように、或る種の植物細胞の形質転換に用いられる。このような細胞壁のない哺乳動物の細胞に対しては、Graham及びvan der Eb, Virology, 52:456-457 (1978)のリン酸カルシウム沈降法が好ましい。哺乳動物細胞の宿主系形質転換の一般的な態様は米国特許第4,399,216号に記載されている。酵母菌中への形質転換は、典型的には、Van Solingenら, J. Bact., 130:946 (1977)及びHsiaoら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76:3829 (1979)の方法に従って実施される。しかしながら

40

50

、DNAを細胞中に導入する他の方法、例えば、核マイクロインジェクション、エレクトロポレーション、無傷の細胞、又はポリカチオン、例えばポリブレン、ポリオルニチン等を用いる細菌プロトプラスト融合もまた用いることもできる。哺乳動物細胞を形質転換するための種々の技術については、Keownら, *Methods in Enzymology*, 185:527-537 (1990) 及び Mansourら, *Nature*, 336:348-352 (1988)を参照のこと。

【0087】

ここに記載のベクターにDNAをクローニングあるいは発現するために適切な宿主細胞は、原核生物、酵母菌、又は高等真核生物細胞である。適切な原核生物は、限定するものではないが、真正細菌、例えばグラム陰性又はグラム陽性生物体、例えば大腸菌のような腸内細菌科を含む。種々の大腸菌株が公衆に利用可能であり、例えば、大腸菌K12株MM294 (ATCC31,446)；大腸菌X1776 (ATCC31,537)；大腸菌株W3110 (ATCC27,325) 及びK5772 (ATCC53,635) である。他の好ましい原核動物宿主細胞は、大腸菌、例えば、*E. coli*、エンテロバクター、エルビニア(*Erwinia*)、クレブシエラ(*Klebsiella*)、プロテウス(*Proteus*)、サルモネラ、例えば、ネズミチフス菌、セラチア、例えば、セラチア・マルセサンス(*Serratia marcescans*)、及び赤痢菌、並びに桿菌、例えばバチルス・ブチリス(*B. subtilis*)及びバチルス・リチェニフォルミス(*B. licheniformis*) (例えば、1989年4月12日発行のDD266,710に記載されたバチルス・リチェニフォルミス41P)、シュードモナス、例えば緑膿菌及びストレプトマイセスなどの腸内細菌科を含む。これらの例は限定ではなく例示である。株W3110は、組換えDNA生産発行のための共通の宿主株であるので一つの特に好ましい宿主又は親宿主である。好ましくは、宿主細胞は最小量のタンパク質分解酵素を分泌する。例えば、株W3110は、細胞に外来のタンパク質をコードする遺伝子における遺伝子変異をするように修飾してもよく、そのような宿主の例としては、完全な遺伝子型tonAを有する大腸菌W3110株1A2；完全な遺伝子型tonA ptr3を有する大腸菌W3110株9E4；完全な遺伝子型tonA prt3 phoA E15 (argF-lac)169 degP ompT kan^{SUP}^{SUP}を有する大腸菌W3110株27C7 (ATCC 55,244)；完全な遺伝子型tonA ptr3 phoA E15 (algF-lac)169 degP ompT rbs7 ilvG kan^rを有する大腸菌W3110株37D6；非カナマイシン耐性degP欠失変異を持つ37D6株である大腸菌W3110株40B4；及び1990年8月7日発行 米国特許第4,946,783号に開示された変異周辺質プロテアーゼを有する大腸菌株を含む。あるいは、クローニングのインビトロ法、例えばPCR又は他の核酸ポリメラーゼポリメラーゼ反応が好ましい。

【0088】

原核生物に加えて、糸状菌又は酵母菌のような真核微生物は、PROポリペプチドコード化ベクターのための適切なクローニング又は発現宿主である。サッカロミセス・セレヴィシアは、通常用いられる下等真核生物宿主微生物である。他に、シゾサッカロミセス・プロンプ(*Schizosaccharomyces pombe*) (Beach及びNurse, *Nature*, 290: 140 [1981]；1985年5月2日発行のEP139,383)；クルベロミセス(*Kluveromyces*)宿主(米国特許第4,943,529号；Fleerら, *Bio/Technology*, 9: 968-975 (1991))、例えばクルベロミセス・ラクチス(*K. lactis*) (MW98-8C, CBS683, CBS4574；Louvencourtら, *J. Bacteriol.*154(2): 737-742 [1983])、クルベロミセス・フラギリリス(*K. fragilis*) (ATCC 12,424)、クルベロミセス・ブルガリクス(*K. bulgaricus*) (ATCC 16,045)、クルベロミセス・ウィケラミイ(*K. wickerhamii*) (ATCC 24,178)、クルベロミセス・ワルチイ(*K. waltii*) (ATCC 56,500)、クルベロミセス・ドロソフィラルム(*K. drosophilum*) (ATCC 36,906；Van den Bergら, *Bio/Technology*, 8: 135 (1990))、クルベロミセス・テモトレランス(*K. thermo tolerans*)及びクルベロミセス・マルキシアナス(*K. marxianus*)；ヤロウィア(*Yarrowia*) (EP 402,226)；ピチア・パストリス(*Pichia pastoris*) (EP 183,070；Sreekrishnaら, *J. Basic Microbiol*, 28: 265-278 [1988])；カンジダ；トリコ

デルマ・レーシア(*Trichoderma reesia*) (EP 244, 234); アカパンカビ (Caseら, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76: 5259-5263 [1979]); シュワニオマイセス(*Schwanniomyces*)、例えばシュワニオマイセス・オクシデンタリス(*Schwanniomyces occidentalis*) (1990年10月31日発行のEP 394, 538); 及び糸状真菌、例えば、ニューロスボラ、ペニシリウム、トリポクラジウム(*Tolypocladium*) (1991年1月10日発行のWO 91/00357); 及びコウジ菌、例えば偽巢性コウジ菌 (Ballanceら, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 112: 284-289 [1983]; Tilburnら, *Gene*, 26: 205-221 [1983]; Yeltonら, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 1470-1474 [1984]) 及びクロカビ (Kelly及びHynes, *EMBO J.*, 4: 475-479 [1985]) が含まれる。ここで好ましいメチロトロピック(C1化合物資化性、Methylotropic)酵母は、これらに限られないが、ハンセヌラ(*Hansenula*)、カンジダ、クロエケラ(*Kloeckera*)、ピチア(*Pichia*)、サッカロミセス、トルロプシス(*Torulopsis*)、及びロドトルラ(*Rhodotorula*)からなる属から選択されるメタノールで成長可能な酵母を含む。この酵母の分類の例示である特定の種のリストは、C. Anthony, *The Biochemistry of Methylotrophs*, 269 (1982)に記載されている。

10

20

30

40

50

【0089】

グリコシル化PROの発現に適切な宿主細胞は、多細胞生物から誘導される。無脊椎動物細胞の例としては、ショウジョウバエS2及びスポドスベラSf9等の昆虫細胞並びに植物細胞が含まれる。有用な哺乳動物宿主株化細胞の例は、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)及びCOS細胞を含む。より詳細な例は、SV40によって形質転換されたサル腎臓CV1株(COS-7, ATCC CRL 1651); ヒト胚腎臓株(293又は懸濁培養での増殖のためにサブクローン化された293細胞、Grahamら, *J. Gen Virol.*, 36:59 (1977)); チャイニーズハムスター卵巣細胞ノ-DHFR(CHO, Urlaub及びChasin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77:4216 (1980)); マウスのセルトリ細胞(TM4, Mather, *Biol. Reprod.*, 23:243-251 (1980)) ヒト肺細胞(W138, ATCC CCL 75); ヒト肝細胞(Hepl G2, HB 8065); 及びマウス乳房腫瘍細胞(MMT 060562, ATCC CCL 51)を含む。適切な宿主細胞の選択は、この分野の技術常識内にある。

【0090】

3. 複製可能なベクターの選択及び使用

PROポリペプチドをコードする核酸(例えば、cDNA又はゲノムDNA)は、クローニング(DNAの増幅)又は発現のために複製可能なベクター内に挿入される。様々なベクターが公的に入手可能である。ベクターは、例えば、プラスミド、コスミド、ウイルス粒子、又はファージの形態とすることができる。適切な核酸配列が、種々の手法によってベクターに挿入される。一般に、DNAはこの分野で周知の技術を用いて適当な制限エンドヌクレアーゼ部位に挿入される。ベクター成分としては、一般に、これらに制限されるものではないが、1つ又は複数のシグナル配列、複製開始点、1つ又は複数のマーカー遺伝子、エンハンサーエレメント、プロモーター、及び転写終結配列を含む。これらの成分の1つ又は複数を含む適当なベクターの作成には、当業者に知られた標準的なライゲーション技術を用いる。

【0091】

PROポリペプチドは直接的に組換え手法によって生産されるだけでなく、シグナル配列あるいは成熟タンパク質あるいはポリペプチドのN-末端に特異的切断部位を有する他のポリペプチドである異種性ポリペプチドとの融合ペプチドとしても生産される。一般に、シグナル配列はベクターの成分であるか、ベクターに挿入されるPRO-コード化DNAの一部である。シグナル配列は、例えばアルカリフォスファターゼ、ペニシリナーゼ、1ppあるいは熱安定性エンテロトキシンIIリーダーの群から選択される原核生物シグナル配列であってよい。酵母の分泌に関しては、シグナル配列は、酵母インベルターゼリーダー、アルファ因子リーダー(酵母菌属(*Saccharomyces*)及びクルイベロマイシス(*Kluyveromyces*) α因子リーダーを含み、後者は米国特許第5,010,182号に記載されている)、又は酸ホスファターゼリーダー、カンジダ・アルビカンス(*C.albicans*)グルコア

ミラーゼリーダー(1990年4月4日発行のEP362179)、又は1990年11月15日に公開されたWO90/13646に記載されているシグナルであり得る。哺乳動物細胞の発現においては、哺乳動物シグナル配列は、同一あるいは関連ある種の分泌ポリペプチド由来のシグナル配列並びにウイルス分泌リーダーのようなタンパク質の直接分泌に使用してもよい。

【0092】

発現及びクローニングベクターは共に1つ又は複数の選択された宿主細胞においてベクターの複製を可能にする核酸配列を含む。そのような配列は多くの細菌、酵母及びウイルスに対してよく知られている。プラスミドpBR322に由来する複製開始点は大部分のグラム陰性細菌に好適であり、2 μ プラスミド開始点は酵母に適しており、様々なウイルス開始点(SV40、ポリオーマ、アデノウイルス、VSV又はBPV)は哺乳動物細胞におけるクローニングベクターに有用である。

発現及びクローニングベクターは、典型的には、選べるマーカーとも称される選択遺伝子を含む。典型的な選択遺伝子は、(a)アンピシリン、ネオマイシン、メトトレキセートあるいはテトラサイクリンのような抗生物質あるいは他の毒素に耐性を与え、(b)栄養要求性欠陥を補い、又は(c)例えばパチルスのためのD-アラニンラセマーゼをコードする遺伝子のような、複合培地から得られない重要な栄養素を供給するタンパク質をコードする。

【0093】

哺乳動物細胞に適切な選べるマーカーの例は、DHFRあるいはチミジンキナーゼのようにPRO-コード化核酸を取り込むことのできる細胞成分を同定することのできるものである。野生型DHFRを用いた場合の好適な宿主細胞は、Urlaubらにより Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216 (1980)に記載されているようにして調製され増殖されたDHFR活性に欠陥のあるCHO株化細胞である。酵母菌中での使用に好適な選択遺伝子は酵母プラスミドYRp7に存在するtrp1遺伝子である[Stinchcombら, Nature, 282:39(1979); Kingsmanら, Gene, 7:141(1979); Tschemperら, Gene, 10:157(1980)]。trp1遺伝子は、例えば、ATCC番号44076あるいはPEP4-1のようなトリプトファン内で成長する能力を欠く酵母菌の突然変異株に対する選択マーカーを提供する[Jones, Genetics, 85:12 (1977)]。

発現及びクローニングベクターは、通常、PRO-コード化核酸配列に作用可能に結合し、mRNA合成を制御するプロモーターを含む。種々の可能な宿主細胞により認識される好適なプロモーターが知られている。原核生物宿主での使用に好適なプロモーターは β -ラクタマーゼ及びラクトースプロモーター系[Changら, Nature, 275:615 (1978); Goeddelら, Nature, 281:544 (1979)]、アルカリフォスファターゼ、トリプトファン(trp)プロモーター系[Goeddel, Nucleic Acids Res., 8:4057 (1980); EP 36,776]、及びハイブリッドプロモーター、例えばtacプロモーター[deBoerら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80:21-25 (1983)]を含む。細菌系で使用するプロモーターもまたPROポリペプチドをコードするDNAと作用可能に結合したシャイン・ダルガーノ(S.D.)配列を有する。

【0094】

酵母宿主と共に用いて好適なプロモーター配列の例としては、3-ホスホグリセラートキナーゼ[Hitzemanら, J. Biol. Chem., 255:2073 (1980)]又は他の糖分解酵素[Hessら, J. Adv. Enzyme Reg., 7:149 (1968); Holland, Biochemistry, 17:4900(1987)]、例えばエノラーゼ、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、ヘキソキナーゼ、ビルビン酸デカルボキシラーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、グルコース-6-リン酸イソメラーゼ、3-ホスホグリセレートムターゼ、ビルビン酸キナーゼ、トリオセリン酸イソメラーゼ、ホスホグルコースイソメラーゼ、及びグルコキナーゼが含まれる。

他の酵母プロモーターとしては、成長条件によって転写が制御される付加的効果を有する誘発的プロモーターであり、アルコールデヒドロゲナーゼ2、イソチトクロムC、酸フォスファターゼ、窒素代謝と関連する分解性酵素、メタロチオネイン、グリセルアルデヒ

10

20

30

40

50

ド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、及びマルトース及びガラクトースの利用を支配する酵素のプロモーター領域がある。酵母菌での発現に好適に用いられるベクターとプロモータはEP 73,657に更に記載されている。

【0095】

哺乳動物の宿主細胞におけるベクターからのPROポリペプチド転写は、例えば、ポリオーマウイルス、伝染性上皮腫ウイルス(1989年7月5日公開のUK2,211,504)、アデノウイルス(例えばアデノウイルス2)、ウシ乳頭腫ウイルス、トリ肉腫ウイルス、サイトメガロウイルス、レトロウイルス、B型肝炎ウイルス及びサルウイルス40(SV40)のようなウイルスのゲノムから得られるプロモーター、異種性哺乳動物プロモーター、例えばアクチンプロモーター又は免疫グロブリンプロモーター、及び熱衝撃プロモーターから得られるプロモーターによって、このようなプロモーターが宿主細胞系に適合し得る限り制御される。

より高等の真核生物による所望のPROポリペプチドをコードするDNAの転写は、ベクター中にエンハンサー配列を挿入することによって増強され得る。エンハンサーは、通常は約10から300塩基対で、プロモーターに作用してその転写を増強するDNAのシス作動性エレメントである。哺乳動物遺伝子由来の多くのエンハンサー配列が現在知られている(グロビン、エラスターゼ、アルブミン、 α -フェトプロテイン及びインスリン)。しかしながら、典型的には、真核細胞ウイルス由来のエンハンサーが用いられるであろう。例としては、複製起点の後期側のSV40エンハンサー(100-270塩基対)、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の後期側のポリオーマエンハンサー及びアデノウイルスエンハンサーが含まれる。エンハンサーは、PROコード化配列の5'又は3'位でベクター中にスプライシングされ得るが、好ましくはプロモーターから5'位に位置している。

【0096】

また真核生物宿主細胞(酵母、真菌、昆虫、植物、動物、ヒト、又は他の多細胞生物由来の有核細胞)に用いられる発現ベクターは、転写の終結及びmRNAの安定化に必要な配列も含む。このような配列は、真核生物又はウイルスのDNA又はcDNAの通常は5'、時には3'の非翻訳領域から取得できる。これらの領域は、PROポリペプチドをコードするmRNAの非翻訳部分にポリアデニル化断片として転写されるヌクレオチドセグメントを含む。

組換え脊椎動物細胞培養でのPROポリペプチドの合成に適応化するのに適切な他の方法、ベクター及び宿主細胞は、Gethingら, Nature, 293:620-625 (1981); Manteiら, Nature, 281:40-46 (1979); EP 117,060; 及びEP 117,058に記載されている。

【0097】

4. 遺伝子増幅/発現の検出

遺伝子の増幅及び/又は発現は、ここで提供された配列に基づき、適切に標識されたプローブを用い、例えば、従来よりのサザンブロット法、mRNAの転写を定量化するノーザンブロット法[Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:5201-5205 (1980)]、ドットブロット法(DNA分析)、又はインサイツハイブリダイゼーション法によって、直接的に試料中で測定することができる。あるいは、DNA二本鎖、RNA二本鎖及びDNA-RNAハイブリッド二本鎖又はDNA-タンパク二本鎖を含む、特異的二本鎖を認識することができる抗体を用いることもできる。次いで、抗体を標識し、アッセイを実施することができ、ここで二本鎖は表面に結合しており、その結果二本鎖の表面での形成の時点でその二本鎖に結合した抗体の存在を検出することができる。

あるいは、遺伝子の発現は、遺伝子産物の発現を直接的に定量する免疫学的方法、例えば細胞又は組織切片の免疫組織化学的染色及び細胞培養又は体液のアッセイによって、測定することもできる。試料液の免疫組織化学的染色及び/又はアッセイに有用な抗体は、モノクローナルでもポリクローナルでもよく、任意の哺乳動物で調製することができる。簡便には、抗体は、天然配列PROポリペプチドに対して、又はここで提供されるDN

10

20

30

40

50

A 配列をベースとした合成ペプチドに対して、又は P R O D N A に融合し特異的抗体エピトープをコードする外因性配列に対して調製され得る。

【 0 0 9 8 】

5 . ポリペプチドの精製

P R O ポリペプチドの形態は、培地又は宿主細胞の溶菌液から回収することができる。膜結合性であるならば、適切な洗浄液(例えばトリトン-X 1 0 0)又は酵素的切断を用いて膜から引き離すことができる。P R O ポリペプチドの発現に用いられる細胞は、凍結融解サイクル、超音波処理、機械的破壊、又は細胞溶解剤などの種々の化学的又は物理的手段によって破壊することができる。

P R O ポリペプチドを、組換え細胞タンパク又はポリペプチドから精製することが望ましい。適切な精製手順の例である次の手順により精製される：すなわち、イオン交換カラムでの分画；エタノール沈殿；逆相 H P L C ；シリカ又はカチオン交換樹脂、例えば D E A E によるクロマトグラフィー；クロマトフォーカシング；S D S - P A G E ；硫酸アンモニウム沈殿；例えばセファデックス G - 7 5 を用いるゲル濾過；I g G のような汚染物を除くプロテイン A セファロースカラム；及び P R O ポリペプチドのエピトープタグ形態を結合させる金属キレート化カラムである。この分野で知られ、例えば、Deutscher, *Methods in Enzymology*, 182 (1990)；Scopes, *Protein Purification: Principles and Practice*, Springer-Verlag, New York (1982)に記載された多くのタンパク質精製方法を用いることができる。選ばれる精製過程は、例えば、用いられる生産方法及び特に生産される特定の P R O の性質に依存する。

10

20

【 0 0 9 9 】

E . P R O の用途

P R O をコードする核酸配列（又はそれらの相補鎖）は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用を含む分子生物学の分野において、染色体及び遺伝子マッピングにおいて、及びアンチセンス R N A 及び D N A の生成において種々の用途を有している。また、P R O 核酸も、ここに記載される組換え技術による P R O ポリペプチドの調製に有用である。

【 0 1 0 0 】

完全長天然配列 P R O 遺伝子又はその一部は、完全長 P R O c D N A の単離又はここに開示した P R O 配列に対して所望の配列同一性を持つ更に他の遺伝子（例えば、P R O の天然発生変異体又は他の種からの P R O をコードするもの）の単離のための c D N A ライブラリ用のハイブリダイゼーションプローブとして使用できる。場合によっては、プローブの長さは約 2 0 ~ 約 5 0 塩基である。ハイブリダイゼーションプローブは、少なくとも部分的に完全長天然ヌクレオチド配列の新規な領域から誘導してもよく、それらの領域は、過度の実験をすることなく、天然配列 P R O のプロモーター、エンハンサー成分及びイントロンを含むゲノム配列から誘導され得る。例えば、スクリーニング法は、P R O ポリペプチド遺伝子のコード化領域を周知の D N A 配列を用いて単離して約 4 0 塩基の選択されたプローブを合成することを含む。ハイブリダイゼーションプローブは、^{3 2}P 又は ^{3 5}S 等の放射性ヌクレオチド、又はアビディン/ビオチン結合系を介してプローブに結合したアルカリホスファターゼ等の酵素標識を含む種々の標識で標識されうる。本発明の P R O ポリペプチド遺伝子に相補的な配列を有する標識されたプローブは、ヒト c D N A 、ゲノム D N A 又は m R N A のライブラリーをスクリーニングし、そのライブラリーの何れのメンバーがプローブにハイブッド形成するかを決定するのに使用できる。ハイブリダイゼーション技術は、以下の実施例において更に詳細に記載する。

30

40

【 0 1 0 1 】

本出願で開示する任意の E S T はプローブと同様に、ここに記載した方法で用いることができる。

P R O 核酸の他の有用な断片は、標的 P R O m R N A （センス）又は P R O D N A （アンチセンス）配列に結合できる一本鎖核酸配列（R N A 又は D N A のいずれか）を含むアンチセンス又はセンスオリゴヌクレオチドを含む、アンチセンス又はセンスオリゴヌク

50

レオチドは、本発明によると、P R O D N Aのコード化領域の断片を含む。このような断片は、一般的には少なくとも約14ヌクレオチド、好ましくは約14から30ヌクレオチドを含む。与えられたタンパク質をコードするc D N A配列に基づく、アンチセンス又はセンスオリゴヌクレオチドを制御する可能性は、例えば、Stein及びCohen (CancerRes. 48: 2659: 1988) 及び van der Krolら, (BioTechniques 6: 958, 1988) に記載されている。

【0102】

アンチセンス又はセンスオリゴヌクレオチドの標的核酸配列への結合は二重鎖の形成をもたらし、それは、二重鎖の分解の促進、転写又は翻訳の期外停止を含む幾つかの方法の一つ、又は他の方法により、標的配列の転写又は翻訳を阻止する。よって、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、P R Oタンパク質の発現を阻止するのに用いられる。アンチセンス又はセンスオリゴヌクレオチドは、修飾糖 - ホスホジエステル骨格 (又は他の糖結合、W O 9 1 / 0 6 6 2 9 に記載のもの等) を有するオリゴヌクレオチドをさらに含み、そのような糖結合は内因性ヌクレアーゼ耐性である。そのような耐性糖結合を持つオリゴヌクレオチドは、インピボで安定であるが (即ち、酵素分解に耐えうるが)、標的ヌクレオチド配列に結合できる配列特異性は保持している。

センス又はアンチセンスオリゴヌクレオチドの他の例は、W O 9 0 / 1 0 0 4 8 に記載されているもののような、有機部分、及びオリゴヌクレオチドの標的核酸配列への親和性を向上させる他の部分、例えばポリ-(L-リジン)に共有結合したオリゴヌクレオチドを含む。さらにまた、エリブチシン等の挿入剤、アルキル化剤又は金属作体をセンス又はアンチセンスオリゴヌクレオチドに結合させ、アンチセンス又はセンスオリゴヌクレオチドの標的ヌクレオチド配列への結合特異性を改変してもよい。

【0103】

アンチセンス又はセンスオリゴヌクレオチドは、例えば、C a P O₄-媒介D N A形質移入、エレクトロポレーションを含む任意の遺伝子転換方法により、又はエプスタイン-バーウイルスなどの遺伝子転換ベクターを用いることにより、標的核酸配列を含む細胞に導入される。好ましい方法では、アンチセンス又はセンスオリゴヌクレオチドは、適切なレトロウイルスベクターに挿入される。標的核酸配列を含む細胞は、インピボ又はエキソピボで組換えレトロウイルスベクターに接触させる。好適なレトロウイルスベクターは、これらに限られないが、マウスレトロウイルスM-M u L Vから誘導されるもの、N 2 (M-M u L Vから誘導されたレトロウイルス)、又はD C T 5 A、D C T 5 B 及びD C T 5 Cと命名されたダブルコピーベクター (W O 9 0 / 1 3 6 4 1 参照) を含む。

また、センス又はアンチセンスオリゴヌクレオチドは、W O 9 1 / 0 4 7 5 3 に記載されているように、リガンド結合分子との複合体の形成により標的配列を含む細胞に導入してもよい。適切なリガンド結合分子は、これらに限られないが、細胞表面レセプター、成長因子、他のサイトカイン、又は細胞表面レセプターに結合する他のリガンドを含む。好ましくは、リガンド結合分子の複合体形成は、リガンド結合分子がその対応する分子又はレセプターに結合する、あるいはセンス又はアンチセンスオリゴヌクレオチド又はその複合体の細胞への侵入を阻止する能力を実質的に阻害しない。

【0104】

あるいは、センス又はアンチセンスオリゴヌクレオチドは、W O 9 0 / 1 0 4 4 8 に記載されたように、オリゴヌクレオチド - 脂質複合体の形成により標的核酸配列を含む細胞に導入してもよい。センス又はアンチセンスオリゴヌクレオチド - 脂質複合体は、好ましくは内因性リパーゼにより細胞内で分解される。

アンチセンスR N A又はD N A分子は一般に少なくとも約5塩基長、約10塩基長、約15塩基長、約20塩基長、約25塩基長、約30塩基長、約35塩基長、約40塩基長、約45塩基長、約50塩基長、約55塩基長、約60塩基長、約65塩基長、約70塩基長、約75塩基長、約80塩基長、約85塩基長、約90塩基長、約95塩基長、約100塩基長、あるいはそれ以上である。

10

20

30

40

50

また、プローブは、PCR技術に用いて、密接に関連したPROコード化配列の同定のための配列のプールを作成することができる。

また、PROをコードするヌクレオチド配列は、そのPROをコードする遺伝子のマッピングのため、及び遺伝子疾患を持つ個体の遺伝子分析のためのハイブリダイゼーションプローブの作成にも用いることができる。ここに提供されるヌクレオチド配列は、インサイツハイブリダイゼーション、既知の染色体マーカーに対する結合分析、及びライブラリーでのハイブリダイゼーションスクリーニング等の周知の技術を用いて、染色体及び染色体の特定領域にマッピングすることができる。

【0105】

PROのコード化配列が他のタンパク質に結合するタンパク質をコードする場合（例えば、PROがレセプターである場合）、PROは、そのリガンドを同定するアッセイに用いることができる。このような方法により、レセプター/リガンド結合性相互作用の阻害剤を同定することができる。このような結合性相互作用に含まれるタンパク質も、ペプチド又は小分子阻害剤又は結合性相互作用のアゴニストのスクリーニングに用いることができる。また、レセプターPROは関連するリガンドの単離にも使用できる。スクリーニングアッセイは、天然PRO又はPROのレセプターの生物学的活性に似たリード化合物の発見のために設計される。このようなスクリーニングアッセイは、化学的ライブラリーの高スループットスクリーニングにも用いられ、小分子候補薬剤の同定に特に適したものとす。考慮される小分子は、合成有機又は無機化合物を含む。アッセイは、この分野で良 10
く知られ特徴付けられているタンパク質-タンパク質結合アッセイ、生物学的スクリー 20
ングアッセイ、免疫検定及び細胞ベースのアッセイを含む種々の型式で実施される。

【0106】

また、PRO又はその任意の修飾型をコードする核酸は、トランスジェニック動物又は「ノックアウト」動物のいずれかを産生することに使用でき、これらは治療的に有用な試薬の開発やスクリーニングに有用である。トランスジェニック動物（例えばマウス又はラット）とは、出生前、例えば胚段階で、その動物又はその動物の祖先に導入された導入遺伝子を含む細胞を有する動物である。導入遺伝子とは、トランスジェニック動物が発生する細胞のゲノムに組み込まれたDNAである。一実施形態では、PROをコードするcDNAは、PROをコードするDNAを発現する細胞を含むトランスジェニック動物を作製するために使用するゲノム配列及び確立された技術に基づいて、PROをコードするゲノムDNAをクローン化するために使用することができる。トランスジェニック動物、特にマウス又はラット等の特定の動物を産生する方法は、当該分野において常套的になっており、例えば米国特許第4,736,866号や第4,870,009号に記述されている。典型的には、特定の細胞を組織特異的エンハンサーでのPRO導入遺伝子の導入の標的にする。胚段階で動物の生殖系列に導入されたPROコード化導入遺伝子のコピーを含むトランスジェニック動物はPROをコードするDNAの増大した発現の影響を調べるために使用できる。このような動物は、例えばその過剰発現を伴う病理学的状態に対して保護をもたらすと思われる試薬のテスター動物として使用できる。本発明のこの態様においては、動物を試薬で治療し、導入遺伝子を有する未治療の動物に比べ病理学的状態の発症率が低ければ、病理学的状態に対する治療的処置の可能性が示される。 30
40

【0107】

あるいは、PROの非ヒト相同体は、動物の胚性細胞に導入されたPROをコードする変更ゲノムDNAと、PROをコードする内在性遺伝子との間の相同的組換えによって、PROをコードする欠陥又は変更遺伝子を有するPRO「ノックアウト」動物を作成するために使用できる。例えば、PROをコードするcDNAは、確立された技術に従い、PROをコードするゲノムDNAのクローニングに使用できる。PROをコードするゲノムDNAの一部を欠失したり、組み込みを監視するために使用する選択可能なマーカーをコードする遺伝子等の他の遺伝子で置換することができる。典型的には、ベクターは無変化のフランキングDNA（5'と3'末端の両方）を数千ベース含む[例えば、相同的組換えベクターについてはThomas及びCapecchi, Cell, 51:503(1987)を参照のこと]。ベクタ 50

ーは胚性幹細胞に(例えばエレクトロポレーションによって)導入し、導入されたDNAが内在性DNAと相同的に組換えられた細胞が選択される[例えば、Liら, Cell, 69:915(1992)参照]。選択された細胞は次に動物(例えばマウス又はラット)の胚盤胞内に注入されて集合キメラを形成する[例えば、Bradley, Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach, E. J. Robertson, ed. (IRL, Oxford, 1987), pp. 113-152 参照のこと]。その後、キメラ性胚を適切な偽妊娠の雌性乳母に移植し、期間をおいて「ノックアウト」動物を作り出す。胚細胞に相同的に組換えられたDNAを有する子孫は標準的な技術により同定され、それらを利用して動物の全細胞が相同的に組換えられたDNAを含む動物を繁殖させることができる。ノックアウト動物は、PROポリペプチドの欠乏によるある種の病理的状态及びその病理的状态の進行に対する防御能力によって特徴付けられる。 10

【0108】

また、PROポリペプチドをコードする核酸は遺伝子治療にも使用できる。遺伝子治療用途においては、例えば欠陥遺伝子を置換するため、治療的有效量の遺伝子産物のインビボ合成を達成するために遺伝子が導入される。「遺伝子治療」とは、1回の処理により継続的效果が達成される従来の遺伝子治療と、治療的に有効なDNA又はmRNAの1回又は繰り返し投与を含む遺伝子治療薬の投与の両方を含む。アンチセンスRNA及びDNAは、ある種の遺伝子のインビボ発現を阻止する治療薬として用いることができる。短いアンチセンスオリゴヌクレオチドを、細胞膜による制限された取り込みに起因する低い細胞内濃度にもかかわらず、それが阻害剤として作用する細胞中に移入できることは既に示されている(Zamecnikら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 4143-4146 [1986])。オリゴヌクレオチドは、それらの負に荷電したリン酸ジエステル基を非荷電基で置換することによって取り込みを促進するように修飾してもよい。 20

【0109】

生存可能な細胞に核酸を導入するための種々の技術が存在する。これらの技術は、核酸が培養細胞にインビトロで、あるいは意図する宿主の細胞においてインビボで移入されるかに応じて変わる。核酸を哺乳動物細胞にインビトロで移入するのに適した方法は、リポソーム、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、細胞融合、DEAE-デキストラン、リン酸カルシウム沈殿法などを含む。現在好ましいインビボ遺伝子移入技術は、ウイルス(典型的にはレトロウイルス)ベクターでの形質移入及びウイルス被覆タンパク質-リポソーム媒介形質移入である(Dzauら, Trends in Biotechnology 11, 205-210(1993))。幾つかの状況では、核酸供給源を、細胞表面膜タンパク質又は標的細胞に特異的な抗体、標的細胞上のレセプターに対するリガンド等の標的細胞を標的化する薬剤とともに提供するのが望ましい。リポソームを用いる場合、エンドサイトーシスを伴って細胞表面膜タンパク質に結合するタンパク質、例えば、特定の細胞型向性のキャプシドタンパク質又はその断片、サイクルにおいて内部移行を受けるタンパク質に対する抗体、細胞内局在化を標的とし細胞内半減期を向上させるタンパク質が、標的化及び/又は取り込みの促進のために用いられる。レセプター媒介エンドサイトーシスは、例えば、Wuら, J. Biol. Chem. 262, 4429-4432 (1987); 及びWagnerら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 3410-3414 (1990)によって記述されている。遺伝子作成及び遺伝子治療のプロトコールの概説については、Andersonら, Science 256, 808-813 (1992)を参照のこと。 30 40

【0110】

ここに記載したPROポリペプチドをタンパク質電気泳動目的の分子量マーカーとして用いてもよく、単離された核酸配列を、これらのマーカーを組み換え発現に用いてもよい。

ここに記載したPROポリペプチド又はその断片をコードする核酸分子は、染色体の同定に有用である。この点において、実際の配列に基づく染色体マーカー試薬は殆ど利用可能ではないため、新規な染色体マーカーの同定の必要である。本発明の各PRO核酸分子は染色体マーカーとして使用できる。

また、本発明のPROポリペプチド及び核酸分子は組織タイピングに使用でき、本発明 50

のPROポリペプチドは、好ましくは同じ型の正常組織に比較して疾患性組織において、一方の組織で他方に比較して異なる発現をする。PRO核酸分子には、PCR、ノーザン分析、サザン分析及びウェスタン分析のプローブ生成のための用途が見出されるであろう。

【0111】

ここに記載したPROポリペプチドは治療薬として用いてもよい。本発明のPROポリペプチドは、製薬的に有用な組成物を調製するのに知られた方法に従って製剤され、これにより、このPRO生成物は製薬的に許容される担体媒体と混合される。治療用製剤は、凍結乾燥された製剤又は水性溶液の形態で、任意的な製薬上許容可能なキャリア、賦形剤又は安定剤と、所望の精製度を有する活性成分とを混合することにより(Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, A. Osol, Ed., [1980])、調製され保管される。許容される担体、賦形剤又は安定剤は、用いる投与量及び濃度ではレシピエントに対して無毒性であり、リン酸、クエン酸及び他の有機酸等の緩衝液；アスコルビン酸を含む抗酸化剤；低分子量(残基数10個未満)ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン又は免疫グロブリン等のタンパク質；ポリビニルピロリドン等の親水性重合体；グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン又はリシン等のアミノ酸；グルコース、マンノース又はデキストリン等の単糖類、二糖類又は他の炭水化物、EDTA等のキレート剤、マンニトール又はソルビトール等の糖類、ナトリウム等の塩形成対イオン；及びノ又はTWEEN(商品名)、PLURONICS(商品名)又はポリエチレングリコール(PEG)等の非イオン性界面活性剤を含む。

【0112】

インビボ投与に使用される製剤は滅菌されていなくてはならない。これは、凍結乾燥及び再構成の前又は後に、滅菌フィルター膜を通す濾過により容易に達成される。

ここで、本発明の製薬組成物は一般に、無菌のアクセスポートを具備する容器、例えば、皮下注射針で貫通可能なストッパーを持つ静脈内バッグ又はバイアル内に配される。

投与経路は周知の方法、例えば、静脈内、腹膜内、脳内、筋肉内、眼内、動脈内又は病巣内経路での注射又は注入、局所投与、又は徐放系による。

本発明の製薬組成物の用量及び望ましい薬物濃度は、意図する特定の用途に応じて変化する。適切な用量又は投与経路の決定は、通常の内科医の技量の範囲内である。動物実験は、ヒト治療のための有効量の決定についての信頼できるガイダンスを提供する。有効量の種間スケールリングは、Toxicokinetics and New Drug Development, Yacobiら、編、Pergamon Press, New York 1989, pp. 42-96のMordenti, J. 及びChappell, W. 「The use of interspecies scaling in toxicokinetics」に記載された原理に従って実施できる。

【0113】

PROポリペプチド又はそのアゴニスト又はアンタゴニストのインビボ投与が用いられる場合、正常な投与量は、投与経路に応じて、哺乳動物の体重当たり1日に約10ng/kgから100mg/kgまで、好ましくは約1μg/kg/日から10mg/kg/日である。特定の用量及び輸送方法の指針は文献に与えられている；例えば、米国特許第4,657,760号、第5,206,344号、又は第5,225,212号参照。異なる製剤が異なる治療用化合物及び異なる疾患に有効であること、例えば一つの器官又は組織を標的とする投与には、他の器官又は組織とは異なる方式で輸送することが必要であることが予想される。

PROポリペプチドの投与を必要とする任意の疾患又は疾病の治療に適した放出特性を持つ製剤でPROポリペプチドの持続放出が望まれる場合、PROポリペプチドのマイクロカプセル化が考えられる。持続放出のための組換えタンパク質のマイクロカプセル化は、ヒト成長ホルモン(rhGH)、インターフェロン-(rhIFN-)、インターロイキン-2、及びMNgp120で成功裏に実施されている。Johnsonら、Nat. Med., 2: 795-799 (1996); Yasuda, Biomed. Ther., 27: 1221-1223 (1993); Horaら、Bio/Technology, 8: 755-758 (1990); Cleland, 「Design and Production of Single Immunization Vaccines Using Polyactide Polyglycolide Microsphere Systems」 Vaccine Design: Th

e Subunit and Adjuvant Approach, Powell 及び Newman編, (Plenum Press: New York, 1995), p.439-462; WO 97 / 03692, WO 96 / 40072, WO 96 / 07399; 及び米国特許第 5,564,010 号。

【0114】

これらのタンパク質の持続放出製剤は、ポリ-乳酸-コグリコール酸 (PLGA) ポリマーを用い、その生体適合性及び広範囲の生分解特性に基づいて開発された。PLGA の分解生成物である乳酸及びグリコール酸は、ヒト身体内で即座にクリアされる。さらに、このポリマーの分解性は、分子量及び組成に依存して数ヶ月から数年まで調節できる。Lewis, 「Controlled release of bioactive agents from lactide/glycolide polymer」: M. Chasin 及び R. Langer (編), Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems (Marcel Dekker: New York, 1990), pp. 1-41. 10

本発明は、PROポリペプチドに類似する(アゴニスト)又はPROポリペプチドの効果を阻害する(アンタゴニスト)ものを同定するための化合物のスクリーニング方法も包含する。アンタゴニスト候補薬のスクリーニングアッセイは、ここに同定した遺伝子にコードされるPROポリペプチドと結合又は複合体形成する化合物、又は他にコード化ポリペプチドの他の細胞性タンパク質との相互作用を阻害する化合物を同定するために設計される。このようなスクリーニングアッセイは、それを特に小分子候補薬の同定に適したものに、化学的ライブラリの高スループットスクリーニングに適用可能なアッセイを含む。

該アッセイは、タンパク質-タンパク質結合アッセイ、生化学的スクリーニングアッセイ、イムノアッセイ、及び細胞ベースのアッセイで、この分野で知られたものを含む種々の方式で実施される。 20

アンタゴニストについての全てのアッセイは、それらが候補薬をここで同定された核酸にコードされるPROポリペプチドと、これら2つの成分が相互作用するのに十分な条件下及び時間で接触させることを必要とすることにおいて共通する。

【0115】

結合アッセイにおいて、相互作用は結合であり、形成された複合体は単離されるか、又は反応混合物中で検出される。特別な実施態様では、ここに同定された遺伝子にコードされるPROポリペプチド又は候補薬が、共有又は非共有結合により固相、例えばマイクロタイタープレートに固定化される。非共有結合は、一般的に固体表面をPROポリペプチドの溶液で被覆し乾燥させることにより達成される。あるいは、固定化されるPROポリペプチドに特異的な固定化抗体、例えばモノクローナル抗体を、それを固体表面に固着させるために用いることができる。アッセイは、固定化成分、例えば固着成分を含む被覆表面に、検出可能な標識で標識されていてもよい非固定化成分を添加することにより実施される。反応が完了したとき、未反応成分を例えば洗浄により除去し、固体表面に固着した複合体を検出する。最初の非固定化成分が検出可能な標識を有している場合、表面に固定化された標識の検出は複合体形成が起こったことを示す。最初の非固定化成分が標識を持たない場合は、複合体形成は、例えば、固定化された複合体に特異的に結合する標識抗体によって検出できる。 30

【0116】

候補化合物が相互作用するがここに同定した遺伝子にコードされる特定のPROポリペプチドに結合しない場合、そのポリペプチドとの相互作用は、タンパク質-タンパク質相互作用を検出するために良く知られている方法によってアッセイすることができる。そのようなアッセイは、架橋、同時免疫沈降、及び勾配又はクロマトグラフィカラムを通す同時精製などの伝統的な手法を含む。さらに、タンパク質-タンパク質相互作用は、Chevray 及び Nathans [Proc.Natl. Acad. Sci. USA 89, 5789-5793 (1991)] に開示されているように、Fields 及び共同研究者ら [Fields 及び Song, Nature(London) 340, 245-246 (1989); Chienら, Proc.Natl. Acad. Sci. USA 88, 9578-9582 (1991)] に記載された酵母ベースの遺伝子系を用いることによってモニターすることができる。酵母 GAL4 などの多くの転写活性化剤は、2つの物理的に別個のモジュラードメインからなり、一方はDNA結合 40 50

ドメインとして作用し、他方は転写活性化ドメインとして機能する。前出の文献に記載された酵母発現系（一般に「2-ハイブリッド系」と呼ばれる）は、この特性の長所を利用し、並びに2つのハイブリッドタンパク質を用い、一方では標的タンパク質がGAL4のDNA結合ドメインに融合し、他方では候補となる活性化タンパク質が活性化ドメインに融合している。GAL1-lacZリポーター遺伝子のGAL4活性化プロモーターの制御下での発現は、タンパク質-タンパク質相互作用を介したGAL4活性の再構成に依存する。相互作用するポリペプチドを含むコロニーは、 β -ガラクトシダーゼに対する色素生産性物質で検出される。2-ハイブリッド技術を用いた2つの特定のタンパク質間のタンパク質-タンパク質相互作用を同定するための完全なキット（MATCHMAKER(商品名)）は、Clontechから商業的に入手可能である。また、この系は、特定のタンパク質相互作用に含まれるタンパク質ドメインのマッピング、並びにこれら相互作用にとって重要なアミノ酸残基の特定へ拡大適用することができる。

10

【0117】

ここで同定されたPROポリペプチドをコードする遺伝子と細胞内又は細胞外成分との相互作用を阻害する化合物は、次のように試験できる：通常、反応混合物は、遺伝子産物と細胞外又は細胞内成分を、これら2つの生成物の相互作用及び結合が可能な条件下及び時間に渡って含むように調製される。候補化合物が結合を阻害する能力を試験するために、反応は試験化合物の不存在及び存在下で実施される。さらに、プラシーボを第3の反応混合物に添加してポジティブコントロールを提供してもよい。混合物中に存在する試験化合物と細胞内又は細胞外成分との結合（複合体形成）は上記のようにモニターされる。試験化合物を含有する反応混合物ではなく、コントロール反応における複合体の形成は、試験化合物が試験化合物とその結合パートナーとの相互作用を阻害することを示す。

20

【0118】

アンタゴニストをアッセイするためには、特定の活性についてスクリーニングされる化合物とともにPROポリペプチドを細胞へ添加してもよく、PROポリペプチド存在下における対象活性を阻害する化合物の能力は、化合物がPROポリペプチドのアンタゴニストであることを示す。あるいは、PROポリペプチドと膜結合PROポリペプチドレセプター又は組換えレセプターを有する潜在的アンタゴニストを競合的阻害アッセイに適した条件下で結合させることによって、アンタゴニストを検出してもよい。放射活性などでPROポリペプチドを標識することが可能であり、潜在的アンタゴニストの有効性を判断するためにレセプターに結合したPROポリペプチドの数を利用することができる。レセプターをコードする遺伝子は、当業者に知られた多くの方法、例えばリガンドパンニング及びFACSソートによって同定できる。Coliganら, Current Protocols in Immun., 1(2): 第5章(1991)。好ましくは、発現クローニングが用いられ、ポリアデニル化RNAがPROポリペプチドに反応性の細胞から調製され、このRNAから生成されたcDNAライブラリがプールに分配され、COS細胞又はPROポリペプチド反応性でない他の細胞の形質移入に使用される。スライドガラスで成長させた形質移入細胞を、標識したPROポリペプチドで暴露する。このPROポリペプチドは、ヨウ素化又は部位特異的タンパク質キナーゼの認識部位の封入を含む種々の手段で標識できる。固定及びインキュベーションの後、スライドにオートラジオグラフィ分析を施す。ポジティブプールを同定し、相互作用サブプール化及び再スクリーニング工程を用いてサブプールを調製して再形質移入し、最終的に推定レセプターをコードする単一のクローンを生成する。

30

40

【0119】

レセプター同定の代替的方法として、標識下PROポリペプチドをレセプター分子を発現する細胞膜又は抽出調製物に光親和性結合させることができる。架橋材料をPAGEで溶解させ、X線フィルムへ暴露する。レセプターを含む標識複合体を励起し、ペプチド断片へ分解し、タンパク質マイクロ配列決定を施すことができる。マイクロ配列決定から得たアミノ酸配列は、推定レセプターをコードする遺伝子を同定するcDNAライブラリをスクリーニングする縮重オリゴヌクレオチドプローブの一組の設計に用いられる。

アンタゴニストの他の検定では、レセプターを発現する哺乳動物細胞又は膜調製物を、

50

候補化合物の存在下で標識 P R O ポリペプチドとともにインキュベートする。次いで、この相互作用を促進又は阻止する化合物の能力を測定する。

潜在的なアンタゴニストのより特別な例は、免疫グロブリンと P R O ポリペプチドとの融合体に結合するオリゴヌクレオチド、特に、限られないが、ポリペプチド-及びモノクローナル抗体及び抗体断片、一本鎖抗体、抗-イディオタイプ抗体、及びこれらの抗体又は断片のキメラ又はヒト化形態、並びにヒト抗体及び抗体断片を含む抗体を含んでいる。あるいは、潜在的アンタゴニストは、密接に関連したタンパク質、例えば、レセプターを認識するが効果を与えず、従って P R O ポリペプチドの作用を競合的に阻害する P R O ポリペプチドの変異形態であってもよい。

【 0 1 2 0 】

他の潜在的な P R O ポリペプチドアンタゴニストは、アンチセンス技術を用いて調製されたアンチセンス R N A 又は D N A 作成物であり、例えば、アンチセンス R N A 又は D N A は、標的 m R N A にハイブリダイゼーションしてタンパク質翻訳を妨害することにより m R N A の翻訳を直接阻止するように作用する。アンチセンス技術は、トリプルヘリックス形成又はアンチセンス D N A 又は R N A を通して遺伝子発現を制御するのに使用でき、それらの方法はともに、ポリペプチドヌクレオチドの D N A 又は R N A への結合に基づく。例えば、ここでの成熟 P R O ポリペプチドをコードするポリペプチドヌクレオチド配列の 5'コード化部分は、約 10 から 40 塩基対長のアンチセンス R N A オリゴヌクレオチドの設計に使用される。D N A オリゴヌクレオチドは、転写に含まれる遺伝子の領域に相補的であるように設計され(トリプルヘリックス - Leeら, Nucl. Acid Res., 6: 3073 (1979); Cooneyら, Science, 241: 456 (1988); Dervanら, Science, 251: 1360 (1991)参照)、それにより P R O ポリペプチドの転写及び生成を防止する。アンチセンス R N A オリゴヌクレオチドはインピボで m R N A にハイブリダイゼーションして m R N A 分子の P R O ポリペプチドへの翻訳を阻止する(アンチセンス - Okano, Neurochem., 56: 560 (1991); Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression (SRS Press: Boca Raton, FL, 1988))。上記のオリゴヌクレオチドは、細胞に輸送され、アンチセンス R N A 又は D N A をインピボで発現させて、P R O ポリペプチドの生産を阻害することもできる。アンチセンス D N A が用いられる場合、翻訳開始部位、例えば標的遺伝子ヌクレオチド配列の - 10 から + 10 位置の間から誘導されるオリゴデオキシリボヌクレオチドが好ましい。

【 0 1 2 1 】

潜在的アンタゴニストは、P R O ポリペプチドの活性部位、レセプター結合部位、又は成長因子又は他の関連結合部位に結合し、それにより P R O ポリペプチドの正常な生物学的活性を阻止する小分子を含む。小分子の例は、これらに限られないが、小型ペプチド又はペプチド様分子、好ましくは可溶性ペプチド、及び合成非ペプチド有機又は無機化合物を含む。

リボザイムは、R N A の特異的切断を触媒できる酵素的 R N A 分子である。リボザイムは、相補的標的 R N A への配列特異的ハイブリダイゼーション、次いでヌクレオチド鎖切断的切断により作用する。潜在的 R N A 標的内の特異的リボザイム切断部位は、既知の技術で同定できる。更なる詳細は、例えば、Rossi, Current Biology 4: 469-471 (1994)及び P C T 公報、番号 W O 9 7 / 3 3 5 5 1 (1 9 9 7 年 9 月 1 8 日 公 開) を 参 照 。

【 0 1 2 2 】

転写阻害に用いられるトリプルヘリックス形成における核酸分子は一本鎖でデオキシヌクレオチドからなる。これらのオリゴヌクレオチドの基本組成は、フーグスチン塩基対則を介するトリプルヘリックス形成を促進するように設計され、それは一般に二重鎖の一方の鎖上のプリン又はピリミジンのサイズ変更可能な伸展を必要とする。さらなる詳細は、例えば、P C T 公報、番号 W O 9 7 / 3 3 5 5 1、上掲を参照。

これらの小分子は、上記で検討したスクリーニングアッセイの 1 つ又は複数の任意のものにより及び / 又は当業者に良く知られた他の任意のスクリーニング技術により同定できる。

10

20

30

40

50

また、ここで開示されている分子の診断的及び治療的利用は、下記に開示及び記載のポジティブ機能アッセイヒットに基づいている。

【0123】

F. 抗-P R O抗体

本発明は、さらに抗-P R O抗体を提供するものである。抗体の例としては、ポリクローナル、モノクローナル、ヒト化、二重特異性及びヘテロ複合体抗体が含まれる。

【0124】

1. ポリクローナル抗体

抗-P R O抗体はポリクローナル抗体を含む。ポリクローナル抗体の調製方法は当業者に知られている。哺乳動物においてポリクローナル抗体は、例えば免疫化剤、及び所望するのであればアジュバントを、1つ又は複数回注射することで発生させることができる。典型的には、免疫化剤及び/又はアジュバントを複数回皮下又は腹腔内注射により、哺乳動物に注射する。免疫化剤は、P R Oポリペプチド又はその融合タンパク質を含みうる。免疫化剤を免疫化された哺乳動物において免疫原性が知られているタンパク質に結合させるのが有用である。このような免疫原タンパク質の例は、これらに限られないが、キーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリン及び大豆トリプシンインヒビターが含まれる。使用され得るアジュバントの例には、フロイント完全アジュバント及びM P L - T D Mアジュバント(モノホスホリル脂質A、合成トレハロースジコリノミコラート)が含まれる。免疫化プロトコールは、過度の実験なく当業者により選択されるであろう。

10

20

【0125】

2. モノクローナル抗体

あるいは、抗-P R O抗体はモノクローナル抗体であってもよい。モノクローナル抗体は、Kohler及びMilstein, Nature, 256:495 (1975)に記載されているようなハイブリドーマ法を使用することで調製することができる。ハイブリドーマ法では、マウス、ハムスター又は他の適切な宿主動物を典型的には免疫化剤により免疫化することで、免疫化剤に特異的に結合する抗体を生成するか或いは生成可能なリンパ球を誘発する。あるいは、リンパ球をインビトロで免疫化することもできる。

【0126】

免疫化剤は、典型的には対象とするP R Oポリペプチド又はその融合タンパク質を含む。一般にヒト由来の細胞が望まれる場合には末梢血リンパ球(「P B L s」)が使用され、あるいは非ヒト哺乳動物源が望まれている場合は、脾臓細胞又はリンパ節細胞が使用される。次いで、ポリエチレングリコール等の適当な融合剤を用いてリンパ球を不死化株化細胞と融合させ、ハイブリドーマ細胞を形成する[Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, (1986) pp. 59-103]。不死化株化細胞は、通常は、形質転換した哺乳動物細胞、特に齧歯動物、ウシ、及びヒト由来の骨髓腫細胞である。通常、ラット又はマウスの骨髓腫株化細胞が使用される。ハイブリドーマ細胞は、好ましくは、未融合の不死化細胞の生存又は成長を阻害する一又は複数の物質を含有する適切な培地で培養される。例えば、親細胞が、酵素のヒポキサチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(H G P R T又はH P R T)を欠いていると、ハイブリドーマの培地は、典型的には、ヒポキサチン、アミノプチリン及びチミジンを含み(「H A T培地」)、この物質がH G P R T欠乏性細胞の増殖を阻止する。

30

40

【0127】

好ましい不死化株化細胞は、効率的に融合し、選択された抗体生成細胞による安定した高レベルの抗体発現を支援し、H A T培地のような培地に対して感受性である。より好ましい不死化株化細胞はマウス骨髓腫株であり、これは例えばカリフォルニア州サンディエゴのSalk Institute Cell Distribution Centerやメリーランド州ロックピルのアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションより入手可能である。ヒトモノクローナル抗体を生成するためのヒト骨髓腫及びマウス-ヒト異種骨髓腫株化細胞も開示されている[Kozbo

50

iques and Applications, Marcel Dekker, Inc., New York, (1987) pp. 51-63]。

次いでハイブリドーマ細胞が培養される培養培地を、P R Oに対するモノクローナル抗体の存在について検定する。好ましくは、ハイブリドーマ細胞によって生成されたモノクローナル抗体の結合特異性は免疫沈降又はラジオイムノアッセイ(R I A)や酵素結合免疫測定法(E L I S A)等のインビトロ結合検定法によって測定する。このような技術及びアッセイは、当該分野において公知である。モノクローナル抗体の結合親和性は、例えばMunson及びPollard, Anal. Biochem., 107:220 (1980)によるスキャッチャード解析法によって測定することができる。

【0128】

所望のハイブリドーマ細胞が同定された後、クローンを限界希釈法によりサブクローニングし、標準的な方法で成長させることができる[Goding, 上掲]。この目的のための適当な培地には、例えば、ダルベッコの改変イーグル培地及びR P M I - 1 6 4 0 培地が含まれる。あるいは、ハイブリドーマ細胞は哺乳動物においてインビボで腹水として成長させることもできる。

サブクローンによって分泌されたモノクローナル抗体は、例えばプロテインA - セファロース法、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー法、ゲル電気泳動法、透析法又はアフィニティークロマトグラフィー等の従来の免疫グロブリン精製方法によって培養培地又は腹水液から単離又は精製される。

【0129】

また、モノクローナル抗体は、組換えDNA法、例えば米国特許第4,816,567号に記載された方法により作成することができる。本発明のモノクローナル抗体をコードするDNAは、常套的な方法を用いて(例えば、マウス抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合可能なオリゴヌクレオチドプローブを使用して)、容易に単離し配列決定することができる。本発明のハイブリドーマ細胞はそのようなDNAの好ましい供給源となる。ひとたび単離されたら、DNAは発現ベクター内に配することができ、これが宿主細胞、例えばサルCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、あるいは免疫グロブリンタンパク質を生成等しない骨髓腫細胞内に形質移入され、組換え宿主細胞内でモノクローナル抗体の合成をすることができる。また、DNAは、例えば相同マウス配列に換えてヒト重鎖及び軽鎖定常ドメインのコード配列を置換することにより[米国特許第4,816,567号; Morrisonら, 上掲]、又は免疫グロブリンコード配列に非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の一部又は全部を共有結合することにより修飾することができる。このような非免疫グロブリンポリペプチドは、本発明の抗体の定常ドメインに置換でき、あるいは本発明の抗体の1つの抗原結合部位の可変ドメインに置換でき、キメラ性二価抗体を生成する。

【0130】

抗体は一価抗体であってもよい。一価抗体の調製方法は当該分野においてよく知られている。例えば、一つの方法は免疫グロブリン軽鎖と修飾重鎖の組換え発現を含む。重鎖は一般的に、重鎖の架橋を防止するようにFc領域の任意の点で切断される。あるいは、関連するシステイン残基を他のアミノ酸残基で置換するか欠失させて架橋を防止する。

一価抗体の調製にはインビトロ法がまた適している。抗体の消化による、その断片、特にFab断片の生成は、当該分野において知られている慣用的技術を使用して達成できる。

【0131】

3. ヒト及びヒト化抗体

本発明の抗-P R O抗体は、さらにヒト化抗体又はヒト抗体を含む。非ヒト(例えばマウス)抗体のヒト化形とは、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖あるいはその断片(例えばFv、Fab、Fab'、F(ab')₂あるいは抗体の他の抗原結合サブ配列)であって、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含むものである。ヒト化抗体はレシピエントの相補性決定領域(CDR)の残基が、マウス、ラット又はウサギのような所望の特異性、親和性及び能力を有する非ヒト種(ドナー抗体)のCDRの残基によって置換され

たヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)を含む。幾つかの例では、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク残基は、対応する非ヒト残基によって置換されている。また、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にも、移入されたCDRもしくはフレームワーク配列にも見出されない残基を含んでいてもよい。一般に、ヒト化抗体は、全てあるいはほとんど全てのCDR領域が非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、全てあるいはほとんど全てのFR領域がヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含む。ヒト化抗体は、最適には免疫グロブリン定常領域(Fc)、典型的にはヒトの免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部を含んでなる [Jonesら, Nature, 321:522-525 (1986); Riechmannら, Nature, 332:323-329 (1988); 及びPresta, Curr. Op Struct. Biol., 2:593-596 (1992)]。

10

【0132】

非ヒト抗体をヒト化する方法はこの分野でよく知られている。一般的に、ヒト化抗体には非ヒト由来の1つ又は複数のアミノ酸残基が導入される。これら非ヒトアミノ酸残基は、しばしば、典型的には「移入」可変ドメインから得られる「移入」残基と称される。ヒト化は基本的に齧歯動物のCDR又はCDR配列でヒト抗体の該当する配列を置換することによりウィンター(winter)及び共同研究者 [Jonesら, Nature, 321:522-525 (1986); Riechmannら, Nature, 332:323-327 (1988); Verhoeyenら, Science, 239:1534-1536 (1988)] の方法に従って、齧歯類CDR又はCDR配列をヒト抗体の対応する配列に置換することにより実施される。よって、このような「ヒト化」抗体は、無傷のヒト可変ドメインより実質的に少ない分が非ヒト種由来の対応する配列で置換されたキメラ抗体(米国特許第4,816,567号)である。実際には、ヒト化抗体は典型的には幾つかのCDR残基及び場合によっては幾つかのFR残基が齧歯類抗体の類似する部位からの残基によって置換されたヒト抗体である。

20

【0133】

また、ヒト抗体は、ファージ表示ライブラリ [Hoogenboom及びWinter, J. Mol. Biol., 227:381(1991); Marksら, J. Mol. Biol., 222:381 (1991)] を含むこの分野で知られた種々の方法を用いて作成することもできる。また、Coleら及びBoernerらの方法も、ヒトモノクローナル抗体の調製に利用することができる [Coleら, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss. p.77(1985)及びBoernerら, J. Immunol., 147(1):86-95(1991)]。同様に、ヒト抗体はヒト免疫グロブリン座位をトランスジェニック動物、例えば内在性免疫グロブリン遺伝子は部分的又は完全に不活性化されたマウスに導入することにより産生することができる。投与の際に、遺伝子再配列、組立、及び抗体レパートリーを含むあらゆる観点においてヒトに見られるものに非常に類似しているヒト抗体の生産が観察される。このアプローチは、例えば米国特許第5,545,807号;同第5,545,806号;同第5,569,825号;同第5,625,126号;同第5,633,425号;同第5,661,016号、及び次の科学文献: Marksら, Bio/Technology 10, 779-783 (1992); Lonbergら, Nature 368 856-859 (1994); Morrison, Nature 368, 812-13 (1994); Fishwildら, Nature Biotechnology 14, 845-51 (1996); Neuberger, Nature Biotechnology 14, 826 (1996); Lonberg及びHuszar, Intern. Rev. Immunol. 13 65-93 (1995)に記載されている。

30

40

【0134】

また、抗体は、上記に記載のような既知の選択及び/又は突然変異誘発法を利用して親和的に成熟している。好ましい親和性成熟抗体は、5倍、より好ましくは10倍、さらにより好ましくは20又は30倍も成熟抗体の調製の元である出発抗体(一般的には、マウス、ヒト化又はヒト)より高い親和性を有する。

【0135】

4. 二重特異性抗体

二重特異性抗体は、少なくとも2つの異なる抗原に対して結合特異性を有するモノクローナル抗体、好ましくはヒトもしくはヒト化抗体である。本発明の場合においては、結合特異性の一方はPROに対してであり、他方は任意の他の抗原、好ましくは細胞表面タン

50

パク質又はレセプター又はレセプターサブユニットに対してである。

二重特異性抗体を作成する方法は当該技術分野において周知である。伝統的には、二重特異性抗体の組換え生産は、二つの重鎖が異なる特異性を持つ二つの免疫グロブリン重鎖／軽鎖対の同時発現に基づく [Milstein及びCuello, Nature, 305:537-539 (1983)]。免疫グロブリンの重鎖と軽鎖を無作為に取り揃えるため、これらハイブリドーマ(クアドローマ)は10種の異なる抗体分子の潜在的混合物を生成し、その内の一種のみが正しい二重特異性構造を有する。正しい分子の精製は、アフィニティークロマトグラフィー工程によって通常達成される。同様の手順が1993年5月13日公開のWO93/08829、及びTrauneckerら, EMBO J., 10:3655-3656 (1991)に開示されている。

【0136】

所望の結合特異性(抗体-抗原結合部位)を有する抗体可変ドメインを免疫グロブリン定常ドメイン配列に融合できる。融合は、好ましくは少なくともヒンジ部、CH2及びCH3領域の一部を含む免疫グロブリン重鎖定常ドメインとのものである。少なくとも一つの融合には軽鎖結合に必要な部位を含む第一の重鎖定常領域(CH1)が存在することが望ましい。免疫グロブリン重鎖融合をコードするDNA、及び望むのであれば免疫グロブリン軽鎖を、別々の発現ベクターに挿入し、適当な宿主生物に同時形質移入する。二重特異性抗体を作成するための更なる詳細については、例えばSureshら, Methods in Enzymology, 121:210(1986)を参照されたい。

WO96/27011に記載された他の方法によれば、一对の抗体分子間の界面を操作して組換え細胞培養から回収される異種二量体の割合を最大にすることができる。好適な界面は抗体定常ドメインのCH3領域の少なくとも一部を含む。この方法では、第1抗体分子の界面からの1つ又は複数の小さいアミノ酸側鎖がより大きな側鎖(例えばチロシン又はトリプトファン)と置き換えられる。大きな側鎖と同じ又は類似のサイズの相補的「キャビティ」を、大きなアミノ酸側鎖を小さいもの(例えばアラニン又はスレオニン)と置き換えることにより第2の抗体分子の界面に作り出す。これにより、ホモダイマーのような不要の他の最終産物に対してヘテロダイマーの収量を増大させるメカニズムが提供される。

【0137】

二重特異性抗体は、全長抗体又は抗体断片(例えば、F(ab')₂ 二重特異性抗体)として調製できる。抗体断片から二重特異性抗体を産生する技術もまた文献に記載されている。例えば、化学結合を使用して二重特異性抗体を調製することができる。Brennanら, Science, 229:81 (1985)は無傷の抗体をタンパク分解性に切断してF(ab')₂断片を産生する手順を記述している。これらの断片は、ジチオール錯体形成剤亜硫酸ナトリウムの存在下で還元して近接ジチオールを安定化させ、分子間ジスルフィド形成を防止する。産生されたF(ab')断片はついでチオニトロベンゾアート(TNB)誘導体に転換される。F(ab')-TNB誘導体の一つをついでメルカプトエチルアミンでの還元によりF(ab')-チオールに再転換し、他のF(ab')-TNB誘導体の等モル量と混合して二重特異性抗体を形成する。作られた二重特異性抗体は酵素の選択的固定化用の薬剤として使用することができる。

大腸菌からF(ab')フラグメントを直接回収でき、これは化学的に結合して二重特異性抗体を形成することができる。Shalabyら, J. Exp. Med., 175:217-225 (1992)は完全にヒト化された二重特異性抗体F(ab')₂分子の製造を記述している。各F(ab')フラグメントは大腸菌から別個に分泌され、インビトロで定方向化学共役を受けて二重特異性抗体を形成する。このようにして形成された二重特異性抗体は、正常なヒトT細胞及びErbbB2レセプターを過剰発現する細胞に結合可能で、ヒト乳房腫瘍標的に対するヒト細胞障害性リンパ球の細胞溶解活性の誘因となる。

【0138】

組換え細胞培養から直接的に二重特異性抗体断片を作成し分離する様々な方法もまた記述されている。例えば、二重特異性抗体はロイシンジッパーを使用して生産されている。Kostelnyら, J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)。Fos及びJunタンパク質からの

10

20

30

40

50

ロイシンジッパーペプチドを遺伝子融合により二つの異なる抗体の F a b ' 部分に結合させる。抗体ホモダイマーをヒンジ領域で還元してモノマーを形成し、ついで再酸化して抗体ヘテロダイマーを形成する。この方法はまた抗体ホモダイマーの生産に対して使用することができる。Hollingerら, Proc.Natl.Acad.Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)により記述された「ダイアボディ」技術は二重特異性抗体断片を作成する別のメカニズムを提供した。断片は、同一鎖上の2つのドメイン間の対形成を可能にするには十分に短いリンカーにより軽鎖可変ドメイン(V_L)に重鎖可変ドメイン(V_H)を結合してなる。従って、一つの断片の V_H 及び V_L ドメインは他の断片の相補的 V_L 及び V_H ドメインと強制的に対形成させられ、2つの抗原結合部位を形成する。単鎖 $F_v(s F_v)$ ダイマーの使用により二重特異性抗体断片を製造する他の方策もまた報告されている。Gruberら, J.Immunol. 152:5368 (1994)を参照されたい。

二価より多い抗体も考えられる。例えば、三重特異性抗体を調製することができる。Tuttら J.Immunol. 147:60(1991)。

【0139】

例示的な二重特異性抗体は、ここに与えられたPROポリペプチドの2つの異なるエプトープに結合しうる。あるいは、抗-PROポリペプチドのアームは、特定のPROポリペプチド発現細胞に細胞防御メカニズムを集中させるように、T細胞レセプター分子(例えばCD2、CD3、CD28、又はB7)等の白血球上のトリガー分子又はFcγRI(CD64)、FcγRII(CD32)及びFcγRIII(CD16)等のIgG(FcγR)に対するFcレセプターに結合するアームと結合しうる。また、二重特異性抗体は特定のPROポリペプチドを発現する細胞に細胞毒性薬を局在化させるためにも使用されうる。これらの抗体はPRO結合アーム及び細胞毒性薬又は放射性キレート化剤、例えばEOTUBE、DPTA、DOTA、又はTETAと結合するアームを有する。興味の対象となる他の二重特異性抗体はPROポリペプチドに結合し、そしてさらに組織因子(TF)に結合する。

【0140】

5. ヘテロ複合体抗体

ヘテロ複合抗体もまた本発明の範囲に入る。ヘテロ複合抗体は、2つの共有結合した抗体からなる。このような抗体は、例えば、免疫系細胞を不要な細胞に対してターゲティングさせるため[米国特許第4,676,980号]及びHIV感染の治療のために[WO 91/00360; WO 92/200373; EP 03089]提案されている。この抗体は、架橋剤に関連したものを含む合成タンパク化学における既知の方法を使用して、インビトロで調製することができると考えられる。例えば、ジスルフィド交換反応を使用するか又はチオエーテル結合を形成することにより、免疫毒素を作成することができる。この目的に対して好適な試薬の例には、イミノチオレート及びメチル-4-メルカプトブチリミデート、及び例えば米国特許第4,6767,980号に開示されたものが含まれる。

【0141】

6. エフェクター機能の加工

本発明の抗体をエフェクター機能について改変し、例えば癌治療における抗体の有効性を向上させることが望ましい。例えば、システイン残基をFc領域に導入し、それにより、この領域に鎖間ジスルフィド結合を形成するようにしてもよい。そのようにして生成された同種二量体抗体は、向上した内部移行能力及び/又は増加した補体媒介細胞殺傷及び抗体-依存性細胞性細胞毒性(ADCC)を有する可能性がある。Caronら, J. Exp. Med. 176: 1191-1195 (1992)及びShopes, B. J. Immunol. 148: 2918-2922 (1992)参照。また、向上した抗腫瘍活性を持つ同種二量体抗体は、Wolffら, Cancer research 53: 2560-2565 (1993)に記載されている異種二官能性架橋を用いて調製することができる。あるいは、抗体は、2つのFc領域を有するように加工して、それにより補体溶解及びADCC能力を向上させることもできる。Stevensonら, Anti-Cancer Drug Design 3: 219-230 (1989)参照。

【0142】

7. 免疫複合体

また、本発明は、化学治療薬、毒素（例えば、細菌、真菌、植物又は動物由来の酵素活性毒素、又はその断片）などの細胞毒性薬、あるいは放射性同位体（即ち、放射性複合体）と結合している抗体を含む免疫複合体に関する。

このような免疫複合体の生成に有用な化学治療薬を上に記載した。用いることのできる酵素活性毒素及びその断片には、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、（緑膿菌からの）外毒素A鎖、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデクシン(modeccin)A鎖、アルファ-サルシン、アレウリテス・フォーディ(Aleurites fordii)タンパク質、ジアンチン(dianthin)タンパク質、フィトラカ・アメリカーナ(Phytolaca americana)タンパク質（P A P I、P A P I I、及びP A P - S）、モモルディカ・チャランチア(momordica charantia)インヒビター、クルシン(curcin)、クロチン(crocin)、サパオナリア・オフィシナリス(saponaire officinalis)インヒビター、ゲロニン(gelolin)、ミトゲリン(mitogel lin)、レストリクトシン(restrictocin)、フェノマイシン(phenomycin)、エノマイシン(enomycin)及びトリコテセン(tricothecene)が含まれる。放射性複合抗体の生成には、様々な放射性ヌクレオチドが利用可能である。例としては、 ^{212}Bi 、 ^{131}I 、 ^{131}I n、 ^{90}Y 及び ^{186}Re が含まれる。

【0143】

抗体及び細胞毒性薬の複合体は、種々の二官能性タンパク質カップリング剤、例えば、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオール)プロピオネート(S P D P)、イミノチオラン(I T)、イミドエステルの二官能性誘導体（ジメチルアジピミデートH C L等）、活性エステル（ジスクシンイミジルスベレート等）、アルデヒド（グルタルアルデヒド等）、ビス-アジド化合物（ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサンジアミン等）、ビス-ジアゾニウム誘導体（ビス-(p-ジアゾニウムベンゾイル)-エチレンジアミン等）、ジイソシアネート（トリエン2, 6-ジイソシアネート等）、及びビス-活性フッ素化合物（1, 5-ジフルオロ-2, 4-ジニトロベンゼン等）を用いて作成できる。例えば、リシン免疫毒素は、Vitettaら, Science 238: 1098 (1987)に記載されているように調製することができる。カーボン-14-標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミン五酢酸(M X -D T P A)は、放射性ヌクレオチドの抗体への結合させるのためのキレート剤の例である。W O 9 4 / 1 1 0 2 6 参照。

他の実施態様では、腫瘍の予備標的化で使用するために、抗体は「レセプター」（ストレプトアビジン等）に結合されてもよく、抗体-レセプター複合体は患者に投与され、次いで清澄化剤を用いて未結合複合体を循環から除去し、次に細胞毒性薬（例えば、放射性ヌクレオチド等）に結合させた「リガンド」（アビジン等）を投与する。

【0144】

8. 免疫リボソーム

また、ここに開示する抗体は、免疫リボソームとして調製してもよい。抗体を含むリボソームは、Epsteinら, Proc. Natl. acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwangら, Proc. natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); 及び米国特許第4, 485, 045号及び第4, 544, 545号に記載されたような、この分野で知られた方法で調製される。向上した循環時間を持つリボソームは、米国特許第5, 013, 556号に開示されている。

特に有用なリボソームは、ホスファチジルコリン、コレステロール及びP E G-誘導ホスファチジルエタノールアミン(P E G - P E)を含む脂質組成物での逆相蒸発法によって生成される。リボソームは、所定サイズのフィルターを通して押し出され、所望の径を有するリボソームが生成される。本発明の抗体のF a b '断片は、Martinら, J. Biol. Chem. 257: 286-288 (1982)に記載されているように、ジスルフィド交換反応を介してリボソームに抱合され得る。化学治療薬（ドキソルビシン等）は、場合によってはリボソーム内に包含される。Gabizonら, J. National Cancer Inst. 81(19) 1484 (1989)参照。

【0145】

9. 抗体の製薬組成物

ここで同定されるP R Oポリペプチドに特異的に結合する抗体、並びに上記に開示した

スクリーニングアッセイで同定された他の分子は、種々の疾患の治療のために、製薬組成物の形態で投与することができる。

P R Oポリペプチドが細胞内であり、全抗体が阻害剤として用いられる場合、内在化抗体が好ましい。しかし、リポフェクション又はリポソームも抗体、又は抗体断片を細胞に導入するのに使用できる。抗体断片が用いられる場合、標的タンパク質の結合ドメインに特異的に結合する最小阻害断片が好ましい。例えば、抗体の可変領域配列に基づいて、標的タンパク質配列に結合する能力を保持したペプチド分子が設計できる。このようなペプチドは、化学的に合成でき、又は組換えDNA技術によって生成できる。例えば、Marascoら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 7889-7893 (1993)参照。ここでの製剤は、治療すべき特定の徴候に必要な場合に1つ以上の活性化合物、好ましくは互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を持つものも含んでよい。あるいは、又はそれに加えて、組成物は、細胞毒性薬、サイトカイン又は成長阻害剤を含んでもよい。これらの分子は、適切には、意図する目的に有効な量の組み合わせで存在する。

10

【0146】

また、活性成分は、例えばコアセルベーション技術により又は界面重合により調製されたマイクロカプセル、例えば、各々ヒドロキシメチルセルロース又はゼラチン-マイクロカプセル及びポリ(メタクリル酸メチル)マイクロカプセル中、コロイド状薬物送達系(例えば、リポソーム、アルブミン小球、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル)中、又はマイクロエマルジョン中に包括されていてもよい。これらの技術は、Remington's Pharmaceutical Science, 上掲に開示されている。

20

インビボ投与に使用される製剤は無菌でなければならない。これは、滅菌濾過膜を通した濾過により容易に達成される。

徐放性製剤を調製してもよい。徐放性製剤の好適な例は、抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスを含み、このマトリクスは成形された物品、例えばフィルム、又はマイクロカプセルの形状である。徐放性マトリクスの例は、ポリエステルヒドロゲル(例えば、ポリ(2-ヒドロキシエチル-メタクリレート)又はポリ(ビニルアルコール))、ポリアクチド(米国特許第3,773,919号)、L-グルタミン酸及びγ-エチル-L-グルタメート、非分解性エチレン-酢酸ビニル、LUPRON DEPOT(商品名)(乳酸-グリコール酸コポリマーと酢酸リユープロリドの注射可能な小球)などの分解性乳酸-グリコール酸コポリマー、ポリ-(D)-3-ヒドロキシブチル酸を含む。エチレン-酢酸ビニル及び乳酸-グリコール酸などのポリマーは分子を100日に渡って放出することができるが、ある種のヒドロゲルはより短時間でタンパク質を放出してしまう。カプセル化された抗体が身体内に長時間残ると、それらは37の水分に露出されることにより変性又は凝集し、その結果、生物学的活性の低下及び起こりうる免疫原性の変化をもたらす。合理的な方法は、含まれる機構に依存する安定化について工夫することができる。例えば、凝集機構がチオ-ジスルフィド交換を通した分子間S-S結合形成であると発見された場合、安定化はスルフヒドリル残基の修飾、酸性溶液からの凍結乾燥、水分含有量の制御、適切な添加剤の付加、及び特異的ポリマーマトリクス組成物の開発によって達成される。

30

【0147】

40

G. 抗-P R O抗体の用途

本発明の抗-P R O抗体は様々な有用性を有している。例えば、抗-P R O抗体は、P R Oの診断アッセイ、例えばその特定細胞、組織、又は血清での発現の検出に用いられる。競合的結合アッセイ、直接又は間接サンドウィッチアッセイ及び不均一又は均一相で行われる免疫沈降アッセイ[Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, CRC Press, Inc. (1987) pp. 147-158]等のこの分野で知られた種々の診断アッセイ技術が使用される。診断アッセイで用いられる抗体は、検出可能な部位で標識される。検出可能な部位は、直接又は間接に、検出可能なシグナルを発生しなければならない。例えば、検出可能な部位は、³H、¹⁴C、³²P、³⁵S又は¹²⁵I等の放射性同位体、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン又はルシフェリン等の蛍光又は化学発光化合物、

50

あるいはアルカリホスファターゼ、ベータ-ガラクトシダーゼ又はセイヨウワサビペルオキシダーゼ等の酵素であってよい。抗体に検出可能な部位を結合させるためにこの分野で知られた任意の方法が用いられ、それにはHunterら, Nature 144:945 (1962); Davidら, Biochemistry, 13: 1014 (1974); Painら, J. Immunol. Meth., 40:219 (1981); 及びNygren, J. Histochem. and Cytochem., 30:407 (1982)に記載された方法が含まれる。

【0148】

また、抗-P R O抗体は、組換え細胞培養又は天然供給源からのP R Oのアフィニティー精製にも有用である。この方法においては、P R Oに対する抗体を、当該分野でよく知られている方法を使用して、セファデックス樹脂や濾紙のような適当な支持体に固定化する。次に、固定化された抗体を精製するP R Oを含む試料と接触させた後、固定化された抗体に結合したP R O以外の試料中の物質を実質的に全て除去する適当な溶媒で支持体を洗淨する。最後に、P R Oを抗体から脱離させる他の適当な溶媒で支持体を洗淨する。

10

以下の実施例は例示するためにのみ提供されるものであって、本発明の範囲を決して限定することを意図するものではない。

本明細書で引用した全ての特許及び参考文献の全体を、出典明示によりここに取り込む。

【0149】

(実施例)

実施例で言及されている全ての市販試薬は、特に示さない限りは製造者の使用説明に従い使用した。ATCC登録番号により以下の実施例及び明細書全体を通して特定されている細胞の供給源はアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション、マナッサス、バージニアである。

20

【0150】

実施例1：新規なポリペプチド及びそれをコードするcDNAを同定するための細胞外ドメイン相同性スクリーニング

Swiss-Prot公的データベースからの約950の公知の分泌タンパク質からの細胞外ドメイン(ECD)配列(必要なら、分泌シグナル配列を含む)を、ESTデータベースの検索に使用した。ESTデータベースは、公的データベース(例えば、Dayhoff、GenBank)及び独自に開発したデータベース(例えば、LIFESEQ(商品名)、Incyte Pharmaceuticals、パロアルト、カリフォルニア)を含む。検索は、コンピュータプログラムBLAST又はBLAST-2(Altschulら, Methods in Enzymology 266: 460-480 (1996))を用いて、ECDタンパク質配列のEST配列の6フレーム翻訳との比較として実施した。公知のタンパク質をコードせず、BLASTスコア70(90の場合もある)又はそれ以上を持つ比較物は、プログラム「phrap」(Phil Green, ワシントン大学, シアトル, ワシントン)で集団化してコンセンサスDNA配列に構築した。

30

この細胞外ドメイン相同性スクリーニングを用いて、phrapを用いて他の同定されたEST配列に対してコンセンサスDNA配列を構築した。さらに、得られたコンセンサスDNA配列を、しばしば(全てではない)BLAST又はBLAST-2及びphrapの繰り返しサイクルを用いて伸長し、コンセンサス配列を上で議論したEST配列の供給源を用いて可能な限り伸長させた。

40

【0151】

上記のように得られたコンセンサス配列に基づいて、次いでオリゴヌクレオチドを合成し、PCRにより対象とする配列を含むcDNAライブラリを同定するため、及びP R Oポリペプチドの完全長コード化配列のクローンを単離するプローブとして用いるために使用した。正方向及び逆方向PCRプライマーは一般的に20から30ヌクレオチドの範囲であり、しばしば約100-1000bp長のPCR産物を与えるために設計される。プローブ配列は、典型的に40-55bp長である。或る場合には、コンセンサス配列が約1-1.5kbより大きいときに付加的なオリゴヌクレオチドが合成される。全長クローンについて幾つかのライブラリをスクリーニングするために、ライブラリからのDNAを、Ausubelら, Current Protocols in Molecular Biology, のように、PCRプライマ

50

ー対でのPCRによりスクリーニングした。ポジティブライブラリを、次いで、プローブオリゴヌクレオチド及びプライマー対の一方を用いて対象とする遺伝子をコードするクローンを単離するのに使用した。

cDNAクローンの単離に用いたcDNAライブラリは、Invitrogen, サンディエゴ, カリフォルニアなどの市販試薬を用いる標準的な方法によって作成した。cDNAは、Not I部位を有するオリゴdTでプライムし、平滑末端でSal Iヘミキナーゼアダプターに結合させ、Not Iで切断してゲル電気泳動で適切なサイズに分類し、そして適合するクローニングベクター (pRKB又はpRKD等; pRK5BはSfi I部位を含まないpRK5Dの前駆体である; Holmesら, Science, 253: 1278-1280 (1991)参照) の唯一のXho I及びNot I部位において、所定の方向でクローニングした。

10

【0152】

実施例2：アミラーゼスクリーニングによるcDNAクローンの単離

1. オリゴdTプライムcDNAライブラリの調製

Invitrogen, サンディエゴ, カリフォルニアの試薬及びプロトコルを用いて、対象とするヒト組織からmRNAを単離した (Fast Track 2)。このRNAを、Life Technologies, ゲーサーズバーグ, メリーランド (Super Script Plasmid system) の試薬及びプロトコルを利用するベクターpRK5DでのオリゴdTプライム化cDNAライブラリの生成に用いた。この方法においては、二本鎖cDNAを1000bpを越えるサイズに分類し、Sal I / Not Iリンカー化cDNAをXho I / Not I切断化ベクターへクローニングした。pRK5Dは、Xho I / Not I cDNAクローニング部位の前に位置するSfi I制限酵素部位が後に続くsp6転写開始部位を有するクローニングベクターである。

20

【0153】

2. ランダムプライムcDNAライブラリの調製

一次cDNAクローンの5'末端を好ましく表現するために、二次cDNAライブラリを作成した。sp6RNAを(上記の)一次ライブラリから生成し、このRNAを、Life Technologies (上で参照したSuper Script Plasmid system)からの試薬及びプロトコルを利用するベクターpSST-AMY. 0でのランダムプライム化cDNAライブラリの生成に用いた。この方法においては、二本鎖cDNAを500 - 1000bpへサイズ分類し、平滑末端でNot Iアダプターに結合させ、Sfi I部位で切断し、そしてSfi I / Not I切断化ベクターへクローニングした。pSST-AMY. 0は、cDNAクローニング部位の前に酵母アルコールデヒドロゲナーゼプロモータ、並びにアルコールデヒドロゲナーゼ転写終結区が後に続くマウスアミラーゼ配列(分泌シグナルを持たない成熟配列)をクローニング部位の後に有するクローニングベクターである。従って、アミラーゼ配列でフレームに融合するこのベクターへクローニングされたcDNAは、適切に形質移入された酵母コロニーからのアミラーゼの分泌を導く。

30

【0154】

3. 形質転換及び検出

上記のパラグラフ2に記載したライブラリのDNAを氷上で冷却し、それにエレクトロコンピテントDH10B細菌 (Life Technologies, 20ml) を添加した。細菌及びベクターの混合物は、次いで製造者に推奨されているように電気穿孔した。次いで、SOC培地 (Life Technologies, 1ml) を添加し、この混合物を37℃で30分間インキュベートした。形質転換体は、次いでアンピシリンを含む20標準150mmLBプレートに蒔き、16時間インキュベートした(37℃)。ポジティブコロニーをプレートからこすり取り、この細菌ペレットから標準的な方法、例えばCsCl-勾配を用いてDNAを単離した。次に、以下の酵母プロトコルを精製DNAへ適用した。

40

酵母方法は3つの範疇に分けられる：(1)酵母のプラスミド/cDNA結合ベクターでの形質転換；(2)アミラーゼを分泌する酵母クローンの検出及び単離；及び(3)酵母コロニーからの直接的な挿入物のPCR増幅、並びに配列決定及びさらなる分析のためのDNAの精製。

50

【0155】

用いた酵母菌株はHD56-5A(ATCC-90785)であった。この株は以下の遺伝子型：MATアルファ、ura3-52、leu2-3、leu2-112、his3-11、his3-15、MAL⁺、SUC⁺、GAL⁺を有する。好ましくは、不完全な翻訳後経路を持つ酵母変異体を用いることができる。このような変異体は、sec71、sec72、sec62に転位不全対立遺伝子を持つが、切断されたsec71が最も好ましい。あるいは、これらの遺伝子の正常な操作を阻害するアンタゴニスト（アンチセンスヌクレオチド及び/又はリガンドを含む）、この翻訳後経路に含まれる他のタンパク質（例えば、SEC61p、SEC72p、SEC62p、SEC63p、TDJ1p、SSA1p-4p）又はこれらのタンパク質の複合体形成も、アミラーゼ発現酵母と組み合わせ 10

形質転換は、Gietzら、Nucl. Acid. Res., 20: 1425 (1992)によって概略が記されたプロトコルに基づいて実施された。形質転換細胞は、次いで寒天からYEPD複合培地ブロス(100ml)に播種し、30で終夜成長させた。YEPDブロスは、Kaiserら、Methods in Yeast Genetics, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY, p. 207 (1994)に記載のように調製した。終夜培地は、次いで新鮮なYEPDブロス(500ml)中におよそ 2×10^6 細胞/ml(約OD₆₀₀ = 0.1)に希釈し、 1×10^7 細胞/ml(約OD₆₀₀ = 0.4 - 0.5)まで再成長させた。

【0156】

次いで細胞を収穫し、5,000rpmで5分間のSorval GS3ローターのGS3ローターボトルに移し、上清を捨て、次いで無菌水に再懸濁することで形質転換のために調製し、そして次に50mlのファルコン管でBeckman GS-6KR遠心機において3,500rpmで再度遠心分離した。その上清を捨て、続いて細胞をLiAc/TE(10ml, 10mMのトリス-HCl, 1mMのEDTA pH7.5, 100mMのLi₂OOCCH₃)で洗浄し、LiAc/TE(2.5ml)中に再懸濁させた。 20

形質転換は、マイクロチューブ内で、調製した細胞(100μl)を新鮮な変性一本鎖サケ精子DNA(Lofstrand Labs, ゲーサーズバーグ, メリーランド州)及び形質転換DNA(1μg vol. < 10μl)と混合することにより開始した。混合物はボルテックスにより簡単に混合し、次いで40%PEG/TE(600μl, 40%のポリエチレングリコール-4000, 10mMのトリス-HCl, 1mMのEDTA, 100mMのLiOOCCH₃, pH7.5)を添加した。この混合物を緩く攪拌し、30で攪拌しながら30分間インキュベートした。次いで細胞に42で15分間熱衝撃を与え、反応容器をマイクロチューブ内で12,000rpmで5-10秒間遠心分離し、デカント及びTE(500μl, 10mMのトリス-HCl, 1mMのEDTA, pH7.5)への再懸濁に次いで遠心分離した。次いで、細胞をTE(1ml)中に希釈し、一定分量(200μl)を150mm成長プレート(VWR)に予め調製した選択培地に拡げた。 30

【0157】

もう1つの方法として、複数の少量反応に代わって、試薬の量はしかるべくスケールアップし、形質転換を1回の大規模反応で実施した。 40

用いた選択培地は、Kaiserら、Methods in Yeast Genetics, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY, p. 208-210 (1994)に記載されているように調製したウラシルを欠く合成完全デキストロス寒天(SCD-Ura)であった。形質転換体を30で2-3日成長させた。

アミラーゼを分泌するコロニーの検出は、選択成長培地に赤色デンブンを包含することによって実施した。Bielyら、Anal. Biochem., 172: 176-179 (1988)に記載された方法に従って、デンブンを赤色染料(反応性 Red-120, Sigma)に結合させた。結合したデンブンをSCD-Ura寒天プレートへ最終濃度0.15%(w/v)で組み入れ、リン酸カリウムでpH7.0に緩衝化した(最終濃度50-100mM)。

十分に単離されていて同定可能な単一コロニーを得るために、ポジティブコロニーを拾 50

い、これを新鮮な選択培地（150 mmプレート）に画線した。アミラーゼ分泌についてポジティブであり、十分に単離されたコロニーの検出は、緩衝化SCD-Ura寒天への赤色デンプンの直接組み入れによっておこなった。コロニーのデンプンを分解することでポジティブコロニーの周囲に直接目視できる明瞭なハローを形成する能力によって、ポジティブコロニーを決定した。

【0158】

4. PCR増幅によるDNAの単離

ポジティブコロニーが単離された場合には、その一部を楊枝で拾い、96ウェルプレートにおいて無菌水（30 μ l）で希釈した。この時点では、ポジティブコロニーを凍結して次の分析のために保存するか、或いは即座に増幅するかのいずれかである。細胞の一定分量（5 μ l）を、0.5 μ lのKlentag（Clontech, パロアルト, カリフォルニア）；4.0 μ lの10 mM dNTP（Perkin Elmer-Cetus）；2.5 μ lのKlentagバッファー（Clontech）；0.25 μ lの正方向オリゴ1；0.25 μ lの逆方向オリゴ2；12.5 μ lの蒸留水を含む25 μ l容量でのPCR反応のテンプレートとして使用した。

正方向オリゴヌクレオチド1の配列は：

5'-TGTAACGACGGCCAGTTAAATAGACCTGCAATTATTAATCT-3'

（配列番号：169）

逆方向オリゴヌクレオチド2の配列は：

5'-CAGGAAACAGCTATGACCACCTGCACACCTGCAAATCCATT-3'

（配列番号：170）

であった。

次いで、PCRは以下の通り実施した：

a.	変性	92	、	5分間
b. 次の3サイクル	変性	92	、	30秒間
	アニール	59	、	30秒間
	伸長	72	、	60秒間
c. 次の3サイクル	変性	92	、	30秒間
	アニール	57	、	30秒間
	伸長	72	、	60秒間
d. 次の25サイクル	変性	92	、	30秒間
	アニール	55	、	30秒間
	伸長	72	、	60秒間
e.	保持	4		

【0159】

下線を施した領域は、各々ADHプロモーター領域及びアミラーゼ領域にアニーリングし、挿入物が存在しない場合はベクターpSST-AMY.0の307 bp領域を増幅する。典型的には、これらのオリゴヌクレオチドの5'末端の最初の18ヌクレオチドは、配列プライマーのアニーリング部位を含んでいた。従って、空のベクターからのPCR反応の全生成物は343 bpであった。しかしながら、シグナル配列融合cDNAは、かなり長いヌクレオチド配列をもたらした。

PCRに続いて、反応の一定分量（5 μ l）を、上記のSambrook等に記載されているように1%アガロースゲル中でトリス-ホウ酸塩-EDTA（TBE）緩衝系を用いたアガロースゲル電気泳動によって検討した。400 bpより大きな単一で強いPCR産物を生じるクローンを、96 Qiaquick PCR 清浄化カラム（Quagen Inc., チャッツワース, カリフォルニア）での精製の後にDNA配列によってさらに分析した。

【0160】

実施例3：シグナルアルゴリズム分析を用いたcDNAクローンの単離

ジェネンテック、インク（サウス サンフランシスコ, カリフォルニア）が独自に開発した配列発見アルゴリズムを、公的（例えば、GenBank）及び/又は個人の（LIFESEQ（登録

10

20

30

40

50

商標), Incyte Pharmaceuticals, Inc., パロアルト, カリフォルニア) データベースから集団化及び組み立てられた E S T 断片だけでなく E S T s へ適用することで、種々のポリペプチド-コード化核酸配列を同定した。このシグナル配列アルゴリズムは、検討中の配列又は配列断片の 5' 末端にある第 1、あるいは第 2 のメチオニンコドン (A T G) を取り囲む D N A ヌクレオチドの文字に基づく分泌シグナルスコアを計算する。第 1 の A T G に続くヌクレオチドには、停止コドンを持たない少なくとも 3 5 の明白なアミノ酸がコードされていなければならない。第 1 の A T G が必須のアミノ酸を有する場合、第 2 のものは検討しない。何れも要件を満たさない場合、候補配列にスコアをつけない。E S T 配列が真正のシグナル配列を含むか否かを決定するために、A T G コドンを取り囲む D N A 及び対応するアミノ酸配列に、分泌シグナルに関連することが知られている 7 つのセンサー (評価パラメータ) の一組を用いてスコアをつけた。このアルゴリズムを利用することで、多くのポリペプチド-コード化核酸配列の同定がなされた。

10

【 0 1 6 1 】

実施例 4 : ヒト P R O ポリペプチドをコードする c D N A クローンの単離

上記の実施例 1 から 3 に記載されている技術を用いて、ここに開示されているように、多くの完全長 c D N A クローンが P R O ポリペプチドをコードしているものと同定された。そして、これらの c D N A は、下記の表 7 示してあるように、ブダペスト条約の条項に従ってアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション、1 0 8 0 1 ユニバーシティ・ブルバード、マナッサス、バージニア 2 0 1 1 0 - 2 2 0 9 米国 (A T C C) へ寄託した。

20

【 0 1 6 2 】

表 7

材 料	A T C C 寄 託 番 号	寄 託 日	
DNA26843-1389	203099	1998年 8月 4日	
DNA30867-1335	209807	1998年 4月 28日	
DNA34431-1177	209399	1997年 10月 17日	
DNA38268-1188	209421	1997年 10月 28日	
DNA40621-1440	209922	1998年 6月 2日	
DNA40625-1189	209788	1998年 4月 21日	
DNA45409-2511	203579	1999年 1月 12日	30
DNA45495-1550	203156	1998年 8月 25日	
DNA49820-1427	209932	1998年 6月 2日	
DNA56406-1704	203478	1998年 11月 17日	
DNA56410-1414	209923	1998年 6月 2日	
DNA56436-1448	209902	1998年 5月 27日	
DNA56855-1447	203004	1998年 6月 23日	
DNA56860-1510	209952	1998年 6月 9日	
DNA56862-1343	203174	1998年 9月 1日	
DNA56868-1478	203024	1998年 6月 23日	
DNA56869-1545	203161	1998年 8月 25日	40
DNA57704-1452	209953	1998年 6月 9日	
DNA58723-1588	203133	1998年 8月 18日	
DNA57827-1493	203045	1998年 7月 1日	
DNA58737-1473	203136	1998年 8月 18日	
DNA58846-1409	209957	1998年 6月 9日	
DNA58850-1495	209956	1998年 6月 9日	
DNA58855-1422	203018	1998年 6月 23日	
DNA59211-1450	209960	1998年 6月 9日	
DNA59212-1627	203245	1998年 9月 9日	
DNA59213-1487	209959	1998年 6月 9日	50

DNA59605-1418	203005	1998年6月23日	
DNA59609-1470	209963	1998年6月9日	
DNA59610-1556	209990	1998年6月16日	
DNA59837-2545	203658	1999年2月9日	
DNA59844-2542	203650	1999年2月9日	
DNA59854-1459	209974	1998年6月16日	
DNA60625-1507	209975	1998年6月16日	
DNA60629-1481	209979	1998年6月16日	
DNA61755-1554	203112	1998年8月11日	
DNA62812-1594	203248	1998年9月9日	10
DNA62815-1576	203247	1998年9月9日	
DNA64881-1602	203240	1998年9月9日	
DNA64886-1601	203241	1998年9月9日	
DNA64902-1667	203317	1998年10月6日	
DNA64950-1590	203224	1998年9月15日	
DNA65403-1565	203230	1998年9月15日	
DNA66308-1537	203159	1998年8月25日	
DNA66519-1535	203236	1998年9月15日	
DNA66521-1583	203225	1998年9月15日	
DNA66658-1584	203229	1998年9月15日	20
DNA66660-1585	203279	1998年9月22日	
DNA66663-1598	203268	1998年9月22日	
DNA66674-1599	203281	1998年9月22日	
DNA68862-2546	203652	1999年2月9日	
DNA68866-1644	203283	1998年9月22日	
DNA68871-1638	203280	1998年9月22日	
DNA68880-1676	203319	1998年10月6日	
DNA68883-1691	203535	1998年12月15日	
DNA68885-1678	203311	1998年10月6日	
DNA71277-1636	203285	1998年9月22日	30
DNA73727-1673	203459	1998年11月3日	
DNA73734-1680	203363	1998年10月20日	
DNA73735-1681	203356	1998年10月20日	
DNA76393-1664	203323	1998年10月6日	
DNA77301-1708	203407	1998年10月27日	
DNA77568-1626	203134	1998年8月18日	
DNA77626-1705	203536	1998年12月15日	
DNA81754-2532	203542	1998年12月15日	
DNA81754-2512	203543	1998年12月15日	
DNA82302-2529	203534	1998年12月15日	40
DNA82340-2530	203547	1998年12月22日	
DNA83500-2506	203391	1998年10月29日	
DNA84920-2614	203966	1999年4月27日	
DNA85066-2534	203588	1998年1月12日	
DNA86571-2551	203660	1999年2月9日	
DNA87991-2540	203656	1999年2月9日	
DNA92238-2539	203602	1999年1月20日	
DNA96042-2682	PTA-382	1999年7月20日	
DNA96787-2534	203589	1999年1月12日	
DNA125185-2806	PTA-1031	1999年12月7日	50

DNA147531-2821	PTA-1185	2000年1月11日
DNA115291-2681	PTA-202	1999年6月8日
DNA164625-28890	PTA-1535	2000年3月21日
DNA131639-2874	PTA-1784	2000年4月25日
DNA79230-2525	203549	1998年12月22日

【0163】

これらの寄託は、特許手続き上の微生物の寄託の国際的承認に関するブダペスト条約及びその規則(ブダペスト条約)の規定に従って行われた。これは、寄託の日付から30年間、寄託の生存可能な培養が維持されることを保証するものである。寄託物はブダペスト条約の条項に従い、またジェネンテック社とATCCとの間の合意に従い、ATCCから入手することができ、これは、どれが最初であるうとも、関連した米国特許の発行時又は任意の米国又は外国特許出願の公開時に、寄託培養物の後代を永久かつ非制限的に入手可能とすることを保証し、米国特許法第122条及びそれに従う特許庁長官規則(特に参照番号886OG638の37CFR第1.14条を含む)に従って権利を有すると米国特許庁長官が決定した者に子孫を入手可能とすることを保証するものである。

10

本出願の譲受人は、寄託した培養物が、適切な条件下で培養されていた場合に死亡もしくは損失又は破壊されたならば、材料は通知時に同一の他のものと即座に取り替えることに同意する。寄託物質の入手可能性は、特許法に従いあらゆる政府の権限下で認められた権利に違反して、本発明を実施するライセンスであるとみなされるものではない。

【0164】

20

実施例5：ハイブリダイゼーションプローブとしてのPROの利用

以下の方法は、PROをコードする核酸配列のハイブリダイゼーションプローブとしての利用を示している。

ここに開示されている全長又は成熟PROをコード化配列を含むDNAは、ヒト組織cDNAライブラリ又はヒト組織ゲノムライブラリの同種DNA(PROの天然発生変異体をコードするもの等)のスクリーニングのためのプローブとして用いられ得る。

ハイブリダイゼーション及びいずれかのライブラリDNAを含むフィルターの洗浄を、次の高度にストリンジェントな条件下において実施する。放射標識PRO誘導プローブのフィルターへのハイブリダイゼーションを、50%ホルムアミド、5xSSC、0.1%SDS、0.1%ピロリン酸ナトリウム、50mMリン酸ナトリウム、pH6.8、2xデンハード液、及び10%デキストラン硫酸の溶液中において42℃で20時間実施する。フィルターの洗浄は、0.1xSSC及び0.1%SDS水溶液中において42℃で実施する。

30

次いで、全長天然配列をコードするDNAと所望の配列同一性を有するDNAは、この分野で知られている標準的技術を用いて同定することができる。

【0165】

実施例6：大腸菌におけるPROの発現

この実施例は、大腸菌中における組み換え発現によるPROの非グリコシル化型の調製を例証する。

DNA配列コード化は選択されたPCRプライマーを利用して最初に増幅される。このプライマーは、選択された発現ベクター上の制限酵素部位に対応する制限酵素部位を含まなければならない。様々な発現ベクターを使用することができる。適したベクターの例としては、アンピシリン及びテトラサイクリン耐性に対する遺伝子を含むpBR322(大腸菌由来; Bolivarら, Gene, 2:95 (1997)を参照のこと)がある。ベクターは制限酵素によって消化され、脱リン酸化される。次いで、PCR増幅配列をベクターにライゲーションする。ベクターは好ましくは抗生物質耐性遺伝子、trpプロモーター、ポリHisリーダー(最初の6つのSTIICodon、ポリHisリーダー、及びエンテロキナーゼ切断部位を含む)、PROコード領域、ラムダ転写集結因子及びargU遺伝子をコードする配列を含む。

40

【0166】

50

次いで、Sambrookら、上記に記載されている方法を用いて選択された大腸菌株を形質転換するために、このライゲーション混合物を利用した。形質転換体をLB部プレート上でのその成長能力によって同定し、次いで抗生物質耐性コロニーを選択する。プラスミドDNAを単離し、それを制限分析及びDNA配列決定によって確認することができる。

選択されたクローンを、抗生物質が補填されたLBブロスのような液体培地で一晩かけて成長させることができる。この一晩の培養を、次により大きなスケールでの培養を播種するために使用してもよい。そして、細胞を所望の光学密度になるまで成長させ、その間に発現プロモーターが作用し始める。

更に数時間、細胞を培養した後に、遠心分離によって細胞を収集することが可能である。遠心分離によって得られた細胞ペレットは、当該分野で公知の様々な薬剤を使用して可溶化でき、次いで、この溶解したPROタンパク質を、タンパク質の堅固な結合を可能にする条件下において金属キレート化カラムを用いて精製すること可能である。

10

【0167】

以下の手法を用いて、ポリ-Hisタグ形態でPROを大腸菌で発現させてもよい。PROをコードするDNAを、選択したPCRプライマーを用いて最初に増幅した。このプライマーは、選択された発現ベクターの制限酵素部位に対応する制限酵素部位、及び効率的で信頼性のある翻訳開始、金属キレートカラムでの迅速な精製、及びエンテロキナーゼでのタンパク質分解的除去を与える他の有用な配列を含む。次いで、PCR増幅されたポリ-Hisタグ配列を発現ベクターへ結合させ、これを株52 (W3110 fuhA(tonA) lon galE rpoHts(htpRts) clpP(lacIq)) に基づく大腸菌宿主の形質転換に使用した。形質転換体を、最初に50 mg/mlのカルベニシリンを含有するLB中で、30 で振盪しながら3 - 5のOD、600に達するまで成長させた。ついで培養液をCRAP培地(3.57 gの(NH₄)₂SO₄、0.71 gのクエン酸ナトリウム・2H₂O、1.07 gのKCl、5.36 gのDifco酵母抽出物、500 mL水中の5.36 gのSheffield hycase SF、並びに110 mMのMPOS、pH 7.3、0.55% (w/v)のグルコース及び7 mMのMgSO₄の混合で調製)中にて50 - 100倍希釈し、30 で振盪によって約20 - 30時間成長させた。SDS-PAGEにより発現を確認するために試料を取り出し、細胞がペレットとなるようにバルク培地を遠心分離した。細胞ペレットを精製及びリフォールディング(再折りたたみ)まで凍結させた。

20

【0168】

0.5から1 Lの発酵(6 - 10 gペレット)からの大腸菌ペーストを、7 Mのグアニジン、20 mMのトリス、pH 8バッファー中で10容量(w/v)で再懸濁させた。固体硫酸ナトリウム及びテトラチオン酸ナトリウムを添加して最終濃度を各々0.1 M及び0.02 Mとし、溶液を4 で終夜攪拌した。この工程により、すべてのシステイン残基が亜硫酸によりブロックされた変性タンパク質が生じる。溶液をBeckman Ultracentrifuge中で40,000 rpmで30分間濃縮した。上清を金属キレートカラムバッファー(6 Mのグアニジン、20 mMのトリス、pH 7.4)の3 - 5容量で希釈し、透明にするために0.22ミクロンフィルターを通して濾過する。透明抽出物を、金属キレートカラムバッファーで平衡化させた5 mLのQiagen Ni-NTA金属キレートカラムに負荷した。カラムを50 mMのイミダゾール(Calbiochem, Utrol grade)を含む添加バッファー、pH 7.4で洗浄した。タンパク質を250 mMのイミダゾールを含有するバッファーで溶離した。所望のタンパク質を含有する画分をプールし、4 で保存した。タンパク質濃度は、そのアミノ酸配列に基づいて計算した吸光係数を用いて280 nmにおけるその吸収により見積もった。

30

40

【0169】

試料を20 mMのトリス、pH 8.6、0.3 MのNaCl、2.5 Mの尿素、5 mMのシステイン、20 mMのグリシン及び1 mMのEDTAからなる新たに調製した再生バッファー中で徐々に希釈することによって、タンパク質を再生させた。リフォールディング容量は、最終的なタンパク質濃度が50 - 100マイクログラム/mLとなるように選択した。リフォールディング溶液を4 で12 - 36時間ゆっくり攪拌した。リフォール

50

ディング反応はTFAを採取濃度0.4% (約3のpH)で添加することにより停止させた。タンパク質をさらに精製する前に、溶液を0.22ミクロンフィルターを通して濾過し、アセトニトリルを最終濃度2-10%で添加した。再生したタンパク質を、Poros R1/H逆相カラムで、0.1%TFAの移動バッファーと10~80%のアセトニトリル勾配での溶離を用いてクロマトグラフにかけた。A280吸収を持つ画分のアリコートでSDSポリアクリルアミドゲルで分析し、相同な再生タンパク質を含有する画分をプールした。一般的に、殆どの正しく再生したタンパク質種は、これらの種が最もコンパクトであり、その疎水性内面が逆相樹脂との相互作用から遮蔽されているので、アセトニトリルの最低濃度で溶離される。凝集した種は通常、より高いアセトニトリル濃度で溶離される。誤って再生したタンパク質を所望の形態から除くのに加えて、逆相工程は試料からエンドトキシンも除去する。

10

【0170】

所望の再生したPROポリペプチドを含有する画分をプールし、溶液に向けた窒素の弱い気流を用いてアセトニトリルを除去した。タンパク質を、透析又は調製バッファーで平衡化したG25 Superfine (Pharmacia) 樹脂でのゲル濾過及び滅菌濾過により、0.14Mの塩化ナトリウム及び4%のマニトールを含む20mMのHepes、pH6.8に調製した。

ここで開示された多くのPROポリペプチドは、上記の方法によって成功裏に発現した。

【0171】

20

実施例7：哺乳動物細胞におけるPROの発現

この実施例は、哺乳動物細胞における組み換え発現による潜在的にグリコシル化した形態のPROの調製を例証する。

発現ベクターとしてベクターpRK5 (1989年3月15日公開のEP307,247参照)を用いた。場合によっては、PRO DNAを選択した制限酵素を持つpRK5に結合させ、上記のSambrook等に記載されたようなライゲーション方法を用いてPRO DNAを挿入させる。得られたベクターは、pRK5-PROと呼ばれる。

【0172】

一実施態様では、選択された宿主細胞は293細胞とすることができる。ヒト293細胞(ATCC CCL 1573)は、ウシ胎児血清及び場合によっては滋養成分及び/又は抗生物質を添加したDMEMなどの培地中で組織培養プレートにおいて成長させて集密化した。約10 μ gのpRK5-PRO DNAを約1 μ gのVA RNA遺伝子コード化DNA [Thimmappayaら, Cell, 31:543 (1982)]と混合し、500 μ lの1mM トリス-HCl、0.1mM EDTA、0.227M CaCl₂に溶解させた。この混合物に、滴状の、500 μ lの50mM HEPES (pH7.35)、280mM NaCl、1.5mM NaPO₄を添加し、25で10分間析出物を形成させた。析出物を懸濁し、293細胞に加えて37で約4時間定着させた。培地を吸引し、2mlのPBS中20%グリセロールを30秒間添加した。293細胞は、次いで無血清培地で洗浄し、新鮮な培地を添加し、細胞を約5日間インキュベートした。

30

【0173】

形質移入の約24時間後、培地を除去し、培地(のみ)又は200 μ Ci/ml<SUP>35</SUP>S-システイン及び200 μ Ci/ml³⁵S-メチオニンを含む培地で置換した。12時間のインキュベーションの後、条件培地を回収し、スピンフィルターで濃縮し、15%SDSゲルに添加した。処理したゲルを乾燥させ、PROポリペプチドの存在を現す選択された時間にわたってフィルムにさらした。形質転換した細胞を含む培地に、更なるインキュベーションを施し(無血清培地で)、培地を選択されたバイオアッセイで試験した。

40

【0174】

これに換わる技術において、PROは、Somparyacら, Proc. Natl. Acad. Sci., 12:7575 (1981)に記載されたデキストラン硫酸法を用いて293細胞に一過的に導入される。

50

293細胞は、スピナーフラスコ内で最大密度まで成長させ、700 μ gのpRK5 - PRO DNAを添加する。細胞は、まずスピナーフラスコから遠心分離によって濃縮し、PBSで洗浄した。DNA - デキストラン沈殿物を細胞ペレット上で4時間インキュベートした。細胞を20%グリセロールで90秒間処理し、組織培地で洗浄し、組織培地、5 μ g/mlウシインシュリン及び0.1 μ g/mlウシトランスフェリンを含むスピナーフラスコに再度導入した。約4日後に、条件培地を遠心分離して濾過し、細胞及び細胞片を除去した。次いで発現されたPROを含む試料を濃縮し、透析及び/又はカラムクロマトグラフィー等の選択した方法によって精製した。

他の実施態様では、PROをCHO細胞で発現させることができる。pRK5 - PROは、CaPO₄又はDEAE - デキストランなどの公知の試薬を用いてCHO細胞に形質移入することができる。上記したように、細胞培地をインキュベートし、培地を培養培地(のみ)又は³⁵S - メチオニン等の放射性標識を含む培地に置換することができる。PROポリペプチドの存在を同定した後、培地を無血清培地に置換してもよい。好ましくは、培地を約6日間インキュベートし、次いで条件培地を収集する。次いで、発現されたPROを含む培地を濃縮して、任意の選択した方法によって精製することができる。

10

【0175】

また、エピトープタグPROは、宿主CHO細胞において発現させてもよい。PROはpRK5ベクターからサブクロニングしてもよい。サブクローン挿入物は、PCRを施してバキュロウイルス発現ベクター中のポリ - histタグ等の選択されたエピトープタグを持つ枠に融合できる。ポリ - histタグPRO挿入物は、次いで、安定なクローンの選択のためのDHFR等の選択マーカを含むSV40誘導ベクターにサブクロニングできる。最後に、CHO細胞をSV40誘導ベクターで(上記のように)形質移入した。発現を確認するために、上記のように標識化を行ってもよい。発現されたポリ - histタグPROを含む培地は、次いで濃縮し、Ni²⁺ - キレートアフィニティクロマトグラフィー等の選択された方法により精製できる。

20

またPROは、一過性発現法によりCHO及び/又はCOS細胞で、他の安定な発現方法によりCHO細胞で発現させてもよい。

CHO細胞における安定な発現は以下の方法を用いて実施された。タンパク質は、それぞれのタンパク質の可溶化形態のコード配列(例えば、細胞外ドメイン)がIgG1のヒンジ、CH2及びCH2ドメインを含む定常領域配列に融合したIgG作成物(イムノアドヘンシ)、又はポリ - histタグ形態として発現された。

30

【0176】

PCR増幅に続いて、対応するDNAを、Ausubelら、Current Protocols of Molecular Biology, Unit 3.26, John Wiley and Sons (1997)に記載されたような標準的技術を用いてCHO発現ベクターにサブクロニングした。CHO発現ベクターは、対象とするDNAの5'及び3'に適合する制限部位を有し、cDNAの便利なシャトル化ができるように作成される。ベクターは、Lucasら、Nucl. Acids Res. 24: 9, 1774-1779 (1996)に記載されたようにCHO細胞での発現を用い、対象とするcDNA及びジヒドロフォレートレダクターゼ(DHFR)の発現の制御にSV40初期プロモーター/エンハンサーを用いる。DHFR発現は、形質移入に続くプラスミドの安定な維持のための選択を可能にする。

40

所望のプラスミドDNAの12マイクログラムを、市販の形質移入試薬Superfect(登録商標)(Qiagen)、Dosper(登録商標)及びFugene(登録商標)(Boehringer Mannheim)約一千万のCHO細胞に導入する。細胞は、上記のLucas等に記載されているように成長させた。約 3×10^7 細胞を、下記のような更なる成長及び生産のためにアンプル中で凍結させた。

【0177】

プラスミドDNAを含むアンプルを水槽に配して解凍し、ボルテックスにより混合した。内容物を10mLの媒質を含む遠心管にピペットして、1000rpmで5分間遠心分離した。上清を吸引して細胞を10mLの選択培地(0.2 μ m濾過PS20、5%の0

50

・ 2 μ m 透析濾過ウシ胎児血清を添加) 中に懸濁させた。次いで細胞を 90 mL の選択培地を含む 100 mL スピナーに分ける。1 - 2 日後、細胞を 150 mL の選択培地を満たした 250 mL スピナーに移し、37 でインキュベートする。さらに 2 - 3 日後、250 mL、500 mL 及び 2000 mL のスピナーを 3×10^5 細胞/mL で播種した。細胞培地を遠心分離により新鮮培地に交換し、生産培地に再懸濁させた。任意の適切な CHO 培地を用いてもよいが、実際には 1992 年 6 月 16 日に発行された米国特許第 5,122,469 号に記載された生産培地を使用した。3 L の生産スピナーを 1.2×10^6 細胞/mL で播種した。0 日目に、細胞数と pH を測定した。1 日目に、スピナーをサンプルし、濾過空気での散布を実施した。2 日目に、スピナーをサンプルし、温度を 33 に変え、30 mL の 500 g/L のグルコース及び 0.6 mL の 10% 消泡剤 (例えば 35% ポリジメチルシロキサンエマルジョン、Dow Corning 365 Medical Grade Emulsion) をとった。生産を通して、pH は 7.2 近傍に調節し維持した。10 日後、又は生存率が 70% を下回るまで、細胞培地を遠心分離で回収して 0.22 μ m フィルターを通して濾過した。濾過物は、4 で貯蔵するか、即座に精製用カラムに充填した。

10

【0178】

ポリ-His タグ作成物について、タンパク質は Ni-NTA カラム (Qiagen) を用いて精製した。精製の前に、イミダゾールを条件培地に 5 mM の濃度まで添加した。条件培地を、0.3 M の NaCl 及び 5 mM イミダゾールを含む 20 mM の Hepes, pH 7.4 バッファーで平衡化した 6 mL の Ni-NTA カラムに 4 - 5 mL / 分の流速で 4 においてポンプ供給した。充填後、カラムをさらに平衡バッファーで洗浄し、タンパク質を 0.25 M イミダゾールを含む平衡バッファーで溶離した。高度に精製されたタンパク質は、続いて 10 mM の Hepes、0.14 M の NaCl 及び 4% のマニトール、pH 6.8 を含む貯蔵バッファー中で 25 mL の G25 Superfine (Pharmacia) を用いて脱塩し、-80 で貯蔵した。

20

イムノアドヘシン (Fc 含有) 作成物を以下のようにして条件培地から精製した。条件培地を、20 mM のリン酸ナトリウムバッファー、pH 6.8 で平衡化した 5 mL のプロテイン A カラム (Pharmacia) に汲み上げた。充填後、カラムを平衡バッファーで強く洗浄した後、100 mM のクエン酸、pH 3.5 で溶離した。溶離したタンパク質は、1 mL の画分を 275 μ L の 1 M トリスバッファー、pH 9 を含む管に回収することにより即座に中性化した。高度に精製されたタンパク質は、続いてポリ-His タグタンパク質について上記した貯蔵バッファー中で脱塩した。均一性は SDS ポリアクリルアミドゲルとエドマン (Edman) 分解による N-末端アミノ酸配列決定により評価した。

30

ここに開示した PRO ポリペプチドの多くが上記のようにして成功裏に発現された。

【0179】

実施例 8：酵母菌での PRO の発現

以下の方法は、酵母菌中での PRO の組換え発現を記載する。

第 1 に、ADH2 / GAPDH プロモーターからの PRO の細胞内生産又は分泌のための酵母菌発現ベクターを作成する。PRO をコードする DNA 及びプロモーターを選択したプラスミドの適当な制限酵素部位に挿入して PRO の細胞内発現を指示する。分泌のために、PRO をコードする DNA を選択したプラスミドに、ADH2 / GAPDH プロモーターをコードする DNA、天然 PRO シグナルペプチド又は他の哺乳動物シグナルペプチド、又は、例えば酵母菌 α 因子又はインペルターゼ分泌シグナル/リーダー配列、及び (必要ならば) PRO の発現のためのリンカー配列とともにクローニングすることができる。

40

【0180】

酵母菌株 AB110 等の酵母菌は、次いで上記の発現プラスミドで形質転換し、選択された発酵培地中で培養できる。形質転換した酵母菌上清は、10% トリクロロ酢酸での沈降及び SDS-PAGE による分離で分析し、次いでクマシーブルー染色でゲルの染色をすることができる。

50

続いて組換えPROは、発酵培地から遠心分離により酵母菌細胞を除去し、次いで選択されたカートリッジフィルターを用いて培地を濃縮することによって単離及び精製できる。PROを含む濃縮物は、選択されたカラムクロマトグラフィー樹脂を用いてさらに精製してもよい。

ここに開示したPROポリペプチドの多くが上記のようにして成功裏に発現された。

【0181】

実施例9：バキュロウイルス感染昆虫細胞でのPROの発現

以下の方法は、バキュロウイルス感染昆虫細胞中におけるPROの組換え発現を記載する。

PROコードする配列を、バキュロウイルス発現ベクターに含まれるエピトープタグの上流に融合させた。このようなエピトープタグは、ポリ-hisタグ及び免疫グロブリンタグ(IgGのFc領域など)を含む。pVL1393(Navagen)などの市販されているプラスミドから誘導されるプラスミドを含む種々のプラスミドを用いることができる。簡単には、PRO又はPROコード配列の所定部分、例えば膜貫通タンパク質の細胞外ドメインをコードする配列又はタンパク質が細胞外である場合の成熟タンパク質をコードする配列などが、5'及び3'領域に相補的なプライマーでのPCRにより増幅される。5'プライマーは、隣接する(選択された)制限酵素部位を包含していてもよい。生産物は、次いで、選択された制限酵素で消化され、発現ベクターにサブクロニングされる。

組換えバキュロウイルスは、上記のプラスミド及びBaculoGold(商品名)ウイルスDNA(Pharmlingen)を、Spodoptera frugiperda(「Sf9」)細胞(ATCC CRL 1711)中にリポフェクチン(GIBCO-BRLから市販)を用いて同時形質移入することにより作成される。28℃で4-5日インキュベートした後、放出されたウイルスを回収し、更なる増幅に用いた。ウイルス感染及びタンパク質発現は、O'Reilleyら、Baculovirus expression vectors: A laboratory Manual, Oxford: Oxford University Press (1994)に記載されているように実施した。

【0182】

次に、発現されたポリ-hisタグPROは、例えばNi²⁺-キレートアフィニティークロマトグラフィーにより次のように精製される。抽出は、Rupertら、Nature, 362:175-179 (1993)に記載されているように、ウイルス感染した組み換えSf9細胞から調製した。簡単には、Sf9細胞を洗浄し、超音波処理用バッファー(25 mLのHepes, pH 7.9; 12.5 mMのMgCl₂; 0.1 mM EDTA; 10%グリセロール; 0.1%のNP-40; 0.4 MのKCl)中に再懸濁し、氷上で2回20秒間超音波処理した。超音波処理物を遠心分離で透明化し、上清を負荷バッファー(50 mMリン酸塩、300 mMのNaCl、10%グリセロール、pH 7.8)で50倍希釈し、0.45 µmフィルターで濾過した。Ni²⁺-NTAアガロースカラム(Qiagenから市販)を5 mLの総容積で調製し、25 mLの水で洗浄し、25 mLの負荷バッファーで平衡させた。濾過した細胞抽出物は、毎分0.5 mLでカラムに負荷した。カラムを、分画回収が始まる点であるA₂₈₀のベースラインまで負荷バッファーで洗浄した。次に、カラムを、結合タンパク質を非特異的に溶離する二次洗浄バッファー(50 mMリン酸塩; 300 mMのNaCl、10%グリセロール、pH 6.0)で洗浄した。A₂₈₀のベースラインに再度到達した後、カラムを二次洗浄バッファー中で0から500 mMイミダゾール勾配で展開した。1 mLの分画を回収し、SDS-PAGE及び銀染色又はアルカリホスファターゼ(Qiagen)に複合したNi²⁺-NTAでのウェスタンブロットで分析した。溶離したHis10-タグPROを含む画分をプールして負荷バッファーで透析した。

あるいは、IgGタグ(又はFcタグ)PROの精製は、例えば、プロテインA又はプロテインGカラムクロマトグラフィーを含む公知のクロマトグラフィー技術を用いて実施できる。

ここに開示したPROポリペプチドの多くが上記のようにして成功裏に発現された。

【0183】

10

20

30

40

50

実施例 10 : P R O に結合する抗体の調製

この実施例は、P R O に特異的に結合できるモノクローナル抗体の調製を例示する。

モノクローナル抗体の生産のための技術は、この分野で知られており、例えば、上記の Goding に記載されている。用いられ得る免疫原は、精製 P R O、P R O を含む融合タンパク質、細胞表面に組換え P R O を発現する細胞を含む。免疫原の選択は、当業者が過度の実験をすることなくすることができる。

B a l b / c 等のマウスを、完全フロイントアジュバントに乳化して皮下又は腹腔内に 1 - 100 マイクログラムで注入した P R O 免疫原で免疫化する。あるいは、免疫原を M P L - T D M アジュバント (Ribi Immunochemical Research, ハミルトン, モンタナ) に乳化し、動物の後足蹠に注入してもよい。免疫化したマウスは、次いで 10 から 12 日後に、選択したアジュバント中に乳化した付加的免疫源で追加免疫する。その後、数週間、マウスをさらなる免疫化注射で追加免疫する。抗 P R O 抗体の検出のための E L I S A アッセイで試験するために、レトロオービタル出血からの血清試料をマウスから周期的に採取してもよい。

10

20

30

【 0 1 8 4 】

適当な抗体力価が検出された後、抗体に「ポジティブ (陽性)」な動物に、P R O 静脈内注射の最後の注入をすることができる。3 から 4 日後、マウスを屠殺し、脾臓細胞を取り出した。次いで脾臓細胞を (35% ポリエチレングリコールを用いて)、A C T T から番号 C R L 1597 で入手可能な P 3 X 6 3 A g U . 1 等の選択されたマウス骨髄腫株化細胞に融合させた。融合によりハイブリドーマ細胞が生成され、次いで、H A T (ヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジン) 培地を含む 96 ウェル組織培養プレートに蒔き、非融合細胞、骨髄腫ハイブリッド、及び脾臓細胞ハイブリッドの増殖を阻害した。

ハイブリドーマ細胞は、P R O に対する反応性についての E L I S A でスクリーニングされる。P R O に対する所望のモノクローナル抗体を分泌する「ポジティブ (陽性)」ハイブリドーマ細胞の決定は、技術常識の範囲内である。

陽性ハイブリドーマ細胞を同系の B a l b / c マウスに腹腔内注入し、抗 P R O モノクローナル抗体を含む腹水を生成させる。あるいは、ハイブリドーマ細胞を、組織培養フラスコ又はローラーボトルで成長させることもできる。腹水中に生成されたモノクローナル抗体の精製は、硫酸アンモニウム沈降、それに続くゲル排除クロマトグラフィーを用いて行うことができる。あるいは、抗体のプロテイン A 又はプロテイン G への親和性に基づくアフィニティクロマトグラフィーを用いることもできる。

【 0 1 8 5 】**実施例 11 : 特異的抗体を用いた P R O ポリペプチドの精製**

天然又は組換え P R O ポリペプチドは、この分野の種々の標準的なタンパク質精製方法によって精製できる。例えば、プロ-P R O ポリペプチド、成熟ポリペプチド、又はプレ-P R O ポリペプチドは、対象とする P R O ポリペプチドに特異的な抗体を用いた免疫親和性クロマトグラフィーによって精製される。一般に、免疫親和性カラムは抗 P R O ポリペプチド抗体を活性化クロマトグラフィー樹脂に共有結合させて作成される。

ポリクローナル免疫グロブリンは、硫酸アンモニウムでの沈殿又は固定化プロテイン A (Pharmacia LKB Biotechnology, Piscataway, ニュージャージー) での精製のいずれかにより免疫血清から調製される。同様に、モノクローナル抗体は、硫酸アンモニウム沈殿又は固定化プロテイン A でのクロマトグラフィーによりマウス腹水液から調製される。部分的に精製された免疫グロブリンは、C n B r - 活性化セファロース (商品名) (Pharmacia LKB Biotechnology) 等のクロマトグラフィー樹脂に共有結合される。抗体が樹脂に結合され、樹脂がブロックされ、誘導体樹脂は製造者の指示に従って洗浄される。

40

【 0 1 8 6 】

このような免疫親和性カラムは、可溶化形態の P R O ポリペプチドを含有する細胞からの画分を調製することによる P R O ポリペプチドの精製において利用される。この調製物は、洗浄剤の添加又はこの分野で公知の方法により微分遠心分離を介して得られる全細胞又は細胞成分画分の可溶化により誘導される。あるいは、シグナル配列を含む可溶化 P R

50

Ｏポリペプチドは、細胞が成長する培地中に有用な量で分泌される。

可溶化ＰＲＯポリペプチド含有調製物は、免疫親和性カラムを通され、カラムはＰＲＯポリペプチドの好ましい吸着をさせる条件下（例えば、洗浄剤存在下の高イオン強度バッファ）で洗浄される。次いで、カラムは、抗体／ＰＲＯポリペプチド結合を分解する条件下（例えば、約２－３といった低ｐＨ、高濃度の尿素又はチオシアン酸イオン等のカオトロップ）で溶離され、ＰＲＯポリペプチドが回収される。

【０１８７】

実施例１２：薬物スクリーニング

本発明は、ＰＲＯポリペプチド又はその結合断片を種々の薬物スクリーニング技術において使用することによる化合物のスクリーニングとして特に有用である。そのような試験に用いられるＰＲＯポリペプチド又は断片は、溶液中の自由状態でも、固体支持体に固定されても、細胞表面に担持されていても、或いは細胞内に位置していてもよい。薬剤スクリーニングの１つの方法では、ＰＲＯポリペプチド又は断片を発現する組換え核酸で安定に形質移入される真核生物又は原核生物宿主細胞を利用する。薬剤は、そのような形質移入細胞に対して、競合的結合アッセイによってスクリーニングされる。生存可能又は固定化形態のいずれかによって、このような細胞は標準的な結合アッセイで利用できる。例えば、ＰＲＯポリペプチド又は断片と試験される試薬の間での複合体の形成を測定してよい。あるいは、試験する試薬によって生ずるＰＲＯポリペプチドとその標的細胞との間の複合体形成における減少を試験することもできる。

従って、本発明は、ＰＲＯポリペプチド関連疾患又は障害に影響を与えうる薬剤又は任意の他の試薬のスクリーニング方法を提供する。これらの方法は、その試薬をＰＲＯポリペプチド又は断片に接触させ、(i)試薬とＰＲＯポリペプチド又は断片との間の複合体の存在について、又は(ii)ＰＲＯポリペプチド又は断片と細胞との間の複合体の存在について、検定することを含む。これらの競合結合アッセイでは、ＰＲＯポリペプチド又は断片が典型的には標識される。適切なインキュベーションの後、自由なＰＲＯポリペプチド又は断片を結合形態のものから分離し、自由又は未複合の標識の量が、特定の試薬がＰＲＯポリペプチドに結合する又はＰＲＯポリペプチド／細胞複合体を阻害する能力の尺度となる。

【０１８８】

薬剤スクリーニングのための他の技術は、ポリペプチドに対して適当な結合親和性を持つ化合物についての高スループットスクリーニングを提供し、１９８４年９月１３日に公開されたＷＯ８４／０３５６４に詳細に記載されている。簡単に述べれば、多数の異なる小型ペプチド試験化合物が、プラスチックピン等の固体支持体又は幾つかの他の表面上で合成される。ＰＲＯポリペプチドに適用すると、ペプチド試験化合物はＰＲＯポリペプチドと反応して洗浄される。結合したＰＲＯポリペプチドはこの分野で良く知られた方法により検出される。精製したＰＲＯポリペプチドは、上記の薬剤スクリーニング技術に使用するためにプレート上に直接被覆することもできる。さらに、非中和抗体は、ペプチドを捕捉し、それを固体支持体上に固定化するのに使用できる。

また、本発明は、ＰＲＯポリペプチドに結合可能な中和抗体がＰＲＯポリペプチド又はその断片について試験化合物と特異的に競合する競合薬剤スクリーニングアッセイも考慮する。この方法において、抗体は、ＰＲＯポリペプチドで、１つ又は複数の抗原決定基を持つ任意のペプチドの存在を検出するのに使用できる。

【０１８９】

実施例１３：合理的薬物設計

合理的薬物設計の目的は、対象とする生物学的活性ポリペプチド（例えば、ＰＲＯポリペプチド）又はそれらが相互作用する小分子、例えばアゴニスト、アンタゴニスト、又はインヒビターの構造的類似物を製造することである。これらの例の任意のものが、ＰＲＯポリペプチドのより活性で安定な形態又はインビボでＰＲＯポリペプチドに機能を促進又は阻害する薬物の創作に使用できる（参考、Hodgson, Bio/Technology, 9: 19-21 (1991)）。

【0190】

1つの方法において、PROポリペプチド、又はPROポリペプチド-インヒビター複合体の三次元構造が、X線結晶学により、コンピュータモデル化により、最も典型的には2つの方法の組み合わせにより決定される。分子の構造を解明し活性部位を決定するためには、PROポリペプチドの形状及び電荷の両方が確認されなければならない。数は少ないが、PROポリペプチドの構造に関する有用な情報が相同タンパク質の構造に基づいたモデル化によって得られることもある。両方の場合において、関連する構造情報は、類似PROポリペプチド様分子の設計又は効果的なインヒビターの同定に使用される。合理的な薬剤設計の有用な例は、Braxton及びWells, Biochemistry, 31: 7796-7801 (1992)に示されているような向上した活性又は安定性を持つ分子、又はAthaudaら, J. Biochem., 113 : 742-746 (1993)に示されているような天然ペプチドのインヒビター、アゴニスト、又はアンタゴニストとして作用する分子を含む。

【0191】

また、上記のような機能アッセイによって選択された標的特異的な抗体を単離しその結晶構造を解明することもできる。この方法は、原理的には、それに続く薬剤設計が基礎をおくことのできるファーマコア(pharmacore)を生成する。機能的な薬理学的に活性な抗体に対する抗-イディオタイプ抗体(抗-id s)を生成することにより、タンパク質結晶学をバイパスすることができる。鏡像の鏡像として、抗-id sの結合部位は最初のレセプターの類似物であると予測できる。抗-idは、次いで、化学的又は生物学的に製造したペプチドのバンクからペプチドを同定及び単離するのに使用できる。単離されたペプチドは、ファーマコアとして機能するであろう。

本発明により、X線結晶学などの分析実験を実施するために十分な量のPROポリペプチドが入手可能である。さらに、ここに提供したPROポリペプチドアミノ酸配列の知識は、X線結晶学に代わる又はそれに加わるコンピュータモデル化技術で用いられるガイダンスを提供する。

【0192】

実施例14：周皮細胞c-fos誘発(アッセイ93)

このアッセイは、本発明の所定のポリペプチドが周皮細胞におけるc-fosの発現を誘発するように作用し、よって特定の種類の周皮細胞結合腫瘍の診断用マーカーとして有用であるばかりでなく、周皮細胞結合腫瘍の治療的処置に有用であると予期されるアンタゴニストを生じせしめることを示す。また、周皮細胞でのc-fosの誘導は血管新生そのものの誘導を示し、そしてc-fosの発現を誘導することができるPROポリペプチドは、例えば創傷治癒及びそれに同じような、誘導された血管新生が有益である症状の治療に有用である。特に1日目に、周皮細胞をVEC Technologiesから得て、5 mlの培地以外をフラスコから取り出した。2日目に周皮細胞をトリプシン化し、洗浄し、スピンさせ、ついで96ウェルプレートに蒔いた。7日目に培地を取り出し、周皮細胞を100 µlのPROポリペプチドテスト用試料及びコントロール(正のコントロール=DME+5%血清+/-500 ng/mlのPDGF; 負のコントロール=プロテイン32)で処理した。複製を平均し、SD/CVを決定した。蛍光ルミネセンス単位(RLU)照度計リーディングバース頻度により示されたプロテイン32値を越える折り畳み増加(バッファークontrol)をヒストグラム上にプロットし、上記のプロテイン32値を2倍越えると、アッセイについてポジティブであると考えられる。ASYマトリックス：成長培地=低グルコースDME M=20% FBS+1Xペンストレップ(pen strep)+1Xフンギゾン(fung izezone)。アッセイ用培地=低グルコースDME M+5% FBS。

以下の試験ポリペプチドがこのアッセイにおいてポジティブであった：PRO1347及びPRO1340。

【0193】

実施例15：軟骨からのプロテオグリカン放出を刺激するPROポリペプチドの能力(アッセイ97)

軟骨組織からのプロテオグリカンの放出を刺激する種々のPROポリペプチド能力を以

下のようにして試験した。

4 - 6 月 齢 の ブ タ の 手 指 節 関 節 を 無 菌 で 切 除 し、 関 節 軟 骨 を 下 の 骨 を 注 意 深 く 避 け た フリーハンドスライスによって取り除いた。軟骨を細かく切り刻み、0.1% BSA 及び 100 U/ml ペニシリン及び 100 µg/ml ストレプトマイシンを添加した無血清 (SF) 培地 (DME/F12 1:1) 中で、95% 空気、5% CO₂ 湿気においてバルクで 24 時間培養した。3 回洗浄した後、約 100 mg の関節軟骨をマイクロニクス (micronics) 管に分け、上記 SF 培地中でさらに 24 時間インキュベートした。次いで、PROポリペプチドの 1% を、単独あるいは公知の軟骨組織からのプロテオグリカン放出刺激剤であるインターロイキン-1α の 18 ng/ml とともに添加した。次いで上清を回収し、1, 9-ジメチル-メチレンブルー (DMB) 比色アッセイ (Farn 10 dale および Buttle, Biochem. Biophys. Acta 883: 173-177 (1985)) を用いてプロテオグリカンの量を検定した。このアッセイにおけるポジティブな結果は、例えば、運動関連関節障害である関節軟骨障害、変形性関節症又は慢性関節リウマチの治療において、この試験ポリペプチドが利用できることを示す。

上記のアッセイで PROポリペプチドを試験した場合、このポリペプチドは、根本的にそしてインターロイキン-1α での刺激後並びに処理後 24 及び 72 時間の双方の軟骨組織からのプロテオグリカン放出を刺激する顕著な能力を示し、このことは、このような PROポリペプチドが軟骨組織からのプロテオグリカンの放出を刺激することに有用であることを示している。このように、PROポリペプチドは運動関連関節障害である関節軟骨障害、変形性関節症又は慢性関節リウマチの治療に有用である。このアッセイにおけるポリペプチド試験のポジティブ (陽性) は、以下の通りである: PRO 1565、PRO 1693、PRO 1801 及び PRO 10096。 20

【0194】

実施例 16: 骨格筋のグルコース又は FFA 取り込みに影響を与えるポリペプチドの検出 (アッセイ 106)

このアッセイは、PROポリペプチドが骨格筋のグルコース又は FFA 取り込みに影響を及ぼす能力を示すかどうかを決定するために設計されている。このアッセイにおいて陽性と評価された PROポリペプチドは、例えば糖尿病あるいは高又は低インシュリン血症を含む骨格筋によるグルコース取り込みの刺激又は阻害の何れかが有益である疾患の治療的処置にとって有用であると期待される。 30

96 ウェルフォーマットでは、アッセイされる PROポリペプチドを初期ラット分化型骨格筋へ加え、そして一晩インキュベートする。ついで、PROポリペプチド及び + / - インシュリンを含む新鮮な培地をウェルに加える。そして、骨格筋によるグルコース又は FFA 取り込みを測定するために、試料培地をモニターする。インシュリンは骨格筋によるグルコース又は FFA 取り込みを刺激し、PROポリペプチドを含まない培地中のインシュリンをポジティブ (陽性) コントロール及びスコリングの制限として使用する。試験される PROポリペプチドがグルコース又は FFA 取り込みを刺激或いは阻害した場合、インシュリンのコントロールより 1.5 倍を超える又は 0.5 倍未満ならば、結果は陽性と記録 (スコア) される。

以下の試験された PROポリペプチドが、このアッセイにおいてグルコース及び / 又は FFA の取り込みの刺激剤又は阻害剤のいずれかとしてポジティブ (陽性) であった: PRO 4405。 40

【0195】

実施例 17: ヒト血液での TNF-α の放出を刺激する PROポリペプチドの同定 (アッセイ 128)

このアッセイは、本発明のある PROポリペプチドが、ヒト血液における TNF-α の放出を刺激することを示している。このアッセイでポジティブ (陽性) と検定された PROポリペプチドは、他の事例を含めて、TNF-α の放出を刺激が所望されている研究目的、及び TNF-α の放出の増加が有益である症状の治療的処置にとって有用である。特に、50 mM HEPES バッファー (pH 7.2) で補充した 200 µl のヒト血液を 50

、96ウェルテストプレートのウェルへ等分して配する。次いで、各ウェルへは、50 mM HEPES バッファーに含まれる試験PROポリペプチド(種々の濃度)又は50 mM HEPES バッファーのみ(ネガティブ(負)のコントロール)のいずれかを300 μ l 添加し、このプレートを37 で6時間インキュベートした。次に、試料を遠心分離し、各ウェルから50 μ lの血漿を収集し、ELISAアッセイによってTNF- α の存在を試験した。アッセイでのポジティブ(陽性)とは、ネガティブ(負)のコントロール試料と比較して、PROポリペプチド処理試料中により多量のTNF- α があることである。以下のPROポリペプチドが、このアッセイにおいてポジティブ(陽性)であった：PRO263、PRO295、PRO1282、PRO1063、PRO1356、PRO3543及びPRO5990。

10

【0196】

実施例18：正常組な組織発現差分布に対比した腫瘍

添付の資料に示されている幾つかのPROポリペプチドコード化ヌクレオチド配列から、定量PCR増幅反応で利用するオリゴヌクレオチドプローブを構築した。このオリゴヌクレオチドプローブは、標準PCR反応において、それに対応するテンプレートの3'末端から約200 - 600塩基対の増幅断片が生じるようなものが選択された。このオリゴヌクレオチドプローブは、異なるヒト腫瘍及び正常ヒト組織試料から単離したcDNAライブラリとともに標準定量PCR増幅反応に用い、試験された種々の腫瘍及び正常組織におけるPROポリペプチドコード化核酸の発現レベルの定量を得るために、アガロースゲル電気泳動によって分析した。各反応において、等量の核酸が用いられたことを確かめるために、 β -アクチンをコントロールとして用いた。同型組織の1つ又は複数の正常組織と比較した1つ又は複数の腫瘍組織でのPROポリペプチドコード化核酸の発現差の同定は、PROポリペプチドコード化核酸を発現している腫瘍を有する被験者の腫瘍の処置の標的として治療的に有用な分子のみならず、腫瘍を有すると疑われる被験者に腫瘍が在るか否かを確定するための診断的に有用な分子を提供する。このようなアッセイは、以下の結果を提供する。

20

【0197】

分子	極めて高度に発現した組織：	比較した組織：
DNA26843-1389	正常肺 直腸腫瘍	肺腫瘍 正常直腸
DNA30867-1335	正常腎臓	腎臓腫瘍
DNA40621-1440	正常肺	肺腫瘍
DNA40625-1189	正常肺	肺腫瘍
DNA45409-2511	メラノーマ腫瘍	正常皮膚
DNA56406-1704	腎臓腫瘍 正常皮膚	正常腎臓 メラノーマ腫瘍
DNA56410-1414	正常胃	胃腫瘍
DNA56436-1448	正常皮膚	メラノーマ腫瘍
DNA56855-1447	正常食道 直腸腫瘍	食道腫瘍 正常直腸
DNA56860-1510	正常腎臓 直腸腫瘍	腎臓腫瘍 正常直腸
DNA56862-1343	腎臓腫瘍 正常肺	正常腎臓 肺腫瘍

30

40

【0198】

分子	極めて高度に発現した組織：	比較した組織：
DNA56868-1478	正常胃 正常肺	胃腫瘍 肺腫瘍
DNA56869-1545	正常食道 正常皮膚	食道腫瘍 メラノーマ腫瘍

50

DNA57704-1452	正常胃 直腸腫瘍	胃腫瘍 正常直腸	
DNA58723-1588	正常胃 腎臓腫瘍 正常皮膚	胃腫瘍 正常腎臓 メラノーマ腫瘍	
DNA57827-1493	正常胃 正常皮膚	胃腫瘍 メラノーマ腫瘍	
DNA58737-1473	食道腫瘍 正常胃	正常食道 胃腫瘍	
DNA58846-1409	肺腫瘍	正常肺	10
DNA58850-1495	食道腫瘍 腎臓腫瘍	正常食道 正常腎臓	
DNA58855-1422	正常胃 直腸腫瘍	胃腫瘍 正常直腸	
DNA59211-1450	正常腎臓	腎臓腫瘍	
DNA59212-1627	正常皮膚	メラノーマ腫瘍	
DNA59213-1487	正常胃 正常皮膚	胃腫瘍 メラノーマ腫瘍	
DNA59605-1418	メラノーマ腫瘍	正常皮膚	
DNA59609-1470	食道腫瘍	正常食道	20
DNA59610-1556	食道腫瘍 肺腫瘍 正常皮膚	正常食道 正常肺 メラノーマ腫瘍	
DNA59837-2545	正常皮膚	メラノーマ腫瘍	
DNA59844-2542	正常皮膚 食道腫瘍	メラノーマ腫瘍 正常食道	
DNA59854-1459	正常食道 胃腫瘍 正常肺	食道腫瘍 正常胃 肺腫瘍	
DNA60625-1507	正常肺	肺腫瘍	30
DNA60629-1481	正常食道 正常直腸	食道腫瘍 直腸腫瘍	
【 0 1 9 9 】			
分子	極めて高度に発現した組織：	比較した組織：	
DNA61755-1554	正常胃 腎臓腫瘍	胃腫瘍 正常腎臓	
DNA62812-1594	正常胃 正常肺 正常直腸 正常皮膚	胃腫瘍 肺腫瘍 直腸腫瘍 メラノーマ腫瘍	40
DNA62185-1576	食道腫瘍	正常食道	
DNA64881-1602	正常胃 正常肺	胃腫瘍 肺腫瘍	
DNA64902-1667	食道腫瘍 腎臓腫瘍	正常食道 正常腎臓	
DNA65403-1565	正常食道	食道腫瘍	
DNA66308-1537	正常肺	肺腫瘍	
DNA66519-1535	腎臓腫瘍	正常腎臓	
DNA66521-1583	正常食道 正常胃	食道腫瘍 胃腫瘍	50

	正常肺	肺腫瘍	
	正常直腸	直腸腫瘍	
	正常皮膚	メラノーマ腫瘍	
DNA66658-1584	正常肺	肺腫瘍	
	メラノーマ腫瘍	正常皮膚	
DNA66660-1585	肺腫瘍	正常肺	
DNA66674-1599	腎臓腫瘍	正常腎臓	
	正常肺	肺腫瘍	
DNA68862-2546	メラノーマ腫瘍	正常皮膚	
DNA68866-1644	正常胃	胃腫瘍	10
DNA68871-1638	肺腫瘍	正常肺	
	正常皮膚	メラノーマ腫瘍	
DNA68880-1676	正常肺	肺腫瘍	
	正常皮膚	メラノーマ腫瘍	
DNA68883-1691	食道腫瘍	正常食道	
DNA68885-1678	肺腫瘍	正常肺	
DNA71277-1636	正常胃	胃腫瘍	
DNA73734-1680	正常肺	肺腫瘍	
【 0 2 0 0 】			
分子	極めて高度に発現した組織：	比較した組織：	20
DNA73735-1681	食道腫瘍	正常食道	
	正常腎臓	腎臓腫瘍	
	肺腫瘍	正常肺	
	正常皮膚	メラノーマ腫瘍	
DNA76393-1664	食道腫瘍	正常食道	
	胃腫瘍	正常胃	
	肺腫瘍	正常肺	
	直腸腫瘍	正常直腸	
DNA77568-1626	正常胃	胃腫瘍	
	肺腫瘍	正常肺	30
DNA77626-1705	正常直腸	直腸腫瘍	
DNA81754-2532	正常皮膚	メラノーマ腫瘍	
DNA81757-2512	食道腫瘍	正常食道	
	正常胃	胃腫瘍	
	メラノーマ腫瘍	正常皮膚	
DNA82302-2529	正常胃	胃腫瘍	
	正常肺	肺腫瘍	
DNA82340-2530	正常食道	食道腫瘍	
DNA85066-2534	肺腫瘍	正常肺	
	正常皮膚	メラノーマ腫瘍	40
DNA87991-2540	腫瘍食道	正常食道	
DNA92238-2539	正常皮膚	メラノーマ腫瘍	
DNA96787-2534	正常腎臓	腎臓腫瘍	

【 0 2 0 1 】

実施例 19：レセプター／リガンド相互作用の同定

このアッセイでは、レセプター／リガンド相互作用を同定する目的で、潜在的なレセプター又はリガンド分子の一群（パネル）へ結合する能力について種々の P R O ポリペプチドを試験した。既知のレセプターに対するリガンド、既知のリガンドに対するレセプター又は新規のレセプター／リガンド対の同定は、例えば、レセプター又はリガンドを発現することが知られている細胞へ生物活性分子（リガンド又はレセプターへ結合）を標的とする

こと、組成物がリガンド又はレセプターを発現すると思われる細胞を含む可能性がある場合に、レセプター又はリガンドを含むと思われる組成物中でのそれらの存在を検出する試薬としてのレセプター又はリガンドを利用すること、レセプター又はリガンドを発現すること或いはこれらへ反応することが知られている細胞の成長又はその他の生物学的或いは免疫学的活性を調節すること、細胞の免疫応答或いはレセプター又はリガンドを発現する細胞に対する免疫応答を調節すること、レセプター又はリガンドを発現する細胞の成長又は生物学的或いは免疫学的活性を調節するレセプター又はリガンドに対するアゴニスト、アンタゴニスト及び/又は抗体の調製を可能にすること、並びに普通の熟練技術者には容易に明らかである種々の他の兆候を含む種々の兆候にとって有用である。

【0202】

このアッセイは、以下のようにしておこなわれる。レセプターのリガンドと思われる本発明のPROポリペプチドを、ヒトIgG（イムノアドヘシン）のFcドメインを含む融合タンパク質として発現する。イムノアドヘシンポリペプチドと候補PROポリペプチドレセプターを発現する細胞（例えばCos細胞）との相互作用、結合したイムノアドヘシンのFc融合ドメインを対象とする蛍光試薬での視覚化、及び顕微鏡で検査することで、レセプター-リガンド結合を検出する。同時に、レセプター分子として機能する可能性があるPROポリペプチドをコードするcDNA発現ベクターのライブラリの明確な一部分の一過性形質移入によって、候補レセプターを発現する細胞は生産される。次いで、レセプター結合の可能性を試験されるPROポリペプチドイムノアドヘシンの存在下において、細胞を1時間に渡ってインキュベーションする。この細胞を、次にパラホルムアルデヒドで洗浄して固定化する。次に、この細胞をPROポリペプチドイムノアドヘシンのFc部分を対象とする蛍光共役抗体とインキュベートする（例えば、FITC共役ヤギ抗-ヒト-Fc抗体）。次に、この細胞を再び顕微鏡によって調べる。特定のPROポリペプチドレセプター又はレセプタープールをコードするcDNAで形質移入された細胞に蛍光ラベルが在ること、並びに他のcDNA又はcDNAプールで形質移入された同様に調製された細胞に同様な蛍光ラベルが無いことによって、ポジティブ（陽性）相互作用は判断される。PROポリペプチドイムノアドヘシンとの相互作用について、cDNA発現ベクターの明白なプールがポジティブ（陽性）であると判断された場合は、PROポリペプチドイムノアドヘシンと相互作用することができると判断される特定のcDNAを確定するために、プールを構成する個々のcDNA種を個別に検定する。

【0203】

このアッセイのその他の実施態様では、潜在的なエピトープタグリガンドPROポリペプチド（例えば、8ヒスチジン「His」タグ）は、ヒトIgGのFcドメイン（イムノアドヘシン）との融合として発現された潜在的レセプターPROポリペプチドの一群（パネル）と相互作用する。エピトープタグPROポリペプチドとの1時間に渡る共インキュベーションの後、個々の候補レセプターをプロテインAビーズで免疫沈降し、ビーズを洗浄した。潜在的なリガンド相互作用は、エピトープタグを標的とする抗体による免疫沈降複合体のウェスタンブロット分析によって測定した。候補レセプターによるウェスタンブロット分析においてエピトープタグタンパク質の予想分子量のバンドが観察されるが、潜在的レセプターの一群（パネル）の他のメンバーとのウェスタンブロットで観察されなかったならば、相互作用が起こっていると判断する。

これらのアッセイを利用し、ここで、次のレセプター/リガンド相互作用が同定されている：

- (1) PRO10272がPRO5801へ結合する。
- (2) PRO20110がヒトIL-17レセプター（Yaoら, Cytokine 9(11):794-800(1997)；またここでPRO1と命名された）及びPRO20040へ結合する。
- (3) PRO10096がPRO20233へ結合する。
- (4) PRO19670がPRO1890へ結合する。

【0204】

上記の文書による明細書は、当業者に本発明を実施できるようにするために十分である

10

20

30

40

50

と考えられる。寄託した態様は、本発明のある側面の一つの説明として意図されており、機能的に等価なあらゆる作成物がこの発明の範囲内にあるため、寄託された作成物により、本発明の範囲が限定されるものではない。ここでの物質の寄託は、ここに含まれる文書による説明が、そのベストモードを含む、本発明の任意の側面の実施を可能にするために不十分であることを認めるものではないし、それが表す特定の例証に対して請求の範囲を制限するものと解釈されるものでもない。実際、ここに示し記載したものに加えて、本発明を様々に改変することは、前記の記載から当業者にとっては明らかなものであり、添付の請求の範囲内に入るものである。

【図面の簡単な説明】

【0205】

10

【図1】天然配列PRO180cDNAのヌクレオチド配列（配列番号：1）を示す図であって、配列番号：1は、ここで「DNA26843-1389」と命名されるクローンである。

【図2】図1に示した配列番号：1のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：2）を示す図である。

【図3】天然配列PRO218cDNAのヌクレオチド配列（配列番号：3）を示す図であって、配列番号：3は、ここで「DNA30867-1335」と命名されるクローンである。

【図4】図3に示した配列番号：3のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：4）を示す図である。

20

【図5】天然配列PRO263cDNAのヌクレオチド配列（配列番号：5）を示す図であって、配列番号：5は、ここで「DNA34431-1177」と命名されるクローンである。

【図6】図5に示した配列番号：5のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：6）を示す図である。

【図7】天然配列PRO295cDNAのヌクレオチド配列（配列番号：7）を示す図であって、配列番号：1は、ここで「DNA38268-1188」と命名されるクローンである。

【図8】図7に示した配列番号：7のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：8）を示す図である。

30

【図9】天然配列PRO874cDNAのヌクレオチド配列（配列番号：9）を示す図であって、配列番号：9は、ここで「DNA40621-1440」と命名されるクローンである。

【図10】図9に示した配列番号：9のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：10）を示す図である。

【図11】天然配列PRO300cDNAのヌクレオチド配列（配列番号：11）を示す図であって、配列番号：11は、ここで「DNA40625-1189」と命名されるクローンである。

【図12】図11に示した配列番号：11のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：12）を示す図である。

40

【図13】天然配列PRO1864cDNAのヌクレオチド配列（配列番号：13）を示す図であって、配列番号：13は、ここで「DNA45409-2511」と命名されるクローンである。

【図14】図13に示した配列番号：13のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：14）を示す図である。

【図15】天然配列PRO1282cDNAのヌクレオチド配列（配列番号：15）を示す図であって、配列番号：15は、ここで「DNA45495-1550」と命名されるクローンである。

【図16】図15に示した配列番号：15のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：16）を示す図である。

50

【図 17】天然配列 PRO1063 cDNA のヌクレオチド配列 (配列番号: 17) を示す図であって、配列番号: 17 は、ここで「DNA49820-1427」と命名されるクローンである。

【図 18】図 17 に示した配列番号: 17 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号: 18) を示す図である。

【図 19】天然配列 PRO1773 cDNA のヌクレオチド配列 (配列番号: 19) を示す図であって、配列番号: 19 は、ここで「DNA56406-1704」と命名されるクローンである。

【図 20】図 19 に示した配列番号: 19 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号: 20) を示す図である。

10

【図 21】天然配列 PRO1013 cDNA のヌクレオチド配列 (配列番号: 21) を示す図であって、配列番号: 21 は、ここで「DNA56410-1414」と命名されるクローンである。

【図 22】図 21 に示した配列番号: 21 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号: 22) を示す図である。

【図 23】天然配列 PRO937 cDNA のヌクレオチド配列 (配列番号: 23) を示す図であって、配列番号: 23 は、ここで「DNA56436-1448」と命名されるクローンである。

【図 24】図 23 に示した配列番号: 23 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号: 24) を示す図である。

20

【図 25】天然配列 PRO842 cDNA のヌクレオチド配列 (配列番号: 25) を示す図であって、配列番号: 25 は、ここで「DNA56855-1447」と命名されるクローンである。

【図 26】図 25 に示した配列番号: 25 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号: 26) を示す図である。

【図 27】天然配列 PRO1180 cDNA のヌクレオチド配列 (配列番号: 27) を示す図であって、配列番号: 27 は、ここで「DNA56860-1510」と命名されるクローンである。

【図 28】図 27 に示した配列番号: 27 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号: 28) を示す図である。

30

【図 29】天然配列 PRO831 cDNA のヌクレオチド配列 (配列番号: 29) を示す図であって、配列番号: 29 は、ここで「DNA56862-1343」と命名されるクローンである。

【図 30】図 29 に示した配列番号: 29 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号: 30) を示す図である。

【図 31】天然配列 PRO1115 cDNA のヌクレオチド配列 (配列番号: 31) を示す図であって、配列番号: 31 は、ここで「DNA56868-1478」と命名されるクローンである。

【図 32】図 31 に示した配列番号: 31 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号: 32) を示す図である。

40

【図 33】天然配列 PRO1277 cDNA のヌクレオチド配列 (配列番号: 33) を示す図であって、配列番号: 33 は、ここで「DNA56869-1545」と命名されるクローンである。

【図 34】図 33 に示した配列番号: 33 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号: 34) を示す図である。

【図 35】天然配列 PRO1074 cDNA のヌクレオチド配列 (配列番号: 35) を示す図であって、配列番号: 35 は、ここで「DNA57704-1452」と命名されるクローンである。

【図 36】図 35 に示した配列番号: 35 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号: 36) を示す図である。

50

【図 37】天然配列 PRO1344 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：37）を示す図であって、配列番号：37 は、ここで「DNA58723-1588」と命名されるクローンである。

【図 38】図 37 に示した配列番号：37 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：38）を示す図である。

【図 39】天然配列 PRO1136 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：39）を示す図であって、配列番号：39 は、ここで「DNA57827-1493」と命名されるクローンである。

【図 40】図 39 に示した配列番号：39 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：40）を示す図である。

10

【図 41】天然配列 PRO1109 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：41）を示す図であって、配列番号：41 は、ここで「DNA58737-1473」と命名されるクローンである。

【図 42】図 41 に示した配列番号：41 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：42）を示す図である。

【図 43】天然配列 PRO1003 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：43）を示す図であって、配列番号：43 は、ここで「DNA58846-1409」と命名されるクローンである。

【図 44】図 43 に示した配列番号：43 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：44）を示す図である。

20

【図 45】天然配列 PRO1138 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：45）を示す図であって、配列番号：45 は、ここで「DNA58850-1495」と命名されるクローンである。

【図 46】図 45 に示した配列番号：45 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：46）を示す図である。

【図 47】天然配列 PRO994 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：47）を示す図であって、配列番号：47 は、ここで「DNA58855-1422」と命名されるクローンである。

【図 48】図 47 に示した配列番号：47 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：48）を示す図である。

30

【図 49】天然配列 PRO1069 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：49）を示す図であって、配列番号：49 は、ここで「DNA59211-1450」と命名されるクローンである。

【図 50】図 49 に示した配列番号：49 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：50）を示す図である。

【図 51】天然配列 PRO1411 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：51）を示す図であって、配列番号：51 は、ここで「DNA59212-1627」と命名されるクローンである。

【図 52】図 51 に示した配列番号：51 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：52）を示す図である。

40

【図 53】天然配列 PRO1129 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：53）を示す図であって、配列番号：53 は、ここで「DNA59213-1487」と命名されるクローンである。

【図 54】図 53 に示した配列番号：53 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：54）を示す図である。

【図 55】天然配列 PRO1027 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：55）を示す図であって、配列番号：55 は、ここで「DNA59605-1418」と命名されるクローンである。

【図 56】図 55 に示した配列番号：55 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：56）を示す図である。

50

【図 5 7】天然配列 PRO 1 1 0 6 c DNA のヌクレオチド配列 (配列番号 : 5 7) を示す図であって、配列番号 : 5 7 は、ここで「DNA 5 9 6 0 9 - 1 4 7 0」と命名されるクローンである。

【図 5 8】図 5 7 に示した配列番号 : 5 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 5 8) を示す図である。

【図 5 9】天然配列 PRO 1 2 9 1 c DNA のヌクレオチド配列 (配列番号 : 5 9) を示す図であって、配列番号 : 5 9 は、ここで「DNA 5 9 6 1 0 - 1 5 5 6」と命名されるクローンである。

【図 6 0】図 5 9 に示した配列番号 : 5 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 6 0) を示す図である。

10

【図 6 1】天然配列 PRO 3 5 7 3 c DNA のヌクレオチド配列 (配列番号 : 6 1) を示す図であって、配列番号 : 6 1 は、ここで「DNA 5 9 8 3 7 - 2 5 4 5」と命名されるクローンである。

【図 6 2】図 6 1 に示した配列番号 : 6 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 6 2) を示す図である。

【図 6 3】天然配列 PRO 3 5 6 6 c DNA のヌクレオチド配列 (配列番号 : 6 3) を示す図であって、配列番号 : 6 3 は、ここで「DNA 5 9 8 4 4 - 2 5 4 2」と命名されるクローンである。

【図 6 4】図 6 3 に示した配列番号 : 6 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 6 4) を示す図である。

20

【図 6 5】天然配列 PRO 1 0 9 8 c DNA のヌクレオチド配列 (配列番号 : 6 5) を示す図であって、配列番号 : 6 5 は、ここで「DNA 5 9 8 5 4 - 1 4 5 9」と命名されるクローンである。

【図 6 6】図 6 5 に示した配列番号 : 6 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 6 6) を示す図である。

【図 6 7】天然配列 PRO 1 1 5 8 c DNA のヌクレオチド配列 (配列番号 : 6 7) を示す図であって、配列番号 : 6 7 は、ここで「DNA 6 0 6 2 5 - 1 5 0 7」と命名されるクローンである。

【図 6 8】図 6 7 に示した配列番号 : 6 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 6 8) を示す図である。

30

【図 6 9】天然配列 PRO 1 1 2 4 c DNA のヌクレオチド配列 (配列番号 : 6 9) を示す図であって、配列番号 : 6 9 は、ここで「DNA 6 0 6 2 9 - 1 4 8 1」と命名されるクローンである。

【図 7 0】図 6 9 に示した配列番号 : 6 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 7 0) を示す図である。

【図 7 1】天然配列 PRO 1 2 8 7 c DNA のヌクレオチド配列 (配列番号 : 7 1) を示す図であって、配列番号 : 7 1 は、ここで「DNA 6 1 7 5 5 - 1 5 5 4」と命名されるクローンである。

【図 7 2】図 7 1 に示した配列番号 : 7 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 7 2) を示す図である。

40

【図 7 3】天然配列 PRO 1 3 3 5 c DNA のヌクレオチド配列 (配列番号 : 7 3) を示す図であって、配列番号 : 7 3 は、ここで「DNA 6 2 8 1 2 - 1 5 9 4」と命名されるクローンである。

【図 7 4】図 7 3 に示した配列番号 : 7 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 7 4) を示す図である。

【図 7 5】天然配列 PRO 1 3 1 5 c DNA のヌクレオチド配列 (配列番号 : 7 5) を示す図であって、配列番号 : 7 5 は、ここで「DNA 6 2 8 1 5 - 1 5 7 6」と命名されるクローンである。

【図 7 6】図 7 5 に示した配列番号 : 7 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 7 6) を示す図である。

50

【図 77】天然配列 PRO1357 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：77）を示す図であって、配列番号：77 は、ここで「DNA64881-1602」と命名されるクローンである。

【図 78】図 77 に示した配列番号：77 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：78）を示す図である。

【図 79】天然配列 PRO1356 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：79）を示す図であって、配列番号：79 は、ここで「DNA64886-1601」と命名されるクローンである。

【図 80】図 79 に示した配列番号：79 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：80）を示す図である。

10

【図 81】天然配列 PRO1557 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：81）を示す図であって、配列番号：81 は、ここで「DNA64902-1667」と命名されるクローンである。

【図 82】図 81 に示した配列番号：81 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：82）を示す図である。

【図 83】天然配列 PRO1347 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：83）を示す図であって、配列番号：83 は、ここで「DNA64950-1590」と命名されるクローンである。

【図 84】図 83 に示した配列番号：83 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：84）を示す図である。

20

【図 85】天然配列 PRO1302 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：85）を示す図であって、配列番号：85 は、ここで「DNA65403-1565」と命名されるクローンである。

【図 86】図 85 に示した配列番号：85 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：86）を示す図である。

【図 87】天然配列 PRO1270 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：87）を示す図であって、配列番号：87 は、ここで「DNA66308-1537」と命名されるクローンである。

【図 88】図 87 に示した配列番号：87 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：88）を示す図である。

30

【図 89】天然配列 PRO1268 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：89）を示す図であって、配列番号：89 は、ここで「DNA66519-1535」と命名されるクローンである。

【図 90】図 89 に示した配列番号：89 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：90）を示す図である。

【図 91】天然配列 PRO1327 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：91）を示す図であって、配列番号：91 は、ここで「DNA66521-1583」と命名されるクローンである。

【図 92】図 91 に示した配列番号：91 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：92）を示す図である。

40

【図 93】天然配列 PRO1328 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：93）を示す図であって、配列番号：93 は、ここで「DNA66658-1584」と命名されるクローンである。

【図 94】図 93 に示した配列番号：93 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：94）を示す図である。

【図 95】天然配列 PRO1329 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：95）を示す図であって、配列番号：95 は、ここで「DNA66660-1585」と命名されるクローンである。

【図 96】図 95 に示した配列番号：95 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：96）を示す図である。

50

【図 97】天然配列 PRO1340 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：97）を示す図であって、配列番号：97 は、ここで「DNA66663-1598」と命名されるクローンである。

【図 98】図 97 に示した配列番号：97 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：98）を示す図である。

【図 99】天然配列 PRO1342 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：99）を示す図であって、配列番号：99 は、ここで「DNA66674-1599」と命名されるクローンである。

【図 100】図 99 に示した配列番号：99 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：100）を示す図である。

10

【図 101】天然配列 PRO3579 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：101）を示す図であって、配列番号：101 は、ここで「DNA68862-2546」と命名されるクローンである。

【図 102】図 101 に示した配列番号：101 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：102）を示す図である。

【図 103】天然配列 PRO1472 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：103）を示す図であって、配列番号：103 は、ここで「DNA68866-1644」と命名されるクローンである。

【図 104】図 103 に示した配列番号：103 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：104）を示す図である。

20

【図 105】天然配列 PRO1461 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：105）を示す図であって、配列番号：105 は、ここで「DNA68871-1638」と命名されるクローンである。

【図 106】図 105 に示した配列番号：105 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：106）を示す図である。

【図 107】天然配列 PRO1568 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：107）を示す図であって、配列番号：107 は、ここで「DNA68880-1676」と命名されるクローンである。

【図 108】図 107 に示した配列番号：107 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：108）を示す図である。

30

【図 109】天然配列 PRO1753 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：109）を示す図であって、配列番号：109 は、ここで「DNA68883-1691」と命名されるクローンである。

【図 110】図 109 に示した配列番号：109 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：110）を示す図である。

【図 111】天然配列 PRO1570 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：111）を示す図であって、配列番号：111 は、ここで「DNA68885-1678」と命名されるクローンである。

【図 112】図 111 に示した配列番号：111 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：112）を示す図である。

40

【図 113】天然配列 PRO1446 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：113）を示す図であって、配列番号：113 は、ここで「DNA71277-1636」と命名されるクローンである。

【図 114】図 113 に示した配列番号：113 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：114）を示す図である。

【図 115】天然配列 PRO1565 cDNA のヌクレオチド配列（配列番号：115）を示す図であって、配列番号：115 は、ここで「DNA73727-1673」と命名されるクローンである。

【図 116】図 115 に示した配列番号：115 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：116）を示す図である。

50

【図 1 1 7】天然配列 P R O 1 5 7 2 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 1 7）を示す図であって、配列番号：1 1 7 は、ここで「D N A 7 3 7 3 4 - 1 6 8 0」と命名されるクローンである。

【図 1 1 8】図 1 1 7 に示した配列番号：1 1 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 1 8）を示す図である。

【図 1 1 9】天然配列 P R O 1 5 7 3 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 1 9）を示す図であって、配列番号：1 1 9 は、ここで「D N A 7 3 7 3 5 - 1 6 8 1」と命名されるクローンである。

【図 1 2 0】図 1 1 9 に示した配列番号：1 1 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 2 0）を示す図である。

10

【図 1 2 1】天然配列 P R O 1 5 5 0 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 2 1）を示す図であって、配列番号：1 2 1 は、ここで「D N A 7 6 3 9 3 - 1 6 6 4」と命名されるクローンである。

【図 1 2 2】図 1 2 1 に示した配列番号：1 2 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 2 2）を示す図である。

【図 1 2 3】天然配列 P R O 1 6 9 3 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 2 3）を示す図であって、配列番号：1 2 3 は、ここで「D N A 7 7 3 0 1 - 1 7 0 8」と命名されるクローンである。

【図 1 2 4】図 1 2 3 に示した配列番号：1 2 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 2 4）を示す図である。

20

【図 1 2 5】天然配列 P R O 1 5 6 6 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 2 5）を示す図であって、配列番号：1 2 5 は、ここで「D N A 7 7 5 6 8 - 1 6 2 6」と命名されるクローンである。

【図 1 2 6】図 1 2 5 に示した配列番号：1 2 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 2 6）を示す図である。

【図 1 2 7】天然配列 P R O 1 7 7 4 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 2 7）を示す図であって、配列番号：1 2 7 は、ここで「D N A 7 7 6 2 6 - 1 7 0 5」と命名されるクローンである。

【図 1 2 8】図 1 2 7 に示した配列番号：1 2 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 2 8）を示す図である。

30

【図 1 2 9】天然配列 P R O 1 9 2 8 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 2 9）を示す図であって、配列番号：1 2 9 は、ここで「D N A 8 1 7 5 4 - 2 5 3 2」と命名されるクローンである。

【図 1 3 0】図 1 2 9 に示した配列番号：1 2 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 3 0）を示す図である。

【図 1 3 1】天然配列 P R O 1 8 6 5 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 3 1）を示す図であって、配列番号：1 3 1 は、ここで「D N A 8 1 7 5 7 - 2 5 1 2」と命名されるクローンである。

【図 1 3 2】図 1 3 1 に示した配列番号：1 3 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 3 2）を示す図である。

40

【図 1 3 3】天然配列 P R O 1 9 2 5 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 3 3）を示す図であって、配列番号：1 3 3 は、ここで「D N A 8 2 3 0 2 - 2 5 2 9」と命名されるクローンである。

【図 1 3 4】図 1 3 3 に示した配列番号：1 3 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 3 4）を示す図である。

【図 1 3 5】天然配列 P R O 1 9 2 6 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 3 5）を示す図であって、配列番号：1 3 5 は、ここで「D N A 8 2 3 4 0 - 2 5 3 0」と命名されるクローンである。

【図 1 3 6】図 1 3 5 に示した配列番号：1 3 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 3 6）を示す図である。

50

【図 1 3 7】天然配列 P R O 1 8 0 1 c D N A のヌクレオチド配列 (配列番号 : 1 3 7) を示す図であって、配列番号 : 1 3 7 は、ここで「D N A 8 3 5 0 0 - 2 5 0 6」と命名されるクローンである。

【図 1 3 8】図 1 3 7 に示した配列番号 : 1 3 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 1 3 8) を示す図である。

【図 1 3 9】天然配列 P R O 4 4 0 5 c D N A のヌクレオチド配列 (配列番号 : 1 3 9) を示す図であって、配列番号 : 1 3 9 は、ここで「D N A 8 4 9 2 0 - 2 6 1 4」と命名されるクローンである。

【図 1 4 0】図 1 3 9 に示した配列番号 : 1 3 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 1 4 0) を示す図である。

10

【図 1 4 1】天然配列 P R O 3 4 3 5 c D N A のヌクレオチド配列 (配列番号 : 1 4 1) を示す図であって、配列番号 : 1 4 1 は、ここで「D N A 8 5 0 6 6 - 2 5 3 4」と命名されるクローンである。

【図 1 4 2】図 1 4 1 に示した配列番号 : 1 4 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 1 4 2) を示す図である。

【図 1 4 3】天然配列 P R O 3 5 4 3 c D N A のヌクレオチド配列 (配列番号 : 1 4 3) を示す図であって、配列番号 : 1 4 3 は、ここで「D N A 8 6 5 7 1 - 2 5 5 1」と命名されるクローンである。

【図 1 4 4】図 1 4 3 に示した配列番号 : 1 4 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 1 4 4) を示す図である。

20

【図 1 4 5】天然配列 P R O 3 4 4 3 c D N A のヌクレオチド配列 (配列番号 : 1 4 5) を示す図であって、配列番号 : 1 4 5 は、ここで「D N A 8 7 9 9 1 - 2 5 4 0」と命名されるクローンである。

【図 1 4 6】図 1 4 5 に示した配列番号 : 1 4 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 1 4 6) を示す図である。

【図 1 4 7】天然配列 P R O 3 4 4 2 c D N A のヌクレオチド配列 (配列番号 : 1 4 7) を示す図であって、配列番号 : 1 4 7 は、ここで「D N A 9 2 2 3 8 - 2 5 3 9」と命名されるクローンである。

【図 1 4 8】図 1 4 7 に示した配列番号 : 1 4 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 1 4 8) を示す図である。

30

【図 1 4 9】天然配列 P R O 5 9 9 0 c D N A のヌクレオチド配列 (配列番号 : 1 4 9) を示す図であって、配列番号 : 1 4 9 は、ここで「D N A 9 6 0 4 2 - 2 6 8 2」と命名されるクローンである。

【図 1 5 0】図 1 4 9 に示した配列番号 : 1 4 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 1 5 0) を示す図である。

【図 1 5 1】天然配列 P R O 4 3 4 2 c D N A のヌクレオチド配列 (配列番号 : 1 5 1) を示す図であって、配列番号 : 1 5 1 は、ここで「D N A 9 6 7 8 7 - 2 5 3 4」と命名されるクローンである。

【図 1 5 2】図 1 5 1 に示した配列番号 : 1 5 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 1 5 2) を示す図である。

40

【図 1 5 3】天然配列 P R O 1 0 0 9 6 c D N A のヌクレオチド配列 (配列番号 : 1 5 3) を示す図であって、配列番号 : 1 5 3 は、ここで「D N A 1 2 5 1 8 5 - 2 8 0 6」と命名されるクローンである。

【図 1 5 4】図 1 5 3 に示した配列番号 : 1 5 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 1 5 4) を示す図である。

【図 1 5 5】天然配列 P R O 1 0 2 7 2 c D N A のヌクレオチド配列 (配列番号 : 1 5 5) を示す図であって、配列番号 : 1 5 5 は、ここで「D N A 1 4 7 5 3 1 - 2 8 2 1」と命名されるクローンである。

【図 1 5 6】図 1 5 5 に示した配列番号 : 1 5 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列 (配列番号 : 1 5 6) を示す図である。

50

【図 1 5 7】天然配列 P R O 5 8 0 1 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 5 7）を示す図であって、配列番号：1 5 7 は、ここで「D N A 1 1 5 2 9 1 - 2 6 8 1」と命名されるクローンである。

【図 1 5 8】図 1 5 7 に示した配列番号：1 5 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 5 8）を示す図である。

【図 1 5 9】天然配列 P R O 2 0 1 1 0 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 5 9）を示す図であって、配列番号：1 5 9 は、ここで「D N A 1 6 6 8 1 9」と命名されるクローンである。

【図 1 6 0】図 1 5 9 に示した配列番号：1 5 9 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 6 0）を示す図である。

10

【図 1 6 1】天然配列 P R O 2 0 0 4 0 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 6 1）を示す図であって、配列番号：1 6 1 は、ここで「D N A 1 6 4 6 2 5 - 2 8 9 0」と命名されるクローンである。

【図 1 6 2】図 1 6 1 に示した配列番号：1 6 1 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 6 2）を示す図である。

【図 1 6 3】天然配列 P R O 2 0 2 3 3 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 6 3）を示す図であって、配列番号：1 6 3 は、ここで「D N A 1 6 5 6 0 8」と命名されるクローンである。

【図 1 6 4】図 1 6 3 に示した配列番号：1 6 3 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 6 4）を示す図である。

20

【図 1 6 5】天然配列 P R O 1 9 6 7 0 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 6 5）を示す図であって、配列番号：1 6 5 は、ここで「D N A 1 3 1 6 3 9 - 2 8 7 4」と命名されるクローンである。

【図 1 6 6】図 1 6 5 に示した配列番号：1 6 5 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 6 6）を示す図である。

【図 1 6 7】天然配列 P R O 1 8 9 0 c D N A のヌクレオチド配列（配列番号：1 6 7）を示す図であって、配列番号：1 6 7 は、ここで「D N A 7 9 2 3 0 - 2 5 2 5」と命名されるクローンである。

【図 1 6 8】図 1 6 7 に示した配列番号：1 6 7 のコード化配列から誘導されたアミノ酸配列（配列番号：1 6 8）を示す図である。

30

【 図 1 】

GGGGCTTCGGCGCCAGCGGCCAGCGCTAGTCGGTCTGGTAAGGATTACAAAAGGTGCAGGTA
TGAGCAGGTCTGAAGACTAACATTTTGTGAAGTTGTAAAAAGAAAACCTGTTAGAAATGTGG
TGGTTTCAGCAAGGCCCTCAGTTTCCTCTTCAGCCCTTGTAATTTGGACATCTGCTGCTTTC
ATATTTTCATACATTACTGCAGTAACACTCCACCATATAGACCCGGCTTTACCTTATATCAGT
GACACTGGTACAGTAGCTCCAGAAAAATGCTTATTGGGGCAATGCTAAAATTTGCGGCAGTT
TTATGCATTGCTACCATTTATGTTGTTAAGCAAGTTCATGCTCTGAGTCTCAGAGAGAAC
GTTATCATCAAAATTAACAAGGCTGGCTTGTACTTGGAACTAGTGGTTGTTTAGGACTTCT
ATTGTGGCAAACTTCCAGAAAAACCCCTTTTGTGTCACATGTAAGTGGAGCTGTGCTTACC
TTTGGTATGGGCTCATTATATATGTTTGTTCAGACCATCCTTTCTACCAAATGCAGCCCAA
ATCCATGGCAACAAGTCTTCGGATCAGACTGTTGTTGTTATCTGGTGTGGAGTAAGTGCA
CTTAGCATGCTGACTTGTCTCATGTTTTGCACAGTGGCAATTTGGGACTGATTTAGAACAG
AAACTCCATTGGAACCCCGAGGACAAAGGTTATGTGCTTCACATGATCACTACTGCAGCAGAA
TGGTCTATGTCATTTTCCCTCTTGGTTTTTCTGACTTACATTCGTGATTTTCAGAAAAAT
TCTTTACGGGTGGAAGCCAATTTACATGGATTAAACCTCTATGACACTGCACCTTGCCCTATT
AACAAATGAACGAACACGGCTACTTTCAGAGATATTTGATGAAAGGATAAAATATTCTGTAA
TGATTATGATTCTCAGGGATTGGGGAAAGGTTACAGAAAGTTGCTTATCTCTCTGAAATTT
TCAACCACTTAATCAAGGCTGACAGTAACACTGATGAATGCTGATAATCAGGAAACATGAAAG
AAGCCATTGTAGATTATTCTAAAGGATATCATCAAGAAGACTATTAAAAACACCTATGCCT
ATACTTTTTATCTCAGAAAAATAAGTCAAAAGACTATG

【 図 3 】

CGACGCGCTGGGCGGACGCTGGGGGAGAGCCGAGTCCCGGCTGCAGCACCTGGGGAAGGC
AGACCTCTGTAGGGGGCTGTGGCCCCAGCGTCTGTGGCTCGGGAGTGGGAAGTGGAGGC
AGGAGCCTTCCTTACACTTCGCCATGAGAGTTTCTCATCGACTCCAGCATCATGATTACCTCCC
AGATACTATTTTGGATTGGGTGGCTTTTCTCATGGCCCAATTTGTTAAAGACTATGAGA
TACGTCAGTATGTTGTACAGGTATCTTCTCCGTGACGTTTGCAATTTCTGCACCATGTTG
AGCTCATCATCTTTGAAATCTTAGGATGTTGAATAGCAGCTCCCGTTATTTTCACTGAAAA
TGAACCTGTGTAAATCTGCTGATGCTGGTTTTCATGGTGCTTTTACATTGGCTATTTTA
TGTGAGCAATATCCGACTACTGCATAAACACAGCACTGCTTTTTCCTGTCCTTTATGGCTGA
CCTTTATGTATTTCTTCTGGAACATAGGAGATCCCTTTCCCATCTTCAGCCCAAAACATGGGA
TCCTTATCCATAGAACAGCTCATCAGCCGGGTTGGTGTGATTGGAGTGACTCTCATGGCTCTC
TTCTCGGATTGCTGCTGCAACTGCCATACACTTACATGTCTTACTCTCAGGAATGTGA
CTGACACGGATATTCTAGCCCTGGAACGGCGACTGCTGCAAAACCATGGATATGATCATAAGCA
AAAAGAAAAGGATGGCAATGGCACGGAGAACATGTTCCAGAAAGGGGAAGTGATACAAAC
CATCAGGTTTCTGGGGAATGATAAAAAGTGTACCACTTCAGCATCAGGAAGTAAAAATCTTA
CTCTTATTCACAGGAAGTGGATGCTTTGGAAGAATTAAAGCAGCGAGCTTTTCTGGAAACAG
CTGATCTATATGCTACCAAGAGAGATAAGAACTCCAAAACCTTCAAGGGGAAATATTTTA
ATTTCTTGGTTACTTTTCTCTATTTACTGTGTTGGAAAAATTTTCATGGCTACCATCAATA
TTGTTTTGATCGAGTTGGGAAAACGGATCCTGTCAAGAGAGGCAATTGAGATCACTGTGAATT
ATCTGGGAATCCAATTTGATGTGAAGTTTGGTCCCAACACATTTCTCTCATCTTGTGGAA
TAATCATCGTCACATCCATCAGAGGATGCTGATCACTCTTACCAAGTCTTTTATGCCATCT
CTAGCAGTAAGTCTTCCAATGTGATGCTGCTGCTATTAGCACAGATAATGGGCATGTACTTTG
TCTCTCTGTGCTGCTGATCCGAATGAGTATGCCCTTAGAATACCGACCAATAATCACTGAAG
TCCTTGGAGAACTCGAGTCAACTCTTATCACCGTTGGTTGATGTGATCTTCTGGTCAGCG
CTCTCTCTAGCATACTCTTCTCTATTGGCTCACAAACAGGCACCAGAGAAGCAATGGCAC
CTTGAACTTAAGCCTACTACAGACTGTTAGAGGCCAGTGGTTTTCAAAATTTAGATATAAGAGG
GGGAAAAATGGAACAGGGCTGACATTTTATAAACAAACAAATGCTATGGTAGCATTTT
CACCTTCATAGCATACTCTTCCCGTCAGGTGATACTATGACCATGAGTAGCATCAGCCAGA
ACATGAGAGGGAGAACTAACTCAAGACAATACTCAGCAGAGAGCATCCCGTGGATATGAGG
CTGGGTAGAGGCGGAGAGGACCAAGAACTAAAGGTGAAAAATACACTGGAACTCTGGGGC
AAGACATGCTATGGTAGCTGAGCCAAACACGFAAGATTTCCTGTTTAAAGTTTCACATGGAAA
AGGTTATAGCTTTGCTTGAAGTGAAGTCAATTAATCAGAGACTGTAAACAAAAA
AAAAAAAGGCGGCGCGACTCTAGAGTCAAGCTGCAGAAGCTTGGCCCATGGCCCACT
TGTTTATTCAGCTTATAATG

【 図 2 】

<サブユニット 1 of 1, 266アミノ酸(aa), 1 stop
<分子量(MW): 29766, 等電点(pI): 8.39, NX(S/T): 0
MWNFQQLSFLPSALVIWTSAAFI~~FS~~YITAVTLHHIDPALPYISDTGTVAPEKCLFGAMLNIA
AVLCIATIVYRYKQVHALSPEENVIIKLNKAGLVGLISCLGLSIVANFQKTTLFAAHVSGAV
LTFMGSLYMFVQ~~T~~ILSYQM~~Q~~PKIHGKQVFWIRLLLVICGVSALSM~~L~~TCSSVLHSGNFGTDL
EQKLHWNPE~~D~~KGYVLHMITTAAEWSMSFSFPGFLLTYIRD~~F~~QKISLRVEANLHGLTLYDTAPC
PINNERTRLLSRDI

重要な特徴:

II型 膜貫通ドメイン:

アミノ酸 13-33

他の膜貫通ドメイン:

アミノ酸 54-73, 94-113, 160-180, 122-141

N-ミリスチル化部位:

アミノ酸 57-63, 95-101, 99-105, 124-130, 183-189

【 図 4 】

MSFLIDSSIMITSQILFFGFGWLFFMRQLFKDYEIRQYVVQVIFSVTF~~AF~~SCMTFELIIFEIL
GVLN~~SS~~SRYP~~FW~~HKMNLVILLILVFMVPFYIGYFIVSNIRLLHKQRL~~LP~~SCLLWLTFMYFFWK
LGD~~PF~~ILSPKHGILSIEQLISRVGVIGVTLMALLSGFGAVNCPYTYMSYFLRNVTDTDILAL
ERRLLQ~~TM~~DMIISKKRMA~~MR~~RTMPQKGEVHNKPSFGWGMKSVTTSASGS~~EN~~LTLIQQEVD
ALEELSRQLFLETADLYATKERIEY~~SK~~TFKGYFNFLGYF~~PS~~IYCVWKIFMATINIVFDRVGK
TDPVTRGIEITVNYLGIQF~~DK~~VKFSQHSFILVGI~~I~~IVTSIRGLLT~~LT~~KFFYAISSKSSNV
IVLLAQINGMYFVSSVLLIRMSMPLEYRTIITEVLGELQFNFYHRWFDVIFLVSALSSILFL
YLAHKQAPEKQMAP

重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-23

潜在的な膜貫通ドメイン:

アミノ酸 37-55, 81-102, 150-168, 288-311, 338-356, 375-398, 425-444

N-グリコシル化部位:

アミノ酸 67-70, 180-183 及び 243-246

真核生物コバラミン結合タンパク質

アミノ酸 151-160

アミノ酸 140-144

【 図 9 】

CGGACGCGTGGGCGGACGCGTGGGGCTGTGAGAAAGTCCAAATAATACATCATGCAACCCC
ACGGCCCACTTGTGAACCTCGTGCCAGGGCTGATGTGCGTCTTCCAGGGCTACTCATCC
AAAGGCCTAATCCAACGCTCTGTCTTCAATCTGCAAACTATGGSCTCTGGGCTCTTCTGG
ACCTTAACTGGGTACTGGCCCTGGGCAATGCTCCTCGTGGAGCCTTTGCCTCCTTCTAC
TGGGCTTCCACAAGCCCGAGACATCCCTACCTTCCCTTAATCTCTGCTTCATCCGCACA
CTCCGTTACCACTGGGTCAATTGSCATTGGAGCCCTCATCTGACCTTGTGCAGATAGCC
CGGGTCATCTTGGAGTATATTGACCACAAGCTCAGAGGAGTGAGAACCCGTAGCCCGCTGC
ATCATGTGCTGTTTCAAGTGTGCTCTGTGTCTGGAAAAATTTATCAAGTTCCTAAACCGC
AATGCATACATCATGATGCCATCTACGGGAAGAATTTCTGTGTCTCAGCCAAAAATGCGTTC
ATGCTACTCATGCGAAACATTGTCAAGGTGTGCTCTCTGGACAAAGTCACAGACCTGTGCTG
TTCTTTGGGAAGCTGCTGTGCTCGAGCCGTGGGGCTCTGTCTTCTTTTCTCCTCCGGT
CGCATCCCGGGCTGGGTAAAGACTTTAAGAGCCCCACCTCAACTATTACTGGCTGCCATC
ATGACCTCCATCTGGGGCTCATGTATCGCCAGCGCTTCTTCAAGCTTTTCGGCATGTGT
GTGGACAGCTCTTCTCTGTCTTCTGGAAGACTGGAGCGGAACAACGGCTCCTTGGACCGG
CCCTACTACATGTCCAAGAGCTTCTAAGATTCTGGCAAGAAGAACAGGCGCCCCCGGAC
AACAAGAAGAGGAAGTGAACAGCTCCGGCCCTGATCCAGGACTGCACCCACCCCACTGT
CCAGCCATCCAACCTCACTTCCGCTTACAGGCTCTCCATTTTGTGTAAGAAAAAGGTTTAGGC
CAGGCGCGTGGCTCAGCGCTGTAATCCAACACTTTGAGAGGCTGAGGCGGGCGGATCACCTG
AGTCAGGAGTTCGAGACCAGCTGGCCAACATGGTGAACCTCCGCTCTATTAAGAAATACAA
AAATTAGCCGAGAGTGGTGGCATGCACCTGTCTATCCAGCTACTCGGAGGCTGAGGAGGAG
AATCGCTGAACCCGGGAGGAGAGGTTGCAGTGAGCGAGATCGCGCCACTGCATCCCAAC
TGGGTGACAGACTCTGTCTCCAAAAACAAAACAAACAAAAGATTTTATTAAGATATTT
TGTTAACTC

【 図 1 1 】

GCCCCGCGCCCGCGCCCGGGCGCCGAAGCCGGGAGCCACCGCCATGGGGCTGCTGGGAG
CCTGCTCCTGCTCAGCTGCGGCTCTGCTCTGCGGCTCTGCCCTGCATCCTGTGCAGCT
GCTGCCCGCAGCGCCGAACCTCCACCGTGAGCCGCTCATCTTCACTTCTTCTCTCTCTGG
GGGTGCTGGTGCTCATATTATGTGAGCCCGGGCGTGGAGAGTCAGCTCTACAAGCTGCCCT
GGGTGTGTGAGGAGGGGGCGGATCCCCACCTGCTGCAGGGCCACATCGACTGTGGCTCCC
TGCTTGGCTACCGCGCTGTCTACCGCATGTGCTTCGCGCACGGCGGCTTCTTCTCTCTTTT
TCACCTGTCTCATGCTCTGCTGTGAGCAGCAGCGGGGACCCCGGGCTGCCATCCAGAATGGT
TTTGGTTCTTAAGTTCTTGATCCTGGTGGGCTCACCGTGGGTGCTTCTACATCCCTGACG
GCTCCTTCACCAACATCTGCTTCTACTTCGGCGTCTGGGCTCCTTCTCTTCTCATCTCATCC
AGCTGTGTCTGCTCATGACTTTGCGCACTCTTGAAACAGCGGTGGCTGGCAAGGCCGAGG
AGTGGGATTCCGTGCTGCTGTGACGAGGCTCTTCTTCTTCACTCTCTCTTCTACTTGTGT
CGATCGCGGCTGGCGCTGATGTTTCATGTACTACACTGAGCCAGCGGCTGCCACGAGGGCA
AGGTCTTTCATCAGCTCAACCTCACCTTCTGTGTCTGCGTGTCCATCGCTGCTCTCTGCCA
AGGTCCAGGACGCCAGCCCAACTCGGGTCTGCTGCAGGCTCGGTATCACCTCTACACCA
TGTTTGTCACTTGTGACGCCATCCAGTATCCCTGAACAGAAATGAACCCCATTTGCCAA
CCAGCTGGCAACGAGACAGTTGTGCGAGGCCCCGAGGCTATGAGACCCAGTGTGGGATG
CCCCGAGCATTTGGGCTCATCATCTTCTCTCTGTGACCCCTCTTTCATCAGTCTGCGCTCT
CAGACCACCGCAGGTGAACAGCTGATGACAGCCGAGGAGTGCCACCTATGCTAGACGCCA
CACAGCAGCAGCAGCAGAGTGGCAGCTGTGAGGGCGGGCTTTGACAACGAGCAGGACG
CGCTCACCTACAGTACTCTTCTTCCATCTGCTGCTGTGCGCTCACTGCACGTCTATGA
TGACCTCACCAACTGGTACAAGCCCGGTGAGACCCGAAGATGATCAGCAGTGGACCGCGC
TGTGGTGAAGATCTGTGCGAGCTGGGAGGGCTGCTCTCTACCTGTGGACCTGGTAGCCC
CACTCTCTCTGCGCAACCGGACTTCAGCTGAAGGACGCTCAGAGCTGCCATCTGGTGCCTC
CTGCCACCTGGTGCTCTCGGCTCGGTGACAGCCAACTGCCCTCCCCACCAATCAGCC
AGGCTGAGCCCCACCCCTGCCAGCTCAGGACCTGCCCTGAGCCGGGCTTCTAGTCT
AGTGCTTTCAGGGTCCGAGGAGCATCAGGCTCTGCAGAGCCCATCCCCCGCCACACCCAC
ACGGTGGAGCTGCTTCTCTTCCCTCTCTCTGTGTGCCATATCAGCATCTCGGATGAAA
GGGCTCCCTTGTCTCAGGCTCCACGGGAGCGGGCTGTGGAGAGAGCGGGAACTCCACAC
ACAGTGGGACATCCGCACTGAAGCCCTGGTGTCTCTGGTCAGTCCCCAGGGGACCTTGC
CCCTCTCTGGACTCTGTGCTTACTGAGTCTTAAGACTTTTCTAATAACAAGCCAGTGCG
TGTAACAAAAA

【 図 1 0 】

RTRGTRTGGCEKVPINTSCNPHTAHLVNSSCPGLMCFQGYSSKGLIQRVSFNLQIYVGLFW
TLNWLALGQCVLAGAFASFYWFHKPDIPTFPLISAFIRTLRYHTGSLAFGALILTLVQIA
RVILEYIDHKLRGVQNPVARCIMCCFKCLWCLEKFIKFLNRNAYIMIAIYGNFVSAKNAP
MLLMRNIVRVVLDKVTDLFFGKLLVVGVGVLSTFFFSGRIPGLGKDFKSPHLNYYWLP
MTSILGAVVIASGFFSVFGMCDTFLCFLEDLERNNGSLDRPYMSKSLKILGKNEAPPD
NKKRRK

重要な特徴:

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 57-80 (II型), 110-126, 215-231, 254-274

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 16-20, 27-31, 289-293

仮説的YBR002cファミリータンパク質.

アミノ酸 276-288

アンモニウム輸送体タンパク質.

アミノ酸 204-231

N-メリスチル化部位.

アミノ酸 60-66, 78-84

アミド化部位.

アミノ酸 306-310

【 図 1 2 】

MGACLGACSLSCASCLGSAFCILSCCPASRNSTVSRILFTFFFLGLVLSIIMLSPGVES
QLYKLPWVCEGAGIPTVLQGHIDCGSLGGRVAVYRMCFATAAFFFFFTLLMLCVSSSRDPR
AAIQNGFWFFKFLILVGLTVGAFYIPDGSFTNIWFYFGVVGSLFLILIQVLILDFASWNR
WLKAEEDCSRAWYAGLFFFTLLPYLLSIAAVALMFMHYTEPSGCHGKVPISLNLTFVCVVS
IAAVLPKVQDAQPSGLLQASVITLYTMFVWSALSSIPQKCNPLPTQLGNETVVGPEGY
ETQWWDAPSI VGLIIFLLCTLFISLSSDHRQVNSLMQTECPFMLDATQQQQQVAAACEGRA
FDNEQDGVTSYSFFHFCLVLASLHVMMTLTNWYKPGETRMKISTWTAVVWKICASWAGLLY
LWTLVAPLLLRNDFS

シグナル配列:

アミノ酸 1-20

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 40-58, 101-116, 134-150, 162-178, 206-223, 240-257, 272-283,
324-340, 391-406, 428-444

【 図 1 4 】

CGGGCCAGCTCGGGGCGGCCGCGCAGCAAAACCCCGTTAAGGTGTCTTCTCTTTAGGAGTGTGT
GAGGTTGGAAAAGACCTCTGTGAACCTCTCTCCAGGATGAAGCAACCTCGCCAGAAGCATGGAG
AACGCTCTACCGGGGACAGAGCTGCTGATCTCTTCTGGCAATCTGCCACATCAACCCG
ACACAACATCATGCCAGGATTGAGTCCATGAAGGAAGGGAAAAGAAAGCATATCTGATGTC
AGGAGGACATTTCTGTTGTTGTGCACCTTTGAGACTCTTATCTGCATACATTACTGTGGATAATA
GACTTAAATGTGAATGGAGGCATTGAGAACACATTAGAGAAGGAGGTGATGCAGTATGACTAC
TCTTCTCATATTGATACATTCTTCTGCGAGCTTTTGGATTAAAGTGTAAATCATGCA
TATGCTGTGTGCAGACTGCCGCATTGCTGGGCAATAGCTGTGACCAACGGCAGTCACAGCTGCC
TTTTTACTAGAGAGAGTGAATCTTTCGAAAGCTTTCTCTCAAGGGGCTTTGGCTATGTGCTC
CCCATCATTTTCAATCTCATCTTGGCTGATGAGACGTGTGTCTGTAATTCAAAGTGTACTCT
CAAGAAGCAGAAGAAGAAAACAGACTCTTGATAGTTCAGGATGCTTCAGAGAGAGGACGACTT
ATACCTGGTGTCTTTCTGATGGTCAGTTTTATTCCTCTCTGAATCCGAACAGAGATCTGAA
AAGCTCGAAGAAAACACAGGACAGCTGAGAAACCTTTTGAAGACTATGAAGACTCTTTTGTTGA
AATGTGAAGAAAACCTCAGAGAAGTCACTCAGGCAAAAAGAGCGACAGTGGAGTGTCTGCTG
TCGACAGTAAAGTTGAAATGGTGACGTCACACTGCTGGCTTTATTGAACAGCTAAATAAGATT
TTTATTAAGTATACCTCACAAGAGGTGACACATATCCATGACGACATTTAGTGGCTGGCTGGG
CTTGTTGAAGTAATGTCATGATTCTCTCTTCTGACGAGACTGAGCTGTGTTTAAACAA
TAGGTTGAAGAAATGTTGTGGCTGATTTCTTAATCAAAGAGCTTAATATATTGAAGTAACATTT
TTTTAGTAAGCAGATACCTTTTATTTTCAATTAAGCAATGGAATTTTTTGTCTCATGTCT
CAGGCTTTATTGTATTCTTTTAAACATCTACATTTCTGTTTGTTTTAACTCATGCACTA
TGGCTCTTTTGTGACTTTTAAAAAGGTAAATAAACTGACATGCTCAATGGGTCATGTTA
TTTTCTTGTGTTTGCATTTATGTGTATGGCTGAAGTGTGGACTTGCAAAAGGGGAAGAAAG
AATGTGGAATACATGTAAAATGTGACCCAGACATTTGTTATTTATTCATGAAATCATGTGTT
TCTCTGATTGTCTGGAAGTGTCTTAATCTCTTTTATTTGAATGCACAAAATGCAATTAACC
ATTCATATCTGTTTCCCTTTGGCTTCAAGCCAAATTCATTAAGTAAGCAATTAATTAAGAA

MNHLPEDMENALTGSQSSHASLRNIHSINPTQLMARIESYEGREKKGISDVRRFTCLFVTFDL
LFVTLTLWIELNVNGGIENTLEKEVMQDYDYSSYDFIDFLAVFRKVLILAYAVCRLRHWWAI
ALT'TAVTSAPFLAKVILSKLFSQAGFYVLPPIISFILAWIETWFLDPKVL PQEAEEENRLLIV
QDASERAALIPGGLSDGQFYSPPESEAGSEAEAEKQDSEKPLLEL

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-20

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 54-72, 100-118, 130-144, 146-166

N-ミリストイル化部位.

アミノ酸 14-20, 78-84, 79-85, 202-208, 217-223

【 図 1 6 】

ACTCGACAGCAGTTGGTCCGGGACGCCAGGACATCCCTGGGGCCGACGCCGACGAAGAAGACTGA
GCGGCGGGCTGCCCCCGCGCTCTGCTGGCGCCGGCTCTCCGGGACAGAAAGATGTTGGT
CCAGGGTCTCTGCTGCTGCGCTGCTCTCATGACTTGGCCCTGGGGCTGGGGTGTGAGGGT
GCCATCCGGCTTCGTCAGTGCACGACAGCTGCACATGTTTCTGACATCCGCGAGGGAACCA
CGTGCGCCGAGACAGCTTACCGACAGCTGGGGGCTCTGACTCTTTTGAGAACGGTCAATACCA
TGTGCAGCGAGCAGCTTTTCCGGGCTCCGGGCGCTAGCTCTGTGACATGTGTACAGAAAG
AGATCGGCAGCTTCCGACAGGGGCTCTTACGAGCACTGGCCATCGCTACCGAAGCTGGAGCTGA
CGGCCACAGCGCTGACATAAACTCAATGACAGCTTCTGGCTCGTGGGGCGCTCTGAGCGCT
TTCACCTTGGGACGAAGCACTCTCGCCACATCCAGCTTGGGTGTTTGCAGACAGCTGACACCT
TCCGAGGACTCAAGCTGCAGGACAGAGCTGGCGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGG
CGCGAGG
CGCGAG
CCACCTCGAGGCGCTCGCGGCTGCGTGTCTTGGGGCTGCAGACATGTGACAGGGGGCTTCA
CGCGCTTCTGCACAACTCTGCAGCTTGAATGTGTGTGCACAAACAGCTGGAGCAAGTGCACCT
TGATCCGAGGCTCTCGGGGCTGCACGCGCTTCGGGCTCGGCGGCAAGCTGCACCAATCTGCCAC
TGGCGCCGAGGAGACTGGCGCGCTGTGGCTGCTGCAGAGTGTGATGTGAGCAACTTAAGCC
TGAGCGGCTCTGCTGGCAGCTTCTGGGCTCTTCCCCCGCTTGGCGCTTGTGCAGCACTGCC
GCAACCCCTTCACTCGTGTGCGCCCTAGTGGTGTGGCCGCTTGGGTGGCGGAGGACGAG
TCACATCTGGCAGCCCTGGAGAGACGCGCTGCCACTTCCGCGCCAAAGAACGCTGGCGGGCTCT
TCTCGAGGACTTGACTACGGCTATTTGGGCTCCGAGAGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGG
CTCGAG
GCGCGCGCGCGGAGCTGAGGCGCTCCAGCCGGCTCTCAATGGGCGAGGCTGAGCGAGTGA
GCCCTCCGACCGCCAGCAGCTGAGCGCTGCGGCTGCGGCTGCGGCTGCGGCTGCGGCTGCGGCT
GCGGCTCCGACCGCCAGGACGTGCCACGCTGACCTGCCCTCAATGGGCGAGCTATGCCACCTGG
AGATCGCGACCACTTGGGCTGTGTGCTGCCCGAAGGCTTCAAGGCGCTGTACTGTAGAGAGG
AGATGGGCGAGGGGACACGGCCGAGCTTACACAGTACCGCGAGGCGACACCGGCTCCCTGA
CTCCGGGATCGAGCGCTGAGCCCACTCCCTCGGCTGGGCTGGAGGCTGCAGCGCTACTCTTCA
GGAGCTCCGTCGAGCTCAGAGGAGCTTCGCTGTCTGCTTACGCAACTTCTGGGCGCTGTATAGC
GCGGTGGACCTCGGACCTGGAGCTGCTGCTGCTGCTGAGTACACGCTGACCCAGCTCGGGCGCA
ACGCGACTTACTTCGCTGTGTGTATCGTCTTGGGCGCGGGCGGCTGCGCGAGGCGAGGAG
CCCTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
GCGGCGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCG
TCCGCTGGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCG
AGGCGGAGCTTGGGCGAGGGGCTTGGCCGCTTGGAACTTGGAGGAGTGTGAAGTCCCTTGGAGC
CAGGCGCGAAGGACAAGAGGGGCTGGGAGAGGCTGTGCCAGGGTGTCAAGTGTGAGGCTGT
CACTCATGGGCTTCCGAGGCGCTGGGCTGCTCAGTCACTTCCAGCGAAAGCGCTTATCTTAAG
CCAGAGAGAGGACAGGCGAGCTGCGGCGGGGCTTCAGCCACTGAGAGTGAGCGACGCCCTTGT
CTGCGACACACCTAAGTTCTTGCAGCTTCAACCTCGGGAGTGTGTGACAGAGGCGTGTGTGAC
CACAGCTGGGCGCTTCTCTTGAGCTCTGGTCTCTTCTATCTGTGAGATGTGTGGGCGCGG
TGACGAGCGCTTAACTCCCGACACAGCGTGCCTATGAGGACAGCTGTCCGCGCTCTGAGGAG
ACCGTGCAGCTCTGGGCGAGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
GCGGCT
GAG
CTCTGAAAGAGGAGATGCTTAGGAACTATTTTGTCTTTTAAAAATATATATTTATTAAGAG
ATGCTTCTCCATTTATCTTGGGAGAGTTGTTTAAACTCAGAGACAGAGGAGCTGTTGTTTGT
TACCAACAAAGATGATATGAGAGGCTTTTGAAGAAAAATAAAGATGAAGTGTGAAA

MCSRVP LLLP LLLLLLALGGVGCPSGCGCSQSPQTVFCTARQGTTPVRDPVPDPTVGLVYVFENG
ITMLDZAGSPAGFLPGLQLDLDSQOIASLPSQVGPFLANISNLDLTANRLHEITNETFRGLRR
ERYLTKGNRRITVGPAGFDLDRRLLELQDNELRALPPLRLPRLDLLSSHNLLAEPLFIG
DTANVEALRLAGLGLQQLDEGLFSRLNRLHDLVDSDNQLERVPPVIRGLRGLTRRLRAGNTRI
AQLRPEDLALGALAQELDVSNLSLQALPGDLGSLFRLRLALTAAPRNPNVCVPSLWFGPWWRE
SHVLSASPEETRCHFPNKNAGRLLLELDYADFGCPTATTTTATVTRPNVRREPTLSSSLPAT
WLSPTAPATEAPSPSPATPTVGPVQPDQCPSTCLNGGTHLGRTHHILACLCEPGFTGLYIC
ESQMGQGTSPSPPTVTPRPPRSRLTLGIEPVSPTSLRVGLQRYLQGSVSQRLSRLTRYNLSGP
DKRLVTLRPLASLAETVTVQLRNPATISVCMVPLGPRVPGEEACGEAHTPPAVHSHNAPVT
QAREGNPLLLIAEAVALLAALVAAGAAVYVRRRGRMAAGQDKGVQGPGLVEGKVVV
LQFEPKATGEGEALPSGSGCEVPLMGFCPGGLQSPHAKPYI

重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-23

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 579-599

EGF-様ドメインシステインパターンシグネチャー.

アミノ酸 430-442

ロイシンジッパーパターン.

アミノ酸 197-219, 269-291

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 101-105, 1

チロシンキナーゼリン酸化部位.

アミノ酸 124-131, 337-345

N-ミリストイル化部位.

アミノ酸 23-29, 27-33, 70-

640-646

N-ミリスチル化部位.

アミノ酸 36-41, 42-47, 108-113, 166-171, 198-203 and 207-212

【図 2 1】

CTGAGGCGGCGGTAGC**ATGG**AGGGGGAGAGTACGTCGGCGGTGCTCTCGGGCTTTGTGCTCGG
CGCACTCGCTTTCCAGCACCTCAACACGGAGCTCGGACACGGGAAGTTTCTCTTGGGGAAGT
AAAAGGTGAAGCCAGAACACAGTACTACTGATTCCCAAATGGATGATGTTGAAGTTGTTTATAC
AATTGACATTTCAGAAATATATTCCATTCGTATACAGCTTTTAGCTTTTATAATTCTTCAGGCGA
AGTAAATGAGCAAGCACTGAAGAAAATATTATCAAAATGTCAAAAAGAATGTGGTAGGTTGGTA
CAAAATCCGTCGTATTACAGATCAGATCATGACGTTTAGAGAGAGGCTGCTTCACAAAAAATT
CGAGGAGCATTTTCAAAACCAAGACCTTGTTTTCTGCTATTAAACCAAGTATAATAACAGA
AAGTGTCTTACTACTCATCGACTGGACATTCCCTATATAAACCTCAAAAAGGACTTTTTCACAG
GGTACCTTTAGTGGTTGCCAATCTGGGCATGCTGAACCAACTGGGTTATAAAACTGTATCAGG
TTCCTGTATGTCCACTGGTTTTAGCGGAGCAGTACAAACACACAGCTCTAAATTTTTTGAAGA
AGATGGATCCTTAAAGGAGGTACATAAGATAAAATGAAATGTATGCTTTCATTACAAGAGGAATT
AAAGAGTATATGCAAAAAAGTGAAGACAGTGAACAGCAGTAGATAAACTAGTAAAGGATGT
AAACAGATTAAAACGAGAAATTGAGAAAAGGAGAGGACACAGATTACGGCAGCAAGAGAGAA
GAACATCCAAAAAGACCTTCAGGAGAAATTTTTCTTTGTACGGCATTACGGACCTTTTTCCTC
AAATTCTGAATTTCTTCATTATGTTTATGTCCTTTAAAAAATAGACATGTTCTAAAAAGTAG
CTGTAACACACACCATCTCGATGTAGTAGACAATCTGACCTTAATGGTAGAACACACTGA
CATTTCTGAAGCTAGTCCAGCTAGTACACCACAAATCATTAAGCATAAAGCCTTAGACTTAGA
TGACAGATGGCAATTTCAAGAGATCTCGGTGTTAGATACACAAAGCAAAACGATCTAAAGCAAA
TACTGTTAGTAGTAACCAAGATAAAGATCTCAAAATGAGCAGCCAGAAACAGATGAAGAAAT
TGAAAAGATGAAGGTTTTTGGTGAATTTACACGGTCTCCTACATTT**TGAT**CCTTTTAACTCTTA
CAGGAGATTTTTTTATTGGCTGATGGTTAAAGCCAAACATTTCTATTGTTTTTACTATGTT
GAGCTACTTGCAGTAAGTTCATTTGTTTTTACTATGTTACCTGTTTGACAGTAATACACAGAT
AACTCTTAGTGCAATTTACTTCACAAAGTACTTTTTCAACATCAGATGCTTTATTTTCCAAAC
CTTTTTTTCACCTTTCACATAAGTTGTTGAGGGGAAGGCTTACACAGACACATTTCTTAGAAT
GGAAAAGTGAGACAGGCACAGTGGCTCACACCTGTAATCCAGCACTTAGGGAAGACAAAGTC
AGGAGGATTGATTGAAGCTAGGAGTTAGAGACCAGCTGGGCAACGTATTGAGACCATGTCTTA
TTAAAAAATAAAATGGAAAAGCAAGATAGCCTTATTTTCAAAATATGGAAGAAATTTATAT
GAAAAATTTATCTGAGTCA'TTAAAAATCTCCTTAAGTGATCTTTTGAAGTACATTATGGC
TAGAGTTGCCAGATAAAATGCTGGATATCATGCAATAAAATTTGCAAAACATCATCTAAATTT
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【図 2 3】

GGCAGCGCGCGCGCGGAGGGCAGAGTCAGCCGAGCGAGTCCAGCGGACGAGCGGACGAGCGAGGGCAGCC
CAAGCAGCGCGCGCGGAGGCGCCGCGCGCCACAGCCCTCTCGGCTCCCGCGCGGCTGCGCACCTCTCCTCC
TTCCCGCGCTCCCGGCTCGCGCGGCATCGACTTGGCGGGTTCCGTCGCCCGCGAAACCCGAGGTACACAGCG
CGCGCTCTGCTTCCCTGGGCGCGCGCGCGCTCCAGCCCTCTCTCTCCCTCGCGCGGCGCTGCGCACCGGG
ACGTTGCCAGCGGAGCGCCAGCTCTACTTTTCGCGCGCGCTCTCTCGGCTGCTCGCTCTTCCACCAACT
CAAACTCTCTCTCCCTCCAGCTCCACTCGCTAGTCCCGGACTCGGCGAGCCCTCGGCGCGCTCGCGTAGCGCGC
TTCCGCTCGGCTCCAAAGGTGGGACCGCTCCGCGCGCGCGCGCAC**ATGG**CACGTTGCGGCTTGCCCGCGCT
CTCTGCACTCGGACTGCTCAGCGCGCGCGCTGCTGGCTGCGGAGCTCAAGTCAAAAGTTGCTCGGAAGTTCGA
CGTCTTTACGTGTCCAAAGGCTTCAACAGAAGATGCGCCCTCCACAGATCAACGGTGATCATTTGAAGATC
TGTCGCCAGGGTTCTACCTGCTGCTCTCAAGAGATGGAGGAGAAGTACAGCTCGCAAGTAAAAGATGATTTCAA
AGTGTTGCTCAGCGAACAGTGCAATCATTTGCAAGCTGTCTTTGCTCACGTTCAAGAAGTTTGATGAATTTCTC
AAAGAACTACTTGAATAATCAGAGAAATCCCTGAATGATATGTTGTGAAGACATATGGCCATTTATACATGCAA
AATTCAGACTATTTAAAGATCTCTCTGCTAGAGTTGAAACGTTACTACGTGGGAAATGTGAACCTGGAAGAA
ATGCTAAATGACTTTGGGCTCGGCTCGTGGAGCGGATGTCGCGCTGGTGAACCTCCAGTACCACTTTACAGAT
GAGTACTCGAATGTCTGAGCAAGTATACGAGAGCAGTGAAGGCCCTCGGAGATGTCCTCGCAAAATGAAGCTC
CAGGTTACTGTGCTTTGTAGCAGCGGCTACTTCCGCTCAAGGCTTAGCGGTTGCGGAGATGCTGTGAGCAAG
GTCTCCGTGTAAACCCACAGCGCCAGTGATCCATGCCCTGTGTAAGATGATCTACTGCTCCCACTCGCGGGGT
CTCGTGACTGTGAAGCCATGTTTCAACTACTGCTCAACATCATGAGAGGCTGTTTGGCCAAACAGGGGATCTC
GATTTTGAATGGAACAAATTTACATAGATGCTATGCTGATGTGGCAGAGAGGCTAGAGGCTCCTTTCAACATTGAA
TCGGTCATGGA'TCCCATCGATGTGAAGATTTCTGATGCTATTATGAACATGCAAGATAATAGTGTCAAGGTGCT
CAGAGGTTTTCCAGGAGATGTGACCGCCCAAGCGCTCCCACTGAGCAAGATTTCTGCTTCCATCTCTGAAAGT
GCCTCAGTGCTCGCTTCAGACACATCACCCGAGGAACGCCAACACACAGCTGGCATAGTTTGGACCGA
CTGGTTACTGATGTCAAGGAGAACTGAACAGGCCAAGAAATCTGCTCCTCCTTCCGAGCAACGTTTGCAC
GATGAGGAGTGGCTGAGGAAACGGCAATGAGGATGACTGTGGAATGGGAAAGGCAAAAGCAGGTACCTGTTT
CGAGTGACAGGAAATGGATTAGCCACACAGGGCAACAAACCGAGGTCCAGGTTGACACACGCAAAACAGACATA
CTGATCTCTCTCAATATGGCTCTCTCGAGTGATGACAGCAAGATGAAGAAATGCAATACAATGGGAACGACGTG
GACTCTTTGATATCAGTGATGAAGTAGTGGAAGGAAGTGAAGTGGCTGTGAGTATCAGCAGTGCCTTCA
GAGTTGACTACATGCCACTGACCATGCTGGGAAGAGTGCATGAGAAAGCCAGAGTGTGCTGCTCCGCTCT
GGGACACAGGCTACCTCTCACTGCTCTCTGCAATCTTGTCTCGTGTATGCGAGAGAGTGGAGAT**TAAT**CTCA
AACTCTGAGAAAAAGTGTTCATCAAAAAGTTTAAAGGACCAAGTTATCACTTCTTACCATCTTAGTGACTTTGG
TTTTAAATGAATGGACAAATGTACAGTTTTTACTATGTGGCCAGTGGTTAAGAAGTGTGACTTTGTTTTC
CTATTACGTTTTGGGAGGAAAGGACCTGTGATGAGTTGGTTCTGCTCCCGCAACCACTGTTAAACGTGGCT
AACAGTGAAGTACAGAACTATAGTAGTAGTGTGATTTGTGATTTATCACTCTATTATTTGTTGTATGTTTTT
TCTCATTTGCTTTGTGGGTTTTTTTTCACATGTGATCTCGGCTGTTCTTACAGAACAAACAGGAGTCCCT
CTTGCGACGTAACTGTACGTATTTCTGAATATTAAATAGCTGACAGAACAGGTTTATTATCATGTGTATC
TTATTAAGAAAAAGCCAAAAAGC

【図 2 2】

MEGESTSAVLSGFVLGALAFQHLNTDSDTEGFLLEVKGEAKNSITDSQMDDEVVYTTIDIQK
YIPCYQLFSFYNSSGEVNEQALKKILSNVKNVVGWYKFRRHSDQIMTFRERLLHKNLQEHFS
NQDLVFLLLTPSIITESCSRLEHSLYKPKQGLFHRVPLVVANLGMSEQLGYKTVSGSCMST
GFSRAVQTHSSKFFPEDGSLKEVHKINEMYASLQEELKSI CKKVEDSEQAVDKLVKDVNRLKR
EIEKRRGAQIOAAREKNIQKDPQENIFLCQALRTFFPNSEFLHSCVMSLKNRHVSKSCNYNH
HLDVVDNLTMLVHEHTDIEPASPSTPQIIXKHALLDLDDRWQFKRSRLLDQDKRSKANTGSSN
QDKASKMSSPETDEEIEKMKGFGEYSRSPTF

重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-19

N-グリコシル化部位。

アミノ酸 75-79, 322-326

N-メリストイル化部位。

アミノ酸 184-154

成長因子及びサイトカインレセプターファミリー。

アミノ酸 134-150

【図 2 4】

MARFGLPALLCTLAVLASALLAAELKSKSCSEVRRLVYSKGFKNKNDAPLHEINGDHLKICPQG
STCCSQEMEKEYSLQSKDDFKSVVSEQCNHLQAVFASRYKKFDEFFKELLENAEKSLNDMFVK
TYGHLVMQNSLFDL.FVELKRYVVGUNVLEMLNDFWARLLERMFLVNSQYHPTDEYLEC
VSKYTEQLKPFQDVPRKLQVTRAFVAARTFAQLAVAGDVVSKSVVNPTAQCTHALLKMI
YCSHCRGLVTVKPCYNYCSNIMRGCLANQGGDLDEWNNFIDAMI.MVAERLEGFPNIESVMDPI
DKVISDAIMNMQDINSVQSVQKVFQCGGPKPLPAGRISRSISESAFSAFRPHHPEERPTTAA
GTSLDRLVTDVKEKLRQAKFWSSLPSNVNCHDERMAAGNEDDCCWNGKGSRYLFAV'TGNGL
ANQGNPEVQVDTSKPDILILRQIMALRVMTSKMKNAYNGNDVDFDISDESSGSGSGCEY
QQCPSEFDYNATDHAGKSAHEKADSAGVRPGAQYLLTVFCILPLVMQREWR

重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-22

ATP/GTP結合部位モチーフA(Pループ)。

アミノ酸 515-524

N-グリコシル化部位。

アミノ酸 514-518

グリコサミノグリカン付着部位。

アミノ酸 494-498, 498-502

N-メリストイル化部位。

アミノ酸 63-69, 224-230, 276-282, 438-444, 497-503, 531-537

グリピカンタンパク質。

アミノ酸 54-75, 105-157, 238-280, 309-346, 423-460, 468-506

【図 2 5】

CTCGCCCTCAAATGGGAACGCTGGCTGGGACTAAAGCATAGACCACGAGGCTGAGTATCCTG
ACCTGAGTCATCCCCAGGGATCAGGAGCCTCCAGCAGGGAACCTTCCATTATATCTTCAAGC
AACTTACAGCTGCACCGACAGTTGCG**ATG**AAAGTTCTAATCTCTTCCCTCCTCGTGTGCTGC
CACTAATGCTGATGTCCATGTGCTCTAGCAGCCTGAATCCAGGGTCCGACAGAGCCACAGG
ACCGAGGCCAGGCTTCTAGAGATGGCTCCAGGAAGCGCCCAAGAATGTGAGTGCAAAGATT
GGTTCTTGAGAGCCCCAGAAGAAAATTCAGACAGTGTCTGGGCTGCCAAAGAAGCAGTGCC
CCTGTGATCATTTCAGGGCAATGTGAAGAAAAACAAGACACCAAGGCACCCAGAAAAGCCAA
ACAAGCATTCCAGAGCCTGCCAGCAATTTCTCAAAACAATGTCAGCTAAGAAGCTTGTCTCTGC
CTTTG**TAG**GAGCTCTGAGCGCCCACTCTTCCAATTAACATTTCTCAGCCAAGAAGACAGTGAG
CACACCTACCAGACACTCTTCTTCTCCCACTCACTCTCCCACTGTACCCACCCCTAAATCAT
TCCAGTGCTCTCAAAAAGCATGTTTTTCAAGATCATTTTGTGTTGCTCTCTCTAGTGCTTT
CTTCTCTCGTCAGTCTTAGCCTGTGCCCTCCCCTTACCAGGCTTAGGCTTAATTACCTGAAA
GATTCAGGAACTGTAGCTTCTAGCTAGTGTCAATTAACCTTAAATGCAATCAGGAAAGTA
GCAACAGAACTCAATAAATATTTTTAAATGTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【図 2 6】

MKVLISLLLLLLPLMLMSHVSSSLNPGVARGHRDRGQASRRWLQEGGQBECKDWFLRAPRRK
FMTVSGLPKKQCPDHFKNVKKTRHQRHHRKPNKHSRACQQFLKQCQLRSFALPL

重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-22

N-ミリスチル化部位。

アミノ酸 27-33, 46-52

【図 2 8】

MDILVPLQLLLVLLLTLPHLMLALLGCWQPLCKSYFYLMAVLTTPKSNRMESKKRELFSQIK
GLTGASGKVALLELGCCTGANFQFYPPGCRVLTCLDPNPHFEKPLTKSMAENRHLQTERFVVAP
GEDMRQLADGSMDEVVCTLVLCVQSPRKVLQEVRRVLRPGGVLFWEHVAEPYGSWAFPMWQ
VFEPYWKHIGDGCLLTRETWKDLNENAFSEIQMERQPPPLKNWLPVGPHEMGKAVKQSFPSKKA
LICSFSPSLQLEQATHQPIYPLRGT

重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-23

ロイシンジッパーパターン。

アミノ酸 10-32

N-ミリスチル化部位。

アミノ酸 64-70, 78-84, 80-86, 91-97, 201-207

【図 2 9】

CAATGTTTGCATATCCACCTCCCCAAGCCCTTTACCT**ATG**CTGCTGCTAACGCTGCTGCTG
CTGCTGCTGCTGCTTAAAGGCTCATGCTTGGAGTGGGACTGGTCGGTGCCAGAAAGTCTCT
TCTGCCACTGACGCCCATCAGGGATGGGCCCTCTTTCCCTCTCTTTCTGTGCTCTCTG
CCTCATCGGCTGCCATGACCTGCAGCCAAGCCAGCCCGTGGGAAGGGGAGAAAGTGGGG
GATGGCT**TA**AGAAGCTGGGAGATAGGGAACAGAAGAGGGTAGTGGGTGGGCTAGGGGGGCTGC
CTTATTTAAAGTGGTTGTTTATGATTTCTTATACTAATTTATACAAAGATATTAAAGCCCTGTT
CATTAAGAAATGTTCCCTTCCCCTGTGTTCAATGTTTGTAAAGATTGTTCTGTGTAATATG
TCTTTATAATAAACAGTTAAAGAGTGAIAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【図 3 0】

MLLLTLLLLLLLLLKSGSLEWGLVGAQVSSATDAPIRDWAFPPPSFLCLLPHPAMTCSQAQP
RGEGERVGDG

重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-15

成長因子及びサイトカインレセプターファミリー:

アミノ酸 3-18

【図 2 7】

GGACGCCAGCGCCTGCAGAGGCTGAGCAGGAAAAAGCCAGTGCCCCAGCGGAAGCACAGCTC
AGAGCTGGTCTGCC**ATG**GACATCTGGTCCCACCTCCTGCAGCTGCTGGTGTGCTTCTTACC
TGCCCCTGACCTCATGGCTCTGTGGGTGCTGGCAGCCCTGTGCAAAAGCTACTTCCCT
ACCTGATGGCCGTGCTGACTCCCAAGAGCAACCGCAAGATGGAGAGCAAGAACGGGAGCTCT
TCAGCCAGATAAAGGGGCTTACAGGAGCTCCGGGAAAGTGGCCCTACTGGAGCTGGGTGCG
GAACCGGAGCCAACTTTCAGTTCTACCCACCGGGTGCAGGGTCACCTGCCTAGACCCAAATC
CCCACTTTGAGAAAGTTCTGACAAAGAGCATGGCTGAGAACAGGCACCTCCAATATGACGGCT
TTGTGGTGGCTCTGGAGAGGACATGAGACAGCTGGCTGATGGCTCCATGGATGTGGTGGTCT
GCACCTCTGGTGTGTGCTCTGTGTCAGAGCCCAAGGAAGGTCTCTCAGGAGGTCGGGAGGTAC
TGAGACCGGGAGGTGTGCTCTTTTCTGGGAGCATGTGGCAGAACCATATGGAAGCTGGGCCCT
TCATGTGGCAGCAAGTTTTCGAGCCCACTGGAAACACATTGGGGATGGCTGCTGCCACCA
GAGAGACCTGGAAGGATCTTGAGAACGCCAGTTCTCCGAAATCCAAATGGAACGACAGCCCC
CTCCCTTGAAAGTGGTACCTGTTGGGCCCCACATCATGGGAAGGCTGTCAAAACAATCTTTCC
CAAGCTCCAAGGCACCTATTGTCTCTTCCCAGCCTCCAATTAGAACAGCCACCCACCAGC
CTATCTATCTTCCACTGAGAGGGACCT**AG**CAGAAATGAGAGAAGACATTATGTACCACCTACT
AGTCCCTCTCTCCCAACCTCTGCCAGGGCAATCTCTAACTTCAATCCCAGCTTCGACAGTGA
AAAAGCTCTACTTCTACGCTGACCCAGGGAGGAACACTAGGACCCCTGTTGTATCTCAACTG
CAAGTTTCTGGACTAGTCTCCCAACGTTTGCTCCCAATGTTGCTCTTCTCTCGTTCCCAT
GGTAAAGCTCCTCTCGCTTTCTCTCTGAGGCTACACCCATGCGTCTCTAGGAACCTGGTCACAA
AAGTCATGGTGCCTGCATCCTGCCAAGCCCCCTGACCTCTCTCCCACTACCACCTTCTT
CCTGAGCTGGGGGCCACAGGAGCAATCAGAGATGCTGGGGATGCCAGAGCAAGACTCAAAGAG
GCAGAGGTTTTGTCTCAATATTTTTTAATAAATAGACGAAACACG

【図 3 1】

GTTTGAATTCCTTCAACTATACCCACAGTCCAAAAGCAGACTCACTGTGTCCAGGCTACCAG
TTCTCCCAAGCAAGTCATTTCCTTATTTAACCGATGTGTCCCTCAACACCTGAGTGCTACT
CCCTATTTCATCTGTTTTGATAAATGATGTTGACACCCCTCCACGAATTCCTAAGTGAAT**CA**
TGTCGGGAAGAGATACAACTCTTGGCCTGTGTATCTTCGCATTAGCCTTGCTTTGGCCATGA
TGTTTTACCTTCAGATTCAACACCCCTCTGGTTACATTTTCAATTTTATGTTTATTTTGG
GATTGTTGTTGTCTGCGGTGTTTTATGTGGTGTATTTATGACTATACCAACGACCTCAGCA
TAGAATTGGACACAGAAAGGGAAAAATATGAAGTGCCTGCTGGGGTTTGCTATCTGATCCACAG
GCATCAGGCAGTGTGCTCGTCTTGATTTTGTCTCAGAAAGAGATAAAAAATGACAGTTG
AGCTTTTCCAAATCACAAATAAAGCCATCAGCAGTGTCTCCCTTCTGCTGTTCCAGCCACTGT
GGACATTTGGCCATCCTCATTTTCTTCTGGGTCTCTGGGTGGCTGTGCTGCTGAGCCTGGGAA
CTGCAGGAGCTGCCAGGTTATGGAAGGCGGCCAAGTGAATATAAGCCCTTTTCGGGCATT
GGTACATGTGGTGTGATACCATTTAATTGGCCTCATCTGGACTAGTGAATTCATCTTGGCTGCC
AGCAATGACTATAGTGGGGCAGTGGTTACTTGTATTTCACAGAAAGTAAAAATGATCCTC
CTGATCATCCCATCCTTTTCGTCTCTCCATTCTCTTCTTACCATCAAGGAACCGTTGTGA
AAGGGTCATTTTTAATCTCTGTGGTGAGGATCCGAGAATCATTGTCTATGTACATGCAAAACG
CACTGAAAGAACAGCAGCATGGTGCATTGTCCAGGTACCTGTTCCGATGTCTGCTACTGCTGTT
TCTGGTGTCTGACAAATACCTGTCCATCTCAACCAGATGCATATACATACTGCTGATTA
ATGGGACAGATTCTGTACATCAGCAAAAGATGCATTCAAAATCTTGTCCAAGAACTCAAGTC
ACTTTACATCTATTAAGTGTCTTGGAGACTTCATAATTTTTCTAGGAAAGGTGTAGTGGTGT
GTTTCACTGTTTTTGAGGAGCTCATGGCTTTTAACTACAATCGGGCATCCAGGTGTGGGAG
TCCCTCTGTTATTGGTAGCTTTTTTGGCTACTTAGTAGCCCATAGTTTTTTATCTGTGTTTG
AACTGTGCTGGATGCATTTTCTGTGTTTTCGTGTGATCTGGAACAAATGATGATCGT
CAGAAAAGCCCTACTTTATGGATCAAGAAATTTCTGAGTTTCGTAAGGAGGACAAACAAATTA
ACAATGCAAGGGCACAGCAGGACAAGCACTCAATTAAGGAATGAGGAGGGAACAGAACTCCAGG
CCATTGTGAGAT**AG**ATACCAATTTAGGTATCTGTACCTGGAACAACTTCCCTCTAAGAGCCA
TTTACAGAAATAGAAGATGAGACCCTAGAGAAAAGTTAGTGAATTTTTTTTTAAAGACCTAA
TAAACCTATTCTCTCTCAAA

【図 3 6】

MASALWTVLPSRMSLRSLKWSLLLSLFFVMWYLSLPHYNVIERVNMWYFYEYPIYRQDF
HFTLREHSNCSHQNPFLVLVTSHPSDVKARQAIRVTWGEKSSWGWYEVLPFLGQAEKED
KMLALSLEDEHLLYGDIIQRDFLDYNNLLTKTIMAFRWVTEFCPNAKYVMKFDTDVFINGN
LVKYLNLNLNHSEKFFTYGPLINDYSYRGFYQKTHISYQEYPPKVFPPYCSGLGYIMSRDLVPR
IYEMMHVKPIKFEDVYVGICLNLKVNHIHIDETNLFYRIHLDVQCLRRVIAAHGFSKE
IITFWQVMLRNTTCHY

重要な特徴:

II型膜貫通ドメイン:

アミノ酸 20-39

N-グリコシル化部位。

アミノ酸 72-76, 154-158, 198-202, 212-216, 326-330

グリコサミノグリカン付着部位。

アミノ酸 239-243

L y-6 / u-PARドメインタンパク質。

アミノ酸 23-37

N-メリスチル化部位。

アミノ酸 271-277

【図 3 8】

MELGCWTQLGLTFLQLLISLIPREYTVINEACPGEAWNIMCRECEYDQIECVCPGKREVVG
YTIPCCRNEENECDCLIHPCGTIFENCKSCRNSWGWTLDFFYVKGFYCAECRAGWYGGDCM
RCGQVLRAPKGQILLESYPLNAHCEWTIHAKPGFVIQLRFVMLSLEFDYMCQYDIVEVRDGDN
RDGQIIKRVCNERPAPIQSIGSSLHVLFSHSDGSKNFDGPHAIYEEITACSSSPCFHDGTCVL
DKAGSYKACLAGYTGQRCENLLEERNCSDPGGPVNGYQKITGGPGLINGRHAKIGTVVSFFC
NNSYVLSGNEKRTCQNGEWSGRQPIKACREPKISDLVRRVRLPMQVQSRETPHLQLYSAA
FSKXQLQSAPTKKPLPFGDLPNGYQHLHTLQYECISPPYRRLGSSRRRTCLRTGKWSGRAP
CIPICCKIENITAPFTQGLRWPWQAAIYRRTSGVHDGSLHKGAWFLVCSGALVNERTVVVAH
CVTDLKGVTMIKTADLKVVLGKFYRDDORDERTIQSLQISAILHPNYPILLDADIAILKLL
DKARISTRVPICLAASRLDLSFSQESHITVAGWNVLADVRSPGFKNDTLRSGVSVVDSLLC
EEQHEDHGIPVSVTDNMFCAWSEPTAPSDICTAETGGIAAVSFPGRASPEFRWHLMLGVSWSY
DKTCSHRLSTAFTKVLFPFKDWIERNMK

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-23

E G F-様ドメイン システインパターンシグネチャー。

アミノ酸 260-272

N-グリコシル化部位。

アミノ酸 96-100, 279-283, 316-320, 451-455, 614-618

N-メリスチル化部位。

アミノ酸 35-41, 97-103, 256-262, 284-290, 298-304, 308-314, 474-480,
491-497, 638-644, 666-672

アミド化部位。

アミノ酸 56-60

セリンプロテアーゼ、トリプシンファミリー。

アミノ酸 489-506

CUBドメイン タンパク質プロファイル。

アミノ酸 150-167

【図 3 7】

CGCTCGGGACCAGCCCGCGCAAGGATGAGCTGGGTTGCTGGACGCACTTGGGGCTCACTTTTCTCAGCTCCT
TCTCATCTCGCTCTGGCAAGAGAGTACACAGTCATTATGAAGCGTCCGCTCGAGCAGAGTGAATATCATGTG
TCGGAGAGTCTGTGAATATGATCAGATTGAGTGGCTCTGCCCGGAAAGAGGAAAGTCTGGGTATACATCC
TTGCTGCAGGAATGAGGAGAAATGAGTGTGACTCTCTGCTGATCCACCCAGGTGTGACATCTTTGAAATCTGAA
GAGCTGCCGAAATGGCTCTGCGGGGGTACCTTGGATCACTTCTATGTGAAGGGGTCTACTGTGCGAGAGTCCG
AGCAGCTGGTACCGAGGAGACTGCATGCGATGTGGCAGGTTCTGCGAGCCCAAGGGTCAGATTGTGTGA
AAGCTATCCCTAAATGCTCATGTGAATGGACCATTCATGCTAAACCTGGGTTTGTGATCCAACATGAATTTGT
CATGTGTAGTCTGGAGTTTGACTACATGTGCCAGTATGACTATGTTGAGGTTCTGTGATGGAGACAACCCGAGTG
CCAGATCATCAAGCGTGTCTGTGGCAACGAGCGGCCAGCTCCTATCCAGAGCATAGGATCTCTCACTCCAGCTCT
CTTCCACTCCGATGGTCCAAAGAATTTTGACGGTTTCCATGCCATTTATGAGGAGATCACAGCATGCTCTCTATC
CCCTTGTGTTCCATGACGCCAGCTGGCTCTTGACAAGGCTGGATTTACAAAGTGTGCTGCTGTGCGAGGCTATAC
TGGCAGCGCTGTGAAATCTCTCTTGAAGAAAGAACTGCTCAGACCTCGGGGCCAGCTCAATGGGTACAGAA
AATAACAGSGGGCCCTGGGCTTATCAACGGACGCCATGCTAAATTTGGCACCGTGGTCTTCTTTTGTGAACAA
CTCCTATGTTCTTACTGGCAATGAGAAAGAACTTGCAGCAGAAATGAGAGTGGTCAAGGAAACGCCCATCTG
CATAAAGGCTGCCGAGAAACAAAGATTTCAGACCTGGTGAGAAAGAGAGTTCCTCCGATGAGGTTCAAGTCAAG
GGAGACACCATTACACAGCTATATCTAGCGGCCCTCAGCAAGCAGAAACTGCAGAGTGGCCCTACCAAGAGACC
AGCCCTTCCCTTTGGAGATCTGCCCATGGGATACCAACATCTGCATACCCAGCTCCAGTATGAGTGATCTCAACC
CTTCTACCGCCGCTGGCGAGCAGCAGGAGGACATGCTGAGGACTGGGAAAGTGGAGTGGCGGGCACCATCTCTG
CATCTCTATCTGCGGAAATTTGAGAACATCACTGTCTCAAGAGCCCAAGGGTTGCGCTGGCGGTGCGAGGACG
CATCTACAGGAGGACCGCGGGTGCATGACGGCAGCTACACAGGAGAGCTGGTTCTTGTAGTCTGCGAGCGGTGC
CTGTGTAATGAGCGCACTGTGGTGGTGGCTGCCACTGTGTTACTGACCTGGGGAAGGTACCATGATCAAGAC
AGCAGACCTGAAAGTTGTTTTGGGAAATTTACCCGGATGATGACCGGATGAGAGACCATCCAGGCTTACA
GATTTCTGCTATCATTCTGCATCCCACTATGACCCCATCTGCTGTGATGCTGACATCGCATCTCTGAAGCTCTCT
AGACAAGGCCGATACAGCACCCGAGTCCAGCCCATCTGCTGCTGCTGCCAGTGGGATCTCAGCATCTCTCTCA
GAGTCCCACATCACTGTGGCTGGCTGGAATGTCTGGCAGAGCTGAGGAGCCCTGGCTTCAAGAACACACACAT
CGCTCTGGGTTGTCAGTGTGGTGGACTCGCTGTGTGTGAGGAGCAGCATGAGGACCATGTCATCCGATCCGATG
TGTCACTGATAACATGTTCTGTGOCAGCTGGGAACCCACTGCCCCCTTCTGATATCTGCACTGCGAGCAGGAGG
CATCGGGCTGTCTCTTCCCGGACGAGCATCTCTGAGCCACCTGGCATCTGATGGAGCTGCTCAGCTGGAG
CTATGATAAACATGACGACCAAGGCTCTCCACTGCTTACCAAGGTGCTGCTCTTTAAAGCTGGATTGAAAG
AAATATGAAGTGAACATGCTCATGCACTCTTGAAGTGTGTTCTGTATATCGCTGTGAGTGTGTGCTTATGGC
TGAAGCAGTGTGGGCTGAAGTGTGATTGGCCTGTGAACCTTGGCTGTGCCAGGCTCTTCACTCAGGACAAG
ACTCAGTGAAGGCTGAGTGAACCTCCATTTCTGTGAGCTGATGCCGCGCTCACTACTAGGACAGCCAAATGGAA
ACGGCTGTGCGAGCTCAGCAGCACGGCTCCCTCCGAGAGGTTTCTGCACTGTGCCACCATCTCTTAATGACAG
ACGAGCTGTGGCTAGACAACCTGCCATCTGCTCTGCGCAGAGGACGGGACCGCAGCAATCAGCCAGTGGAT
CTGGCGGAGCAACCACTAGGCGACGGCCCTTTCAGAGATCCACTATAGAGCAGATCAATTAAGAAATAA
ATCCAGCTTTGAAGTGTCTTTCGAAGCAGAAAGAGCGGAGTGCAGTTGCCAACATGCGGACAGGCGAGGAA
ATTTCTGAAACACCACTGCCCTGAACTTTTCAAGGTGTACCACTGTATCCAGATGGTGAATTAACAGCA
TCAAGATCAATCGATAGATCCAGTGAAGCCCTCTCTATTAGGCTGTGGGAGGTAGCGAAACCCCACTGGTCC
ATATCATATCAACACCATTTATCGTGAAGGGTGTGCGCAGAGACGGCGGCTACTGCGAGGAGACATCATTC
TAAAGTCAACGGATGGAATCAGCAATGTCTCTACAACTACCGTGTGCGCTCTCTGCGGACGCCCTGCGAGG
TGCTGTGGCTGACTGTGATGCTGGAACAGAGTTCCGCGAGCAGAAACATGGAACAGGCCCGGAGTGTACAGAC
CCCGAGATGACAGCTTTCATGTGATTTCAACAAAAGTAGCCCGAGGAGCAGCTTGAATAAACCTGGTGGCA
AGGTGGATGAGCTGGGGTTTTCATCTTCAATGTCTGGATGGCGGTGTGGCATATCCAGATGGTCAAGTGTGAGG
AGAAATGACCGTGTGTAGCCATCAATGGACATGATCTTCGATATGGCAGCCGAGAGTGGCGGCTCATCTGATT
AGGCCAGTGAAGAGCTGTTCACCTGTGCTGCCGAGGTTGCGCAGCGGAGGCTGACATCTTTCAAGGAAG
CCGGCTGGAACAGCAATGGCAGCTGGTCCCGAGGCGAGGAGAGCAACACTCCAAGCCCTTCATCTCTA
CAATTAATCTGATCAGAAAGTGGTAAATATCTCAAAAGACCCCGGTGAATCTCTCGGCAATGACGTGCCAGGG
GAGCATCACATAGAGAATGGGATTTGCCATCTATGTGTCATGCTGTGACGCCGGAGGAGTCATAAGCAGAGATG
CAAGAATAAAACAGTGCATTTTGTGAATGTGGATGGGTGCAACTGACAGAGGTGAGCGGAGTGAAGGAG
TGGCATTAATGAAAGAACATCATCTCGATAGTACTCAAGCTTTTGGAACTCAAAGATATGAGCGCCAGGAAG
ACTGACAGGCCCGAGCAGCCCTGGACTCCAACCAACATGGCCCGCCAGCTGACTGGTCCCATCTCTGGGTCA
TGTGGCTGGAATTACACGGTGTGTGTATACTGTAAGATATTTATATACGAAGAAACACAGCTGGAAGTCTGG
GCTCTGCTATGTAGGAGGTTATGAAGAAACAATGGAAGAAACAACTTTTTTTCATCAATCCATGTTGAAGGAA
CACCAGCATACAATGATGAAGAAATAGATGTGGTGATATTTCTTGTGCTGCAATGTAGAAATACATCAGGAA
TGATACATGCTTGTGGCAAGACTGCTGAAGAACTTAAAGGAAGAAATTAATCTAATAT:GTGTTTGGGCTG
GCACCTTTTTTATGAATCAATGAGTGGGTGAGGAGAAACAGAAATACAAATAGGCTAAGAAAGTTGAACACAT
ATATTTATCTGTGTCAGTTTTTATATTTAAAGAAAGAAATACATTTAAAAATGTGAGGAGGTGCAAGTATCATTA
TGAAAGCCAGTTACACCTCAGAAAAATGATTTCCAAAAAATAAACTACTAGTTTPTTCTACTGTGGAGGAT
TTCTCATACTCTACAACTGTGTTATATTTTTCTATTCAATAAAGCCCTAAACCACTAAAAATGATGATTT
TGATATACCCACTGAATCAAGCTGATTTAAATTTAAATTTGGGTATGTGCTGAAGTGTCCGAGGAGTCAATAT
GGCCATTTTTAATTTACAGCTAAAAATTTTTTAAATGCAATGCTGAGAAACCTGCTTCTCATCAACAGAAAT
AAATATTTTTCAGAAGTTAAA

【図 3 9】

GGTTCCTACATCTCTCATCTGAGAATCAGAGAGCATAACTTCTTACGGGCCCGGTATTATTAACGTGGCTTA
ATCTGAAGCTTCTCAGTCAAATCTTGTGTATCTACTGATTCTGGGGCATGGCAAGGTTTGGTTAAGGAGCTT
CGCTGUTTTGGGCCCTTGTAGTGCACAGAAAGTGGCCAGGAGAAATGCAGCACATGCTCGGAGAATGAGGGCG
TTCGTGTGCTGGTCTTGCTTGGCTCAGTCTCTGTAACATTAACAATGTGGGCAACCTGCATCTCTGTATT
CAGAACTCTGTAAGGTGCTCCCACTACGGCTGACCAAGATAGGAAGGGCGCTCAACAAGATGGCTGTCCAG
ACGGCTGTGCGAGCTCAGCAGCACGGCTCCCTCCGAGAGGTTTCTGCACTGTGCCACCATCTCTTAATGACAG
ACGAGCTGTGGCTAGACAACCTGCCATCTGCTCTGCGCAGAGGACGGGACCGCAGCAATCAGCCAGTGGAT
CTGGCGGAGCAACCACTAGGCGACGGCCCTTTCAGAGATCCACTATAGAGCAGATCAATTAAGAAATAA
ATCCAGCTTTGAAGTGTCTTTCGAAGCAGAAAGAGCGGAGTGCAGTTGCCAACATGCGGACAGGCGAGGAA
ATTTCTGAAACACCACTGCCCTGAACTTTTCAAGGTGTACCACTGTATCCAGATGGTGAATTAACAGCA
TCAAGATCAATCGATAGATCCAGTGAAGCCCTCTCTATTAGGCTGTGGGAGGTAGCGAAACCCCACTGGTCC
ATATCATATCAACACCATTTATCGTGAAGGGTGTGCGCAGAGACGGCGGCTACTGCGAGGAGACATCATTC
TAAAGTCAACGGATGGAATCAGCAATGTCTCTACAACTACCGTGTGCGCTCTCTGCGGACGCCCTGCGAGG
TGCTGTGGCTGACTGTGATGCTGGAACAGAGTTCCGCGAGCAGAAACATGGAACAGGCCCGGAGTGTACAGAC
CCCGAGATGACAGCTTTCATGTGATTTCAACAAAAGTAGCCCGAGGAGCAGCTTGAATAAACCTGGTGGCA
AGGTGGATGAGCTGGGGTTTTCATCTTCAATGTCTGGATGGCGGTGTGGCATATCCAGATGGTCAAGTGTGAGG
AGAAATGACCGTGTGTAGCCATCAATGGACATGATCTTCGATATGGCAGCCGAGAGTGGCGGCTCATCTGATT
AGGCCAGTGAAGAGCTGTTCACCTGTGCTGCCGAGGTTGCGCAGCGGAGGCTGACATCTTTCAAGGAAG
CCGGCTGGAACAGCAATGGCAGCTGGTCCCGAGGCGAGGAGAGCAACACTCCAAGCCCTTCATCTCTA
CAATTAATCTGATCAGAAAGTGGTAAATATCTCAAAAGACCCCGGTGAATCTCTCGGCAATGACGTGCCAGGG
GAGCATCACATAGAGAATGGGATTTGCCATCTATGTGTCATGCTGTGACGCCGGAGGAGTCATAAGCAGAGATG
CAAGAATAAAACAGTGCATTTTGTGAATGTGGATGGGTGCAACTGACAGAGGTGAGCGGAGTGAAGGAG
TGGCATTAATGAAAGAACATCATCTCGATAGTACTCAAGCTTTTGGAACTCAAAGATATGAGCGCCAGGAAG
ACTGACAGGCCCGAGCAGCCCTGGACTCCAACCAACATGGCCCGCCAGCTGACTGGTCCCATCTCTGGGTCA
TGTGGCTGGAATTACACGGTGTGTGTATACTGTAAGATATTTATATACGAAGAAACACAGCTGGAAGTCTGG
GCTCTGCTATGTAGGAGGTTATGAAGAAACAATGGAAGAAACAACTTTTTTTCATCAATCCATGTTGAAGGAA
CACCAGCATACAATGATGAAGAAATAGATGTGGTGATATTTCTTGTGCTGCAATGTAGAAATACATCAGGAA
TGATACATGCTTGTGGCAAGACTGCTGAAGAACTTAAAGGAAGAAATTAATCTAATAT:GTGTTTGGGCTG
GCACCTTTTTTATGAATCAATGAGTGGGTGAGGAGAAACAGAAATACAAATAGGCTAAGAAAGTTGAACACAT
ATATTTATCTGTGTCAGTTTTTATATTTAAAGAAAGAAATACATTTAAAAATGTGAGGAGGTGCAAGTATCATTA
TGAAAGCCAGTTACACCTCAGAAAAATGATTTCCAAAAAATAAACTACTAGTTTPTTCTACTGTGGAGGAT
TTCTCATACTCTACAACTGTGTTATATTTTTCTATTCAATAAAGCCCTAAACCACTAAAAATGATGATTT
TGATATACCCACTGAATCAAGCTGATTTAAATTTAAATTTGGGTATGTGCTGAAGTGTCCGAGGAGTCAATAT
GGCCATTTTTAATTTACAGCTAAAAATTTTTTAAATGCAATGCTGAGAAACCTGCTTCTCATCAACAGAAAT
AAATATTTTTCAGAAGTTAAA

【図 5 8】

MLCLCLYVPVIGEAQTEFYFESKGLPAELKSIFKLSVFIPSQEFSTYRQWKQIVQAGDKDL
DGQLDFEEFVHYLQDHEKKLRLVFKILDKNDGRIDAQEI MQSLRDLGVKISEQQAEKILKSM
DKNGTMTIDWNEWDRDYHLLHPVENIPEIILYWKHSTIFDVGENLTPVDEFTVEERQTGMWWRH
LVAGGGAGAVSRTCTAPLDRKVLQM VHASRSNNMGIVGGFTQMIREGGARSLWRNGINVLK
IAPESAIFMAYEQIKRLVGSDOETLRIHERLVAGSLAGAIAQSSIYPMEVLKTRMALRKTGO
YSGMLDCARRILAREGVAAFYKGYVPNMLGIIPYAGIDLAVYETLKNAWLQHYAVNSADPGVF
VLLACGTMSSTCQQLASYPALVLRTRMQAQASIEGAPEVTMSSLFKHILRTEGAFGLYRGLAP
NFMKVIPAVSISYVVYENLKITLVGQSR

重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-16

推定上の膜貫通ドメイン:

アミノ酸 284-304, 339-360, 376-394

ミトコンドリアエネルギ-転移タンパク質シグネチャー.

アミノ酸 206-215, 300-309

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 129-133, 169-173

伸長因子-ハンド (E F-ハンド) カルシウム結合タンパク質.

アミノ酸 54-73, 85-104, 121-140

【図 6 0】

MASLQQLFWSIISIIILLAGAIALIIGFGISGRHSITVTTVASAGNIGEDGILSCTFEPDIK
LSDIVIQWLKEGVLGLVHEFKEGKDELSEQDEMFRGTAVFADQVIVGNASLRLKNVQLTDAG
TYKCYIITSKGGKNANLEYKTGAFSPMEPVNVVDYNASSETLRCEAPRWFPPQPTVVWASQVDQGA
NPFSEVNTSFELNSENVMTKVVSVLYNVNTINNTYSCMIENDIAKATGDIKVTESEIKRRSHLQ
LLNSKASLCVSSFFAISWALLPLSPYMLMK

重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-28

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 258-281

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 112-116, 160-164, 190-194, 196-200, 205-209, 216-220, 220-224

N-ミリスチル化部位.

アミノ酸 52-58, 126-132, 188-194

【図 5 9】

GGAAGGCAGCGGCAGCTCCACTCAGCCAGTACCCAGATACGCTGGGAACCTTCCCCAGCCATG
GCTTCCCTGGGGCAGATCCTCTTCTGGAGCATAATTAGCATCATCATTTATCTGGCTGGAGCA
ATTGCACATCATATTGGCTTTGGTATTTTCAGGGAGACACTCCATCACAGCTCACTACTGTGCGCC
TCAGCTGGGAACATTGGGGAGGATGGAATCCTGAGCTGCACCTTTGAACCTGACATCAAACCTT
CTGTATATCGTGATACAATGGCTGAAGGAAGGTGTTTTAGGCTTGGTCCATGAGTTCAAAGAA
GGCAAAGATGAGCTGTCTGGAGCAGGATGAAATGTTCAGAGGCCCGGACAGCATGTTTGTGTGAT
CAAGTGATAGTTGGCAATGCCCTCTTTCGGGCTGAAAAACGTGCAACTCACAGATGCTGGCACC
TACAAATGTTATATCATCACTTCTAAAGGCAAGGGGAATGCTAACCTTGTAGTATAAAATCGGA
GCCTTCAGCATGCCGGAAGTGAATGTGGACTATAATGCCAGCTCAGAGACCTTGGCGTGTGAG
GCTCCCGATGTTTCCCCAGCCACAGTGGTCTGGGCATCCCAAGTTGACCAGGGAGCCAAC
TTCTCGGAAGTCTCCAATACCAGCTTTGAGCTGAACCTGTGAGAATGTGACCATGAAGGTTGTG
TCTGTGCTCTACAATGTTACGATCAACAACACATACTCCTGTATGATTGAAAATGACATTGCC
AAAGCAACAGGGGATATCAAAGTGACAGAATCGGAGATCAAAGGCGGAGTCACCTACAGCTG
CTAAACTCAAAGGCTTCTGTGTGTCTCTTCTTTCTTTGCCATCAGCTGGGCATCTTCGCCT
CTCAGCCCTTACCTGATGCTAAAAAATGTCGCTTGGCCACAAAAAGCATGCAAGTCATTG
TTACAACAGGGATCTACAGAACTATTTCAACACAGATATGACCTAGTTTTATATTTCTGGGA
GGAAATGAATTCTATCTAGAAAGTCTGGAGTGAGCAAAACAGAGCAAGAAACAAAAAGAAAGCC
AAAAGCAGAAAGGCTCCAATATGAACAAGATAAAATCTATCTTCAAAGACATATTAGAAGTTGGG
AAAAATAATTCAATGTGAACATAGCAAGTGTGTTAAGAGTGATAAGTAAATGCACGTGGAGACA
AGTGCAATCCCAGATCTCAGGAGCCTCCCCCTGCCCTGTACCTGGGGAGTGAGAGGACAGGAT
AGTGCAATGTTCTTTGTCTCTGAATTTTGTAGTTATATGTGCTGTAATGTTGCTGTGAGGAAGCC
CTGGAAAGTCTATCCCAACATATCCACATCTTATATTTCCACAAATTAAGCTGTAGTATGTAC
CCTAAGACCTGCTAATTGACTGCCACTTCGCAACTCAGGGGCGGCTGCATTTTAGTAATGGG
TCAAAATGATTCACCTTTTATGATGCTTCCAAAGGTGCCCTGGCTCTCTTCCCACTGACACAA
TGCCAAAGTTGAGAAAAATGATCATAATTTTAGCATAAACAGAGCAGTCGGGGACACCGATTT
TATATAATAACTGAGCACCTCTCTTTTAAACAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAG
AAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAG

【図 6 1】

TGACGTCAGAATCACCAATGGCCAGCTATCCTTACCCGAGGGCTGCCAGGAGCTGCGAGACA
AGCACCAAGAGGCCCTCCGGGTAGCTACTACCTGGACCCCCCAATAGTGGAGGGCAGTATGG
TAGTGGGTACCCCTGGTGGTGTATGGGGTCTCGCCCTGGAGGGCCCTATGAGCACACC
AGCTGGTGGAGGCCCTATGGACCCCCAATCCTGGGATGTTCCCTCTGGAACCTCAGGAGG
ACCATATGGCGGTGCAGCTCCCGGGGCCCTATGGTCAGCCACCTCCAAGTTCTTACGGTGC
CCAGCAGCTGGGCTTATGGACAGGTGGCGCCCTCCCAATGTGGATCCTGAGGCCCTACTC
CTGGTCCAGTCGGTGGACTCAGATCACAGTGGCTATATCTCCATGAAGGAGCTAAAGCAGGC
CCTGGTCAACTGCAATTGGTCTTCATTCAATGATGAGACTGCTCATGATGATAAATCATGTT
TGACAAGACCAAGTCAGGCCGATCGATGTCTACGGCTTCTCAGCCCTGTGGAAATTCATCCA
GCAGTGGAAAGACCTCTTCCAGCAGTATGACCGGGACCGCTCGGGCTCCATTAGCTACACAGA
CTGTGACGAAGCTCTGTCCCAATGGGCTACAACCTGAGCCCCAGTTTACCCAGCTTCTGGT
CTCCCGCTACTGCCACGCTCTGCCAATCCTGCCATGCAGCTTGACCGCTTCATCCAGGTGTG
CACCCAGCTGCAGGTGCTGACAGAGGCTTCCGGGAGAGGACACAGCTGTACAAAGGCAACAT
CCGGCTCAGCTTCGAGGACTTCGTCACCATGACAGCTTCTCGGATGCTATGACCAACCATCT
GTGGAGAGTGGAGTGCAACAGGGACCTTCTGGCTTCTTAGAGTGAGAGAAAGTATGTGGACA
TCTCTCTTTTCTCTGCTCCCTCTAGAAGAACATTCCTCCCTTGCTTGATGCAACACTGTTCCAAA
AGAGGGTGGAGAGTCTGTCATCATAGCCACCAATAGTGAGGACCGGGCTGAGGCCACACAG
ATAGGGGCTGTAGGAGGAGAGGATAGAAGTTGAATGTCTGATGGCCATGACAGTGTGAGTG
GCACAGCTGGCACAGGAGCAGGTCTTGTAAATGGAAGTTAGTGTCCAGTCAGTCAGCTGCCA
CCCTGATGCCAGTGGTGAAGTTTATCGGCTGTTACCGTTAGTACCTGTGTCTCCCTCACCAG
GCCATCTGTCAAACAGGCCCAATTTCTCCAAGTGAATCTGACCAAGCATGAGAGAGATCT
GTCTATGGGACAGTGGCTTGGATTCTGCCACACCCATAAAATCCTTGTGTGTTAACTTCTAGC
TGCTTGGGGCTGGCCCTGCTCAGACAAATCTGCTCCCTGGGCATCTTTGGCCAGGCTTCTGCC
CCCTGCACTGGGACCCCTCACTTGCTGCCATGCTCTGCTCGGCTTCACTTCCAGGAGACA
GTGGTCACCTCTCCCTGCCAATCTTTTTTAATTTGCAATTTTTTTCATTTTGGGGCCAAAG
TCCAGTGAAATTTGATAGCTTCAATAAAGGATGAAACTCTGA

【図 6 2】

MASYPYRQGCPGAAGQAPGAPPGSYYPGPNSGGQYGSGLPPGGYGGPAPGGPYGPPAGGGP
YGHNPMPFSGTPGGPYGGAAPGGPYGQPPSSYGAQQPLYGQGGAPPNVDPAYSWFQSV
DSDHSGYISMKELKQALVNCNWSFNDETCLMMINMFDKTKSGRIDVYGFSAWKFIQQWKNL
FQQYDRDRSGSISYTELQQALSQMGYNLSPQFTQLLVSRYCPRSANPAMQLDRFIQVCTQLQV
LTEAFREKDTAVQGNIRLSFEDFVTMTASRML

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-19

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 147-150

カゼインキナーゼIIリン酸化部位.

アミノ酸 135-138, 150-153, 202-205, 271-274

N-ミリスチル化部位.

アミノ酸 9-14, 15-20, 19-24, 33-38, 34-39, 39-44, 43-48, 61-66,
70-75, 78-83, 83-88, 87-92, 110-115

【図 6 4】

MQGRVAGSCAPLGLLVCLHPLGLFARSIGVVEEKVSQNFGTNLPLQLGQPSSTGSPNSEHPQP
ALDPRNSDLARVPLKLSVPPSDGFFPAGGSAYQRWPPSWGLPAMDSWPPDPWQMMAAAADR
LGEALPEELSYLSSAALAPGSGPLPGESSPDATGLSPEASLLHQDSESRRLPRNSLGAAGK
ILSQRPFWSLIHRVLPDHPWGTLPNSVSWGGGPGTGWCTRPMHPPEGIWNQPPGTSWGN
INRYPGGSGWGINRYPGGSGWGINRYPGGSGWGINHLYPGINNPFPPGVLRPPGSSWNIPAGFP
NPPSPRLQWG

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-26

カゼインキナーゼIIリン酸化部位.

アミノ酸 56-59, 155-158

N-ミリスチル化部位.

アミノ酸 48-53, 220-225, 221-226, 224-229, 247-252, 258-263, 259-264,
269-274, 270-275, 280-285, 281-286, 305-310

【図 6 5】

AAGGAGAGGCCACCGGGACTTCAGTGTCTCCTCCATCCAGGAGCGCAGTGGCCACTA**TGGGG**
TCTGGGCTGCCCTTGTCCTCCTTGACCTCCTTGGCAGCTCACATGGAACAGGGCCGGGT
ATGACTTTTGCAACTGAAGCTGAAGGAGTCTTTCTGACAAATTCCTCCATGAGTCCAGCTTC
CTGGAATTGCTTGAAAAGCTCTGCCTCCTCCTCCATCTCCTTCAGGGACCAAGCTCACCCCTC
CACCATGCAAGATCTCAACACCATGTTGTCTGCAACACAT**GAGC**AGCCATTGAAGCCTGTGTCC
TTCTTGGCCCGGCCTTTTGGCCGGGATCGAGGAGGAGGCCCGCACCTGTCTTTTCAGCAG
GCCCCACCTCTCTGAGTGGCAATAAATAAAATTCGGTATGCTG

【図 6 3】

CAGG**ATGC**AGGGCCGCGTGGCAGGAGCTGCGCTCCTCTGGGCCTGCTCCTGGTGTGCTCTCA
TCTCCAGGCCCTCTTTGCCCGGAGCATCGGTGTTGTGGAGGAGAAAAGTTTCCAAAACCTTCGG
GACCAACTTGCCCTCAGCTCGGACAACCTTCCTCCACTGGCCCCCTCTAACTCTGAACATCCGCA
GCCCCGCTCTGGACCTTAGGTCTAATGACTTGGCAAGGGTTCTCTGAAGCTCAGCGTGCCTCC
ATCAGATGGCTTCCACCTGCAGGAGGTTCTGCAGTGCAGAGGTGGCCCTCCATCGTGGGGGCT
GCCTGCCATGGATTCTCTGGCCCCCTGAGGATCCTTGGCAGATGATGGCTGCTGCGGCTGAGGA
CCGCTTGGGGGAAGCGCTGCCTGAAGAACTCTTTACCTCTCCAGTGCCTGCGGCCCTCGCTCC
GGGCAGTGGCCCTTTGCCCTGGGAGTCTTCTCCCGATGCCACAGCCCTCTCACCTGAGGCTTC
ACTCTCCACCAGGACTCGGAGTCCAGACGACTGCCCCGTTCTAATTACTGGGAGCCGGGGG
AAAAATCCTTTCCCAACGCCCTCCCTGGTCTCTCATCCACAGGGTTCTGCTGATCACCCCTG
GGTACCTCGAATCCAGTGTGTCTCTGGGAGGTGGAGGCCCTGGGACTGGTGGGGAACGAG
GCCCATGCCACACCTGAGGGAATCTGGGGTATCAATAATCAACCCCCAGGTACCAGCTGGGG
AAATATTAATCGGTATCCAGGAGGAGCTGGGGAATATTAATCGGTATCCAGGAGGAGCTG
GGGGAATATTAATCGGTATCCAGGAGGAGCTGGGGAATATTCATCTATACCCAGGTATCAA
TAACCCATTTCTCTCTGGAGTTCTCCGCCCTCCTGGCTCTTCTTGGAACATCCAGCTGGGCT
CCCTAATCCTCCAAGCCCTAGGTTCAGTGGGGCT**TAGAGC**ACGATAGAGGGAACCCACATT
GGGAGTTAGAGTCTCTGCTCCCGCCCTTGCTGTGTGGGCTCAATCCAGGCCCTGTTAATCATGT
TTCCAGCACTATCCCACTTTTCAGTGCCTCCCTGCTCATCTCCAATAAAATAAAGCACTT
ATGAA
AA

【図 6 6】

MGSGPLVLVLLTLGSSHGTGPGMTLQLKLKESFLTNSSYESSFLELLEKLCLLHPLSGTSTV
TLHHARSQHHVVCNT

重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-19

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 37-41

N-ミリスチル化部位.

アミノ酸 15-21, 19-25, 60-66

【図 6 7】

ACGGACCGAGGGTTTCAGGGAGGGACACGGACCAGGAACCTGAGCTAGGTCAAAGACGCCCGG
GCCAGGTGCCCCGTCGAGGTGCCCCTGCCCGAGATGCGGTAGGAGGGCGAGCGCAGAAG
CCCCCTTCCTCGGCGCTGCCAACCCGCCACCCAGCCCA**TGGC**GAAACCCCGGCTGGGGCTGCTT
CTGGCGCTGGGCTGCGGTCTCTGCTGGCCCGCTGGGGCCGAGCTGGGGGCAATACAGACC
ACTTCTGCAAAATGAGAAATAGCACTGTTTTGCTTTCATCCACAGCTCCAGCTCCGATGGCAAC
CTGCGTCCGGAAGCCATCACTGCTATCATCGTGGTCTTCTCCTCTTGGTGCCTTGCTCCTG
GCTGTGGGGCTGGCACTGTTGGTGCGGAAGCTTCGGGAGAAGCGGCAGACGGAGGGCACCTAC
CGGCCAGTAGCGAGGAGCAGTTCTCCAATGCAGCCGAGGCCCGGGCCCTCAGGACTCCAAG
GAGACGTTGCAGGGCTGCCTGCCATCT**TAGG**TCCCCCTCTCTGCATCTGTCTCCCTTCATTGC
TGTGTGACCTTGGGAAAGGCAGTGCCTCTCTGCGGAGTCAGATCCACCAGTGTCTAATAG
CAGGGAAGAAGTACTTCAAAGACTCTGCCCTGAGGTCAAGAGAGGATGGGGCTATTCACTT
TTATATATTTATATAAAATTAGTAGTGAGATGTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【圖 7 2】

MMVMRRGLLAWISRVVVLVLCCAISVLYMLACTPKGDEEQALALPRANSPTGKEGYQAVLQE
WEQHQHNVSSSLKRQIAKKEELQERSEQLRQYQSQASDAQGLRSPFETQADLLAFSLAE
QVQKAEVNAQVLTAEYAVPDSFTLQKNGQVLTGRHPHEKPVRRKDRKDELVEAESALES
TLNPNAPNSPNHRHTASPTDIEGIVTERDKQVLYELTFKGDHHEKFKRLFLRFPSPIMKV
NEKLNAMNLTNHPVLAKRVRQKFRQHFQNFREMCIEQDGRVHLTVVYFGKEEINEVKGIL
TSKAANFRNFTQLINGEFSRGKGLDFAWRFGKSNVLFCFVDIYTFSEFLNCRNLNTPG
KKVYVPVLFQSYNPGILYGHDAVPLEPQQLVIKKEFGWRDFGFGMTQCYRSDFININGFDL
DIKGWGGEVDVHLRYKLSNLNIVRPTPLRFGVLHWEKKRKMDELTPBQYKMSKAMNEASH
DQKGMVFRHEIEAHLRKQKQTSKKT

重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-27

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 315-319, 324-328

N-ミリストイル化部位.

アミノ酸 96-102, 136-142, 212-218, 311-317, 339-345, 393-399

アミド化部位.

アミノ酸 377-381

【圖 7 4】

MF.SALLLEVIWTLAAGDGQHWTVYEGPHSGDQHWHPASVYPCGNNAQSPIDIQDSVTFVDPDLPA
LQPHGYDQPGTEFLDLHNNGHTSLQSLPSTVLGLGLPQVAAQHLHWHGQSGPPGSEHQIN
SCPAEALHIVYHSDSDYSLSAEALRPGQLAVGLIPEVGTKNIAEYHLHLHSHVVRHKQ
KTSVPFNNLRELLPKQLGQYFRYNGSLTTPCYQSVLWTVFYRRSQISMEQLKLGTLFSTE
EEPSKLLVQNYRALOPLNQRMVFASFIQAGSSYTTGEMLSGVGLVGLCLLALVYFIARKI
RRKKRLNLSNVFSTAQATTE

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-15

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 291-310

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 213-216

真核生物型炭酸脱水酵素タンパク質

アミノ酸 197-245, 104-140, 22-69

【 図 7 3 】

GACGACTGCAGAGGGAGATTAAGAGAGAGAGGGCCAAGAGGCGACCAAGAGATTGTGCTCGGGATC
GACAAACCACATGATACCCTATCAACACCGAATCCCTCGGAAGCCACAGACAGAGACAGAC
AAGAGACAGAGATGATAATACATCAAGCCAGAGAGCTCGCTCGCTCTCTCTCTCTCTCTCA
CTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTGCTGTCTAGTCTCTAGTCTCTCAAAATCCAGAGCTCCCTCG
ACCCCTCCCTGGGACATATGTTGTTCTCTCGCCCTCTCTCGGAGGCTGATTTGGATCTCGGG
GCAGATGGGGGTCAACATGTGAGCATATGAGGGCCACATAGTGCAGACCATTGGCCAGCTCT
TACCCTGAGTGTGGAACAATGCCAGTCGCCCATCGATATTCAGACAGACAGCTGTGACATTT
GACCTTGATTTGGCTGCTCTGCAGCCCAACCGGATATGACCAGCTGGCACCGAGCTTTGGAC
CTCCACCAATTTGGCCACAGATGCACTCTCTCGCTCTACCTGTATCTGGGTGCACTT
CCCCGAAAATATTAGCTGCCAGCTCCACCTGCACGTGGGTGAGAAGGATCCCCAGGGGGG
TCAGAACACCAAGATCAACAGTGAAGCCATTTGACAGAGCTCCACATTTGACATATGACTCT
GATTCCTAGACAGCTTGAGTGAGCTGCTGAGAGAGCTCGAGGCGCTGGCTGTCTGGGCATC
CTAATTTGAGTGGGTGAGACTAGAAGATATAGTCTTATGAACACATTTCTGAGCATCTTGCATGAA
TCGAGGACCTAAGATCAAGAGACCTATAGTCCCTCTTCAACCTAAGAGAGCTGCTCCCAAA
CAGCTGGGGCAGCTCTCGCTACATAGTCTGCTGCACAACTCCCCCTGCTACAGAGGTGTG
CTCTGGACAGTTTTTATAGAAGGTCCAGATTTCAATGGAAACAGCTGGAAAAGCTTCAGGGG
ACATTTGTTCCCAAGAGGAGGAGCCCTTAAGCTTCTGGTACAGAACTACCGAGGCCCTTAG
CTCTCAATCAGCGCATGTGCTTTGCTCTTTTATCACAAGAGAGATCTGTATACACAGCT
GAAATGCTGAGTCTAGGTGTAGAAATCTTGGTTGGCTGCTCTGCTCTCTGCTGGCTGTTTAT
TTCATCTGTAGAAGATCTCGGAAGAAGAGCTGGAAAACCGAAAGAGTGTGGTCTTCACTCA
GCACAAGCCAGCATGAGGCAATAATCTCTTCAGATACATGGATGTGGATAGCTCCCTT
CATGCCATACAGGAAGCTCTTAAATGGGGGTGTAGGATCTGGCCAGAAACAGCTGTAGGAGTAG
TAAGCAGATGTCTCTCTCTCCCTGGACATCTCTTAGAGAGAGATGGACCCAGGCTGTATTCT
AGGAAGAACTGCAGAGCTCTCAGCTCTCCAAACATGTAGAGAGAAATGAGGAATAACGCTGTG
TTGTTAATGCAGAGANCAACTCTGTTTGTGTCAGAGGGGAAGTTTGGGATATACCCAAAGCT
CTACCCCTCAGCTATTATTGCGCCCTTTCCCTAGATATATCTCGGGGATCTCTCTTAGATAA
AGAGTTGCTGTTGAAGTGTGATATTTTGTGACATATATTTTGAATAATAAGTTTCTGACTTT

【 図 7 5 】

TCGCGCTGCCGCCGCGCTCGCTGTTGCTCTCGGCCGGCGCCTTGGGAGCGGGCAGTTCCCTCTGTG
 TCTCTGTGGTTCCTGCTAAACCTGCAAAACATCACCTCTTATTCATCAACATGAAGAATGCTC
 TCAATGAGGCTCCACACAGAGGCTCTCAAGGAGTTAAAGTACTTACAGCTGTGCAATTTCTTCA
 TCACAAATTTGGCCACACAGAGGTGGCCTACTACAGATGAGAAGTCCATTTCTGTTCTCTCTG
 TCAAGCTCCAGAGAAGTGGAAGAGAAATCCAGGAAGCCTTCTGTTTTCATGCAACAAATATAT
 TCCAATCTGAAGTAAAGCTGTCTGTGTTGAATCAAAATCAAAACAGACGTTGGTCCAGTGTG
 GTGACCAACCACACGCTGGTGCTCACCTGGCTGGAGCGCAACACTCTTTACTGCGTACACGTG
 GAGTCCCTTGTCGTCAGGGGCCCTCTCGCGCTGTACGCTCTTGGAGAGCAGTGTGCGAGCAAGT
 TTGAAGATCAATCATCAGAGTTCAAGGCTAAATCATCTTCTGTAGTTGTTTGGCCATATCT
 ATTACCGTGTTTCTTTTCTGTGATGGGCTATTCCATCTACCGATATATCCACGTTGGCAAA
 GAGGAACCCACCGAATAATTTGTTTGAATTTATGGAATAAGTAATTTGCAGAAAGATCTTTGTG
 CTGTGCGTAAAAAATGTTGATTAACTTTATACCTCAATATCTCTGGAGTGCTTAAATTTCT
 CATCAGGATATGAGTTTACTGGGAAAAAGCAGTGATGTATCCAGCCTTAATGATCTCCAGCCC
 AGCGGGAAGCTGAGGCCCTCCAGAGAGGAAGAGAGTGAAACATTAGGATATGCTTCGCAT
 TTGATGAAATTTTGTGAGCTCTGAAGAAACACGGAAGAGTACTCTTCTACCCACGAAGAAG
 TCCCTCAGCAGAAACAATACCCCGCTGATAAAACAGTCATTGAATATGAATATGATGTGAGAACC
 ACTGACATTTGCGGGGCTCTGAAGACGAGGAGTCAAGTTGTCAGGAGGAGGTGTGTCACACAAG
 GAAACATTATTTGAGTTCGAGCGAGCGCTGTGCAGTCTTGGCCGCGCAAGCGTTACGATACTCA
 TACACCCCTCAGCTCCAAGACTAGACCCCTTGGCCGAGGAGCACACAGACTCGGAGGAGGGG
 CGGAGGAAGAGGACCTCAGACGCCCTCTGTCAGTGGGATGCCAACCTGCGACGCTGTGATT
 CTCTCGCTGCCAGCTTCGACGCCATTACAGAGGCTCGCAAGCCTTGTAGGCGGGATGGGCTAT
 CGGAGGAGGGGTCTTCTATTAGACTCTTATTAGGAGACGGGCTCCAGACAGGCCACCAGGAGAA
 ATGAAACTATCTCATGCAATTCATGGAGGAATGGGGGTTATGTCGCAGATGAAAACTGA
 TGCCAAACACTTCCCTTTGCTCTTTTCTGTGCAAAACAGTGAGTCCACCTTTGATCCCA
 GCGATAAAGTACTGGGATGAAGAAGTTTTCAGGTTTGTGAGTGCTGTGAGAATATAT
 ATTTCTTTTCTTATCTCATACGACGTGTGTGATGGTTCATGCACTAGTGTCTTTAAACA
 TATGGTGGCCTCTGGAGCTCAGGGGCTGGCGGTTTCTATTGACAGAGAAAGCAGTCAATA
 TGATGTTGCCAGCTGGGTGCAGAATTTTACCGTGGGTGT

【図 7 6】

MSYNGLHQRVFKELKLLTLCSSISQIGPPEVALTTDEKSISVVLTAPEKWKNRPEDLPVSMQQ
IYSNLKYNVSVLNTKSNRTWSQCVTNHLLVLTWLEPNTLYCVHVESFVPGPPRAQPSSEKQCA
RTLADQSSEFKAKIIFWYVLPISITVFLFSVMGYSIYRIYHVGKEKHPANLILYGNFDFKRF
FVPAEKIVINFITLNISSDSKISHQDMSLLGKSSDVSSLNDPQPSGNLRPPQEEEEVKHLGYA
SHLMEIFCDSEENTEGTSLTQESLSRTIIPDKTVIEVEYDVRTTDICAGPEEQELSLQBEVS
TQGTILLESQAALAVLGPQTLQYSYTFRLQDLPLAQHTDSEEGPEEPEPSTTLVDWDPQTGRIL
CIPSLSSFDQDSEGECEPSEGDGLGEEGLLSRLYEPAFDRPPGENETYLMQFMEEWGLYVQME
N

重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-28

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 140-163

N-グリコシル化部位:

アミノ酸 71-74, 80-83, 89-92, 204-207, 423-426

【図 7 7】

GAGGAGCGGGCCGAGGACTCCAGCGTGCCAGGTCTGGCATCCTGCACCTTGCTGCCCTCTGAC
ACCTGGGAAGATGGCCGGCCCGTGGACCTTCACCCCTTCTCTGTGGTTTGTCTGGCAGCCACCTT
GATCCCAAGCCACCTCTAGTCCCACTGCAGTTCTCATCTCCGGCCCAAAAGTCATCAAAAGAAA
GCTGCACACAGGAGCTGAAGACCACAAAGCCACCAAGCATCTCGAGCAGTCCCGTCTGCTCAG
TGCCATCGGGAAAAGCCAGCCGGAGGCATCCCTGTGCTGGGCAGCCTGGGTGAACACCGTCTCT
GAAGCACATCATCTGGCTGAAGGTCTACACAGCTAACATCTCCAGCTGCAGGTGAAGCCCTC
GGCCAAATGACCAGGAGCTGCTAGTCAAGATCCCCCTGGACATGGTGGCTGGATTCAACACGCC
CCTGGTCAAGACCATCGTGGAGTTCCACATGACGACTGAGGCCCAAGCCACCATCCGCATGGA
CACCAGTGCAAGTGGCCCCACCCGCTGTCTCAGTGACTGTGCCACCAAGCCATGGGAGCCT
GCGCATCCAACCTGCTGTATAAGCTCTCCTTCTGTGTAAGCGCTTAGCTAAGCAGGTATGAA
CCTCCTAGTGGCATCCCTGCCCAATCTAGTGA AAAACAGCTGTGTCCCGTGATCGAGGCTTTC
CTTCAATGGCATGTATGCAGACCTCCTGCAGCTGGTGAAGGTGCCATTTCCTCAGCATTTGA
CCGCTCTGGAGTTTGACCTTCTGTATCCTGCCATCAAGGGTGACACCATTCAGCTCTACCTGGG
GGCCAAAGTTGTGGACTCACAGGAAAAGTGACCAAGTGGTTC AATTAACCTGACGCTTCCCT
GACAAATGCCACCCCTGGACAAATCCCGTTAGCCTCATCGTGAGTCAGGACGTGGTGAAGC
TGCAAGTGGCTGCTGTGCTCTCTCCAGAAGAATTATGGTCTGTGGACTCTGTGCTTCTCTGA
GAGTGCCCATCGGCTGAAGTCAAGCATCGGGCTGATCAATGAAAAGGCTGCAGATAAGCTGGG
ATCTACCAGATCGTGAAGATCCTAACTCAGGACACTCCCGAGTTTTTATAGACCAAGGCCA
TGCCAAAGGTGGCCAACTGATCGTGTGGAAGTGTTCCTCCAGTGAAGCCCTCCGCCCTTT
GTTACCCCTGGGCATCGAAGCCAGCTCGGAAGCTCAGTTTTACACCAAAGGTGACCAACTTAT
ACTCAACTTGAATAACATCAGCTCTGATCGGATCCAGCTGATGAACCTCTGGGATTGGCTGGTT
CCAACCTGATGTTCTGAAAAACATCATCACTGAGATCATCCACTCCATCCTGCTGCCGAACCA
GAATGGCAAATTAAGATCTGGGTCACAGTGTCATTGGTGAAGCCCTTGGGATTCCAGGCAGC
TGAGTCTCTCACTGACCAAGGATGCCCTTGTGCTTACTCCAGCCTCCTTGTTGGAACCCAGCTC
TCTGTCTCCCACTGAAGACTTGGATGGCAGCCATCAGGGAAGGCTGGGTCCACAGCTGGGAGT
ATGGGTGTGAGCTCTATAGACCATCCCTCTCTGCAATCAATAACACTTGCTGTGAAAAA

【図 7 8】

MAGPWTFTLLCGLLAATLIQATLSPTAVLILGPKVKEKLTQELKDHNAATSILOQLPLLSAMR
EKPAAGGIPVLGSLVNTVLKHIILWKVITANILQLQVKPSANDQELLVKIPLDMVAGFNTPLVK
TIVEFHMTTEAQATIRMDTSASGPTRLVLSDCATSHGSLRIQLLYKLSPLVNALAKQVMNLLV
PSLPNLVNKLCPVIEASFNGMYADLLQLVKVPISLSIDRLEFDLLYPAIKGDTIQLYLGAKL
LDSQGVTKWFNNSAASLTMPDLNIPFSLIVSQDVVKAAVAALVSPEEFMVLLDSVLPESAH
RLKSSIGLINEAADKLGSTQIVKILTQDTPFEFFIDQGHAKVAQLIVLEVPFSSEALRPLFTL
GIEASSEAQFYTKGQDLILNLNIISSDRIQLMNSGIGWFQPDVLKNIITEIIHSILLPNQNGK
LRSGVPVSLVKALGFEESSLTKDALVLTASLWKPSPSPVSQ

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-21

N-グリコシル化部位:

アミノ酸 48-51, 264-267, 401-404

グリコサミノグリカン付着部位:

アミノ酸 412-415

LB P/BPI/CET Pファミリータンパク質:

アミノ酸 407-457

【図 7 9】

GAGAGAAGTCAGCCTGGCAGAGAGACTTGAAATGAGGGATTAGAGGTGTTCAAGGAGCAAGA
GCTTCAGCCTGAAGACAAGGGAGCAGTCCCTGAAGACGCTTCTACTGAGAGGTCTGCCATGGC
CTCTCTTGGCCTCCAACTTGTGGGTACATCCTAGGCCTTCTGGGGCTTTTGGGCACACTGGT
TGCCATGCTGCTCCCCAGCTGGAAAACAAGTCTTATGTGCGTGCCAGCATTTGTGACAGCAGT
TGGCTTCTCCAAGGGCCTCTGGATGGAATGTGCCACACACAGCAGCAGGCATCACCAGTGTGA
CATCTATAGCACCTTCTTGGGCTGCCCGCTGACATCCAGGCTGCCAGGCCATGATGSGTAC
ATCCAGTGCAATCTCCTCCTGGCCTGCATTATCTCTGTGCTGGGCATGAGATGCACAGTCTT
CTGCCAGGAATCCGAGCCAAAGACAGAGTGGCGGTAGCAGGTGGAGTCTTTTTCATCTTGG
AGGCTCCTGGGATTCACTCCTGTGCTGGAATCTTCATGGGATCCTACGGGACTTCTACTC
ACCACTGGTGCCTGACAGCATGAAATTTGAGATTGGAGAGGCTCTTTACTTGGGCATTAATTT
TTCCTGTCTTCCCTGATAGCTGGAATCATCTCTGCTTTTCTGTGCTCATCCAGAGAAATCG
CTCCAACTACTACGATGCCTACCAAGCCCAACCTCTTGGCCACAAGGAGCTCTCCAAGGCCTGG
TCAACCTCCCAAAGTCAAGAGTGAGTTCAATTCTACAGCCTGACAGGGTATGTGTGAAGAAC
CAGGGGCCAGAGCTGGGGGGTGGCTGGGTCTGTGAAAAACAGTGACAGCAGCCCGGAGGCCA
CAGGTGAGGGACACTACCATGGATCGTGTGAGAAGGTGCTGCTGAGGATAGACTGACTTTGG
CCATTGGATTGAGCAAAGGCAGAAATGGGGCTAGTGTAAACAGCATGCAAGGTTGAATTGCCAA
GGATGCTCGCCATGCCAGCCTTTCTGTCTTCTCCTCACCCTTGCTGCTCCCTGCCCTAAGTCCCC
AACCCTCAACTGAAACCCATTCCCTTAAGCCAGGACTCAGAGGATCCCTTTGCCCTCTGGT
TTACTTGGGACTCCATCCCAAAACCACTAATCACATCCCACTGACTGACCTCTGTGATCAA
AGACCTCTCTCTGGCTGAGGTGGCTCTTAGCTCATTGCTGGGGATGGGAAGGAGAAGCAGT
GGCTTTTGTGGGCATTGCTCTAACCTACTTCTCAAGCTTCCTCCAAAGAAACTGATTGGCCC
TGGAACCTCCATCCCACTCTTGTATTGACTCCACAGTGCCAGACTAATTTGTGATGAAGTG
AAATAAAACCATCTACGGTATCCAGGGAACAGAAAGCAGGATGCAGGATGGGAGGACAGGAA
GGCAGCTGGGACATTTAAAAAATA

【図 8 0】

MASLGLQLVGYILGLLGLLGLVAMLLPSWKTSSYVGASIVTAVGFSKGLWMECATHSTGITQ
CDIYSTLLGLPADIAQAQAMMVTSSAISLACIIISVVMRCTVFCQESRAKDRVAVAGGVFFI
LGGLGFIPIVAWNHGLRDFYSPLVPDSMKFEIGEALYLGIISLFSIAGIILCFSCSSQR
NRSNYDAYQAQPLATRSSPRPGPPKVKSEFNYSLSLTGYV

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-24

膜貫通ドメイン:

アミノ酸82-102, 117-140, 163-182

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 190-193

PMP-22/EMP/MP20ファミリータンパク質.

アミノ酸 46-59

【図 8 1】

CCCACGGCTCCGCGCCTCTCCCTTCTGCTGGACCTTCCTTCGTCTCTCCATCTCTCCCTCCTT
TCCCCGCGTTCTCTTTCCACCTTTCTCTTCTTCCACCTTAGACCTTCCCTTCCGCTCCTT
TCCTGCCACCGCTGCTTCTTCCGCTTCTCCGACCCCGCTCTAGCAGCAGACCTCCTGGGGT
CTGTGGGTGATCTGTGGCCCCGTGCCTCCGTGTCCTTTTCGTCTCCCTTCTCTCCGACTCC
GCTCCCGGACCAGCGGCTGACCTGGGGAAAGGATGGTTCCTCCGAGGTGAGGGTCTCTCTCTC
CTTGTCTGGGACTCGCGCTGCTGTGGTTCCTCCCTGGACTCCACGCTCGAGCGCCGACAGACAT
GTTCTGCCTTTTCCATGGGAAGAGATATCTCCCCGGCGAGAGCTGGCACCCCTACTTGGAGCC
ACAAGGCTGATGTACTGCCTGCGCTGTACCTGCTCAGAGGGCGCCCATGTGAGTTGTTACCG
CTTCCACTGTGCGCTGTCCACTGCCCCAGCCCTGTGACGGAGCCACAGCAATGCTGTCCCAA
GTGTGTGGAACCTCACACTCCCTCTGGACTCCGGGCCCCAACAAAGTCTGCGAGCACACCG
GACCATGTACCAACACGGAGAGATCTTCACTGCCATGAGCTGTTCCCTTCCGCTGCCCAA
CCAGTGTGTCCTCTGAGCTGCACAGAGGGCCAGATCTACTGCGGCTCACAACCTGCCCCGA
ACCAGGCTGCCAGCACCCCTCCACTGCCAGACTCTCTGCTGCCAAGCTGCAAGATGAGGCG
AAGTGAGCAATCGGATGAAGAGGACAGTGTGCAGTCGCTCCATGGGTGAGACATCTCTCAGGA
TCCATGTTCCAGTGTGCTGGGAGAAAGAGAGGCGCCGGGACCCAGCCCCACTGGCTCCTAG
CGCCCCCTGAGCTTCTATCCCTCGCCACTTTCAGACCAAGGAGCAGGACGACAACTGTCAA
GATCGCTCTGAAGGAGAAACATAAGAAAGCCTGTGTGCATGGCGGAAGACGTACTCCACGG
GGAGGTGTGGCACCCGGCTTCCGTGCTTCCGCCCCCTTGGCTGCATCTTATGCACCTGTGA
GGATGGCGCCAGGACTGCCACGCTGTGACTGTCCACCGAGTACCCCTGCGCTCACCCCGA
GAAAGTGGCTGGGAAGTGTGCAAGATTTGCCAGAGGACAAAGCAGACCTGGCCACAGTGA
GATCAGTTCTACAGGTGTCCCAAGGACCGGGCCGGTCTCTGCCACACATCGGTATCCCT
AAGCCAGACAACTGCGTCGCTTTCCTTGGAAACAGAGGCTCGGACTTGGTGGAGATCTA
CCTCTGGAAGCTGGTAAAGATGAGGAAACTGAGGCTCAGAGAGGTGAAGTACCTGGCCCCAAG
GCCACACAGCCAGAATCTTCCACTTGACTCAGATCAAGAAAGTCAGGAAGCAAGACTTCCAGA
AAGAGCCACAGCACTTCCGACTGCTCGCTGGCCCCACGAAGGTCACTGGAAGCTTCTTCTAG
CCCCAGCCCTGGAGCTGAAGGTACGGCCAGTCCAGACAAAGTGACCAAGACATAACAAGAGC
CTAAAGTTGAGATATGAGCTGTATAATTGTTGTTATTATATATTAATAAATAAGAAGTTGC
ATTACCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【図 8 2】

MVPEVRVLSLLGLALLWFPLDSHARAPDMFCLFHGKRYSPGESWHPYLEPQGLMYCLRCTC
SEGAHVSCYRLHCPPVHCPOQVTEPQQCCPKCEPHTPSGLRAPPKSCQHNCTMYQHGEIFSA
HELFP SRLPNQCVLCSCTEGQIYCLTTCPEPGCPAPLPLPDSCCQACKDEASEQSEDEDSVQ
SLHGVVRHPQDPCSSDAGRKRPGTTPAPTGLSAPLSFIPRHFRPKGAGSTTVKIVLKEKKKAC
VHGKTYSHGEVWHPAFRAGPLPCLCTCEDGRQDCQRVTCTPEYPCRHPEKVAGCKCKICP
EDKADPGHSEISSTRCPKAPGRVLVHTSVSPSPDNLRFALEHEASDLVEIYLWKLKDEETE
AQRGEVFGPRPHSQNLPLDSQESQEARLPERGTALPTARWPPRRSLERLSPDPGAEGHGQS
RQSDQDITKT

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-25

【図 8 3】

GACAGCTGTGTCTCGATGGAGTAGACTCTCAGAAACAGCGCAGTTGGCCCTCGCTCACGAGA
GCCTCTCCGTGGCTTCCGACCTTAGGCATAGGGCAGTCTCTCTTCTCTCTAATCCATCC
GTCACCTCTCTCTCATCCGTTTCCATGCCGTGAGGTCCATTACAGAAACATCCATGGCTC
TCATGCTCAGTTTGGTTCAGTCTCCTCAAGCTGGGATCAGGGCAGTGGCAGGTGTTTGGGC
CAGACAAGCCTGTCCAGGCTTGGTGGGGGAGGACGACGATTCCTGTGTTCTGTCTCTCTA
AGACCAATGCAGAGCCATGGAAAGTGCGGTCTTCAGGGCCAGTCTCTAGCGTGGTCCACC
TCTACAGGGACGGGAAGGACACGCCATTTATGCAGATGCCACAGATCAAGGCAGGACAAAC
TGGTGAAGGATTTATTTGGGAGGGGCGCATCTCTGAGGCTGGAAACATTACTGTGTTGG
ATGCTGGCTCTATGGGTGACGATTAGTTCCAGTCTTACTACCAGAAGGCCATCTGGGAGC
TACAGGTGTGACCACTGGGCTCAGTTCTCTCTATTTCCATCACGGGATATGTTGATAGAGACA
TCCAGCTACTCTGTGAGTCTCTGGGCTGGTCCCCGGCCCCACAGCGAAGTGGAAAGGTCAC
AAGGACAGGATTTGTCCACAGACTCCAGGACAAACAGAGACATGCATGGCTGTGTTGATGTGG
AGATCTCTCTGACCGTCCAAGAGAAGCCGGGAGCATATCTGTTCCATGCGGCATGCTCATC
TGAGCCGAGAGTGGAAATCCAGGGTACAGATAGGAGATACCTTTTTCGAGCCTATATCGTGGC
ACCTGGCTACCAAAGTACTGGGAATACTCTGCTGTGGCCTATTTTGGCAITGTTGGACTGA
AGATTTTCTCTCAAATTCAGTGGAAAATCCAGCGGAACGTGACTGGAGAAGAAAGCACG
GACAGGCAGAATTGAGAGACGCCCGGAAACAGCGAGTGGAGGTGACTCTGGATCCAGAGACGG
CTCACCCGAAGCTCTGCGTTTCTGATCTGAAAACGTGAACCATAGAAAAGCTCCCCAGGAGG
TGCCCTCACTCTGAGAAGAGATTTACAAGGAAGAGTGTGCTGGCTTCTCAGAGTTTCCAAGCAG
GGAAACATTACTGGGAGGTGGACGGAGGACACAATAAAAGGTGGCGCTGGGAGTGTGCCGGG
ATGATGTGGACAGGAGGAAGGAGTACGTGACTTTGTCTCCGATCATGGGTACTGGGTCTCTCA
GACTGAATGGAGAACATTTGTATTTACATTAAATCCCCGTTTTATCAGCGTCTTCCCCAGGA
CCCCACTACAAAAATAGGGGTCTTCTTGACTATGAGTGTGGGACCATCTCTTCTCTCAACA
TAAATGACAGTCCCTTATTTATACCTGACATGTGCGTTTGAAGGCTTATGAGGCCCTACA
TTGAGTATCCGTCTATAATGAGCAAAATGGAACTCCCATAGTCATCTGCCAGTCAACCCAGG
AATCAGAGAAAGAGGCTCTTGGCAAAGGCTCTGCAATCCAGAGACAAGCAACAGTGAAT
CTTCTCTCAGGCAACACGCCCTTCTTCCAGGGGTGAAATGTAGGATGAATCACATCCCA
CATTTCTCTTAGGATATTAAGGTCTCTCTCCAGATCCAAGTCCCGCAGCAGCGGCGCAA
GGTGGCTTCCAGATGAAGGGGACTGGCGTGTCCACATGGGAGTCAGGTGTCTGCTGCTGCT
GAGCTGGGAGGGAAGAGGCTGACATTACATTAGTTTGTCTCACTCATCTGGCTAAGTGA
TCTTGAAATACCACTCTCAGGTGAAGAACCGTCAGGAATTCATCTCACAGGCTGTGGTGT
AGATTAAGTAGACAAGGAATGTGAATAATGCTTAGATCTTATGATGACAGAGTGTACTCTAA
TGGTTGTTCTATTATATACACTTTCAGTAAAAAAA

【図 8 4】

MALMLSLVLSLLKLGSGQWQVFGPKPVQALVGEDAAFSCFLSPKTNAEAMEVRFRRGQFSV
VHLVRDGDQPFMQMPQYQGRTKLVKDSIAEGRISLRLENI TVLDAGLVGCRIS SQSY YQKAI
WELQVSALGSVPLISITGYVDRDIQLLCQSSGWFPRTAKWGPQGDLSTDSRTNRDMHGLF
DVEISLTVQENAGSISCSMRHAHLSREVESRVIGDTFFEPISWHLATKVLGILCCGLFFGIV
GLKIFFSKFQWKIQAEELDRRKHGQAEELDRKHAVEVTLDPETAHPKLCVSDLKTVTHRKA
PQEVPHSEKRFTRKSVVASQFSQAGKHVEVDGGHNKRWRVGVCRDDVDRRKEYVTLSPDHGYW
VLRNGEHLVFTLNPRFISVFPRTPTTKIGVFLDYECGTISFFNINDQSLIYTLTCRFEGLLR
PYIEYPSYNEQNGTPIVICPTVQESEKEASWQRASAI PETSNSSESSQATTPFLPRGEM

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-17

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 239-255

【図 8 6】

MLLLLLPLWGRERAEGQTSKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFSPYSHGWIPGPVHVHGYWR
EGANTDQDAPVATNNPARAVWEETRDRFHLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEKGS
I KWN YKHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCSPWACEQGT PPMISWIGTSVSPLD
PSTTRSSVLTLIPQPDHGTSLTCQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLMTMVFQGDGTVST
VLNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDA
AEFTCRAQNPLGSQQVYLVNLSQSKATSGVTGQVVGAGATLVLSFCVIFVVRSCRKKS
A RPAAGVGDGTGIEDANAVRGSASQGLTEPWAEDSPDPQPPASARSSVGEGLQYASLSFQMV
KPWDSRGQEATDTEYS EIKIHR

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-15

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 351-370

【図 8 7】

AGAAAGCTGCACTCTGTTGAGCTCCAGGGCGCAGTGGAGGGAGGGAGTGAAGGAGCTCTCTGT
ACCCAAGGAAAGTGCAAGCTGAGACTCAGACAAGATTACAATGAACCAACTCAGCTTCCTGCTG
TTTCTCATAGCGACCACAGAGGATGGAGTACAGATGAGGCTAATACTTACTTCAAGGAATGG
ACCTGTTCTTCTGCTCCATCTCTGCCCAGAAGCTGCAAGGAAATCAAAGCAGAATGTCCTAGT
GCATTTGATGGCCTGTATTTTCTCCGCACTGAGAATGGTGTATCTACCAGACCTTCTGTGAC
ATGACCTCTGGGGGTGGCGGTGGACCTGGTGCCACGCTGCATGAGAAATGACATGCGTGGG
AAGTGACGGTGGGCGATCGTGCTCCAGTCAAGCAGGCGAGCAAAAGCAGACTACCCAGAGGGG
GACGGCAACTGGGCCAACTACAACACCTTTGGATCTGCAGAGCGGCCACGAGCGATGACTAC
AAGAACCCTGGCTACTACGACATCCAGGCCAAGGACCTGGCCATCTGGCAGCTGCCAATAAG
TCCCCATGCAGCACTGGAGAAACAGCTCCCTGCTGAGGTACCGCACGGACACTGGCTTCTCTC
CAGACACTGGGACATAATCTGTTGGCATCTACCAAGAAATATCCAGTGAATATGGAGAAGGA
AAGTGTGGACTGACAACGGCCCGGTGATCCCTGTGGTCTATGATTTTGGCGACGCCAGAAAA
ACAGCATCTTATTACTACCCATGATGGCCAGCGGAATTCAGTCGGGAATTTGTTCAAGTTCAGG
GTATTTAATAACGAGAGAGCAGCCAACGCCCTGTGTGCTGGAATGAGGCTCACCGGATGTAAC
ACTGAGCATCACTGCATTGGTGGAGGAGGATACTTCCAGAGGCCAGTCCCAGCAGTGTGGGA
GATTTTCTGGTTTGTATGGATGGATATGGAACATCTTGTGTTACAGCAGCAGCGGTGAG
ATAACTGAGGCAGCTGTGCTTCTATTTCTATCGTTGAGAGTTTGTGGGAGGGAACCCAGACCT
CTCTCCCAACCATGAGATCCCAAGGATGGAGAACAACTTACCCAGTAGCTAGAATGTTAATG
GCAGAAGAGAAAAACAATAAATCATATTGACTCAAGAAAAAAA

【図 8 5】

AACAGACGTTCCCTCGCGGCCCTGGCACCTCTAACCCACAGACATGCTGCTGCTGCTGCTGCC
CTGCTCTGGGGAGGGAGAGGGCGGAAGGACAGACAAGATAAATGCTGACGATGCAGAGTCC
GTGACGGGTGCAGGAAGGCTGTGTGTCCATGTGCCCTGCTCTCTCTCTACCCCTCGCATGGC
TGGATTTACCTTGGCCAGTAGTTTATGGCTACTGGTTCCGGGAAGGGGCCAATACAGACCAG
GATGCTCCAGTGGCCACAAACCCAGCTCGGGCAGTGTGGGAGGAGACTCGGGACCGATTCC
CACCTCCTTGGGGACCCACATACCAAGAAATGCAACCTGAGCATCAGAGATGCCAGAAGAAT
GATCGGGGAGATACTTCTTTCGTATGGAGAAAGGAATATAAATGGAATTATAAACATCAC
CGGCTCTCTGTGAATGTGACAGCCTTGACCCACAGGCCCCAACATCTCTCCAGGACACCTG
GAGTCCGGCTGCCCCAGAATCTGACCTGCTCTGTGCCCTGGGCTGTGAGCAGGGGACACCC
CCTATGATCTCTGGATAGGACCTCCGTGTCCCTCCCTGGACCCCTCCACACCCGCTCTCTCG
GTGCTCACCTTCATCCACAGCCCCAGGACCATGGCACCGCTCACCTGTGAGGTGACCTTC
CCTGGGGCCAGCGTGACCACGAACAAGACCGTCCATCTCAACGTGTCTTACCCGCTCAGAAC
TTGACCATGACTGCTCTTCCAAGGAGACGGCACAGTATCCACAGTCTTGGGAATGGCTCATCT
CTGTCACTCCCAGAGGGCCAGTCTCTGCGCCTGGTCTGTGTCAGTTGATGCAAGTTCAGAGCAAT
CCCCCTGCCAGGCTGAGCTGAGCTGGAGAGGCTGACCTGTGTGCCCTCACAGCCCTCAAA
C CCGGGGTGCTGGAGCTGCCTTGGGTGCACCTGAGGGATGCAGTGAAATTCACCTGCAGAGCT
CAGAACCTCTCGGCTCTCAGCAGGTCTACCTGAACGTCTCCCTGCAGAGCAAAAGCCATCA
GGAGTCACTCAGGGGTGGTGGGGGAGCTGGAGCCACAGCCCTGGTCTTCTGTCTCTCTGC
GTCTCTTCTGTTAGTGAGGTCTCTGAGGAAGAAATCGGCAAGGCCAGCAGCGGGCGTGGGA
GATACGGGCATAGAGGATGCAAACTGTGTCAGGGGTTGAGCTCTCAGGGGCCCTGACTGAA
CCTTGGGCAGAAAGACAGTCCCCAGACCCAGCTCCCCAGCTTCTGCCCCCTCTCAGTGGGG
GAAGGAGAGCTCCAGTATGCATCCCTCAGCTTCCAGATGGTGAAGCTTGGGACTCGCGGGGA
CAGGAGGCCACTGACACCGAGTACTCGGAGATCAAGATCCACAGATGAGAACTGCAGAGACT
CACCTCGATTGAGGGATCACAGCCCTCCAGGCAAGGGAGAAGTCAGAGGCTGATTTCTGTAG
AATTAACAGCCCTCAACGTGATGAGCTATGATAACATATGAATATGTGTCAGAGTGAAAGC
ACACAGGCTTTAGAGTCAAGATATCTCAAACTGAAATCCACACTGTGCCCTCCCTTTTATTTT
TTTAACTAAAAGACAGACAAATCTCTA

【図 8 8】

MNQLSFLFLIATTRGWSTDEANTYFKWETCSSSPSLPRSCKEIKDECPASF DGLYFLRTENG
VIYQTFCDMTSGGGGWLTVASVHENDMRGKCTVGDWRSSQQGSADYPEGDNWANYNTFGSA
EAATSDDYKNPGYYDIAKDLGIWHVPNKSFMQHWRSNLLRYRTDTGFLQTLGHNLFGIYQK
YPVKYGEKWCWTDNGPVPVVDGCDAXTASYSPYQCREFTAGFVQFRVFNNERAANALCA
GMRVTGCNTEHHCIGGGGYFPEASPPQCGDFSGFDWSGCTHVGYSSSREITEAAVLLFYR

重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-16

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 163-167

グリコサミノグリカン付着部位.

アミノ酸 74-78, 289-293

N-メリスチル化部位.

アミノ酸 76-82, 115-121, 124-130, 253-259, 292-298

【図 8 9】

CTAGATTTGTGCGCTTGCGGGGAGACTTCAGGAGTCGTGCTCTGAACTTCCAGCCTCAGAG
ACCGCCGCCCTTGTCCCGAGGGCCATGGCGCGGCTCTCAGGCGTGTGCGCTCTCGCTTCT
GACGCTCTGGCGCATCTGGTGGTCTCATCCTTATTCTGGTCCCGGGACAGCAACATACA
GGCTGCGCTGCCCTCTCAGCTTCACCCCGAGGAGTATGACAAGCAGGACATTCAGCTGGTGGC
CGCGCTCTCTGTCAACCTGGGCTCTTTGCAAGTGAGCTGGCGGTTTCTCTCAGAGTCTC
CATGTTCAACAGCACCCAGAGCCTCATCTCCATTGGGCTCACTGTAGTGCATCCGTGGCCCT
GTCCCTTCTCATATTGAGCGTTGGGAGTGCACTACGATTTGGTACATTTTCTCTCTCCAG
TGCCCTTCCAGCTGTCACTGAAATGGCTTTATTGCTACCGTCTTTGGGCTGAAAAAGAAACC
CTTCTGATTACCTTTCATGACGGGAACCTAAGGACGAAGCCTACAGGGGCAAGGGCCGCTTCTGT
ATTCTTGAAGAAGGAAGGCATAGGCTTCGGTTTTCCTCCGGAACCTGCTTCTGCTGGAGGA
TATGTGTTGGAATAATTACGCTTGTAGTCTGGGATATCCGCAATGATTTTGTAGTCTTTGTAA
TAAAAATATGTTTGTAGTAACATTAAAGCAATTATACAGTTTATGGGACAAATAAAAA
AAA

【図 9 0】

MGRVSLVPSRFLTLAHLVVVITLFWSRDSNIQACLPLTFTPEEYDKDIQLVAALSVTLGL
FAVELAGFLSGVSMFNSTQSLISIGAHCSASVALSFFIFERWECTTYWYIFVFCALPAVTEM
ALFVTVFGLKKKPF

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 12-28 (II型), 51-66, 107-124

【図 9 1】

CTGGGACCCCGAAAAGAGAAGGGGAGAGCGAGGGGACGAGAGCGGAGGAGGAAG**ATG**CAACTG
ACTCGCTGCTGCTTCGTGTCTCTGGTGCAGGGTAGCCTCTATCTGGTCATCTGTGGCCAGGAT
GATGGCTCTCCCGGGCTCAGAGGACCTTGAGCGTGATGACCACGAGGGCCAGCCCCGGCCCCGG
GTGGCTCGGAAGCGGGGCCACATCTCACCTAAGTCCCGCCCCATGGCCAAATTCACCTCTCCTA
GGGCTGCTGGCCCCGCTGGGGAGGCTTGGGGCATCTTGGGCAGCCCCCAACGCCCGCAAC
CACAGCCCCCACCCTCAGCCAAGGTGAAGAAAATCTTTGGCTGGGGCGACTTCTACTCCAAC
ATCAAGACGGTGGCCCTGAACCTGCTCGTCACAGGGAAGATTGTGGACCATGGCAATGGGAC
TTCAGCGTCACTTCCAACACAATGCCACAGGCCAGGGAAACATCTCCATCAGCCTCGTGCCCC
CCCAGTAAAGCTGTAGAGTTCACCCAGGAACAGCAGATCTTCATCGAAGCCAAGGCCCTCCAAA
ATCTTCAACTGCCGATGGAGTGGAGGAAGGTAGAACGGGGCCGCCGACCTCGCTTTGCAC
CACGACCCAGCCAAGATCTGCTCCCGAGACACCGCTCAGAGCTCAGCCACCTGGAGCTGCTCC
CAGCCCTTCAAAGTCGCTGTGCTACATCGCCTTCTACAGCACGGACTATCGGCTGGTCCAG
AAGGTGTGCCAGATTACAACATACCATAGTGATACCCCTACTACCCATCTGGGT**GGA**CCCCGG
CGAGGCCACAGAGGCCAGGCCAGGGCTGGAAGGACAGGCCTGCCATGCGAGGAGACCATCTGG
ACACCGGGCAGGGAAAGGGTTGGGCTCAGGCAGGGAGGGGGTGGAGACGAGGAGATGCCAA
GTGGGGCCAGGGCCAAGTCTCAAGTGGCAGAGAAAGGGTCCCAAGTGTGCTGCCAACCTGAA
CGCTGTGGAGTGAATAGATCACAGAGCACTGGAGGAGGAGTGGGCTCTCTGTGACGCCTCAC
GGGCTTTGCCACGGAGCCACAGAGAGATGCTGGGTCCCCGAGGCCTGTGGGCAGGCCGATCAG
TGTGGCCCCAGATCAAGTCAATGGAGGAAGCTAAGCCCTTGGTCTTGCCATCCTGAGGAAAG
ATAGCAACAGGGAGGGGAGATTTTCATCAGTGTGGACAGCCTGTCAACTTAGGATGGATGGCT
GAGAGGGCTTCTTAGGAGCCAGTACGACGGGTGGGGTGGGGCCAGAGGAGCTCTCCAGCCCTG
CCTAGTGGGCCCTTGAGCCCTTGTGCTGTCTGAGCATGGCATGAGGCTGAAGTGGCAACC
CTGGGGTCTTGATGCTCTTGACAGATTGACCATCTGTCTCCAGCCAGGCCACCCCTTTCCAAA
ATTCCCTCTTCTGCCAGTACTCCCCCTGTACCACCCATTGTGATGGCACACCCCATCCTTAA
CTAAGACAGGACGATTGTGGTCTCCACACTAAGGCCACAGCCCATCCGCGTGTCTGTGTCT
CCTCTTCCACCCCAACCCCTGCTGGCTCCTCTGGGAGCATCCATGTCCCGGAGAGGGTCCCT
CAACAGTCAGCCTCACCTGTCTAGACCGGGTCTTCCCGGATCTGGATGGCGCCGCCCTCTCAG
CAGCGGGCACGGGTGGGGCGGGCCGGCCCGCAGACATGCTGCTGGATCTGTTCTGTGTGTCT
GTCTGTGGGTGGGGGAGGGGAGGAGTCTTGTGAACCGCTGATTGCTGAGTTTGTGTGTGA
AGAACTCGTGTTCTTGGAGCAGGAATAAAGCTTGCCTCCCGGGCA

【図 9 4】

MTAAVFFGCAPAFAPGALALVYPTIAIEPLRIIFLIAGAFFWLVLSSLVFMARVINDK
DGPOTQKYLIFGAFVSVYIQEMFRFAYKLLKAKSEGLKSNPGETAPSMRLLAYVSCLGFIGI
MSGVFSFVNTLSDSLPGPTVGIHGDSQFFLYSAFMTLVIIILHVFVGIVFFDGCEKKKWGIL
LVLVLLTHLLVSAQTFISSYYGILNASAFIILVLMGTWAFLAAGGSCRSLKCLLQDKNFLLY
NQRSR

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-19

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 32-51, 119-138, 152-169, 216-235

グリコサミノグリカン付着部位:

アミノ酸 120-123

ナトリウム:神経伝達物質共輸送体ファミリータンパク質

アミノ酸 31-65

【図 9 5】

AAATTTTCCACAGAGTAACTTGAGAAACCAACTGGACCTTGAGTATTGTACATTTTGCTCG
TGGACCCAAAGGTAGCAATCTGAAAC**ATG**AGGAGTACGATTCTACTGTTTGTCTTCTAGGAT
CAACTCGGTCAATTACCACAGCTCAAACCTGCTTTGGGACTCCCTCCACAAAACTGGCTCCGG
ATCAGGGAACACTACCAAACCAACAGCAGTCAAATCAGGTCTTTCTTTTAAGTCTGATAC
CATTAACACAGATGCTCACACTGGGGCCAGATCTGCATCTGTTAAATCCTGCTGCAGGAATGA
CACCTGGTACCAGACCCACCCATTGACCTGGGAGGGTTGAATGTACAACAGCAACTGCACC
CACATGTGTTACCAATTTTGTACACAACTTGGAGCCAGGGCACTATCCTAAGCTCAGAGG
AATTGCCACAAATCTTCAGAGCCTCATCTCCATTCCTTGTTCCTGGGAGGCATCTGCCCA
CCAGTCAGGCAGGGGCTAATCCAGATGTCTCAGGATGGAAGCCTTCCAGCAGGAGGACAGGTG
TAAATCTCTGCCACCCAGGGAACCCAGCAGGCCGCTCCCAACTCCAGTGGCACAGATGACG
ACTTTGCAGTGACCCCTCGAGGCATCCAAGGAGCACACATGCCATCGAGGAAGCCACCA
CAGAATCAGCAAAATGGAATTCAGT**AA**AGCTGTTCAAATTTTCAACTAAGCTGCCTCGCAAT
TGGTGATACATGTGAATCTTTATCAATTGATTATATTATGCAATAGATTGAGACACATTGGATA
GTCTTAGAAGAAATTAATCTTAATTTACCTGAAAATATCTTGAAATTCAGAAAAATATGTT
CTATGTAGAGAAATCCCACTTTTAAAAACAATAATTCAATGGATAAATCTGCTTTGAAATAT
AACATTATGCTGCCTGGATGATATGATATTTAAACATATTTGGAAAACTGGAAAAA
AA
AA

【図 9 2】

MQLTRCCFVFLVQGSYLVLVICGQDDGPPGSEDPERDDHEGQPRFVRPRKRGHISPKSRPMANS
TLGLLAPPGEAWGILGQPPNRPNHSPPPSAKVKKIFGWGDFYSNIKTVALNLLVTGKIVDHG
NGTFSVHFQHNATGQGNISISLVPPSKAVEFHQEQQIFIEAKASKIFNCRMWEKXVERGRRTS
LCMTHDPAKICSRDHAQSSATWSCSQPFKVVCVYIAFYSTDYRLVQKVCDPDYNHSDTPYYPSPG

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-14

N-グリコシル化部位:

アミノ酸 62-65, 127-130, 137-140, 143-146

2-オキソ酸脱水素酵素 アシル基転移酵素

アミノ酸 61-71

【図 9 3】

CGGTGGCC**ATG**ACTGCGGCGGTGTTCTTCGGCTGCGCCTTCATTGCCCTCGGGCCTGCGCTCG
CCCTTTATGTCTTACCATCGCCATCGAGCCGTTGCGTATCATCTTCTCATCGCCGAGCCTT
TCTTCTGGTGGTGTCTCTACTGATTCTGTCCTTGTTTGGTTTCATGGCAAGAGTCATTATTG
ACAACAAAGATGGACCAACACAGAAATATCTGCTGATCTTTGGAGCGTTGTCTCTGCTATA
TCCAAGAAATGTTCCGATTTCATATTATAAACTCTAAAAAAGCCAGTGAAGTTGAAGA
GTATAAACCCAGGTGAGACAGACCCCTCTATGCGACTGCTGGCCTATGTTCTGGCTTGGGCT
TTGGAATCATGAGTGGAGTATTTTCTTTTGAATACCCATCTGACTCCTTGGGGCCAGGCA
CAGTGGGCATTTCATGGAGATTCTCCTCAATTCTCCTTTATCAGCTTTCATGACGCTGGTCA
TTATCTTGCTGCATGATTCTGGGGCATGTATTTTGTGATGGCTGTGAGAGAAAAAGTGGG
GCATCTCTCTATCTGTTCTCTTGACCCACCTGCTGGTGTGACGCCAGACCTTCATAAGTCTCT
ATTATGGAATAAACCTGCGCTCAGCATTATATAATCCTGGTGCTCATGGGCACCTGGGCATTCT
TAGCTGCGGGAGCAGCTGCCGAAGCCTGAAACTCTGCTGCTCTGCCAAGACAAGAACTTTC
TTCTTTACAAACAGCGCTCCAGAT**TA**ACTCAGGGAACAGCACTTCCCAACCGCAGACTACA
TCTTTAGAGGAAGCACAACTGTGCTTTTCTGAAAAATCCCTTTTCTGGTGGAAATGAGAAA
GAAATAAACTATGCAGATA

【図 9 6】

MRSTILLFCLLGSTRSLPQLKALGLPPTKLAPDQGLPNQQSNQVFPSSLISLIPLTQM
LTLGPDHLHNPAAAGMTPGTQTHPLTLGGLNVQQQLHPHVLPPIFVTQLGAQGTILSSEE
LPQIFTSLSIHLSPGGILPSTSQAGANPDVQDGSLPAGCAGVNPATQCTPAGRIPTPSG
TDDDFAVTTTAPGIRQSTHAIEATTESANGIQ

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-16

【 図 9 7 】

GCTCAAGTGGCCTGGCTTGCCCAACCCAGGCCAGCCTGGCCAGAGGCCCTGGAGAAGGAGCT
CTCTTCTTGGCTTGGCAGCTTGGACCAAGGGAGCCAGCTCTTGGCGCTGGAGGGCTGCTCTGAC
CA**ITG**CTCCCTGCCCTGGCTTGGCTGCTTGTGCTCCCTCCCCAGGCTCTCTCCCAAGGCCCA
CTCTGACAGAGCTGTCTGTGGAAGTTCCAGAAACATATGGTGGAAATTTCCCTTTATCTGAC
CAAGTTGCCGCTGCCCGTGAGGGGGCTGAAGGCCAGATCGTGCTGTCAAGGGGACTCAGGCA
GGCAACTGAGGGGCCATTGCTATGGAATCCAGATTCTGGCTTCTGTGCTGGTACAGGGGCCCT
GGACCCGAGAGGAGCAGGACAGAGTACCAGCTACAGGTCACCTCGGAGATCAGGAGTGGACATTT
CTTTGGGGCTCCACAGCCTGTGCTTTGTGCACCTGAAGGATGAGAAATGACCAGGTGCCCATTT
CTCTCAAGCCATCTACAGAGCTCGGCTGAGCGGGGTACCAGGCCCTGGCATCCCTCTCTCTTT
CCTTGAGGCTTCAGACCCGGGATGAGCCAGGCACAGCAACTCGGATCTTCGATTCCACATCTCT
GAGCCAGGCTCCAGCCAGCCTCTCCCAAGACATGTTCCAGCTGGAGCCTCGGCTGGGGCTCT
GGCCTTCAGCCCCAAGGGGAGCACCAGCCTTGACCAACGCCCTGGAGAGGACCTACAGCTGTT
GGTACAGGTCAGAGACATGGGTGACAGGGCCTCAGGCGACCCAGGCCACTGCCACCTGGAGAT
CTCCATCATGAGAGCAGCTGGGTGCTCCCTAGAGCCTATCCACCTGGCAGAGAACTCCAAGT
CTTATACCCCGACCCACATGGCCAGGTACACTGGAGTGGGGCTGATCTGCATCTACCTTGA
GAGCCATCCCCCGGACCTTTGAAGTGAATCGAGAGGAAACCTCTACCTGACACAGAGCT
GGACAGAGAAGCCAGGCTGAGTACCTGCTCCAGGTGCGGCTCAGAAATCCCATGGCAGGA
CTATGGCGGCCCTCTGGAGCTGACAGTGTGGTGATGGATGAGAATGACAACCTGCCTATCTG
CCTCCCGGTGACCCAGCTAGCATCCTGAGCTCAGTCCACAGGTACTGAAGTGACTAG
ACTGTACAGAGGATGAGATGCCCGCCGGCTCCCCCAATTTCCACGTTGTGTATCAGTCTCT
GAGCCCTGAGCCTGAGGATGGGGTAGAGGGGAGAGCCTTCAGGTGGACCCCACTTCAGGCAG
TGTGACGCTGGGGGTGCTCCCATCCGAGGAGGCCAGAACATCCTGCTTCTGGTGCTGGCCAT
GGACCTGGCAGGGCGAGAGGGTGGCTTCAGCAGCACGTGTGAAGTGAAGTGCAGTTCACAGA
TATCAATGATCAGGCCCTGAGTTTACATCTTCCAGATTTGGGCCATAAGCCTCCCTGAGGA
TGTGGAGCCCGGACTCTGGTGGCAGTCAAGAGCCATGATGCTGACCTCGAGCCCGCTT
CGCCTCATGGATTGTCATTTGAGAGGGGAGACACAGAGGACTTTTGGCTGGATTGGGA
GCCAGACTCTGGGATGTAGACTCAGACTCTGCAAGAACTCTAGTTATGAGGCAGCTCCAAG
CTATGAGGTGGTGGTGGTGACAGTGTGGCGAAGCTGGTGGGGCCAGGCCAGGCCCTGG
AGCCACCGCCACCGTGAATGTGTAGTGGAGAGAGTGATGCCACCCCCCAAGTTGGACAGGA
GAGCTACGAGGCCAGTGTCCCATCAGTGCCCGAGCGGCTCTTTCTGCTGACCATCCAGCC
CTCCGACCCCATCAGCCGAACCTCAGGTTCTCCCTAGTCAATGACTCAGAGGGCTGGCTCTG
CATTTGAGAAATTTCTCGGGGAGGTGCACACCGCCAGTCCCTGCAGGGCGCCAGCCTGGGA
CACCTACACGGTGCTTGTGGAGGCCAGGATACAGCCCTGACTTCTGGCCCTGTGCCCTCCCA
ATACCTCTGCACACCCCGCCAAAGCATTGGTGTGATCGTGAGTGGACCCAGCAAGGACCCGGA
TCTGGCCAGTGGGACCGGCTCCTACAGCTTCAACCTTTGGTCCCAACCCACGGTGCAACGGGA
TGGGCGCTTCAGACTCTCAATGGTTCCCATGGCTTCACTTCCAGCTTGGCCCTGGATTGGGTGA
GCCAGCTGAACCATATAGCCCGGTGGTGGCTCAGCAGCTTGAAGCTGCACAACTTTCAAATGA
TCTGAGTGATCCAGTGTGACTCTGCTCAAGCTGGAGGGGAGTCACTGCCAGCTGGGCGCCAGT
GGCATGGCCACCAAGCTCTGCGCAGTGGGCATCTTTGAGGCACCTGGTAGCAATAGAAAT
CTTCTCTATCTCATTTCACCCACTGGACCATCTCAAGGAAGAGGACCCGATCAACACG
AGACAGCTGGCCCTGAAGGGCACTGT**TA**AAATGGCCAGGCAGCTCAGCTGGGAGCTTGGC
CTCTGGCTCCATCTGAGTCCCTTGGGAGAGAGCCAGCACCCAGATCCAGCAGGGGACAGGA
CAGAGTAGAAGCCCTCCATCTGCCCTGGGTGGAGGCACCATCACCATCACCAGGCATGCTC
CGAGAGCCTGGACACCAACTTTATGGACTGCCCATGGGAGTGCTCCAATGTCAAGGTGTTTG
CCCAATAATAAGCCCAAGAGAATGGGCTGGGCCCTATGGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAG

【 図 9 9 】

GGCTGACCGTGCTACATTGCTGGAGGAAGCCTAAGGAACCCAGGCATCCAGCTGCCACGCC
TGAGTCCAAGATTCTTCCAGGAACACAAACGTAGGAGACCCAGCCTCTCGAAGCACAGCC
TTATCTCTTCACTTCAAGTCCCTTTCTCAAGAACTCTCTGTCTTTTGGCCCTAAAGCTT
TGGTACATCTAGGACCCAGGCATCTTGTCTTCCAGGCCACAAAGAGACAG**ATGA**AGATGGCAGAA
AGGAATGTTCTCCTTATGTTTGGCTCACTATTGGCATTTAGAAGCTGCACAACTTTCAAATGA
GACTAGCACCTCTGCCAACTCTGGATCCAGTGTGATCTCCAGTGGAGCCAGCACAGCTCCATGG
CTCTGGGTCCAGTGTGACTCTGAGTGGGGCTAGCACAGCCACATCTCAGGGCTGACGCTGAC
CTCCAATGGGGTCAGATAGTCCACAACTCTGAGTTTCATACACACTCTCAGCTGGGATCAGCAC
AGCCACCAACTCTGAGTTCAAGCACAGCCTCAAGTGGGATCAGCATAGCCACCAACTCTGAGTC
CAGCACAACTTCCAGTGGGGCCAGCACAGCCAACTCTGAGTCCAGCACACCTTCCAGTCTCCAGTGG
GGCCAGCACAGTCAACAACTCTGGGTCCAGTGTGACTTCCAGTGGAGCCAGCACCTGCCACCAA
CTCTGAGTCCAGCACAGTGTCCAGTAGGGCCAGCACTGCCACCAACTCTGAGTCTAGCACACT
CTCCAGTGGGGCCAGCACAGCCACCAACTCTGACTCCAGCACAACTTCCAGTGGGGCTAGCAC
AGCCACCAACTCTGAGTCCAGCACAACTCCAGTGGGGCCAGCACAGCCACCAACTCTGAGTCT
CAGCACAGTGTCCAGTAGGGCCAGCACTGCCACCAACTCTGAGTCCAGCACAACTTCCAGTGG
GGCCAGCACAGCCACCAACTCTGAGTCCAGAACGACCTCCAATGGGGCTGGCACAGCCACCAA
CTCTGAGTCCAGCACAGCTTCCAGTGGGGCCAGCACAGCCACCAACTCTGACTCCAGCACAGT
GTCCAGTGGGGCCAGCACAGCTGCCACCAACTCTGAGTCCAGCACAACTTCCAGTGGGGTCCAGCAC
AGCCACCAACTCTGAGTCCAGCACAACTTCCAGTGGGGCTAGCACAGCCACCAACTCTGACTCT
CAGCACAACTTCCAGTGGGGCCAGCACAGCCACCAACTTCCAGTCCAGCACAGTCTCCAGTGG
GATCAGCACAGTCAACAACTTCTGACTCCAGCACACCTTCCAGTGGGGCCACACAGCCACCAA
CTCTGAGTCCAGTACAGCTTCCAGTGGGGCCACACAGCCACCAACTCTGAGTCCAGCACAGT
GTCCAGTGGGGCCAGCACTGCCACCAACTCTGAGTCCAGCACAACTTCCAGTGGGGTCCAGCAC
AGCCACCAACTCTGAGTCCAGCACAACTTCCAGTGGGGCTAGCACAGCCACCAACTCTGACTCT
CAGCACAACTTCCAGTGGGGCCAGCACAGCCACCAACTCTGAGTCTAGCACAGTCTCCAGTGG
GATCAGCACAGTCAACAACTTCTGACTCCAGCACAACTTCCAGTGGGGCCACACAGCCACCAA
CTCTGGGTCCAGTGTGACTCTGAGGCTTGGAACAGCAGCTCTGACTTGAATGCACACAACT
TTCCCATAGTGCACTACTGTGAGTGTGAGGCAAGAGCTGGTGGGTCTCTGGTGGCGTGGGA
AATCTTCTCATCACCTGGTCTCGGTTGTGGCGGCCGTGGGGCTCTTTGTGGGCTCTTCTT
CTGTGTGAGAAACAGCCTGTGCTTGAGAAACACCTTTAAACACAGCTGCTTACCACCTCTCATGG
CCTCAACCATGGCTTGGTCCAGGCCCTGGAGGGGAATCATGGAGCCCCACAGGCCACAGGTG
GAGTCTTAATGTTCTTGGAGGAGACCAAGTATCATGATAGCATGGAGATGAGGGGGAGGAA
CAGCGGGCTT**TA**AGCCCGCGGAGACAGACTGCCCTTCTCAGGAGGAAGAGAGCTTGGC
ACCCAGAGACTGGTTCTCTTCAATCTCCAGAGAGAGCCCTCCACCTTTGTTGAGATCTG
GAAATCTTGAAGAAGGATATCTTCACTTCTTGTGCTTTTACAGACACTGGAAAGAGAAATAC
TATATGTCTATTAGCTAAGAAATAAATACATCTCATCTAAACACACAGCAAAAGAGAAGCT
GTGCTTGCCCCGGGTGGGTATCTAGCTCTGAGATGAACCTAGTTATAGGAGAGAACTCCAT
GCTGGACTCCATCTGGCATTCAAAATCTCCACAGTAAATCCAAGACTTCAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【 図 9 8 】

MVPFWLWLLCVSVQALPKAQAELSVEVPENYGGNFPLYLTKLPLPREGAEGQIVLSGDSGK
ATEGPFAMDPDSGFLVLRALDREEQAEYQLQVTLQMQDGHVLWGPQVPLVHVKDENDQVPHF
SQAIYRARLSRGTRPGIPFLFLEASDRDEPFGTANSDLRFLHLSQAPAPQSPDMFQLEPRLGAL
ALSPKGSTSLDHALERTYQLLVQVKMDQDQASGHQATATVEVSIESTWVSLEPIHLENLKV
LYPHHMAQVHWSGGDVHYHLESHPPGPFVEVNAEGLVYVTRLDREAQAEYLLQVRAQNSHGED
YAAPLEHLVIMDENNVPICPDRPVTVSIPELSPPGTEVTRLSAEDADAPGSPNSHVYQLL
SPEPEDGVEGRAFQVDPITSGSVTLGVPLRAGQNLILLVAMDLAGAEGGFSSTCEVEVAVTD
INDHAPEFITSQIGPISLPEDVEPGTLVAMLTALDADLEPAFLRMDFAIERGDTGTFGLDWE
PDSGHVRLRLCKNLSYEAAPSEHVVVVVSQVAKLVGPGPGFATATVTVLVERVMPFPKLDQE
SYEASVPIAPAGSFLLTIQPSDPISTRLRFLSLVNDSEGWLCEKFSCEVHTAQSLQGAQPGD
TYTVLVEAQDTALTALPVPQYLCTPRQDHLIVSGPSKDPDLASGHGYPSTLCPNPTVQRD
WRLQTLNGSHAYLTLALHWVEPREHIPVVVSHNAQMQLLVVRVIVRCNVEGQCMRKAQVGRMK
GMPTKLSAVGILVGTLVAGIFLILIFTHWMTSRKKDQPADSVPLKATV

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-18

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 762-784

【 図 1 0 0 】

MKMQKGNVLLMFGILLHLEAATNSNETSTANTGSSVSSGASTATNSGSSVTSSTSGVSTATIS
GSSVTSNGVSIVTNSEFTHTSSGISATNSEFTASSGISIATNSESTTSSGASTATNSESS
TPSSGASTVTSNGSSVTSSTGASTATNSESTVSSRASTATNSESTLSSGASTATNSDSSTTS
SGASTATNSESTTSSGASTATNSESTVSSRASTATNSESTTSSGASTATNESRTSNGA
GTATNSESTTSSGASTATNSDSSTVSSGASTATNSESTTSSGASTATNSESTTSSGASTA
TNSDSSTTSSGASTATNSESTVSSGISVTNSESTTSSGANTATNSESTTSSGANTATNS
ESSTVSSGASTATNSESTTSSGVSTATNSESTTSSGASTATNSDSSTTSSEASTATNSESS
TVSSGISTVTNSESTTSSGANTATNSGSSVTSAGSGTAALTGMHTTSHSASTAVSEAKPGGS
LVPEWIFLITLVSVVAAGVLFAGLFPFCVRNLSLRNTFNTAVYHPHGLNHGLGPGPGGNHGA
P
HRPRWSPNFWRRPVSSTIAMESGRNSGP

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-20

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 510-532

【図 101】

GGCCGGACGCTCCGCGTTACGGGATGAATTAACGGCGGGTTCGCACGGAGGTTGTGACCCC
TACGGAGCCCAGCTTGCCACGACCCCACTCGGCGTCGCGCGCGCTGCCCTGCTTGTCACA
GGTGGAGGCTGGAACATACAGGCTGAAAAACAGAGTGGGTACTCTCTCTGGGAAGCTGGCA
ACAAATGGATGATGTGATATATGCATTCCAGGGGAAGGAAATTTGGTGTCTCTGAACCCAT
GGTCAATTAACGAGGACAGTTCTTAGCTACTGACGACTTCATAAAGCAGGACTCTAAAAGCT
TTGGAATCATGGTGTCATGGAAGGGATTACTTTATACTGACTCTGTTTTGGGGAAGCTTTT
TTGGAAGCATTTTCATGCTGAGTCCCTTTTACCTTTGATGTTTGTAACCCATCTTGGTATC
GCTGGATCAACAACCGCTTGTGGCAACATGGCTCACCTTACCTGTGGCATTATTGGAGACCA
TGTTTGGTGTAAGAATGATTATAAATCGGGATGCATTGTTCTCGGAGAAAAGTGTCATTA
TCATGAACCATCGGACAAGAATGGACTGGATGTTCTGTGGAATTGCTGTGCGATAGCT
ACCTCAGATTGGAGAAAATTTGCCCTCAAAGCAGCTCTCAAAGGTGTTCTGGATTGGTTGGG
CCATGCGAGGCTGCTGCCTATATCTTCAATCATAGGAAATGGAAGGATGACAAGACCATTTTCG
AAGACATGATTGATTACTTTTGTGATATTCAGCAACCATCTCAACTCTCATATTTCCAGAAG
GGACTGATCTCACAGAAAACGCAAGTCTCGAAGTAATGCATTTGCTGAAAAAATGGACTTC
AGAAAATGAAATGTTTTACATCTCAAGAACTACAGGCTTACTTTTGTGGTAGACCGCTCTAA
GAGAAGGTAGAACCTTGATGCTGTCATGATATCACTGTGGCGTATCCTCACAACTATCTCTC
AATCAGAGAAGCACCTCTCCAAGGAGACTTTCCAGGGAATCCACTTTCACGTCCACCGGT
ATCCAATAGACACCTCCACATCCAAGGAGGACCTTCAACTCTGGTCCCAAAACGGTGGG
AAGAGAAAAGAGAGGCGTGCCTTCTCTATCAAGGGAGAAGAATTTTTATTTTACCGGAC
AGAGTGTCAATTCACCTTGCAAGTCTGAACCTCAGGCTCTTGTGGTCAAAATGCTCTCTATAC
TGATTTGGACCTGTTACGCCCTGCAATGTGCCCTACTCATATATTTGTACAGTCTTGTAAAGT
GGTATTTTATAATCACCATTGTAATCTTTGTGCTGCAAGAGAGAATATTTGGTGAGCTGGAGA
TCATAGAACTTGCATGTTACCGACTTTTACACAAACAGCCCAITTAATTCAGAAAAAATG
AGTAAAGATTATAAGGTTTGCCATGTGAAAACCTAGAGCATATTTGGAAATGTTCTAAACCTT
TCTAAGCTCAGATGCATTTTGCATGACTATGTGCAATATTTCTTACTGCCATCATTTATTTGT
TAAAGATATTTTGCACCTTAATTTTGTGGGAAAAATATTTGCTACAAATTTTATACTCTGATA
TGTAATTTGATACTGTGTACATAGCAGGAGTGATCGGGGTGAAATAACTTGGGCCAGAATA
TTATTAAACAATCATCAGCTTTTAAAT

【図 103】

CGGCTCGAGCGGCTCGAGTGAAGAGCCTCTCCACGGCTCTGCGCCTGAGACAGCTGGCCTGA
CCTCCAAATCATCCATCCACCCCTGCTGTCATCTGTTTTCATAGTGTGAGATCAACCCACAGG
AATATCCATGGCTTTTGTGCTCATTTTGGTTCTCAGTTTCTACGAGCTGGTGTGAGGACAGTG
GCAAGTCACTGGACCGGGCAAGTTTGTCCAGGCTTGTGGGGGAGGACGCGGTGTTCTCTCTG
CTCCCTCTTTCTGAGACAGTGCAGAGGCTATGGAAGTGGGTTCTTTCAGGAATCAGTTTCCA
TGCTGTGGTCCACCTCTACAGAGATGGGGAAGATGGGAATCTAAGCAGATGCCACAGTATCG
AGGGAGAATGAGTTTGTGAAGGACTCCATTGCAAGGGGGCGGTGCTCTCTAAGGCTAAAAAA
CATCACTCCCTCGGACATCGGCTGTATGGGTGCTGGTTTCACTCCAGATTTACGATGAGGA
GGCCACCTGGGAGCTGGGGGTGGGACGACATGGGCTCATTCTCTCATTTTCATCGTGGGATA
TGTTGACGGAGGTATCCAGTTACTCTGCTGCTTTCAGGCTGCTTCCCCAGGCCACAGCAAA
GTGGAAAGGCTCCACAGGACAGGATTTGCTTTCAGACTCAGAGCAATGCGATGGGTACAG
CCTGTATGATGTGGAGATCTCCATATATAGTCCAGGAATAATGCTGGGAGCATATTTGTGTTCCAT
CCACCTTGCTGAGCAGATCATGAGTGGAAATCCAAAGTATTTGATAGCAGACAGCTTTTTCAC
GCCCTCACCTTGCGCGCTGCTTCTATTTTACTCGGTTACTCTGTGGTGCCCTGTGTGGTGT
TGTCATGGGGATGATAATTGTTTCTCAAATCCAAAGGGAATAACCGAGCGGAATGAGCTG
GAGAAGAAAGCACGGACAGGCAGAAATGAGAGACGCCCGGAACACGAGTGGAGGTGACTCT
GGATCCAGAGACGGCTCACCGAAGCTCTGCGTTTCTGATCTGAAAACTGTAAACCATAGAAA
AGCTCCCCAGGAGTGCCTCACTCTGAGAAGAGATTACAAAGGAAGAGTGGGTGGCTTCTCA
GGGTTCCACAGCGGAGACATTAATGGAAGGTGGAGTGGGACAAAAATGTAGGGTGGTATGT
GGGAGTGTGTCGGGATGAGTGAAGAGGAGGGAAGAACATGTGACTTTGTCTCCCAACAATGG
GTATTTGGGTCTCAGACTGACACAGAACATTTGTATTTACATTCATATCCCATTTTATTCAG
CTCTCCCTCCAGACCCCTCTACAGAGTGGGGCTTTCTGCACTTACAGGCTGGGACAT
CTCTTCTTCAATACAAATGACAGTCTCTTATTTATACCTCTGACATGTCTGATTTGAAGG
CTTGTGAGACCTTATATCCAGCATGCGATGTATGACGAGGAAAAAGGGGACTCCCATATTCAT
ATGTCCAGTCTCTGGGATGAGACAGAGAAGACCTGTCTTAAAGGGCCCCACACACAGACC
CAGACACAGCCAAAGGAGATGCTCTCCGACAGGTGGCCCCAGCTTCTCTCCGAGCCTGCGC
ACAGAGAGTACGCCCCCCTCTCTCTTATAGGAGCTGAGGTTCTTCTGCGCTGAGCCCTGCA
CGAGCGGAGTCAAGCTTCCAGATGAGGGGGGATTTGGCTGACCTGTGGGAGTCAGAAAGCC
ATGGCTGCCCTGAAGTGGGGACGAATAGACTCACATTAGGTTTAGTTTGTGAAAACTCCATC
CAGCTAAGCGATCTTGAACAAGTCACAACCTCCAGGCTCTCTATTTGCTAGTCACGGACAGT
GATTCTGCCTCACAGGTGAAGATTAAAGAGACACGAAATGTGAATCATGCTTGACAGGTTTGA
GGGCACAGTGTGTGCTAATGATGTGTTTTTATATTATACATTTTCCACCATTAACCTCTGTTT
GCTTATTCCACATTAAATTTACTTTTCTCTATACCAATCACCCATGGAATAGTTATTGAACAC
CTGCTTTGTGAGGCTCAAAAGAAATAAGAGGAGGTAGGATTTTTCAGTATTCATAAGCCCCAG
CATTAAGCTGATACAAACAGCAAGCAAAACAGAGAGAGAGAGAAACATACAGGTCCA
TATCCCTCATTAACACAGACACAAAATTTCTAAATAAAATTTTAAACAATTAATCAACAAT
ATATTAAAGATGATATAAATCTACTAGTGTGGTTTGTCCCACAAAATGCAGAGTTGGTTAA
TATTTAAATATCAACAGTGTAAATCAGCACATTAATAAGTAAAAAGAAAACCATAAAAA
AAAAA

【図 102】

MHSRGREIVVLLNPWSINEAVSSYCTYFIKQDSKSFIMVSWKGIYFILTLFWGSFFGSIFML
SPFLPLMFVNPSWYRWINNRLVATWLTLPVALLETMTFGVKVITGDAFVPGERSVIIMNHRTR
MDWMFLWNCIMRYSYLRLEKICLKASLKGVPFGWAMQAAAYIFIHRKWKDDKSHFEDMIDYF
CDIHEPLQLLIFPEGTDLTENSRSNAFAEKNGLQKYRYVLHPRTTGTFTFVVDRLREGKNLD
AVHDITVAYPHNIPQSEKHLQGDFFREIFHFVHRYPIDTLPTSKEDLQLWCHKRWEEKEERL
RSFYQGEKNFYFTGQSVIPPCSELRVLVVKLLSILYVTLFSPAMCLLIYLSLVKWIITTI
VIFVLQERIFGGLEIIEIACRYLLHKQPHLNSKKNE

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-22

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 44-63, 90-108, 354-377

【図 104】

MAFVLILVLSFYELVSGQWQVTPGPKFVQALVGEDAVFSCSLFPETSAAEMEVRFFRNQFHAV
VHLYRDGEDWESKQMPQYRGRTEFVKDSIAGGRVSLRLKNITPSDIGLYGCWFSSQIYDEEAT
WELRVAALGSLPLISIVGYVDGGLQLCLSSGWFFPQPTAKWKGFPQGDLSSDSRANADGYSLY
DVEISIVQENAGSILCSIHLEQSHVESKVLIGETFPQPSWRLASILLGLLCCALCGVVM
GMIIVFFKSKGIQAEILDWRKHHQAEILDRKHAVEVTLDPETAHPKLCVSDLKTVTHRKAP
QEVPHSEKRFRTRKSVVASQGFQAGRHYWEVDVGVQNVGVYGVCRDDVDRGKNVTLSPNNGYW
VLRLTTEHLYFTFNPHFISLPPSTPPTRVGVFLDYEGGTISFPNTNDQSLIYTLTLTCQFEGLL
RPYIQHAMYDEEKGTFIFICPVSWG

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-17

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 131-150, 235-259

【図 105】

CCTTCACAGGACTCTTCATTGCTGGTGGCA**ATT**AGTATCGGCCAGATGTGGTGAGGGCTAG
GAAAAGAGTTTGTGGGAACCCCTGGGTTATCGGCCCTCGTCATCTTCATATCCCTGATTGTCTC
GGCAGTGTGCATTGGACTCACTGTTCAATTATGTGAGATATAATCAAAAGAAGACCTACAATTA
CTATAGCACATTGTCAATTACAACTGACAACTATATGCTGAGTTGGCAGAGAGGCTTCTAA
CAATTTTACAGAAATGAGCCAGAGACTTGAATCAATGGTGAAAAATGCATTTTATAAACTCC
ATTAAGGGAAGAAATTTGCAAGTCTCAGGTTATCAAGTTTCAGTCAACAGAAAGCATGGAGTGT
GGCTCATATGCTGTTGATTGTAGATTTCACCTTACTGAGGATCCTGAACTGTAGATAAAAT
TGTTCAACTTGTTTACATGAAAAGCTGCAAGATGCTGTAGGACCCCTAAAGTAGATCCTCA
CTCAGTTAAAAATAAAAAAATCAACAAGACAGAAACAGACAGCTATCTAAACCATTGTGCGG
AACACGAAGAAGTAAACTCTAGTGCAGATCTCAGGATCGTTGGTGGGACAGAAGTAGAAGA
GGGTGAATGGCCCTGGCAGGCTAGCTGCAGTGGGATGGGAGTCATCGCTGTGGAGCAACCTT
AATTAATGCCACATGGCTTGTGAGTGTGCTCACTGTTTACAACATATAAGAACCCTGCCAG
ATGGACTGCTTCTTTGGAGTACAATAAAACCTTCGAAATGAAACGGGGCTCTCGGAGAAAT
AATTGTCATGAAAAATACAACACCCCATCACATGACTATGATATTTCTCTGCGAGAGCTTTC
TAGCCCTGTTCCTACACAAATGCAGTACATAGAGTTTGTCTCCCTGATGCATCTCATGAGTT
TCAACAGGTGATGTGATGTTTGTGACAGGATTGGGAGCACTGAAAAATGATGGTTACAGTCA
AAATCATCTTCGACAAGCAGAGTGACTCTCATAGAGCTACAACCTTGCATGAACCTCAAGC
TTACAATGACGCCATAACTCTAGAATGTTATGTGCTGGCTCCTTAGAAGGAAAAACAGATGC
ATGCCAGGGTGACTCTGGAGGACCACTGGTAGTTCAGATGCTAGAGATATCTGGTACCTTGC
TGGAAATAGTGAGCTGGGAGAGTGAATGTGCGAAACCCAAACAAGCTGGTGTTTATACATAGAGT
TACGGCTTTCGGGACTGGATTACTTCAAAAACCTGGTATC**TAA**GAGACAAAAGCCTCATGGAA
CAGATAACATTTTTTTTGGTTTTTGGGCTGGAGGCCATTTTTAGAGATACAGAATTTGGAA
AGACTTGCAAAACAGCTAGATTGACTGATCTCAATAAACTGTTTGCCTGATGCATGATTTT
CTTCCACAGCTCTGTCCGACGTAAGCATCTCTGCTCTGCGAGATCAACTCTGTCATCTGTGA
GCAATAGTTGAAACTTTATGTACATAGAGAAATAGATAATACAATATTACATTACAGCCTGTA
TTCATTTGTCTCTAGAAGTTTTGTGCAGAATTTTGACTTGTGACATAAAATTTGTAATGCAT
TATACAATTTGAAGCACTCTCTTTCTCACTTCTCAGCTCTCTCATTTTCAAGCAAAATATCCA
TTTTCAAGGTGCAGAACAGGAGGTGAAGAAAAATATAAGAAGAAAAAATCCCTACATTTTA
TTGGCACAGAAAAGTATTAGGTGTTTTCTTCTTAGTGGAAATATTAGAAATGATCATATTCAATT
GAAAGGTCAAGCAAGACAGCAGAAATACCAATCACTTCATCATTTAGGAAGTATGGGAACATA
GTTAAGGAAGTCCAGAAAGAGCCAGATATATCCTTATTTTCATTTCCAAACAACTACTATG
ATAAATGTGAAGAAGATTCTGTTTTTTTGTGACCTATAATAATTATACAACACTCATGCAATG
TACTTGTCTTAAGCAAAATAAAGCAAAATATTTATTTAAACATTGTTACTGAGGATGTCAACATA
TAACAATAAAATATAAATCACCCA

【図 108】

MAREDSVKLRCLLYALNLLFWLMSISVLAVSAMWRDYLNNVLTLTAEATRVBEAVILTYFPV
HPVMIACVCFLLIIVGMLGYCGTVKRNLLLAWPYGSLLVIFCVELACGVWYEQELMVPVQWS
DMVTLKARMTNYGLPRYRWLTHAWNFFQREFKCCGVVYFTDWLEMTMDWPPDSQCVREFPGC
SKQAHQEDLSLDLYQEGCGKMYSLRGTKQLQVRLFLSIGVTQILAMILITILLWALYDR
REPQTDQMMSLKNDNSHLSCLPSVELLKPSLSRIFETHSMANSFNTHFEMEEL

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-33

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 12-35, 57-86, 94-114, 226-248

【図 106】

MMYRPDVVRRARKRVCEPWWIGLVIFISLIVLAVCIGLTVHYVRYNQKTTYNYSTLSFTTDR
LYAEFGREASNNFTMSQRLESVMKNFYKSPREEFVKSQVIFKQKHGVLAHMLLICRPH
STEDPEYVDKIVQLVLHEKLQDAVGPFPKVDPHSVIKKINKTETDSDYLNHCGRTRSKTLGQS
LRIVGGTEVEBGEWNPQASLQWDGSHRCGATLINATWLVSAAHCFTTYKNPARWTSFQVITIK
PSKMRGLRRIIVHEKYPKPSHDYDLSIAELSSPVVPTNAVHRVCLPDASYEFQPGDVMFVTG
FGALKNDGYSQNHRLRQAQVTLIDATTCEPQAYNDAITPRMLCAGSLBGKTDAQDCSGGSLV
SSDARDIWLAGIVSWGDECAKPNKPGVYTRVTLALRDWITSKTGI

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 21-40 (H型)

【図 107】

AGAGAAAGAAGCGTCTCCAGCTGAAGCCAATGCGAGCCCTCCGGCTCTCCGCGAAGAAGTTCCT
TGCCCCGATGAGCCCCCGCGTGCCTCCCGACTATCCCAAGCGGGCGTGGGCGACCGGGCC
CAGCGCGACGATCTGCTCCGCTTTTGCCCTTGGAGTAGGATGTGGTGAAGGATGGGCTTC
TCCCTTACGGGCTCACAA**AGT**GGCAGAGAAATTCCTGGAAGTCTCGCGCTGCTGCTAC
GGCTCAATCTGCTCTTTGGTTAATGTCCATCACTGCTCTGCGACTTCTGCTTGGATGAG
GACTACCTAAATATGTTCTCACTTTAACTGCAGAAACGAGGCTGAGGAGAGCAGTATTTTG
ACTTATTTCTCTGGTTTCATCCGGCTCATGATTGCTGTTTCCCTATCATTTGGGG
ATGTTAGGATATTTGGGAACGGTGAAAGAAATCTGTGCTTCTGCAATGGTACTTTGGAAGT
TTGCTTTCATTTCTGTGTAGAACTGGCTTGTGGCGTTGGACATATGAACAGGAACTTATG
GTTCCAGTACAATGGTCAGATATGGTCACTTTGAAGCCAGGATGACAAATATGAGATTACCT
AGATATCGGTGGCTTACTCATGCTTGAATTTTTTTCAGAGAGAGTTTAAAGTCTGGAGTA
GTATATTTCACTGACTGGTTGGAATGACAGAGATGGACTGGCCCCAGATTCCTGCTGTGTT
AGAGAATTCAGGATGTTCCAAACAGGCCACACAGGAAGATCTCAGTGACCTTTATCAAGAG
GGTTGTGGGAAGAAATGATATCTCTTTGAGAGGAACCAACCACTCGAGGTGCTGAGGTTT
CTGGGAATCTCCATTGGGGTGACACAAATCTGGCCATGATTTCCACTTATCTGCTCTGG
GCTCTGTATTTATGATAAGAAGGAGCCTGGGACAGACCAATGATGTCTTGAAGAATGACAA
CTGACAGCACTGTCATGCTCCCTCAGTAGAACTGTTGAAACCAGCGCTGCAAGAATCTTGAA
CACACATCTGAGGCCAAACGCTTTAATACACACTTTGAGATGGAGGAGTATGAAAAGAGAG
TCCAGAGAGAAACCAACCACTTTTATTTGAGACTTGTGAATTTTTCAGTACTATGATGAGA
TTTCAGAAATATGTAGAAATGAAATGTTGCCATAAAATTAACACTTAAGCATATACTATTCTA
TGCCTTAAATAGGAGTGGAAAGTTTCATGCTATAAGTCACCACTGGACATATATGATGC
CCTTAAATGCTGAAGACAGATGTCAATCCCACTGTGTAGCTGTGATGTACTCTTACTGAA
ACAGTTATGTTTTGAGGCAGCATGGTTTGATTAGCATTTCCGCACTCAATGCAACGAGTGACA
TATGTGGGACTGGAGCCATAGTAAGGTTGATTTACTTCCAACTAGTATATAAGAGTACT
AATTAATGCTAACTAGGAAGTTAGAAAATACATAACTATTTTATTACTACGAGCATATATC
TTCTCATGTCAAATAAATATATATACAGAAAACCTTCAATATTTGAGTACTCCCTAAATGTGAT
TTTTCTGCTTACTAAAAATATCTTACCACCTTAAAAGAGCAAGCTAACACATTTGCTTAAGCT
GATCAGGATTTTTGTATATAAGTCTGTGTTAAATCTGTATATTTCACTGCTTCTGAGTCTT
GATAATGTTAAGAATAACCAATATGAAAAGGAAATTTGTCTGTATAGCATCATTTATTTTA
GCTTTCTCTTTAATAAAGCTTTACTATTCTGCTCCGGCTTATATACACATATAACTGTGTA
TTTAAATACTTAACCACTAATTTTGAAAATTACAGAGTGGATACATAGGAATCAATATTTGAGA
ATGTAGTCTGATTTAGCAAACTTTGACATAAACTTTGACATCAATTTGATGTAGTACAGA
AGGACTGTATGCTGTTTTTCTCCCAAATGAAGACTCTTTTGACACTTAACACTTTTTAAA
AGCTTATCTTTGCGCTTCTCCAAACAGGAAGCAATAGCTCCCAAGTCAATATAAATCTACAGA
ATAATAGTGTCTTTTCTCCAGAAAATGCTTGTGAGAATCAATAAACATGTCAAAATTTAG
AGATTCTTTGTTTTATTTCACATGATTAATATCTGTGGCAAATTCACAGAGATTATAAATTTT
TTTCAAGAGTATAGTATATTTATTTGAAATGGGAAAGTGATTTTACTGTATTTGTGTAT
TTGTGTTATTTCTCAGAAATAGGAAAGAAATTAATAATGTGCAATAAATATTTCTCAGAGAG
TAA

【図 109】

CCAAGGCGAGAGCTGTGGACACCTTATCCCACTCATCCTCATCTCTCTCTGATAAAGGCC
CTACCAGTGCTGATAAAGCTTTCTCTGTGAGAGCCTAGAGGCTTTAAAAAAAAGTGCTTGA
AAGACAAGGGGACAAAGGAACACAGTATTAAAGAGGATTTTCCAGTGTTTCTGGCAGTTTGG
CAGAAGGAT**G**CTCCATTTCTGCTTCTCACTGCTCTTCATACAGGCACTCCGCTGTCACC
CTGCGCTTATAGTCTTGTCTGCTTACATCAGCTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAG
CCAGTTGGATGAGTCTCAAGGTCTCTCTATGTGACAACCATGTGAATGGGAGTGGTACCA
CTTACAGGGCATGGCGGGAGATGCCATGCCCTACCTTCTGCATACAGAAAACCACTGTGGAAC
CCACGCACTGTCTGGCTCAATGGCAGGCCACCCCTAGAAGGACGCGGCATTGTGCAACGCCA
GGCTGTGCGAGCTTCAATGGGAAGTGTCTGTCTGGAACACCAAGGTTGGAAGTCAAGGCTTG
CCCTGGAGGCTACTATGTGTATGCTCTGACCAAGCCAGCGTCTGCTTCCAGCTCTACTGTGG
TCATTTTATGACATCTGCGACAGGAGTGCATGGCAGCTGCTCAGATACCAAGCAGTGCAC
ATCGGCTCCAGGAACGTGTGCTAGGCCCTGACAGGCGAGACATGCTTGAATGAAATGAATGTGA
GCAAAACACAGGTGGCTGCAGTGAGATCTGTGTGAACCTCAAAAACCTCTACCGCTGTGAGTG
TGGGTTGGCGGTGTCTAAGAAGTATGTCGCAAGACTTGTGAAGCGTTGAAGGATGGCCACAA
TAACATGGTGGCTGCAGCCACTCTTGCTTTGATCTGAGAAAGGCTACCAAGTGAATGTCTC
CGGGGCTTGGTGTCTCTGAGGATTAACCACTTTGCCAAGTCCCTGTGTGTGTGCAAAATCAAA
TGCCATTGAAGTGAACATCCCGAGGAGCTGGTGTGGCTGGAGCTTCTTCTGACCAACAC
CTCCTGCGGAGGAGTGTCCAAGCGGACCCATGTCAACATCTCTTCTCTCAAGACATGTGG
TACAGTGTCTGATGTGGTGAATGACAAGATTGTGGCCAGCAACCTCGTGACAGGTCTACCCAA
GCGAGACCCGGGGGACGCGGGGACTTCATATCTCGAAACAGCAAGCTGTGATCCCGGTGAC
CTCGGAGTTTCCAGCCTGTACACCATTTCTGAAGGATACGTTCCCAACCTTCGAAACTCCCC
ACTGGAATCATGAGCGGAATCATGGGATCTTCCCATTTCACTCTGGAGATCTTCAAGGACAA
TGAGTTTGAAGAGCCTTACCGGGAAGCTCTGCCACCTCAAGCTTCTGACTCCCTCATCTT
TGGCATTGAGCCGCTGGTGACAGTGAAGCGGCTTGGAAAGCTTGGTGAGAGCTGCTTTGGCCAC
CCCCACTCCAAGATCGACGAGGTCTGAAATACACTCTCATCCGGAGTGGCTGTTTGTGATA
TGACTGTGTAAGCAGTACACATCCCGGATACCACTAGCAAGCACTTCCAGGTCCCTGTCTT
CAAGTTTGTGGGCAAGACCAAGGAAGTGTCTTCTGACATGCGGGTCTGTGCTGTGGAGT
GTGGACGAGCGTTCCCGCTGTGCCAGGGTTGCCACCGGCGAATGCGCTGTGGGGCAGGAGG
AGAGGACTCAGCGGCTCAGCGGGCCAGCGCTAACAGCGGCGCGATCCGCTCGACTCGGATGGGA
GCACT**AGT**TCGTAGCCATACCTCGAGTCCCTGCTATGGACGGCTCTGCTCTTTGGAGCTTCTC
CCCCACCGCCCTCAAGAACAATCTGCAACAGCTGGGTTGAGACTTCACACTGTGAGTTGAG
ACTCCAGGACCAACTCACTCTGATTCTGGTCCATTGAGTGGGACAGGTCACAGCTCTGCTG
AACAACTGGCTGGGTGGGTTTTCATCTTTCTGAGGTTGAAACTGAACCTGCTCACCCAGAA
AGACACTCAACCCATTTCTCTCTTTCTTCTTACACTTAAATACCTCGTGATGTGTCACACT
AGACACAAATCAGAGCTGGGTATAATATTTCAAGTTTCAAACTCAGAAAATTAACAG
TTACTGAAATATGACTTAAATACCAATGACTTCTTAAATGTGAAATATAGTTATACCTT
GAAATTCAAATCAAGTACAGTAAATATAGGGAATTTGAAGTGTATCAATAAAGCATAT
ATAATTTT

【図 1 1 0】

MPPFLLLTCLFITGTSVSPVALDPCSAIYISLNEPWRNTDHOQLEDSEQGPPLCDNHVNGEWYHFT
GMAGDAMPFTFIPENHCGTHAPVWLNHSHPLEGDIIVQRQACASFNGNCLWNNTTVEVKACPG
GYIVYRLTKPSVCFHVYCGHFYDIDCEDCHGSCSDTSEBCTCAPGTVLGPDQRQCFDENECQN
NGGCSEICVNLKNSYRCCEGVGRVLRSDGKTCEDEVGCHNNNGGCSHSLGSEKGYQCECPRG
LVLSEDNHTCQVPVLCKSNAIEVNI PRELVGGELELPLNTNSCRGVSNGTHVNILFSLKTCGT
VDVVNDKIVASNLVTLGPKQTGSSGGDFIIRTSKLLIPVTCFPRLYTISEGYVPLNRNSPLE
IMSRNHGIFPPTLEIFKONEPEEPYREALPTLKLRLDSLYFGIEPVVHVSGLESLEVESCFATPT
SKIDVLYKYLIRDCGVSDSDSVKQYTSRDHLAKHFQVPVFKPVGKDHKEVFLHCRVLVCGVLD
ERSRCAQGGCHRRMRGAGGEDSAGLQGGTLTGGPIRIDWED

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-16

N-グリコシル化部位:

アミノ酸 89-93, 116-120, 259-263, 291-295, 299-303

チロシンキナーゼリン酸化部位:

アミノ酸 411-418, 443-451

N-ミリスチル化部位:

アミノ酸 226-232, 233-239, 240-246, 252-258, 296-302, 300-306,
522-528, 531-537

アスパラギン酸及びアスパラギン水酸化部位:

アミノ酸 197-209

ZPドメインタンパク質:

アミノ酸 431-457

カルシウム結合EGF様タンパク質:

アミノ酸 191-212, 232-253

【図 1 1 2】

MLQDPDSQPLNSLDVKPLRKPRIMETFRKVGPIIIIALSLASIIIVVVLKIVLDKYYFL
CGQPLHFIPRKQLCDGELDCPLGEDEEHCVKSFPEGPAAVAVRLSKDRSTLQVLDSATGNWFS
CFDNFTEALAEACRQMGYSRAVEIGPDQDLVDVEITENSQELMRNNSGPGCLSGSLVSLHCL
ACGSKLKTFRVVVGEEASVDSWPVQVSIQYDKQHVCGGSILDPHWLTAACHFRKHTDVPNNK
VRAGSDKLGSPSLAVAKIIIEFNPMYPKDNDIALMKLOFPLTFSGTVRPICLPFFDEELTP
ATPLWIIGWGFTKQNGGKMSDILLQASVQVIDTRCNADDAQGEVTEKMMKAGIPEGGVDT
QGDSGGLPMYQSDQNHVVGIVSWGYCGGPGSTPGVYTKVSAYLNWIYNVWKAEL

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 32-53 (II型)

【図 1 1 1】

GAGAGAGGCAGCAGCTTGCTCAGCGGACAAAGGATGCTGGGCGTGAGGACCAAGGCCCTGCCCT
GCACCTCGGGCCTCCCTCCAGCCAGTGTGACCAAGGACTTCTGACCTGCTGGCCAGCCAGGACC
TGTGTGGGGAGGCCCTCCTGCTGCCCTGGGGTGACAATCTCAGCTCCAGGCTACAGGGAGACC
GGGAGGATCACAGAGCCAGCA**TGGT**TCAGGATCCTGACAGTGATCAACCTCTGAAACAGCCTCG
ATGTCAAACCCCTGCGCAAACCCCGTATCCCATGGAGACTTTCAGAAAGGTGGGGATCCCCA
TCATCATAGCACTACTGAGCCTGGCGAGTATCATCATTTGGTTGTCTCATCAAGGTGATTC
TGGATAAATACTACTTCTCTGCGGGCAGCCTCTCCACTTCATCCCGAGGAAGCAGCTGTGTG
ACGGAGAGCTGGACTGTCTTCTGGGGGAGGACGAGGAGCACTGTGTCAAGAGCTTCCCCGAG
GGCCTGCAGTGGCAGTCCGCTCTCCAAAGGACGATCCACACTGCAGGTGCTGACTCGGCCA
CAGGGAACCTGGTTCTCTGCTGTTTTCGACAACTTCACAGAAGCTCTGCTGAGACAGCTGT
GGCAGATGGGCTACAGCAGAGCTGTGGAGATTGGGCCAGACCAGGATCTGGATGTTGTGAAA
TCACAGAAAACAGCCAGGAGCTTCGCATGCGGAACTCAAGTGGGCCCTGTCTCTCAGGCTCCC
TGGTCTCCCTGCAGTGTCTTGCCCTGTGGGAAGAGCTGAAGACCCCCCGTGGTGGGTGGGG
AGGAGGCCCTGTGTGATTCTTGCCCTTGCGAGGTGACATCCAGTACGACAAACAGCAGCTCT
GTGGAGGGAGCATCCTGGACCCCACTGGGTCTCACGGCAGCCCACTGTCTCAGGAAACATA
CCGATGTGTTCAACTGGAAAGGTGCGGGCAGGCTCAGACAAACTGGGCAGCTTCCCATCCCTGG
CTGTGGCCAAAGATCATCATCATTTGAATTCACCCCATGTACCCCAAAGACAATGACATCGCCC
TCATGAAGCTGCAGTTCCCACTCACTTCTCAGGCACAGTCAGGCCAATCTGTCTGCCCTCT
TTGATGAGGAGCTCACTCCAGCCACCCCACTCTGGATCATTTGGATGGGGCTTTACGAAGCAGA
ATGGAGGGAAGATGTCTGACATACTGTCTGAGGCGTCAGTCAGGTCAATTGACAGCACACGGT
GCAATGCAGACGATGCTACAGGGGGAAGTCAACGAGAAGATGATGTGTGAGGACATCCCGG
AAGGGGTGTGGACACCTGCCAGGGTGACAGTGGTGGGGCCCTGATGTACCAATCTGACCACT
GGCATGTGGTGGGCATCGTTAGCTGGGGCTATGGCTGCGGGGGCCGAGCACCCAGAGGAT
ACACCAAGGTCTCAGCCTATCTCACTGGATCTACAATGTCTGGAAGGCTGAGCTG**TAAT**GTCT
GCTGCCCTTTTGACGTGCTGGGAGCCGCTTCCCTCTCGCCCTGCCCACTGGGGATCCCCCAA
AGTCAGACACAGAGCAAGAGTCCCTTTGGGTACACCCCTCTGCGCACAGCTCAGCATTTCTT
GGAGCAGCAAAGGCCCTCAATTCTCTGAAGAGACCTTCGACGCCAGAGGCCGCCAGAGGAAG
TCAGCAGCCCTAGCTCGGCCACACTTGGTGCTCCAGCATCCAGGAGAGACACAGCCCACT
GAACAAGGTCTCAGGGGTATTGCTAAGCCAAGAAGAACTTTCCACACACTACTGAATGGAAGC
AGGCTGTCTTGTAAAGGCCAGATCACTGTGGCTGGAGAGGAGAAGGAAGGGCTCTGCCCA
GCCTCTCGCTCTTACCCCATCCCAAGCTACTAGAGCAAGAAACCAATGTTGAATATAAAAT
GCACCTGCCCTACTGTGTTGGTATGACTACCGTTACCTACTGTTGTCATTTATTACAGCATATGG
CCACTATTATTAAGAGCTGTGTAAACATCTCTGGCAAAAAAAAAA

【図 1 1 3】

GGCTGGACTGGAACCTCCTGGTCCCAAGTATCCACCCGCCCTCAGCCTCCCAAGGTGCTGTGAT
TATAGGTGTAAGCCACCGTGTCTGGCCTCTGAACAACTTTTCAGCAACTAAAAAGCCACAG
GAGTTGAATGCTAGGATTTCTGACT**ATGCT**GTGGTGGCTAGTGCTCCTACTCCTACTACATT
AAAATCTGTGTTTGTCTCTTGTAACTAGCCTTTACCTTCCTAACACAGAGGATCTGTCACT
GTGGCTCTGGGCCAAACCTGACCTTCACTCTGGAACGAGAACAGAGGTTCTACCCACACCGT
CCCTCGAAGCCGGGGACAGCTCACCTTGTGGCTCTGCTGGAGCAGTGCCCTCACCAAC
TGCTCTCAGCTCTGGAGGCACTGACTCGGGCAGTGAGGATGCTGAGCCTCTTGGTAGTGGCG
CTTTCAAGGTGGGCTTGCCTGGCCCTAGAAGGGAT**TGA**CAAGCCCAAGATTTCATAGGCG
ATGGCTCCCACTGCCAGGCATCAGCCTTGTGTAGTCAATCACTGCCCTGGGGCCAGGACGG
GCCGTGGACACCTGCTCAGAAGCAGTGGTGAGACATCAGCTGCCGCCCATCTAACTTTT
CATGTCTGCACATCACTGATCCTAGGCTAATCTGAACCTGTCCCAAGGAACCCAGAGCT
TGAGTGAGCTGTGGCTCAGACCCAGAAGGGGTCTGCTTAGACCACTGGTTTATGTGACAGGA
CTTGCAATTTCTTGGAAACATGAGGGAACGCCGAGGAAGCAAGGTGGCAGGGAAGGAATCTG
TGCCAAAATTATGGGTCAGAAAAGATGGAGGTGTGGGTATACAAAGGCATCGAGTCTCTCG
ATTCACTGGACATGTGGGGAAGGGCTGCCGATGGCGCATGACACACTCGGGACTCACCTCTG
GGGCCATCAGACAGCCGTTTCGCCCCGATCCACGTACCACTGCTGAAGGGCAACTGCAGGC
CGATGCTCTCATCAGCCAGGCAGCAGCAAAATCTGCGATCACCAGCCAGGGGACGCGTCTG
GGAAGGAGCAAGCAAGTGACATTCTCTCCCTCCTTCCCTCTGAGAGGCCCTCCTATGT
CCCTACTAAGCCACAGCAAGACATAGTCTGACAGGGGCTAATGGCTCAGTGTGTGGCCAGGA
GGTCAGCAAGGCCCTGAGAGCTGATCAGAAGGGCCGTGCTGTGCAACACGAAATGCCTCCAGT
AAGCACAGGCTGCAAAATCCCAAGCAAGGACTGTGTGGCTCAATTTAAATCATGTTCTAGT
AATTTGGAGCTGTCCCCAAGACCAAGGAGCTAGAGCTTGGTTCAAATGATCTCCAAGGGCCCT
TATACCCAGGAGACTTTGATTTGAATTTGAAACCCCAATCCAAACCTAAGAACCAGGTGCA
TTAAGAATCAGTTATTGCGGGGTGTGGTGGCTGTAATGCCAACATTTGGGAGGCCGAGGCG
GGTAGACTCACCTGAGGTGAGGATTCAGACCCAGCCTGGCCAACTAGTGAACCCCTGTCTC
TACTAAAAATACAAAAAACTAGCCAGGCATGTGGTGTGTGCTGTATCCAGCTACTCGGG
AGGCTGAGACAGGAGAATTACTTGAACCTGGGAGGTGAAGGAGGCTGAGACAGGAGAATCACT
TCAGCTTGAGCAACACAGCGAGACTCTGTCTCAGAAAAATAAAAAAAGAAATATGTTTATTT
GTA

【図 1 1 4】

MLWWLVLLLPKLSVFCSLVTSLYLPNTEDLSLWLPKPDLSHSGTRVSTHTVPSKPGTAS
PCWPLAGAVFSPTVSRLEALTRAVQVAEPLGSCGFQGGPCFGRRDD

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-15

【図 1 1 5】

CAGCAGTGGTCTCTCAGTCTCTCAAAGCAAGGAAAGAGTACTGTGTGCTGAGAGACC**ATG**GC
AAAGAATCTCCAGAGAATTGTGAAGACTGTACATTTCTAAATGCAGAAGCTTTAAATCCAA
GAAAAATATGTAATCACTTAAGATTGTGAGACTGGTCTTTGGTATCTCGGCCCTAACTCTAAT
TGCTCTGTTTTGGGGAGCAAGCACTTCTGGCCGAGGTACCCAAAAAGCCTATGACATGGA
GCACACTTCTACAGCAATGAGAGAGAAGAAGATTACATGGAAATTGATCTGTGACCAG
AACTGAAATATTCAGAAGCGGAAATGGCACTGATGAAACATTGGAAGTGCACGACTTTAAAAA
CGGATACACTGGCATCTACTTCGTGGGTCTTCAAAATGTTTTATCAAACTCAGATTAAAGT
GATTCCTGAATTTTCTGAACCAAGACGAGAAATAGATGAGAATGAAGAAATTACCACACTTT
CTTTGAACAGTCAGTGATTTGGGTCCAGCAGAAAAAGCCTATTGAAAAACGAGATTTTCTTAA
AAATTCCAAAATTCTGGAGATTGTGTATAACGTGACCATGTATTGGATCAATCCCACTCTAAT
ATCAGTTTCTGAGTTACAAGACTTTGAGGAGGAGGAGAAGATCTTCACTTTCTGCCAACGA
AAAAAAGGGATTGAACAAAATGAACACTGGTGGTGGCTCTCAAGTGAAGTAGAGAAGACCGG
TCACGCCAGACAAGCAAGTGAGGAAGAACTTCCAATAAATGACTATACTGAAAATGGAATAGA
ATTTGATCCCATGCTGGATGAGAGAGGTTATTGTGTATTACTGCCGTGAGGCAACCGCTA
TTGCCGCCGCGCTGTGTAACTTTTACTAGGCTACTACCCATATCCATACTGCTACCAAGGAGG
ACAGTCACTGTCGTGTCAATCATGCCCTTTGTAACCTGGTGGGTGGCCCGCATGCTGGGAGGGT
CTAATAGGAGGTTTGAGCTCAAATGCTTAAACTGCTGGCAACATATAATAAATGATGCTATT
CAATGAATTTCTGCCATGAGGCATCTGGCCCTGGTAGCCAGCTCTCCAGAAATTACTGTAG
GTAATTCTCTCTTCAATGTTCTAATAAATCTTACATTATCACCAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【図 1 1 7】

GAGCTCCCTCAGGAGGGCTTAGTCTCACACCTTCGGCAGCAGGAGGGCGGCGAGCTTCTCGC
AGGCGGCGAGGGCGGGCGGCGAGGAT**CA**TGTCCACCACACATGCCAAGTGGTGGCTTCTCTCC
TGTCATCTCTGGGGCTGGCCGGCTGCATCGCGGCCACCGGATGGACATGTGGAGCACCCAGG
ACCTGTACGACAACCCGCTCACTCCGTGTTCCAGTACGAAGGGCTCTGGAGGAGCTGCGTGA
GGCAGAGTTCAAGGCTTCAACGAATGCAGGCCCTATTTCACCATCTGGGACTTCCAGCCATGC
TGCAGGCACTGCGAGCCCTGATGATCTGTAGGCATCGTCTGGGTGCCATTGGCCTCTCGGTAT
CCATCTTTGCCCTGAATGATCGCATCGCATTTGGCAGCATGGAGGACTCTGCCAAAGCCAACATGA
CACTGACCTCCGGGATCATGTTTCATGTCTCAGGTCTTTGTGCAATTGCTGGAGTGTCTGTGT
TTGCCAACATGCTGGTGACTAACTTCTGGATGCTCCACAGCTAAACATGTACACCGCATGGGTG
GGATGGTGCAGACTGTTACAGACAGGTACACATTTGGTGGGCTCTGTTCTGGTGGGCTGGGTG
CTGGAGGCCTCACATAATTGGGGGTGTGATGATGTGCATCGCTGCGGGGGCTTGGCACCAG
AAGAAACCACTACAAGCCGTTTCTTATATGCTCAGGCCACAGTGTTCGCTACAAGCCTG
GAGGCTTCAAGGCCAGCACTGGTTTGGGTCCAACACCAAAACAAGAAAGATATACGATGGAG
GTGCCGACAGAGGACGAGGTACAATCTTATCTTCCAAGCAGCACTATGTG**TA**AGTCTTA
AGACCTCTCAGCACGGGCGGAAGAACTCCCGGAGAGCTCACCAAAAAACAAGGAGATCCCA
TCTAGATTTTCTTCTGCTTTTGACTCACAGCTGGAAGTTAGAAAAAGCTCGATTTCATCTTTG
GAGAGCCCAATGGTCTTAGCTCAGTCTCTGTCTCTAAATATTCCACCATAAAAACAGCTGAG
TATTATTGAATTAGAGGCTATAGCTCACATTTCAATCTCTATTTTCTTTTTTAAATATAA
CTTTCTACTCTGATGAGAGAATTGGTTTTAATCTCTCTCTCACATTTTGATGATTTAGACAG
ACTCCCCCTCTTCTCTAGTCAATAAAACCAATTGATGATCTATTCCCAGCTTATCCCAAG
AAAACTTTTGAAGGAAAGAGTAGACCCCAAGAGTTATTTTCTGCTGTTTGAAATTTTGTCTC
CCCCCCCCCACTTGGCTAGTATAAACACTTACTGAAGAAGAAGCAATAAGAGAAGATATT
TGTAATCTCTCCAGCCATGATCTCGGTTTTCTTACACTGTGATCTTAAAGTTACCAACCA
AAGTCATTTTCAGTTTGAAGCAACCAAACTTTTCTACTGTCTGTTGACATCTTCTATTACAGC
AACCACTCTAGAGGATTTCTCTGAGCTCTCCACTGGAGTCTCTTTCTGTGCGGGCTCAGAAA
TTGTGCTTGAATGAATGAGAAAAATTATTTTAAATTTAAGTCTCAAAATAGTTAAAAATAA
ATAATGTTTTAGTAAAAATGATACACTATCTCTGTGAAATAGCCTCACCCCTACATGTGGATAG
AAGGAAATGAAAAATATTTGCTTTGCAATTTGCTATATGTTACTTTGTAAAGTCACTCTTAA
GTACAAATTTCCATGAAGCTCACACTGTAACTTCCAGCTTTGGGAGGCTGAGGAGGAAG
ATCACTTGAGCCAGAACTTCCAGACTAGCTTGGGCAACATGGAGAAGCCCTGCTCTACAAA
ATACAGAGAGAAAAATCAGCCAGTCTAGTGGCATACACTCTAGTCCACGATTTCCGGAG
GCTGAGGTGGGAGTCACTTTGAGCCCAAGGAGGTTGGGGCTGCAAGTGAAGCATGATCACACC
ACTGCACTCAGCAGGTGACATAGCAGATCTCTGTCTAAAAAATAAAAAATAAATAATGGA
ACACAGCAAGTCTTAGGAAGTGGTAAAACTAATCTTTAA

【図 1 1 8】

MSTTTCQVAFLLSILGLAGCIAATGMDMWSQDLYDNPVTSVFQYEGLEWRSVCRVSSSGFTEC
RPYFTTILGLPAMLQAVRALMIVGILVLAIGLVSIFALKCIRIGSMEDSAKANMTLTSGIMPI
VSGLCAIAGVSFVANMLVTNFMSTANMVTGMGGMVQTVQRYTFGAAALFVGWVAGGLTLIGG
VMCMCIACRGLAPEETNYKAVSYHASGSHVAYKPGFKFSTAGFSNWKNNKIYDGGARTEDVQ
SYPSKHDYV

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-23

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 81-100, 121-141, 173-194

【図 1 1 6】

MAKNPPENCEDCHILNAEAFKSKICKSLKICGLVFGILALTLIVLFWGSKHFWPEVPEKAYD
MEHTFYSNGEKKKIYMEIDPVTRTEIFRSGNGTDETEVHDFKNGYTGIFYVGLQKCFIKTQI
KVIPFSEPEEEDIDENEIITTTFFEQSVIWPAPKPIENRDFLKNKILEICDNVTMYWINPT
LISVSELQDFEEGEDLHFPANEKKGIEQNEQWVPVQVKVEKTRHARQASEEELPINDYTENG
IEFDPLMDERGYCCIIYCRNRNRYCRRVCEPLLGYYPYCYQGGSRVICRVIMPCNWWVARMLG
RV

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-40

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 25-47 (II型)

N-グリコシル化部位:

アミノ酸 94-97, 180-183

グリコサミノグリカン付着部位:

アミノ酸 92-95, 70-73, 85-88, 133-136, 148-151, 192-195, 239-242

N-ミリスチル化部位:

アミノ酸 33-38, 95-100, 116-121, 215-220, 272-277

マイクロボディC-末端標的シグナル:

アミノ酸 315-317

チトクロムcファミリーヘム結合部位シグネチャー:

アミノ酸 9-14

【図 1 1 9】

GGAAAACTGTTCTCTCTGTGGCACAGAGAACCCTGCTTCAAAGCAGAAGTAGCAGTCCGG
AGTCCAGCTGGCTAAAACATCATCCAGAGGAT**ATG**GCAACCCATGCTTAGAAATCGCTGGG
CTGTTTCTTGGTGGTGTGGAAATGGTGGGCACAGTGGCTGTCACTGTCAATGCTCAGTGAGA
GTGTGCGGCTTCAATTGAAAAACAACATCGTGGTTTTTGAAAACTTCTGGGAAGGACTGTGGATG
AATTGCGTGAAGCAGGCTAACATCAGGATGCAGTGCAAAAATCTATGATTCCTGCTGGCTCTT
TCTCCGACCTACAGGCAGCAGAGGACTGATGTGTCTGCTTCGGTGATGCTCTTCTTGGCT
TTCATGATGGCCATCTTGGCATGAAATGCACACAGGTGCACGGGGACAATGAGAAGGTGAAG
GCTCACATTTCTGTACGGCTGGAAATCATCTTCATCATCACGGGCATGGTGGTCTCATCCCT
GTGAGCTGGGTGCCAAATGCCATCATCAGAGATTTCTATAACTCAATAGTGAATGTTGCCCAA
AAACCTGAGCTTGGAGAAGCTCTCTACTTTAGGATGGACCACGGCACTGGTGTGATTGTTGGA
GGAGCTCTGTTCTGTGCTGTTTTTGTGCAACGAAAAGAGCAGTAGCTACAGATACTCGATA
CCTTCCCATCGCACAAACCAAAAAAGTTATCACACCGGAAAGAAGTCAACGAGCTCTACTCC
AGAAGTCAGTATGTG**TA**TTGTGTATGTTTTTTAACTTTACTATAAAGCCATGCAAAATGACA
AAAACTATATTACTTTCTCAAAATGGACCCCAAGAAACTTTGATTACTGTCTTAACTGC
CTAATCTTAATTACAGGAACGTGCATCAGCTATTATGATTCTATAAGCTATTTACGAGAA
TGAGATATTAAACCAATGCTTTGATTGTTCTAGAAAGTATAGTAATTTGTTTCTAAGGTGG
TTCAAGCATCTACTCTTTTATCATTTACTTCAAAATGACATTGCTAAAGAGTCATATTATTT
ACTACTGTAAATTTCTCCAGCATAGCATTTATGTACATAGATGAGTGAACATTTATATCTCA
CATAGACATGCTTATATGGTTTTATTTAAATGAAATGCCAGTCCATTAACCTGAATAAAT
AGAACTCAACTATTGCTTTTCAGGAAATCATGGATAGGGTTGAAGAAGGTACTATTAATTG
TTTTAAAAACAGCTTAGGGATTAAATGTCCTCAATTATAATGAAGATTAAAAAGAGGCTTTAA
TCAGCAITGTAAGAGAAATGAATGGCTTCTGATATGCTGTTTTTACCTTAGGAGTTAGAA
ATCCTAACTTCTTTATCTCTTCTCCAGAGGCTTTTTTTTTCTTGTGATTAATAATTAACATT
TTTTAAACGCAGATATTTTGTCAAGGGGCTTTGCATTCAAACCTGCTTTCCAGGGCTATACTC
AGAAGAAAGATAAAAGTGTGATCTAAGAAAAAGTATGAGTTTTAGGAAAGTAAAAATATTTT
GTTTTTGTATTTGAAGAAGATGATGCATTTTGACAAGAAATCATATATGATGGATATATTT
TAATAAGTATTTGAGTACAGACTTTGAGTTTTCATCAATATAAATAAAGAGCAGAAAAATAT
GTCTTGGTTTTCTATTGCTTACCAAAAAACAACAACAAAAAAGTTGCTTTTGAGAACTTC
ACCTGCTCTATGTGGGTACCTGAGTCAAAATTCATATTTTGTCTGTGAAAAATAAATTC
CTTCTTGTACCAATTTCTGTTTAGTTTTTACTAAAACTGTAAATACATGATTTTTCTGTTTTATT
CCAAATTTGATGAAACTGACAATCCAAATTGAAAGTTTGTGTGACAGCTGTGCTAGCTTAAAT
GAATGTGTTCTATTTGCTTTATACATTTATATTAATAAATTTGACATTTTTCTTAAT

【図 1 2 0】

MATHALEIAGLFLGGVGHVGTVAVTVMPQWRVSFIENNIVVFENFWEGLWMNCVRQANIRMQ
CKIYDSLALSPDLQAARGLMCAASVMSFLAFMMAILGMKCTRCTGDNKVKAHILLTAGIIF
IITGMVVLIPVSWVANAIIRDFYNSIVNVAQKRELGEALYLGWTTALVLIVGGALFCVFCFCCN
EKSSSYRYSIPSHRTTKQSYHTGKKSPSVYSRSQYV

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-17

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 82-101, 118-145, 164-188

【図 1 2 1】

GGAGAGAGGCGCGCGGTGAAAGCGCATTGATGCAGCCTGCGCGGGCTCGGAGCGCGGCG
AGCCAGAGCGTGACACAGCTTCCTCTCCTCGGTCTCCTCCGCTCCAGCTCCGCGCTGCCCGGC
AGCCGGGAGCC**ATTG**CAGCCCCAGGGCCCCGCGCCTCCCCGCGAGCGCTCCGCGGCTCCTGCG
TGCTCCTGCTGCTGCGAGCTGCCCGCGCGCTCGAGCGCCTCTGAGATCCCCAAGGGGAAGCAAA
AGGCGCAGCTCCGCGCAGAGGAGGTGGTGACCTGTATAATGGAATGTGCTTACAAGGGCCAG
CAGGAGTGCTTGCTCGAGCGGAGCCCTGGGGCCAATGTTATTCCGGGTACACCTGGGATCC
CAGGTCCGGATGGATTCAAAGCAGAAAAGGGGAAGTGTCTGAGGGAAGCTTTGAGGAGTCTCT
GGACACCCAACACACAAGCAGTGTTCAGGAGTTCATTGAATTATGGCATAGATCTTGGGAAAA
TTCGGGAGTGTACATTTACAAAGATGCGTTCAAATAGTGCTCTAAGAGTTTTGTTCAGTGGCT
CACTTCGGCTAAAATGCGAAAAATGCATGCTGTCAGCGTTGGTATTTACATTCAATGGAGCTG
AATGTTCAGGACCTCTTCCCAATTGAAGCTATAAATTTATTTGGACCAAGGAAGCCCTGAAATGA
ATTCAACAATTAATATTTCAATCGCACTTCTCTCTGCGAAGGACTTTGTGAAGGAATGTGCTCG
GATTAGTGGATGTTGCTATCTCTGGTGGCACTTGTTCAGATTACCCAAAAGGAGATGCTTCTA
CTGGATGGAAATTCAGTTTCTCGCATCATATTATGAAGAACTACCAAAA**TA**AATGCTTTAAATTTT
CATTTGCTACCTCTTTTTTTTATATGCTCTTGGAAATGGTCACTTAAATGACATTTTAAATAAG
TTTATGTATACATCTGAATGAAAGCAAAGCTAAATATGTTTACAGACCAAAGCTGTGATTCA
CACTGTTTTTAAATCTAGCATTATTCAATTTTGCTTCAATCAAAGTGGTTTCAATATTTTTTT
TAGTGGTTAGAATACCTTTCTCATAGTACATTTCTCTCAACCTATAAATTTGGAATATTGTTG
TGGCTTTTTGCTTTTTTCTCTTAGTATAGCATTTTTAAAAAAATATAAAGCTACCAATCTTTG
TACAATTTGTAAGTGAAGAATTTTTTTTATATCTGTAAATAAAAAATTTATTTCCAACA

【図 1 2 4】

MGFNVIRLLSGSAVALVIAPTVLLTMLSSAERGCPKGCRCGKMVYCESQKLQEIPISSISAGC
LGLSLRYNSLQKLKYNQFKGLNQLTWLYLDHNHISNIDENAFNGIRRLKELIILSNRIISYPLN
NTFRPVNTLNRNLDSLQNQLHSLGSEQFRGLRKLSSLHLRNSLRTIPVRIQDCRNLELLDIG
YNRIRSLARNVAFGMRIRLKEHLHNFQSKNLNLALFPRVLSLQNLVQWNKISVIGQTMSTW
SSLQRLDLSGNEIEAFSGPSVFPQCVFNLQRLNLDNSNKLTFIGQEILDSWISLNDISLAGNIWE
CSRNICSLVNLKSPFKGLENTIICASPKELQGVNVIDAVKNYSICGKSTTERFDLALALPKP
TFKPKLPRPKHESKPPLPTVVGATEPGFETDADAETHIFHKIIAGSVALFSLVILLVIYVS
WKRYPASMKQLQGRSLMRHRKQRQSLKQMPSTQEYFVDYKPTNTETSEMNLNGTGPCYTN
KSGSRECEV

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-33

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 420-442

N-グリコシル化部位:

アミノ酸 126-129, 357-360, 496-499, 504-507

cAMP-及びcGMP-依存性プロテインキナーゼリン酸化部位:

アミノ酸 465-468

チロシンキナーゼリン酸化部位:

アミノ酸 136-142

N-ミリスチル化部位:

アミノ酸 11-16, 33-38, 245-250, 332-337, 497-502, 507-512

【図 1 2 2】

MRPQGPAAQPQRRLGLLLLLLLLLQLPAPSSASEIPKQKQALQRREVVDYNGMCLQGPAGV
GRDGSFGANVIPGTPGIPGRDGFKGEGECLRESFESWTPNPKQCSWSLNYGIDLGKIAEC
TFTMKRNSALRVLVFGSLRLKCRNACCQRWYFTFGAECGGPLPEAIIYLDQGSPEMNSTI
NIHRTSSVEGLCEGIGAGLVDAVWVGTCSDYPKGDASTGWNVSRIIEELPK

シグナルペプチド:

アミノ酸1-30

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 195-217

【図 1 2 3】

GCTGAGCGTGTGCGCGGTACGGGGCTCTCCTGCCTCTGGGCTCCAACGCGAGCTCTGTGGCTG
AATGGGTGCTCATCACGGGAACGTCTGGGCTATGGAATACAGATCTGGCAGCTCAGGTAGCC
CAAAATGGCTGGAAGAATACATCATGTTTTTCGATAGAAGAAATGTAGGATCCAGTTTTTT
TTTTTAACCGCCCCCTCCCCACCCCCAAAAAAACTGTAAAGATGCAAAAACGTAATATCCAT
GAAGATCCTATTACCTAGGAAGATTTTGATGTTTTGCTGCGAATGCGGTGTGGGATTTATTT
GTTCTTGGAGTGTCTTCGCTGGCTGGCAAGAAATAATGTTCCAAAATCGTCCATCTCCCAAAG
GGGTCCAATTTTTCTTCTCGGTGGTGTGAGGAGCCCTGACTCACTACAGTGCAGCTGACAGGGG
CTGTCAATGCAACTGGCCCCCTAAGCCAAAGCAAAAAGACCTAAGGACGACCTTTGAACAATACAA
AG**ATTG**GGTTTCAATGTAAATAGGCTACTGAGCGGATCAGCTGTAGCACTGGTTATAGCCCCC
ACGTGTTACTAGCAATGCTTTCTTCTGCCGAACGAGGATGCCCTAAGGGCTGTAGGTGTGAA
GGCAAAATGGTATATTGTGAATCTCAGAAATTACAGGAGATACCCCTCAAGTATATCTGCTGGT
TGCTTAGGTTTGTCCTTCGCTATAACAGCTTCAAAAACCTAAGTATAATCAATTTAAAGGG
CTCAACCACTCACCTGGCTATACCTTGACCATAACCATATACGCAATATTGACGAAAATGCT
TTTAATGGAATACGCAAGCTCAAGAGCTGATTCTTAGTTCCAATAGAATCTCCTATTTTCTT
AACCAATACCTTCAGACCTGTGACAAATTTACGGAACCTGGATCTGTGCTATAATCAGCTGCAT
TCTCTGGGATCTGAACAGTTTTCGGGGCTTCGGGAAGCTGCTGAGTTTACATTTACGGCTCTAAC
TCCCTGGAACCACTCCCTGTGCGAATATTCCAAGACTGCCGCAACCTGGAACCTTTTGAAGCTG
GGATATAACCGGATCCGAAGTTTAGCAGGAATGTCTTTTGTGGCATATCAGACTCAAGAA
CTTCACTGGAGCACAAATCAATTTTCCAAGCTCAACCTGGCCCTTTTCCAAGGTTGGTCAGC
CTTCAGAACCTTTTACTTGCAAGTGAATAAAATCAGTGTATAGGACAGACCATGTCTTGGAAC
TGGAGCTCCTTACAAAGGCTTGATTTATCAGGCAATGAGTCCAGGAGCTTTCAGTGGAGCCAGT
GTTTTCAGTGTGTCGGAATCTGCAGCGCCTCAACCTGGATTCACAAAGCTCACATTTATT
GGTCAAGAGATTTTGGATTCTTGGATATCCCTCAATGACATCAGCTCTTGCTGGGAATATATGG
GAATGCAAGCAAAATATTGCTCCCTTGTAAACTGGCTGAAAGTTTTAAAGGCTCAAGGGAG
AATCAATATTCTGTCGCTCCAGCTCCCAAGAGCTGCAGAGGATAAGTGTATCGATGCAGTAAG
AATCACAGACTCTGTGGCAAAAGTACTACAGAGAGGTTTGATCTGCGCCAGGCTCTCCCAAAG
CCGAGCTTTAAGCCCAAGCTCCCCAGGCGCAAGCATGAGAGCAAAACCCCTTCCCCCCGAGC
GTGGGGCCACAGAGCCGCGGCCACAGAGACCGATGTGAGCGCCGAGCACATCTCTTCCATAAA
ATCATCGCGGGCAGCGTGGGCTTTTCTGTGCGTGCTGTCATCTGCTGGTTATCTACGTG
TCATAGGAAGCGTACCTCTGCGAGCATGAAGCAGCTGCAGACGCTCCCTCATGCGAAGGCAC
AGGAAAAAGAAAGACAGTCCCTAAAGCAAATGACTCCGACACCCAGGAATTTTATGTAGAT
TATAAACCCACCAACACGGAGACACGCGAGATGCTGCTGAATGGGACGGGACCTGCACTAT
AACAAATCGGGCTCCAGGAGGTGTGAGGTAT**GGA**ACCATTTGTATAAAAGAGGCTCTTAAAGC
TGGAAATAAGTGGTGTCTTATTGAACTCTGGTGACTATCAAGGGAACGCGATGCCCCGCCCTC
CCCTTCCCTCTCCCTCTCACTTTGGTGGCAAGATCCTTCTTGTCCGTTTTAGTGCAATTCATA
ATACTGTGTCATTTTCTCTCTACATACATAATCAACCCATTGAAATTTAAATACCAATCAATGT
GAAGCTTGAACCTCGGTTTTAATATAATACCTATTGTATAAGACCTTTACTGATTTCCATTAT
GTCGATTTGTTTTAAGATAAAACTCTTTCATAGGTAAAAAAAA

【図 1 2 5】

CCGTATCGTCTTGGGCTACTGCTGA**ATTG**TCCGTCGCCGAGGAGGAGAGGCTTTTGCCGC
TGACCCAGAGATGGCCCCGAGCGAGCAAAATCCTACTGTCCGCTGCCGGGCTACCGTGCGCG
AGCTAGCAACCTTTCCCTGGATCTCACAAAAACTCGACTCCAATGCAAGGAGAAGCAGCTC
TTGCTCGGTTGGGAGACGGTGCAGAGAAATCTGCCCCCTATAGGGGAATGGTGGCAGACGCC
TAGGGATCATTTGAAGAGGAAGGCTTTCTAAAGCTTTGGCAAGGAGTGACACCCGCCATTTACA
GACACGTAGTGTATTTCTGGAGTGAATGGTCACATATGAACATCTCCGAGAGGTTGTGTTTG
GCAAAAGTGAAGATGAGCATTTATCCCTTTGGAAATCAGTCATTGGAGGGATGATGGCTGGTG
TTATTGGCCAGTTTTTAGCCAATCCAACCTGACCTAGTGAAGGTTAGATGCAAAATGGAAGGAA
AAAGGAAACTGGAAGGAAACCATTGCGATTCTCGGGTGATACATCATGCAATTTGCAAAAATCT
TAGCTGAAGGAGGAATACGAGGGCTTTTGGCGAGGCTGGGTACCCAATATACAAAGAGCAGCAC
TGATGAATATGGGAGATTTAACCACTTATGATACAGTGAACACTACTTGGTATTGAATACAC
CACTTGAGGACAAATATCATGACTCACGGTTTATCAAGTTTATGTTCTGGAATGGTAGCTTCTA
TTCTGGGAACACCGCCGATGTCATCAAAGCAGAAATAATGAATCAACACAGAGATAAACAG
GAAGGGGACTTTTGATATAAATCATCGACTGACTGCTTGATTGAGGCTTTCAGGTGAAGGAT
TCATGAGTCTATATAAGGCTTTTACCATCTTGGCTGAGAATCACCCCTTGGTCAATGGTGT
CTTGGCTTACTTATGAAAAATCAGAGAGATGAGTGAAGTCACTCCATTT**TA**A

【図 1 2 6】

MSVPEEERLLPLTQRWPRASKFLLSGCAATVAELATFPLDLTKTRLQMQGEAALARLDGAR
ESAPYRGMVRTALGIIIEEGFLKLWQGVTPAIRHVVSYSGRMVTYEHLREVVFVGKSEDEHY
LWKSIVGGMAGVIGQFLANPTDLVKVQMQMEGKRKLEKPLRFRGVHHAFAKILAEGBIRGL
WAGWVPNIQRAALVNMGDLTTYDVKHYLVNLTPLEDNMTGHLSSLCGLVASILGTPADV
KSRIMNQPRDKQGRGLLYKSSTDCLIQAVQGEGFMSLYKGFLPSWLRTMPWSMFWLTYEKIR
EMSGVSFP

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 25-38, 130-147, 233-248

【図 127】

CGCGGATCGGACCCAAAGCAGGTGCGCGCGCGCGGAGAGCGGCGGCGTCAGCTCCTCG
ACCCCGTGTGCGGCTAGTCCAGCGAGCGGACGGCGGCGTGGGCCCA**ATG**CCAGGCCCGGC
ATGGAGCGTGGCGCGACCGGCTGGCGTGGTGACGGGGGCTCGGGGGGCATCGGCGCGGCC
GTGGCCCGGCCCTGGTCCAGCAGGGACTGAAGTGGTGGGCTGCGCCCGCACTGTGGGCAAC
ATCGAGGAGCTGGCTGCTGAATGTAAGAGTGCAGGCTACCCCGGGACTTTGATCCCTACAGA
TGTGACCTATCAAAAGAAGGACATCCTCTCCATGTTCTCAGCTATCCGTTCTCAGCACAGC
GGTGTAGACATCTGCATCAACAATGCTGGCTTGCCCGGCGCTGACACCCCTGCTCTCAGGCAGC
ACCAGTGGTTGGAAGGACATGTTCAATGTGAACGTGCTGGCCCTCAGCATCTGCACACGGGAA
GCCTACCACTCATGAAGGAGCGGAATGTGGACGATGGGCACATCATTAACATCAATAGCATG
TCTGGCCACCGAGTGTACCCTGTCTGTGACCACTTCTATAGTGCCACCAAGTATGCCGTC
ACTGCGCTGACAGAGGACTGAGGCAAGAGCTTCGGGAGGCCAGACCCACATCCGAGGCCAG
TGCATCTCCAGGTGTGGTGGAGACACAATTCGCCCTCAAACCTCCAGCAAGGACCCCTGAG
AAGCGAGCTGCCACCTATGAGCAAAAGAAGTGTCAAACCCGAGGATGTGGCCGAGGCTGTT
ATCTACGTCTCAGACCCCCGCACACATCCAGATTGGAGACATCCAGATGAGGCCACCGAG
CAGGTGACCT**TAG**TGACTGTGGGAGCTCCTCCTTCCCTCCCACTTCTATGGCTTGCTCCTG
CCTCTGGATTTTAGTGTTGATTCTGGATCACGGATACCACCTTCTGCTCCACACCCCGACC
AGGGGCTAGAAAAATTGTTTGAGATTTTATATCATCTTGTCAAATTGCTTCAGTTGTAATG
TGAAAAATGGGCTGGGGAAAGAGGTGGTGTCCCTAATTGTTTTACTTGTTAACTTGTCTTG
TGCCCTTGGGCACTTGCCCTTTGTCTGCTCTCAGTGCTTCCCTTTGACATGGGAAAGGATT
GTGGCCAAAAATCCCATCTTCTTGCACTCAACCTGTGTGGCTCAGGGCTGGGGTGGCAGAG
GAGGCCCTTACCTTATATCTGTGTTGTTATCCAGGGCTCCAGACTTCTCCTCTGCTGCCCC
ACTGACCCCTCTCCCTTATCTATCTCTCTCGGCTCCCGAGCCAGCTTGGCTTCTTGT
CCCTCTCTGGGTCATCCCTCCACTCTGACTCTGACTATGGCAGCAGAACACAGGCCCTGGC
CCAGTGGATTTATGGTGTATTAATAAAGAAAAATCGCAACCAAAAAA

【図 130】

MGLLLLVFLSLLPVAYTMSLPPSFDCGPFRCRVSVAREHLPSPRGSLLRGRPRIPVLVSCQ
PVKGHGTLGESFMPFKRVFCQDGNVRSFVCVAVHFSHQPFVAVECLK

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-18

N-ミリスチル化部位:

アミノ酸 86-92

亜鉛カルボキシペプチダーゼ、亜鉛結合領域2シグネチャー。

アミノ酸 68-79

【図 128】

MARPGMERWRDLALVTGASGGIGAARALVQQGLKVVGCACTVGNIEELAAECSAGYPGT
LIPYRCDLSNEDILSMFSAIRSQHSVDICINNAGLARPDLLSGSTSGWKDMFNVNLALS
ICTREAYQSMKERNVDDGHIININSMGHRVPLPSVTHFYSATKYAVALTTEGLRQELREAQT
HIRATCISPGVVEQFAFKLHDKDPEKAAATYEQMKCLKPEDVARAVIYVLSTFAHIQIGDIOQ
MRPTEQVT

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-17

N-ミリスチル化部位:

アミノ酸 18-24, 21-27, 22-28, 24-30, 40-46, 90-96, 109-115, 199-205

短鎖アルコール脱水素酵素。

アミノ酸 30-42, 104-114

【図 129】

AAATTTCTAC**ATG**GGCTCCTGCTGCTGGTGCTCTTCCTCAGCCTCCTGCCGTGGCCTACACC
ATCATGTCTCTCCACCTCCTTTGACTGCGGGCGGTTCAGGTGCAGAGTCTCAGTTGCCCGG
GAGCACTTCCCTCCCGAGGCAGTCTGCTCAGAGGGCTCGGCCAGAAATTCAGTCTCGGT
TCATGCCAGCTGTAAAGGCCATGGAACTTTGGGTGAATCACGATGCCATTTAAGAGGGTT
TTCTGCCAGGATGGAAATTTAGGTGCTTGTGTCTGCGCTGTTCATTTTCAGTAGCCACAG
CCACTCTGGCCGTTGAGTGCTTGA**ATG**AGAACTGAGAAATTAATTTTCATGTATTTT
CTCATTTATTTTAAATTTTAACTGATAGTTGTACATATTTGGGGTACATGTGATATTTG
ATACATGTATACAATATATAATGATCAAAATCAGGTAACCTGGGATATCCATCAGTCAAACT
TTATTTTTTATCTTTTTAGACAGAGTCTCACTCTGTCAACCGAGCTGAGTGCAGTGGTGCC
ATCTCAGCTTACTGCAACCTCTGCTGCCAGGTTCAAGCGATTCTCATGCCCTCCACTTCCCAA
GTAGCTGGGACTACAGGCATGCACCACAATGCCCACTAATTTTGTATTTTAGTAGAGAGC
GGGTTTTGCCATGTTGCCAGGCTGGCTTGAACCTCTGGCTCAAACAATCCACTTGCCTCG
GCCTCCCAAAGTGTATGATTACAGCGCTGAGCCACCGTGCTGGCTGAACTTATATCTTTT
CTTTGTGTTGGGAATTTGAATATACAATGAATTTGTTAACTGTATCTCCTGCTGTG
CTATGGAACACTGGGACTTCTTCCCTCTATCTAAGTGTATATTTGACCAGTTAACCAACCT
ACTTCATCCCACTCTCTCTATCTTCCCACTCTGATCAGCTCATTTCTACTCTCTACCTC
CATGAGATCCACTTTTTAGTCTCCACATGTGAGTAAGAAATGCAATATTTGCTTCTGAG
CCTGGCTTATTTCACTTAACATAATGACTTCTGTTCCATCCATGTTGCTGCATAATGACAGGA
TTTCGTTCTTAATTTCAATTAATAAACACATAGGCAAAA

【図 131】

TTCTGAAGTAACGGAAGCTACCTTGATAAAGACCTCAACACTGCTGACC**ATG**ATCAGCGCAG
CCTGGAGCATCTCTCTCATCGGACTAAAATGGGCTGTTCCTTCAAGTAGCACCTCTATCAG
TTATGGCTAAATCCTGTCCATCTGTGTGCTGCGATGCGGGTTTCATTTACTGTAAATGATC
GCTTCTGACATCCATTCCAACAGGAATACAGAGGATGCTACAACCTCTCTACCTTCAAGAAC
ACCAATAAATAATGCTGGGATTCCTTACAGATTGAAAACTTGTCAAGATGAGAAAGAAATAT
ACCTATACCAACAGTTTAGATGAATTTCTTCAACCTTCCCAAGTATGTAAAGAGTTAC
ATTTGCAAGAAAAATCAATAAGGACTATCACTTATGATTCACTTTCAAAAAATCCCTATCTGG
AAGAATTACATTTAGATGACAACCTGTCTCTGCACTTAGCATAGAAGAGGAGCATTCAGAG
ACAGCAACTATCTCCGACTGCTTTCTCTGCTCCGTAATCACTTAGCACAAATCCCTGGGGTT
TGCCAGGACTATAGAAGAACTACGCTTGGATGATAATCGCATATCCACTATTTTCATCACCAT
CTCTTCAAGTCTCACTAGTCTAAAAAGCTGGTTTCTAGATGGAACCTGTTGAACAATCATG
GTTTAGGTGACAAAGTTTTCTTCAACCTAGTTAATTTGACAGAGCTGTCCTGCTGCGGAAAT
CCCTGACTGCTGCACAGTAACTTCCAGGCACAACTTGAAGAGCTTTATCTTCAAGATA
ACCACTCAATCGGGTGCCCCAAATGCTTTTTCTTATCTAAGGAGCTCTATCGACTGGATA
TGTCCAATAATAACCTAAGTAATTTACCTCAGGGTATCTTTGATGATTGGACAATATAACAC
AACTGATTCTTCGCAACAATCCCTGGTATTGCGGGTGCAAGATGAAATGGGTACGTACTGGT
TACAATCACTACCTGTGAAGGTCAACGTGCGTGGGCTCATGTGCCAAGCCCCAGAAAGGTTTC
GTGGGATGGCTATTAAAGATCTCAATGCAGAACTGTTGATTGTAAGGACAGTGGGATTGTAA
GCACATTCAGATAACCACTGCAATACCAACACAGTGATCTTCCCAAGGACAGTGGCCAG
CTCCAGTGACCAACAGCCAGATATTAAGAACCCCAAGCTCACTAAGGATCAACAACACACAG
GGAGTCCCTCAAGAAAAACAATTACAATTACTGTGAAGTCTGTCACTCTGATACCAATTCATA
TCTCTTGGAACTTGCTCTACCTATGACTGCTTTGAGACTCAGCTGGCTTAACTGGGCCATA
GCCCGCATTTGGATCTATAACAGAAACAATTGTAAAGGGGAACGAGTGAGTACTTTGGTCA
CAGCCCTGGAGCTGATTACCTTATAAAGTATGATGGTTCCCATGGAAACAGCAACTCT
ACCTATTTGATGAACTCCTGTTGTATTGAGACTGAACTGCACCCCTTCGAATGTACAACC
CTACAACACCTCAATCGAGAGCAAGAAAGAACTTACAAAAACCCCAATTTACCTTTGG
CTGCCATCATTGTTGGGCTGTGGCCCTGGTTACCATTGCCTTCTTGCCTTTAGTGTGTGGT
ATGTTCATAGGAATGGATCGCTCTTCTCAAGGAACGTGCAATATAGCAAGGAGGAGAGAA
AGGATGACTATGCAGAGCTGGCACTAAGAAGGACAACTCTATCTTGGAAATCAGGGAACCT
CTTTTCAGATGTTACCAATGAAGCAATGAACCCATCTCGAAGGAGGAGTTTGAATACACACCA
TATTTCTCTCAATGAAGTGAATCTGTACAAAAACAATCAGAGTGAAGCAGTAGTAACCGAA
GCTACAGAGACAGTGGTATTCAGACTCAGATCACTCACACTCA**GA**TGCTGAGGACTCACA
GCAGACTTGTGTTTGGGTTTTTAAACCTAAGGAGGTGATGGT

【図 1 3 2】

MISAAWSIFLIGTKIGLFLQVAPLSVMAKSCPSVCRCDAGFIYCNDRFLTSIPTGIPEDATTL
YLQNNQINNAGIPSDLKNLLKVERIYLYHNSLDEFPTNLPKYVKELHLQENNIRITYDSLSK
IPYLEELHLDDNSVSAVSIEEGAFRDSNYLRLLPLSRNHLSTIPWGLPRTIEELRLDDNRIST
ISSPSLQGLTSLKRLVLDGNLLNNHGLGDKVFFNLVNLTELSLVNLSLTAAPVNLPGTNLRKL
YLQDNHINRVFPNAPSYLRQLYRLDMSNNLSNLPQGLFDDLDNITQLILRNNPWYCGCKMKW
VRDWLQSLPVKVNVRGLMCAPEKVRGMAIKDLMNAELPDKDSGIVSTIQITTAIPMTVYVPAQ
GQWPAPVTQPDINKPKLTKDQQTGSPSRKTIITIVKSVTSDTIHISWKLALPMTALRLSLW
KLGHSPAFGSITETIVTGERSEYLVTALEPOSPYKVMVPMETSNLYLFDETPVCIETETAPL
RMYNPTTLNREQEKEPYKNPNPLAAIIGGAVALVTIALLALVCWYVHRNGLSFSRNCAYSK
GRRRKDDYAEAGTKKDNSILEIRETSFQMLPISNEPISKEEFVIHTIFFPNGMNLYKNNHSES
SSNRSYRDSGIPDSHSHS

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-28

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 531-552

N-グリコシル化部位:

アミノ酸 226-229, 282-285, 296-299, 555-558, 626-629, 633-636

チロシンキナーゼリン酸化部位:

アミノ酸 515-522

N-ミリスチル化部位:

アミノ酸 12-17, 172-177, 208-213, 359-364, 534-539, 556-561, 640-645

アミド化部位:

アミノ酸 567-570

ロイシンジッパーパターン:

アミノ酸 159-180

ホスホリパーゼ A 2 アスバラギン酸活性部位:

アミノ酸 34-44

【図 1 3 4】

MSARGRWEGGRRACRGLGLARAQAEVTSSEQRFPAMASLGLLLLLLTALPPLWSSSLPG
LDTAESKATIADLILSALERATVPLEQRLPEINLDGMHVGRVLEEQLKSVREKWAQEPILLQPL
SLRVGMLGEKLEAAIQRSLHYLKLSDPKYLREFQLTLQPGFWKLPHAWIHTDASLVYPTFGPQ
DSFSEERSDVCLVQLLGTGTDSSSEPCGLSDLCRSLMTKPGCSGYCLSHQLLFFLWARMRGCTQ
GPLQSQSDYINLFCANMMDLNRRAEAIQYAYPTRIDFMENIMFCMGGFSDPYKLRWLEAILS
WQKQQEGCGFGEFDAEDELKSAIQYQOHFSRRVKRREKQFPDSRSVAQAGVQWRNLGSLQPLP
PGFKQPSCLILPSSWDYRSVPPYLANFYIFLVETGFHHVAHAGLELLISRDPTSGSQSVGL

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-26

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 39-56

チロシンキナーゼリン酸化部位:

アミノ酸 149-156, 274-282

N-ミリスチル化部位:

アミノ酸 10-16, 20-26, 63-69, 208-214

アミド化部位:

アミノ酸 10-14

糖タンパク質ホルモンペーパー鎖シグネチャー 1:

アミノ酸 230-237

【図 1 3 3】

CCGTCATCCCCCTGCAGCCACCCCTTCCCAGAGTCCTTTGCCAGGGCCACCCAGGCTTCTTGG
CAGCCCTGCCGGGCCACTTGTCTTCA**TG**TCCTGCCAGGGGAGGTGGGAAGGAGGTGGGAGGAG
GGCGTCGAGAGGCAGTCTGGGCTTGCCAGAGCTCAGGGTGCTGAGCCTGTGACCAGCAGTGA
GCAGAGGCCGGCCATGGCCAGCTGGGGCTGCTGCTCCTGCTCTTACTGACAGCACTGCCACC
GCTGTGTGCTCCTCACTGCCTGGGCTGGACACTGCTGAAGTAAGACACCACTTGCAGACCT
GATCCTGTCTGCGCTGGAGAGAGCCACCCTTCTCTAGAACAGAGGCTGCCTGAATCAACCT
GGATGGCATGGTGGGGTCCGAGTGTGGAAGAGCAGCTAAAAAGTGTCGGGAGAAAGTGGGC
CCAGGAGCCCCTGCTGCAGCCGCTGAGCTGCGCGTGGGGATGCTGGGGAGAAAGCTGGAGGC
TGCCATCCAGAGATCCCTCCACTACCTCAAGCTGAGTGATCCCAAGTACCTAAGAGAGTTCCA
GCTGACCCCTCCAGCCGGGTTTGGAGCTCCACATGCCTGGATCCACACTGATGCCTCCTT
GGTGTAACCCACGTTGCGGCCCCAGGACTCATTTCTCAGAGAGAGAAAGTACGCTGTGCTGGT
GCAGCTGCTGGGAACCGGGACGGACAGCAGCAGGCCCTGCGGCCTCTCAGACCTCTGCAGGAG
CCTCATGACCAAGCCCGGCTGCTCAGGCTACTGCCTGTCCACCAACTGCTCTTCTCTCCTTG
GGCCAGAATGAGGGGATGCACACAGGGACCACCTCCAACAGAGCCAGGACTATATCAACCTCTT
CTGCCCAACATGATGGACTTGAACCGCAGAGCTGAGGCATCGGATACGCTACCTACCCG
GGACATCTTCATGGAACCATCATGTTCTGTGGAATGGCGGGCTTCTCCGACTTCTACAAGCT
CCGGTGGCTGGAGGCCATTCTCAGCTGGCAGAAACAGCAGGAAGGATGCTTCGGGGAGCCTGA
TGCTGAAGATGAAGAATTATCTAAAGCTATTCAATATCAGCAGCATTTTTCGAGGAGAGTGAA
GAGGCGAGAAAAACAATTTCCAGATTCTCGCTCTGTGTGCTCAGGCTGGAGTACAGTGCGCCAA
TCTCGGCTCACTGCAACCTTTGCCTCCTGGGTTCAAGCAATTTCTTGCCTCATCCTCCGAG
TAGCTGGGACTACAGGAGGCTGCCACCATACCTGGCTAAATTTTATATTTTTTTAGTAGAGAC
AGGGTTTTCATCATGTGTGCTCATGTGGTCTCGAAGCTCCTGATCTCAAGAGATGCGGCCACCTC
AGGCTCCCAAAGCTGGGATT**TAG**CTGTGAGCCACCGTGTCTGGCTGAAAAGCACTTTCCAAA
GAGACTGTGTTGAATAAAGGGCCAAGGTTCTTGCCACCCAGCACTCATGGGGGCTCTCTCCCC
TAGATGGCTGCTCTCCCAACAACAGCCACAGCAGTGCGCAGCCCTGGGTGGCTTCCATATACA
TCCCTGGCAGAAATACCCCCAGCAACAGAGAGCCACCCATCCACACCCGCCACCAAGCA
GCCGCTGAGACGGACGGTTCCATGCCAGCTGCCTGGAGGAGGAACAGACCCCTTTAGTCTCTCA
TCCCTTAGATCTCTGGAGGGCACGGATCACATCTGGGAAGAGGCATCTGGAGGATAAGCAAA
GCCACCCCGACACCCAATCTTGAAGCCCTGAGTAGGCAGGGCCAGGCTAGGTGGGGCCCGGG
AGGGACCCAGGTGTGAACGGATGAATAAAGTTCAACTGCAACTGAAAAA

【図 1 3 5】

GGTCTGAGTGCAGAGCTGCTG**CA**TGGCGGCGGCTCTGTGGGGCTTCTTTCCCGTCTGCTGC
TGCTGCTGCTATCGGGGATGTCCAGAGCTCGGAGGTGCCCGGGCTGCTGCTGAGGGATCGG
GAGGGAGTGGGTCGGCATAGGAGATCGCTTCAAGATTGAGGGGCGTGAGTGTGTTCCAGGG
TGAAGCCTCAGGACTGGATCTCGGCGGCCCGAGTGCTGGTAGCGGAGAGAGACGTCGGTT
TCCTTAAGACAGATGGGAGTTTGTGGTTCAATATACCTTTCTGGATCTTATGTAGTGAAG
TTGTATCTCCAGCTTACAGATTGTATCCCGTTGAGTGAGTATCAGCTTCGAAAGGAAAAATGA
GAGCAAGATATGTGAATTACATCAAAACATCAGAGGTGTGAGACTGCCCTATCCTCTCCAAA
TGAATCTTCAGGTCACACCTTCTTACTTTATTAAGGGAATCGTGGGGCTGGACAGACTTTC
TAATGAACCCCAATGGTTATGATGATGGTTCTTCTTTATGATATTGTGCTTCTGCCTAAAG
TGGTCAACACAAGTGATCTGACATGAGACGGGAAATGGAGCAGTCAATGAATATGCTGAATT
CCAACATGAGTTGCCCTGATGTTTCTGAGTTTATGACAAGACTTCTCTTCAAAATCATCTG
GCAAACTAGCAGCGGCAGCAGTAAACAGGCAAAAGTGGGGCTGGCAAAAGGAGG**TAG**TCAG
GCCGTCAGAGCTGGCATTTCACAAAACAGGCAACACTGGGTGGCATCCAAGTCTGGAAAA
CCGTGTGAAGCAACTACTATAAACTTGAGTCATCCCGAGCTTGATCTCTTACAAGTGTGTATG
TTAAGCTTTTAGCACATGTTTGTACTTGGTACACGAGAAAAACCCAGCTTTCATCTTTTGTCT
GTATGAGGTCAATATTGATGTCACGAATTAATTACAGTGCTCTATAGAAAAATGCCATTAAATA
AATTATGAAGTACTATACATTATCTATATTAAATAAACATCTTAATCCAGAAATCAAAAA
AAAAA

【図 136】

MAAALWGFFPVLILLLLSGDVQSSEVPGAAAEAGSGSGVIGDRFKIEGRAVVPVGVKPDWIS
AARVLVDGEEHVGLKTDGSFVVHDIPSGSYVVEVVS PAYRFDVVRVDITSKGMRARYVNYI
KTSEVVRLPYPLQMKSSGPPSYFIKRESWGWTDFLMNPMVMMVLPLLIFVLLPKVNVNTSDPD
MRREMEQSMNMLNSNHELDPVSEFMTRLFSSKSSGKSSSGSKTKSGAGKRR

タンパク質の重要な特徴:

シグナル配列:

アミノ酸 1-23

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 161-182

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 184-187

グリコサミノグリカン付着部位.

アミノ酸 37-40, 236-239

cAMP-及びcGMP-依存性プロテインキナーゼリン酸化部位.

アミノ酸 151-154

N-ミリスチル化部位.

アミノ酸 33-38, 36-41, 38-44, 229-234

アミド化部位.

アミノ酸 238-241

ATP/GTP-結合部位モチーフA (Pループ).

アミノ酸 229-236

【図 138】

MRQFPKTSFDISPMSFSIYSLQVPAVPLTCWALTAEPGWQNKGATTCATNWSHSDSELRPE
IPSSREAWQFLLWSFPDRPKMKASSLAFSLLSAAPYLLWTPSTGLKTLNLGSCVIATNLQE
IRNGFSEIRGSVQAKDGNIDIRILRRTESLQDTPKANRCCLLRHLLRLYLDRVFKNYQTPDHY
TLRKISSLANSLTIKKDLRLSHAHMTHCHGSEAMKKYSQILSHFEKLEPQAAVVKALGELDI
LLQWMEETE

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-42

cAMP-及びcGMP-依存性プロテインキナーゼリン酸化部位.

アミノ酸 192-195, 225-228

N-ミリスチル化部位.

アミノ酸 42-47, 46-51, 136-141

【図 137】

GATGGCGCAGCCACAGCTTCTGTGAGATTGGAATTTCTCCCACTTCCCCGTGGGTCTGAGGG
GACCAGAAGGGTGAGCTACGTTGGCTTTCTGGAAGGGGAGGCTATATGCGTCAATTTCCCAA
ACAAGTTTGTGACATTTCCCTGAAATGTCATTCTCTATCTATTCACTCGAAGTGCTGCTGTT
CCAGGCTTACCTGCTGGGCACTAACGGCGGAGCCAGATGGGGACAGAATAAAGGAGCCACG
ACCTGTGCCACCAACTCGCACTCAGACTCTGAACTCAGACCTGAAATCTTCTCTTCACGGGAG
GCTTGGCAGTTTTTCTTACTCTGTGCTCCAGATTTAGGCTCAAGATGAAGCCTCTAGT
CTTGCTTCAGCTTCTCTCTGCTGCGTTTTATCTCCTATGGACTCCTTCCACTGGACTGAAG
ACACTCAATTTGGGAAGCTGTGTGATCGCCACAAACCTTCAGGAAATACGAAATGGATTTTCT
GAGATACGGGCGAGTGTGCAAGCCAAAGATGGAACATTGACATCAGAATCTTAAGGAGGACT
GAGTCTTTGCAAGACACAAAGCCTGCGAATCGATGCTGCTCTCTGCGCATTTGCTAAGACTC
TATCTGGACAGGGTATTTAAAAACTACCAGACCCCTGACCATTATACTCTCCGGAAGATCAGC
AGCCTCGCCAATTCCTTTCTTACCATCAAGAAGGACCTCCGGCTCTCTCATGCCACATGACA
TGCCATTGTGGGGAGGAAGCAATGAAGAAATACAGCCAGATTCTGAGTCACTTGAAAAGCTG
GAACCTCAGGCAGCAGTTGTGAAGCTTTGGGGGAACAGACATTTCTTCGAATGGATGGAG
GAGACAGAAATAGGAGGAAAGTGATGCTGCTGCTGAAGAATATTCGAGGTCAAGAGCTCCAGTCT
TCAATACCTGCAGAGGAGGCATGACCCCAAAACCATCTCTTTACTGTACTAGTCTTGTGCT
GGTCACAGTGATCTTTATTTATGCATTACTTGCTTCCTTGCAATGATTGCTTTATGCATCCCC
AATCTTAATTGAGACCATACTGTGATAAGATTTTGTAAATATCTTTCTGCTATTGGATATATTT
TATTAGTTAATATATTTATTTATTTTGTCTATTAAATGATTTATTTTCTTACTTGGACATG
AAACTTTAAAAAAATTCACAGATTATATTTATAACCTGACTAGAGCAGGTGATGTATTTTAT
ACAGTAAAAAAGAAACCTTGTAAATTCAGAAAGTGGCTAGGGGGGTTTATCATTTGTAT
TCAACTAAGGACATATTTACTCATGCTGATGCTCTGTGAGATATTTGAAATTAAGCAATGAC
TACTTAGGATGGGTGTGGAATAAGTTTGTGATGGAATTGCACATCTACCTTACAATTACTG
ACCATCCCCAGTAGACTCCCCAGTCCCATAAATGTGTATCTTCCAGCCAGGAATCTACACGG
CCAGCATGTATTTCTACAAATAAGTTTCTTTGCATACCAAAAAAAGAAAAA

【図 139】

CCTGGAGCCGGAAGCGCGGCTGCAGAGGGCGAGGCTCCAGTGGGGTGGTTCCGCATCCAG
CCTAGCGTGTCCACGATGCGGCTGGGCTCCGGGACTTTTCGTACCTGTTGGCTAGCGATCGAG
GTGCTAGGGATCGCGGCTTCTCTCGGGGATTCTTCCGGCTCCCGTTCGTTCTCTGCCAGA
CGGAAACACGGAGCGGAGCCCCAGCGCCCGAACCTCGGCTGGAGCCAGTTCTAACTGGACC
ACGCTGCCACCACTCTCTCTCAGTAAAGTTGTATTGTTCTGATAGATGCCCTGGAGATGAT
TTTGTGTTTGGGTCAAAGGGTGTGAAATTTATGCCCTACACAACTTACCTTGTGAAAAAGGA
GCATCTCAGACTTTTGTGGCTGAAGCAAGCCACCTACAGTTACTATGCCCTCGAATCAGGGCA
TTGATGACCGGGAGCTTCTCGGCTTTGTCAGCTCATCAGGAACCTCAATTTCTCTCACTG
CTGGAAGACAGTGTGATAAGACAAGCAAGCAAGCAGCTGGAAGAAAGATAGTCTTTATGGAGAT
GAACTCTGGCTTAAATTAATCCCAAAGCATTGTGGAATATGATGGAACAACCTCATTTTTC
GTGTCAGATTACACAGAGGTGGATAAATGTCAAGAGGCATTGGATAAAGATTAATAAAGA
GGAGATTGGGACATATTAATCCTCCACTACCTGGGCTGGACCACATTGGCCACATTTACGGG
CCCAACAGCCCCCTGATTGGGCGAAGCTGAGCGAGATGGACAGCTGCTGATGAAGATCCAC
ACCTCAGTCAGTCGAAGGAGAGAGAGACGCTTTACCCAATTTGCTGGTTCTTTGTGGTGAC
CATGGCATGTCTGAAACAGGAAGTCAGGGGCTCTCTCCACCGAGGAGGTGAATACACTCTG
ATTTTAATCAGTTCTGCGTTTGAAGGAAACCCGGTGATATCCGACATCCAAAGCAGCTCAA
TAGACGGAATGTGGCTGCGCACCTGGCGATAGCACTTGGCTTACCGATTCCAAAAGCAGAGTGA
GGGAGCTCTCTATTCCAGTTGTGGAAGGAAGACCAATGAGAGAGCAGTTGAGATTTTACAT
TTGAATACAGTGCAGCTTAGTAAACTGTTGCAAGAGAATGTGCCGTATATGAAAAAGATCTCT
GGGTTTGAGCAATTTAAATGTGAGAAAGATTGCAAGGAACCTGATCAGACTGTACTTGGAG
GAAAGCACTTCAGAGTCTTATTAACCTGGGCTCAGAGGTTCTGAGCACTACCTGGATGCT
CTGAAGACCTGAGCTTCTCTCTGAGTGACAAAGTGCCCACTGTCACCTGCTCTGCTCA
CGCTCCACAGGCACTGCACAGAAAGGCTGAGCTGGAAGTCCCACTGTCACTCTCGGCTTT
CTCTGCTCTTTTATTGGTGATCTCGGTTCTTTCGGCGTTTCACTGATTGTGCACTCTCAG
CTGAAAGTTCTGTCTACTTCTGTGGCTCTCTGCTGGCTGGCGGCGAGGCTGCCTTTGTTTACCA
GACTCTGGTTGAACACTGGTGTGTGCCAAGTGTGCAAGTGGCCCTGGACAGGGGGCTCAGG
GAAGGACGTGGAGCAGCTTATCCAGGCTCTGGGTGTCCGACACAGGTGTTCAACATCTGT
GCTGTGAGGTGAGTGCCTCAGTTCTTGAAGAGTAGGTCTCTGCACTGTGTACCAAGCTGAT
TGTAAAGAGCTGGCGGTACAGAGGAAACAAGCCCCAGCTGAGGGGGTGTGTAATCGGACA
GCCTCCCAAGAGGTGTGGGAGCTGCAGCTGAGGGAAGAAGAGACAATCGGCTGGACACTC
AGGAGGTCAAAAGGAGACTTGGTCGACCACTCATCTGCAACCCCAAGATGCACTCCGCT
TCATCAGGTCAGATTTCTTCCAAAGCCGAGCTTTCTGTGGAATTTCTAGTCTTGGCT
CGGACACTTCATTTGTTAGCTGGGAGTGGTGTGAGGAGTGAAGAAGAGCGGATGGCTCA
CACTCAGATCCACAGAGCCAGGATCAAGGACCCACTGCAAGTGGCAGCAGACTGTTGGGCC
CCCCCAACCTTGCAAGCCCTCATCCCTCTTTGGCTTGAGCCCTCAGAGGCCCTGTGCTG
AGTGTCTGACCGAGACACTCAGAGCTTTGTCTATCAGGGCAGAGGCTTCTCGGAGCCAGGATG
ATCTGTGCCACGCTTGCACTCGGGCCATCTGGGCTCATGCTCTCTCTCTGATTGAAT
AGTACTAGCTGCACACAGTATGTAGTTACCAAAAGATAAAGCGCAATTAATTGAGAAAAA
A

【図 1 4 0】

MRLGSGTFATCCVAIEVLGIAVFLRGFFPAPVRSSSARAEHGAEPFAPEPSAGASSNWTTLPPP
LFSKVIVILIDALRDDFVFGSKGVKFMPTTYLVEKGASHSFVAEAKPPTVTMPRIKALMTGS
LPGFVDVIRNLNSPALLEDVIRQAKAAGKRIVFYGDETWVKLFPKHFEVDGTTTSFFVSDYT
EVDNNVTRHLDKVLKRGDWDILILHYLGLDHIHISGPNSPLIQQLSEMDSVLMKIHTSLQS
KERETPLPNLLVLCGDHGMSETGSHGASSTEEVNTPLILISSAFERKPGDIRHFKHVQ

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-34

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 58-76

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 56-60, 194-198

N-ミリスチル化部位.

アミノ酸 6-12, 52-58, 100-106, 125-131, 233-239, 270-276, 275-281,
278-284

アミド化部位.

アミノ酸 154-158

細胞付着配列.

アミノ酸 205-208

【図 1 4 3】

CTAGAGAGTATAGGGCAGAGGATGGCAGATGAGTGACTCCACATCCAGAGCTGCCCTCCCTTT
AATCCAGGATCCTGTCTTCCTGTCTGTAGGAGTGCCTGTTGCCAGTGTGGGTTGAGACAAG
TTTGTCCACAGGGCTGTCTGAGCAGATAAGATTAAAGGGTGGGCTGTGTCTCAATTTAACTCC
TGTGGGCACGGGGCTGGGAAGAGCAAAAGTCAGCGGTGCCTACAGTCAGCACCA**TG**CTGGGCC
TGCCGTGGAAGGGAGGTCTGTCTGGGCGTGTCTGCTTCTCTTAGGCTCCAGATCCTGTC
TGATCTATGCCCTGGCATTTCACAGGCAAAAGGACTGTGATGAACACAATGTCATGGCTCGTT
ACCTCCCTGCCACAGTGGAGTTTGCTGCCACACATTCAACCAAGAGCAAGGACTACTATG
CCTACAGACTGGGGCACATCTTGAATTCCTGGAAGGAGCAGGTGGAGTCCAAGACTGTATTCT
CAATGGAGCTACTGCTGGGGAAGTAAGTGTGGGAAATTTGAAGACGACATTGACAACCTGCC
ATTTCCAAGAAAGCAGAGAGCTGAACAATATTTTCACTGCTTCTTACCATTGACACACAGGC
CCTGGATGACTCAGTTTCAAGCTCTGAACAAGACCTGCTTGGAGGGATTCCAC**TG**AGTGAAAC
CCACTCACAGGCTTGTCCATGTGCTGTCCCACATCCGTGGACATCAGCACTACTCTCTGTA
GGACTCTTCACTGGCTGAGCAGCTTTGGACTTGTGTGTTATCTATTTTGATGTGTTTGAGA
TCTCAGATCAGTGTTTAGAAAAATCCACACATCTTAGGCCTAATCATGTAGTGTAGATCATTA
AACATCAGCATTTTAAGAAAAA
AA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【図 1 4 4】

MLGLPWKGLSWALLLLLQILLIYAWHFHEQRDCDEHNVMARYLPATVEFAVHTFNQQSK
DYIAYRLGHILNSWKEQVESKTVFSMELLGLGRTRCGKFEDDI DNCHFQESTELNNFTTCFFFI
STRPWMTQFSLNKTCLGEPH

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-25

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 117-121, 139-143

N-ミリスチル化部位.

アミノ酸 9-15

【図 1 4 1】

GGCACGAGGCAAGCCTTCCAGTTATCGTGACGCACCTTGAAAGTCTGAGAGCTACTGCCCTA
CAGAAGTTACTAGTGCCCTAAAGCTGGCGCTGGCAGCT**GATG**TACTGCTGCTGTTGGAGTAC
AACTTCCCTATAGAAAAACAAGTCCAGCAGCCTTAAGACCACCTCACACCTTCAGAGTGAAGA
TTAAACCCGAAGAAATTCAGCATTCATGACCAGGATCACAAGTACTGGTCTGGACTCTGGG
AATCTCATAGCAGTTCAGATAAAAACTACATACGCCAGAGATCTTCTTTGCATTAGCCTCA
TCCTTGAGCTCAGCCTCTGCGGAGAAAGGAAGTCCGATTCTCCTGGGGGTCTCTAAAGGGGAG
TTTGTCTCTACTGTGACAAGGATAAAGGACAAAGTCATCCATCCCTTCAGCTGAAGAAGGAG
AAACTGATGAAGCTGGCTGCCCAAAAGGAATCAGCACGCCGCGCCTTCATCTTTTATAGGCT
CAGGTGGGCTCTTGGAACATGCTGGAGTCGGCGGCTCACCCCGATGGTTCACTGCACTCC
TGCAATTGTAATGAGCTGTGGGCTGACAGATAAATTTGAGAACAGGAAACACATTGAATTT
TCATTTCAACCAAGTTTGCAAAGCTGAAATGAGCCCAAGTGGGTGAGGAT**TAG**GAAACTGCC
CCATTGAACGCTTCTCGCTAATTTGAACATAATTGTATAAAAAACCAAACTGCTCACT

【図 1 4 2】

MLLLLLLEYNFPIENNCQHLKTTHTFRVKNLNPKKFSIHDQDHKVLVLDGNLIIVPDKNYIRP
EIFFALASSLSASAENKSGPILLGVSKGEFLYCDKDKGQSHPSLQKKKELMKLAAQKESAR
RPFIFYRAQVGSWNMLESAHPGWFICTSCNCPNVGVTDFENRKHIEFSQPVCKAEMSPS
EVSD

cAMP-及び cGMP-依存性プロテインキナーゼリン酸化部位.

アミノ酸 33-36

N-ミリスチル化部位.

アミノ酸 50-55, 87-92

インターロイキン-1

アミノ酸 37-182

【図 1 4 5】

CTGTGCAGCTCGAGGCTCCAGAGGCACACTCCAGAGAGAGCCAAAGTTCTGACGCC**ATG**AGGA
AGCACCTGAGCTGGTGGTGGCTGGCCACTGTCATGCTGCTCTTCAAGCACCTCTCTGCGG
TCCAGACGAGGGGCATCAAGCACAGAATCAAGTGAACCGGAAGGCCCTGCCAGCACTGCC
AGATCACTGAGGCCAGGTGGCTGAGAACC GCCCGGAGCCTTCATCAAGCAAGGCCGCAAGC
TCGACATTGACTTCGGAGCCGAGGGCAACAGGTACTACGAGGCCAACTACTGGCAGTTCCCG
ATGGCATCCACTACAACGGCTGCTCTGAGGCTAATGTGACCAAGGAGGCATTTGTACCGGCT
GCATCAATGCCACCCAGGCGGGAACAGGGGGAGTTCCAGAGCCAGACAACAAGCTCCACC
AGCAGGTGCTCTGCGGCTGGTCCAGGAGCTCTGCTCCCTCAAGCATTGCGAGTTTGGTTGG
AGAGGGGCGCAGGACTTCGGGTACCATGCACACGACGCTGCTCTGCTCTTCTGGCTTTGA
TCTGGCTCATGGTGAAT**TAG**CTTGCCAGGAGGCTGGCAGTACAGAGCGCAGCAGCGAGCAA
TCTTGGCAAGTGACCCAGCTCTTCTCCCCAAACCCGCGTGTCTGAAGGTGCCAGGAGC
GGCGATGCACCTGCATGCAATGCCGCTCCACGTATGCGCCCTGGTATGTGCTGCTGCTTCT
GATAGATGGGGAGCTGTGGCTTCTCCGTCACATCCATCTCTAGCCCCCTAGCAGAGCGCTCGCA
CACTAGATTAGTAGTAAATGCTTGATGAGAAGAACATCAGGCACTGCGCCACCTGCTTCA
AGTACTTCCCAACAACCTTTAGAGGTAGGTGATTTCCCGTTTACAGATAAGGAAACTGAGGC
CCAGAGAGCTGAAGTACTGCACCCAGCATCACAGCTAGAAAGTGCGCAGGCGAGGATTCAC
CTGGCTGTCTAACCCAGGTTTCTGCTCTGCTCAATTCCAGAGCTGTCTGTGTGATCACTT
TATGTCCTCACAGGGACCCACATCAAACATGTATCTCTAATGAAATGTGAAGCTCCATGTT
TAGAAATAAATGAAACACCTGA

【図 1 4 6】

MRKHLSSWWLATVCMLLFSLHSAVQTRGIKHRIKWNRKALPSTAQITEAQAENRPGAFIKQG
RKLDIDFGAEGNRYEANYWQFPDGIHYNGCSEANVTKEAFVTCGINATQAANQGEFQKPDNK
LHQQVLWRLVQELCSLKHCEFWLERGAGLRVTMHQPVLCLLALILWLMVK

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-26

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 157-171

N-グリコシル化部位:

アミノ酸 98-102, 110-114

チロシンキナーゼリン酸化部位:

アミノ酸 76-83

N-ミリスチル化部位:

アミノ酸 71-77, 88-94, 93-99, 107-113, 154-160

アミド化部位:

アミノ酸 62-66

【図 1 4 7】

GCCTTGGCCTCCCAAAGGGCTGGGATTATAGGCGTGACCACCATGTCTGGTCCAGAGTCTCAT
TTCCTGATGATTTATAGACTCAAAGAAAACTCTGTTTCAGAAGCTCTCTTCTCTTCTGGCCCTC
CCTCTGTCTTCTTTCCTCTTCTTCTTATTTTAATTAGTAGCATCTACTCAGAGTCATGCA
AGCTGGAATCTTTTCATTTGCTTGTCAGTGGGGTAGGTCAGTCTTAGTTTTATTTTT
TGAAATTTCAACTTTTCAGATTTCAGGGGTACATGTGAAGGTTTGTTTTATGAGTATATTGCAT
GATGCTGAGGTTTGGGGT

【図 1 4 9】

GTCTCCGCGTCACAGGAATTCAGCACCCACAGGGCGACAGCGTCCCCCTCTACCTGGAGAC
TTGACTCCCGCGCGCCCCAACCTCGTTATCCTTTGACCGTCGAGTGTACAGAGATCTGCAGC
CGCCAGTCCCGGCGCCTCTCCCGCCCCACACCCACCTCTCGGCTCTTCTGTTTTTACTCC
TCCTTTTCATTCATAACAAAGCTACAGCTCCAGGAGCCAGCGCCGGGCTGTGACCCAAAGCC
GAGCGTGGAAGAATGGGGTTCCTCGGGACCGGCACCTGGATTCTGGTGTAGTGCTCCCGATT
CAAGCTTCCCCAAACCTGGGGAAGCCAAGACAATCTCTACATAATAGAGAAATTAAGTGCA
GAAAGACCTTTGAATGAACAGATTGCTGAAGCAGAAGAAGACAAGATTAAAAAACATATCTCT
CCAGAAAAACAAGCCAGGTTCAGAGCAACTATTTCTTTTGTGATAACTTGAACCTGCTAAAGGCA
ATAACAGAAAAGGAAAAAATTGAGAAAGAAAGACAATCTATAAGAAAGCTCCCCACTTGATAAT
AAGTTGAATCTGGAAGATGTTGATTCAACCAAGAATCGAAAACATGATCGATGATTATGACTCT
ACTAAGAGTGGATTGGATCATAAATTTCAAGATGATCCAGATGGTCTTCATCAACTAGACGGG
ACTCCTTTAAACCGCTGAAGACATTGTCCATAAAATCGCTGCCAGGATTTATGAAGAAAAATGAC
AGAGCCGTGTTTGACAAGATGTTTCTTAACTACTTAAATCTCGGCCCTTATCACAGAAAGCCAA
GCACATACACTGCAAGATGAAGTAGCAGAGGTTTTACAAAAATTAATCTCAAAGGAAGCCAAAC
AATATGAGGAGGATCCCAATAAGCCCCACAAGCTGGACTGAGAAATCAGGCTGGAAAAATACCA
GAGAAAGTGACTCCAATGGCAGCAATTCAAGATGGCTTTGCTAAGGGAGAAAACGATGAAACA
GTATCTAACACATTAACTTGCAGAAATGGCTTGGAAAGGAGAACTAAACCTACAGTGAAGAC
AACTTTGAGGAACCTCCAATATTCCCAAATTTCTATGCGCTACTGAAAAGTATTGATTGAGAA
AAGAAGCAAAAGAGAAAGAAACACTGATTACTATCATGAAAACACTGATTGACTTTGTGAAG
ATGATGGTGAAATATGGAACAATATCTCCAGAAGAAGGTGTTTCTACCTTGAAAACCTTGGAT
GAAATGATTGCTCTTCAGACCAAAAACAAGCTAGAAAAAATGCTACTGACAATATAAGCAAG
CTTTTCCAGCACCATCAGAGAAGAGTCATGAAGAAACAGACAGTACCAAGGAAGAAGCAGCT
AAGATGGAAAAGGAATATGGAAGCTTGAAGGATTCACAAAAGATGATACTCCAACCCAGGA
GGAAAGCAGATGAACCCAAAGGAAAAACAAGACCTATTGGAAGCCATCAGAAAAAATATT
CAATGGTTGAAGAAACATGACAAAAAGGGAATAAAGAAGATTATGACCTTTCAAAGATGAGA
GACTTCATCAATAAACAAAGCTGATGCTTATGTGGAGAAAGGCATCCTTGACAAGGAAGAGCC
GAGGCCATCAAGCGCATTTATAGCAGCGCTGTAAAAAATGGCAAAAGATCCAGGAGCTCTTCAAC
TGTTTTCAGAAAACATAATATAGCTTAAACACTTCTAATTCTGTGATTAAAAATTTTTGACCC
AAGGGTTATTAGAAAGTGCTGAATTTACAGTAGTTAACCTTTTCAAGTGGTTAAACATAGC
TTTCTTCCCCTAAAAACATATCTGAAAGTAAAGTTGTATGTAAGCTGAAAAA

【図 1 4 8】

MFRSSLLFWPPLCLLSLFLILLISSIYSESKLEIFHFACQWGRSLSLSFYFLKFLQSDSGGT
CEGLFYEYIA

タンパク質の重要な部位:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-25

N-ミリスチル化部位:

アミノ酸 62-68

【図 1 5 0】

MGLGTGTWILVLPPIQAFPKPGGSQDKSLHNRELSAERPLNEQIAEAEEDKIKKTYPPENK
PGGSNYSFVDNLNLLKAITEKEKIEKERQSIRSSPLDNKLNVEDVDSTKNRKLDDYDSTKSG
LDHKFQDDPDGLHQLDGTPLTAEDIVHKIAARIYEENDRAVFPKIVSKLLNLGLITESQAHTL
EDEVAEVLQKLISKEANNYEDPNKPTSWTENQAGKIPEKVTMPMAIQDGLAKGENDETVSNT
LTLTNGLERRTKTYSEDNFEEQYFPNFYALLKSIDSEKEAKEKETLITIMKTLIDFVKMMVK
YGTISP EEGVSYLENIDEMIALQTKNLEKNA TDNISKLFPAPSEKSHEETDSTKEEAKMEK
EYGS LKDS TKDDNSNPGGKTDEPKGTEAYLEAIRKNIEWLEKHKDKGNKEDYDLSKMRDPIN
KQADAYVEKGILDKEEAEA IKRIYSSL

N-グリコシル化部位:

アミノ酸 68-71, 346-349, 350-353

カゼインキナーゼIIリン酸化部位:

アミノ酸 70-73, 82-85, 97-100, 125-128, 147-150, 188-191, 217-220,
265-268, 289-292, 305-308, 320-323, 326-329, 362-365, 368-341,
369-372, 382-385, 386-389, 387-390

N-ミリスチル化部位:

アミノ酸 143-148, 239-244

【図 1 5 1】

CGGCTCGAGGCTCCCGCCAGGAGAAAGAACATTCTGAGGGGAGGTCTACACCCCTGTGGAGCTC
AAGATGGTCTCCTGAGTGGGGCGCTGTGCTTCCGAATGAAGGACTCGGCATTGAAGGTGCTTTAT
CTGCATAATAACCAAGCTTCTAGCTGGAGGGCTGCATGCGAGGGAAGGTCAATTAAGGTGAAGAG
ATCAGCGTGGTTCCTCAATCGCTGGCTGGATGCCAGGCTGTGCCCCGTCATCTCGGGGTGCAG
GCTGGAAAGCAGTGCCTGTCTATGTGGGTGGGGCAGGAGCCGACTTAACTACAGTGAAGCAGGT
AACATCATGGAGCTCTATCTTGGTGCCAAGGAATCCAAGAGCTTCACCTCTACCGCGGGGAC
ATGGGGCTCACCTCCAGCTTCGAGTGGCTGCCCTACCCGGGCTGGTTCCTGTGCACGGTGCCT
GAAGCCGATCAGCCTGTGCAGACTCACCCAGCTTCCCGAGAAATGGTGGCTGGAATGCCCCATC
ACAGACTTCTATTCTCCAGCAGTGTGATAGGGCAACGTGCCCCCCAGAACTCCCTGGGCAGAG
CCAGCTCGGCTGAGGGGTGAGTGGAGGAGACCCATGGCGGACAATCACTCTCTGTGCTCTCAG
GACCCCAAGCTCTGACTTAGTGGGCACCTGACCACTTTGTCTTCTGGTTCCCAAGTTTGGATAA
ATTCTGAGATTTGGAGCTCAGTCCACGGTCTCCCCCACTGGATGGTGTCTACTGCTGTGGAAC
CTTGTAACCAACATGTGGGTAACTGGGAATAACATGAAAGATTCTGTGGGGGTGGGGTG
GGGGAGTGGTGGGAATCAITTCCTGCTTAATGCTAACTGACAAGTGTACCCCTGAGCCCCGAG
GCCAACCCATCCCAGTGTAGCCTTATAGGGTCACTAGCTCTCCACATGAAGTCTCTGCTACCTC
ACCACTGTGCAGGAGGGGAGGTGGTCTATAGAGTCAAGGATCTATGGCCCTTGGCCCCAGCCCC
ACCCCTTCCCTTTAATCTCGCACTGTCTATATGTACTCTTTCTATCTCTTCCCTCATCATC
TTTGTGTGGGCATGAGGAGGTGTGATGTTCAGAAAGAAATGGCTCGAGCTCAGAAAGATAAAGA
TAAGTAGGGTATGCTGATCTCTTTTAAACCCCAAGATACAATCAAATCCCAGATGCTGGT
CTCTATTCCCATGAAAAAGTGCTCATGACATATTGAGAAAGCACTTACTTACAAAGTGGCATATA
TTGCAATTTATTTAATTAAAGATACCTATTATATATTTCTTATAGAAAAAGCTTCGAA
GAGTTTACTTCAATTCTAGCAATGTCAAGGTGGTGGCAGTATAGGTGATTTTCTTTTAAATC
TGTTAATTTATCTGATTTTCTCAATTTTCTTACAAATGAAGATGAATTCCTTGATAAAAATAA
GAAAGAAATTAATCTTAGGTAAGCAGAGCAGACATCATCTCTGATTGTCTCCAGCTCCCA
TCCCCAGAGTAATTTCAAATGGAATCGAGCTCTGTGCTCTGGTTGGTTGATGTAGTGATCA
GGAAACAGATCTCAGCAAGGCACTGAGGAGGAGGCTGTGCTGAGTTTGTGTGGTGGAACTCT
CTGGTAAAGGAATTAAGAAACAAAATCATCTGGTAATCTTTCTTAGAAGGATCACAGCCCT
CTGGGATTCGAAGCATTTGATCCAGTCTCTAAGAAGGCTGTGCTAGTGGTTGAATTTGTGTCC
CCCTCAAATTCACATCTCTTCTTGAATCTCAGTCTGTGAGTTTATTTGGAGATAAGGCTCTCTG
CAGATGTAGTTAGTTAAGACAGGTCTATCTGGATGAAGGTAGACCTAAATTCATATAGCTGT
GTTTCTCTGTGTAAGGAGAGGACACAGAGACAGAGAGACCCGGGAGAGCTATCTAAG
ATGAAGCAGAGATCGAGCTTTCTCGGCCACAGCTTAAGAAACACCAAGGATTTGGGCAACCA
TCAGAACCTTGAAGAGGCCAAGAGAAATTCCTCCCTAGAGCTTTAGAGGGATAACCGGCTCT
GCTGAACCTTTAATCTCAGACTTCCAGCCTCTCGAACGAAGAAGATAAATTCGGCTGTGTT
TAAGCCACCAAGGATAATTTGTTTACAGCAGCTCTAGGAACCTAATACAGCTGCTAAAATGATC
CCTGTCTCTCGTGTTTACATTTCTGTGTGTGTCCTCCCTCCCAATGTACCAAAAGTTCTTTTG
TGACCAATAGAAATATGGCAGAGATGATGGCATGCCATPTCCAAGATTAGGTTATAAAAGACAC
TGACGCTTCTACTTGAGCCCTCTCTCTGCAACCCACCGCCCCCAATCTATCTTGGCTCAT
CGCTCTGGGGGAAGCTAGCTGCCATGTCTAGCAGGCGCTATAAAGAGACTTACGTGGTAAAA
AATGAAGTCTCTCTGCCACAGCCACATTAGTGAACCTAGAAGCAGAGACTCTGTGAGATAATC
GATGTTTGTGTTTAAAGTGTCTAGTTTTTGGTCTAATCTGTTATGCAGCAATAGATAAAATA
TATGCAGAGAAAGAG

【図 1 5 4】

MAALQKSVSSFLMGLTATSCLLLLLVQCGAAAPISSHCRLDKSNFQQPYITNRTFMLAKEA
SLADNNTDVRLIGEKLFGHGVMSERCYLMKQVLNFTLEEVLPQSDRFQPYMQEVVPPFLARLS
NRLSTCHIEGDDLHTQRNVQKLDKTVKKLGESGEIKATGELDLLFMSLRNACI

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-33

N-グリコシル化部位:

アミノ酸 54-58, 68-72, 97-101

N-ミリスチル化部位:

アミノ酸 14-20, 82-88

原核生物膜リポタンパク質脂質付着部位:

アミノ酸 10-21

【図 1 5 2】

MVLSGALCFRMKDSALKVLYLHNNQLLAGLHAGKVIKGEESIVPNRWLDASLSPVLIVGQG
GSQCLSCGVQOEPTLTLEPVNIMELYLGAKESKSFTRYRRDMLTSSFESAAYPGWFLCTVPE
ADQPVRILTQLPENGGWNPATITDFYFQQCD

N-ミリスチル化部位:

アミノ酸 29-34, 30-35, 60-65, 63-68, 73-78, 91-96, 106-111

インターロイキン-1シグネチャー:

アミノ酸 111-131

インターロイキン-1シグネチャー:

アミノ酸 8-29, 83-120, 95-134, 64-103

【図 1 5 3】

CTTCAGAACAGGTCTCTCTTCCCCAGTCACCACTGTGCTCGAGTTAGAATTGTCTGCAATGGCC
GCCCTGCAGAAATCTGTGAGCTCTTTCTTATGGGGACCTTGGCCACCAGCTGCCTCTCTCTC
TTGGCCCTCTTGGTACAGGGAGGAGCAGTGCGCCCATCAGCTCCCACTGCAGGCTTGACAA
GTCCAACTTCCAGCAGCCCTATATCACCAACCCGACCTTCATGCTGGCTAAGGAGGCTAGCTTG
CTGATAACCAACACAGACGTTCTGTCTATTGGGAGAAACTGTTCACGGAGTCAGTATGAGT
GAGCGCTGCTATCTGATGAAGCAGGTGCTGAACCTTCCCTTGAAGAAAGTGTCTTCCCTCAA
TCTGATAGGTTCAGCCCTTATATGCAGGAGGTGGTGCCTTCTTGGCCAGGCTCAGCAACAGG
CTAAGCAGATGTCATATTGAAGGTGATGACCTGCATATCCAGAGGAATGTGCAAAAGCTGAAG
GACACAGTGAAAAAGCTTGGAGAGACTGGAGAGATCAAGCAATTTGGAGAACTGGATTGCTG
TTTATGTCTCTGAGAAATGCTGCAATTGCAACAGAGCAAGCTGAAAAATGAATAACTAACCC
CCTTTCCCTGTAGAAATAACAATTAGATGCCCAAGCGATTTTTTTTTAACCAAAAGGAAGA
TGGAAGCAAACTCCATCATGATGGGTGGATTCCAATGAACCCCTCGCTTAGTTACAAAGG
AAACCAATGCCACTTTTGTATTAAAGACCAGAAGGTAGACTTTCTAAGCATAGATATTTATTG
ATAAATTCATTCTGFAACTGGTGTCTATACACAGAAACAATTTATTTTAAATAATTGCTC
TTTTTCCATAAAAAAGATTACTTTCCATTCTCTTAGGGGAAAAAACCCCTAAATAGCTTCACTG
TTTCCATAATCAGTACTTTATATTTATAAATGTATTTATTATTATTATAAGACTGCATTTTAT
TTATATCATTTTATTAATATGGATTTATTTATAGAAACATCATTCGATATTGCTACTTGTAGTG
TAAGGCTAATATTGATATTTATGACAATAATTATAGAGCTATAACATGTTTATTGTACCTCAA
TAAACACTTGGATATCCC

【図 1 5 5】

GGCTTGCTGAAAAATAAATCAGGACTCCTAACCTGCTCCAGTCAGCCTGTCTTCCAGGAGCCT
GTGAGTCAGTGCCCGACTTGTGACTGAGTGTGCACTGCCAGCATGTACCAGGTGAGTGCAGA
GGGCTGCCTGAGGGCTGTGCTGAGAGGGAGAGGAGCAGAGATGTGCTGAGGGGTGAGGGGAGG
CCAAGCTGCCAGGTTTGGGGCTGGGGGCCAAGTGAGTGAGAACTGGGATCCCAAGGGGAGG
GTGAGATGAGGGAGCGACCCAGATTAGTGTAGGACAGTTCTCTCATTAGCCTTTTCTCTACAG
GTGGTTGCATTTCTGGCAATGGTCTATGGGAACCCACACCTACAGCCACTGGCCAGCTGTCTGC
CCCAGCAAAAGGCGAGGACACCTCTGAGGAGCTGTGAGGTGGAGCACTGTGCCCTGTGCCCTCC
CTAGAGCTGCTAGGCCCAACCGCCACCCAGAGTCTGTAGGGCCAGTGAAGATGGAACCCCTC
AACAGCAGGGCCATCTCCCCCTGGAGATATGAGTTGGACAGAGACTTGAACCGGCTCCCCCAG
GACCTGTACACAGCCCGTGTGCTGTGCCGCTGCTGCTCAGCTACAGACAGGCTCCACATG
GACCCCGGGGCAACTCGGAGCTGCTTACCAACACAGACTGTCTTCTACAGGCGGCCATGC
CATGGCAGAGGGCACCCACAAGGGCTACTGCCCTGGAGCGCAGGCTGTACCGTGTTCCTTA
GCTTGTGTGTGTGTGCGGCCCTGTGTATGGGCTAGCCGACCTGCTGAGGCTGGTCCCTTT
TTGGGAAACCTGGAGCCAGGTGTACAACCACTTGCCATGAAGGGCCAGGATGCCACAGATGCTT
GGCCCTGTGAAGTGTGTCTGGAGCAGCAGGATCCCGGACAGGATGGGGGCTTTGGGGAA
AACCTGCATTTCTGCACATTTTGAAGAGCAGCTGTGCTTATAGGCGCCGCGGAAGCTGGTGT
CCTGTCAATTTCTCTCAGGAAAGGTTTTCAAAGTTCTGCCCAATTTCTGGAGGCCCACTCTCT
GTCTCTTCTCTTTTCCATCCCTGCTACCTTGGCCAGCAGGCACTTTCTAGATATTTCT
CCCCCTGTCTGGAGAGAAAGAGCCCTGGTGTATTGTGTGTGTACTCATCACTCAGTGAGC
ATCTACTTTGGGTGCATTTCTAGTGTAGTTACTAGTCTTTTGTGACATGGATGATTCTGAGGAGGA
AGCTGTATTGAATGTATAGAGATTTATCCAAATAAATATCTTTATTTAAAAATGAAAAA

【図 156】

MRERPRLGEDSSLISLFLQVVAFLAMVMGTHYSHWPSCCPKQDTSEELLRWSTVPVPPL
PARPNRHPESCRASEDGPLNSRAISPWRYEYELDRDLNRLPDLYHARCLCPHCVSLQTGSHMDP
RGNSELLYHNQTVFYRRPCHGEKGTHTKGYCLERRLYRVSLACVCRPRVMG

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-32

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 136-140

チロシンキナーゼリン酸化部位.

アミノ酸 127-135

N-ミリスチル化部位.

アミノ酸 44-50, 150-156

【図 157】

CCGGCAGATGTCGCTCGTCTGCTAAGCCTGGCCGCGCTGTGCAGGAGCGCCGTACCCCGAGAG
CCGACCGTTCAAATGTGGCTCTGAAACTGGGGCATCTCCAGAGTGGATGCTACAACATGATCTA
ATCCCCGGAGACTTGGAGGACCTCCGAGTAGAACCTGTTACAACCTAGTGTGCAACAGGGGAC
TATTCAAATTTTGATGAATGTAAGCTGGGTACTCCGGGCAGATGCCAGCATCCGCTTGTGTAAG
GCCACCAAGATTTGTGTGACGGGCAAAAGCAACTTCCAGTCTACAGCTGTGTGAGGTGCAAT
TACACAGAGGCCTTCCAGACTCAGACCAGACCTCTGGTGGTAAATGGACATTTTCTTACATC
GGCTTCCCTGTAGAGCTGAACACAGTCTATTTCAATGGGGCCATAATATTCTAATGCAAAAT
ATGAATGAAGATGGCCCTTCCATGTCTGTGAATTTCACTCACCAGGCTGCCTAGACCACATA
ATGAAATATAAAAAAAGTGTGTCAAGGCCGGAAGCCTGTGGGATCCGAACATCACTGCTTGT
AAGAAGAATGAGGAGACAGTAGAAGTGAACCTTCAACACCACTCCCTGGGAAACAGATACATG
GCTCTTATCCAACACAGCACTATCATCGGGTTTTCTCAGGTGTTTGAGCCACACCAGAAAGAA
CAAACGCGAGCTTCAGTGGTGATTCCAGTGACTGGGGATAGTGAAGGTGCTACGGTGACAGTG
ACTCCATATTTTCTACTTGTGGCAGCACTGCATCCGACATAAAGGAACAGTTGTGCTCTGC
CCACAAACAGGCGTCCCTTTTCCCTCTGGATAACAACAAAGCAAGCCGGGAGGCTGGCTGCCT
CTCCTCTGCTGTCTCTGCTGGTGGCCACATGGGTGCTGGTGGCAGGAGTCTATCTAATGTGG
AGGCACGAAAGGATCAAGAAGACTTCCTTTTCTACCACCACTACTGCCCCCATTAAGGTT
CTGTGGTTTACCCATCTGAAATATGTTTCCATCACACAATTTGTACTTCACTGAATTTCTT
CAAAACCATTCAGAAAGTGAGGTCTATCTTGAAGGTGGCAGAAAGAAATAGCAGAGATG
GGTCCAGTGACAGTGGCTTGCCACTCAAAAGAAGGCGAGACAGAAAGTCGTCTTCTTCTTTCC
AATGACGTCAACAGTGTGTGCGATGTACCTGTGGCAAGAGCGAGGCGAGTCCCAAGTGAGAAC
TCTCAAGACCTCTTCCCTTTGCCCTTTAACCTTTTCTGCAGTGATCTAAGAAGCCAGATTAT
CTGCACAAATACGTGGTGGTCTACTTTAGAGAGATTGATACAAAGACGATTACAATGCTCTCT
AGTGCTCGCCCCAAGTACCACCTCATGAAGGATGCCACTGCTTTCTGTGCAGAACTTCTCCAT
GTCAAGCAGCAGGTGTGCAGCAGGAAAAAGATCACAGCCTGCCACGATGGCTGCTCTCCTTG

TAG

【図 158】

MSLVLLSLAALCRSAVPREPTVQCGSETGSPSEWMLQHDLLIPGDLRLRVEPVTTSVATGDYS
ILMNVSWVLRADASIRLLKATKICVTGKSNFQSYSCVRCNYTEAFQTQTRPSGGKWTFSYIGF
PVELNTVYFIGAHNIPNANMNEDGSPMSVNFSPGCLDHIMKYKKKCVKAGSLWDPNITACKK
NEETVEVNFTTTFLGNRYMALIQHSTIIIGFSQVFEPHQKKQTRASVVIPTVGDSEGATVQLTP
YFPTCGSDCIRHKGTVVLCPQTGVPPFLDNKSKPGGWLPLLLLSLLVATWVLVAGIYLMWRH
ERIKKTSFSTTTLLPPIKVLVVPYSEICFHHTICYFTEFLQNHCRSEVILEKWQKKKIAEMGP
VQWLATQKKAADKVVFLLSNDVNSVCDGTGKSEGPSSENSQDLFPLAFNLFCSDLRSQIHLH
KYVVVYFREIDTKDDYNALSVCPKYHLMKDATAFCAELLHVRQVQSAGKRSQACHDCCSL

タンパク質の重要な部位:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-14

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 290-309

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 67 - 71, 103 - 107, 156 - 160, 183 - 187, 197 - 201 及び
283 - 287

cAMP-及びcGMP-依存性プロテインキナーゼリン酸化部位.

アミノ酸 228 - 232 及び 319 - 323

カゼインキナーゼIIリン酸化部位.

アミノ酸 178 - 182, 402 - 406, 414 - 418 及び 453 - 457

N-ミリスチル化部位.

アミノ酸 116-122

アミド化部位.

アミノ酸 488-452

【図 159】

AGCCACCAGCGCAACATGACAGTGAAGACCCCTGCATGGCCAGCCATGGTCAAGTACTTGCTG
CTGTGCATATTTGGGGCTTGCCCTTCTGAGTGAGGCGGCAGCTCGGAAAAATCCCCAAGTAGGA
CATACTTTTTTCCAAAAGCCTGAGAGTTGCCCGCCTGTGCCAGGAGGTAGTATGAAGCTTGAC
ATTGGCATCATCAATGAAAACCAGCGCTTTCCATGTGACGTAAATCGAGAGCCGCTCCACC
TCCCCCTGGAATTACACTGTCTCACTTGGGACCCCAACCGGTACCCCTCGGAAAGTTGTACAGGCC
CAGTGTAGGAACCTTGGGCTGCATCAATGCTCAAGGAAAGGAACATCTCCATGAATTCGGTT
CCCATCCAGCAAGAGACCCCTGGTCTGTCGGAGGAAGCACCAAGGCTGCTCTGTTCTTTCCAG
TTGGAGAAGGTGCTGGTGACTGTTGGCTGCACCTGCGTCAACCCCTGTCATCCACCATGTGCGAG
TAAGAGGTGCATATCCACTCAGCTGAAGAAG

【図 160】

MTVKTLHGPAMVKYLLLSILGLAFLSEAAARKIPKVGHTEFFQKPESCPVPVPGSGMKLDIGIIN
ENQRVMSRNIERSRSTSPWNYTWTWDPNRYPSEVVQAQCRNLGCINAGKEDISMNSVPIQQE
TLVVRKRKHQCSVSFQLEKVLVTVGCTCVTPVIHHVQ

シグナル配列:

アミノ酸 1-30

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 83-87

N-ミリスチル化部位.

アミノ酸 106-111, 136-141

【図 161】

ACACTGGCCAAACAAAGCAAGACACTCCGTGCTGGAAGTAGGAGGAGACTAGGACTCCCA
GGACAGAGAGTGCAAAATCTACCCAGACACAGCCCTCCGCCCTCTGGAGGCTGAAGAGGG
ATTCCAGCCCTGCCCACCCACAGACACGGGCTGACTGGGGTGTCCTGCCCTCTGGGGGGGG
CAGCACAGGGCTCAGGCTGGGTGCCACCTGGCACCTAGAAG**ATG**CTGTGGCTGTCTTCT
GCTGTCTTGGCACTGGGCGGAAGCCAGCTGGTCTTCTCTGGAGAGGCTTGTGGGGCTCA
GGAGCTTACCACCTGCTCTCGGGGCTCTCTCGCGCTCTGGGACAGTGACATACTTGCCT
GCCTGGGGACATCTGCTGCTCGGGGCCCTGCTGGCGCTACGCACCTGCAGACAGAGCT
GGTGTGAGGTGCCAGAGGAGCCGACTGTGACCTGTGCTGCGTGGCTGTCCACTTGGC
CGTGCACTGGGCACTGGGAAGAGCTGAAGATGAGGAAAAGTTTGGAGGAGCAGCTGACTCAGG
GGTGAGGAGCCTAGGAATGCCCTCTCTCAGGCCCAAGTCGTGCTCTCCTCCAGGCCATACC
TACTGCCCGCTGCGTCTCTGAGGAGTGCAAGTGCTGCTGCCCTTGTGCAGTTTGGTCAGTC
TGTGGGCTCTGTGGTATGACTGCTTTCAGGGCTGCCCTAGGAGAGTGAGGTACGAATCTGGTC
CTATACTCAGCCAGGTACGAGAGGAACTCAACACACACAGCAGCTGCTGCCCTGCCCTGCT
GCTCAACCTGTACAGCAATGCTCAACAGCTGCTGCTTCTGAAATGCTCTGAGGAGCA
CTTCGCGCTCTCTCTGTA**CTG**GAATCAGGTCAGGGCCGCCCAAAACCCGGTGGCACAA
CCTGACTGGACCGAGATCATTA**CTT**GAAACACACAGACCTGGTCCCTGCCCTCTGATTTCA
GGTGTGGCTCTGGAACTGACTCCGTTAGGACCAACATCTGCCCTCAGGAGGAGACCCCG
CGCACACAGAACCTCTGGCAAGCGCCGACTGCGACTGCTGACCTCGAGAGCTGGCTGCT
GGAGCAGCGTGTCTGCTGCCCGCAGAAAGCGGCACTGTGCTGGCGGCTCCGGTGGGACCC
CTGCGAGCCACTGGTCCACCGCTTCTCTGGGAAGCTCACTGTGGACAAGGTTCTCGAGTT
CCCATTTGCTGAAAGGCCACCTTA**CTT**CTGTTCAAGTGAACAGCTCGGAGAAGCTGCACT
CGAGGAGTGTCTGTGGCTGACTCCCTGGGGCTCTCAAGACGATGTGCTACTGTGGAGAG
ACGAGGCCCCAGGACAAACAGATCCCTCTGTGCCCTTGAACCCAGTGGCTGACTTCACTACC
CAGCAAGCCCTCCACGAGGCGAGCTCGCTCTGGAGAGTACTTACTACAAGACCTGCACTCAGG
CCAGTGTCTGCACTTATGGGACGATGACTTGGAGCGCTATGGGCTGCCCCATGGACAAATA
CATCCACAAGCGCTGGGCTCTGTGGCTGGCTGCTGCTTCTTCCGCTTCCCTTTCCCT
CATCTCCTTCTCAAAAGGATCAGCGAAAGGCTGGCTGAGCTCTTGAACACAGACGCTCG
CTCGGGGCGGCGCAGGGGCGCGCGCTCTGCTCTTACTCAGCGATGACTCGGGTT
CGAGCGCTTGGTGGCGCTCTGGCTCGGCTGTGCCAGCTGCCGCTGGCTGGCGCTGAG
CCTGTGAGCCCTGTGA**CT**AGCTGAGCGCGCAGGGGCGCGTGGCTTGTACGCGCAGCGGG
CCAGACCTTCAGGAGGGCGCGCTGGTGGTCTTCTCTCTCCTCCGGTTCGGTGGCGCTGTG
CAGCGAGTGGCTACAGGATGGGTGTCCGGGCGGGGCGCACGGCCCGCAGCGCTTCCG
CGCTCGCTCAGTGGCTGCTGCCCACTTCTTGAAGGCGGGGCGCGCGCAGCTACGTTGGG
GGCTGCTTGAACAGGCTGCTCAGCGCGGACCGCTACCGCCCTTTCCGCAACGTCGGCT
CTTCACTGCCCTCCCA**CT**GCCAGACTTCTCGGGGCGCTGCAGCAGCTCGCGCCCGCG
TTCCGGGCGGCTCAAGACAGAGCGGAGCAAGTGTCGGGCGCTTCA**CT**CGCGCTGATGAT
TACTTCCATCCCCCGAGCTCCCGCGCGGACCGGGGTGGGACACAGGCGCGGACCTGG
GGCGGGGACGGG**ACTTAA**ATAAAGCAGACAGCTGTTTTCTTAAAAAA

【図 162】

MPVFWFLSLALGRSPVVLSERLVGPQDATHCSPLSCLRWSDILCLPGDIVPAPGVLAP
THLQTELVLRQCKETDCDCLRVAVHLAVHGHWEPEDEKFGGAADSGVEEPNASTLQAQVV
LSFOAYPTARCVLLEVQVPAALVQFGQSVGVVYDCEAALGSEVRWISTQPRYEKELNHTQ
QLPALPWLNVSDGDNVHLVNVSEEHFGLSLYNNVQVGPFPKPRWHKNLTGPQITLNLHTDL
VPCLCIQVWLEPDSVRTNICPFREDPRAHQNLWQAARLRLTLQSWLLDAPCSLPAEAALCW
RAPGGDPQCPVPLSWENVTVDKVLEFPFLKGHPNLQVQNSSEKLQLECLWADSLGPLKD
LDLLETRGPDQNRSLCALEPSGCTSLPSKASTRAARLLEYLLQDLQSGQCLQLWDDDLGALW
ACPMDKYIHKRWALVWLACILFAAALSLILLKKDHAKGWLRLKQDVRSAAARGRAALLLY
SADDSGFERLVGALASALCQLPLRVAVDLWSRRELSAQGPVAMFHAQRRQTLQEGGVVLLFS
PGAVALCSEWLQDVGSGPGANGPHDAFRASLSCVLPDFLQGRAPGSYVACFDRLLHPDAVPA
LFRTPVPVFTLPSQLPDFLQPPRAPSRLQERAEQVSRLQPALDSYFHPPGTAPAGRGV
GPGAGPGAGDGT

シグナル配列:

アミノ酸 1-20

膜貫通ドメイン。

アミノ酸 453-475

N-グリコシル化部位。

アミノ酸 118-121, 186-189, 198-201, 211-214, 238-241, 248-251,
334-337, 357-360, 391-394

グリコサミノグリカン付着部位。

アミノ酸 583-586

cAMP-及びcGMP-依存性プロテインキナーゼリン酸化部位。

アミノ酸 552-555

N-ミリスチル化部位。

アミノ酸 107-112, 152-157, 319-324, 438-443, 516-521, 612-617,
692-697, 696-701, 700-705

【図 163】

GGGAGGGCTCTGTGCAGCCCG**AT**GAGGACGCTGCTGACCATCTTGACTGTGGGATCCCTGG
CTGCTCAGGCCCTGAGGACCCCTCGGAATCTGCTCGACAGCTGA**AA**ATCCAGCTCAGCAACCT
TTGAA**AA**ACATCTTGACGTGGGACAGCGGGCAGAGGGCACCCAGACACGGTCTACAGCACTG
AGTATAAGACGTACGGAGAGAGGGACTGGTGGCAAGAGGGCTGTCAAGCGGATCACCCGGA
AGTCTTGCA**CT**GACGGTGAGAGCGGGCAACCTCAGCGAGCTCTACTATGCCAGGATCACCG
CTGTCACTGCGGGAGCGGGCTGAGCCACCAAGATGACTGACAGGTTCACTCTCTGTCAGCACA
CTAGCCCTCAAGCCACTGATGTGACTGTATCTCCAAAGTGAGATCGGATTCAGATGATTGTTC
ATCTACCCCAAGCGCAATCCGTCAGGGCAGTGAGCCAGCGCTAA**CT**CGGAAGACATCTTCC
ATGACTGT**TT**CTACCACTTAGAGCTCAGGTCAACCGCACCTTACCA**AA**TGCACTTGGAGGGA
AGCAGAGAGAATATAGTCTTTCGGCTGACCCCTGACACAGAGTTCCTTGGCACCATATGA
ATTGCGTTCCCACTGGGCCAAGGAGAGTGCCCCCTCACTATGTGCCAGTGGAAGCACTGCCAG
ACCGGACATGGACCTACTCCTTCTCCGGAGCTTCTCTGTTCTCCATGGGCTTCTCTGTGCGAG
TACTCTGCTACCTGAGCTACAGATATGTACCAAGCGGCTGCACTCCCACTCTCTGAAGC
TCCAGCGAGTCTTCACTTCCAGCGCTGCGCTTCACTCAGGAGCACGCTCTGATCCCTGCTCT
TTGACTCAGCGGCCCGCAGAGCTGCGCCAGCCTGTCCAGTACTCCAGATCAGGTTGCTG
GACCCAGGAGGCGCGCAGGAGCTCCACAGCGGATAGCTGTCCGAGATCACTACTTAGGGC
AGCCAGACATCTCCATCTCTCAGGCCCTCAACGTGCCACTCCCGAGATCCTCTCCCACTGT
CCTATGCCCCAAAGCTGCCCTGAGGTGCGGCCCACTCTATGCACTCAGGTGACCCCGC
AAGCTCAATTC**CA**ATTCTACGCCCAACAGGCCATCTTAAGGTCAGGCTTCTCTCTATGCC
CTCAAGCCACTCGCGACAGCTGGCTCCCTCTATGGGGTATGCA**CT**GGAAGGTTCTGGCAAG
ACTCCCACTGGGACACTTTCTAGTCTTAAACACTTAGGCTTAAAGTCAGCTTCAGAAAG
AGCCACAGCTGGAAGCTGCATGTTAGTGGGCTTCTCTGCAAGAGGTCAGCTCCTTGGCTA
TGGAGGAATCCCAAGAGCAAAATCATTTGACCAAGCACTCCCGAGTTTGCACAGACAGAAAT
CTGACCCAAATGTGTTACAGTGGGAGGAAGGACACCACTACTTAAAGGCGAGCTCC
CCCTCTCTCTCAGTCCAGATCGAGGGCCACCCATGTCCCTCCCTTTGCAACCTCTCTCCG
GTCCATGTTCCTCTCGGACCAAGGTC**CA**AGTCCCTGGGGCTGCTGGAGTCCCTTGTGTGTC
CCAAGGATGAAGCCAAAGGCCAGCCCTGAGACCTGAGACCTGGAGCAGCCACAGAACTGG
ATTCTCTTTT**C**AGAGGCTTGGCCCTGACTGTGCAAGTGGAGTCT**CG**AGGGGAATGGGAAGGC
TTGGTGTCTCTCTCTCTCTACCCAGTGTACATCTTGGCTGTCAATCCATGCTGCCCT
ATGCACACACTCTGCGATCTGGCTCTAGACGGGTGCCCTTGAGAGAAGCAGAGGAGTGCGCA
TGCAGGGCCCTGCCATGGGTGCGCTCTCTACCGGAACAAGCAGCATGATAAGGACTGCAGC
GGGGGAGCTCTGGGAGCAGCTTGTGTAGACAAGCGCTGCTCGCTGAGCCCTGCAAGGCAGA
AATGACAGTGAAGAGGAAATGCAAGGAACTCCCGAGGTCAGAGGCCCACTCTCTA**CA**AC
CATGGATTCAAGTGCTCAGGGAATTTGCCCTCTCTTGGCCATTTCTGGCCAGTTTCA**CA**AT
CTAGCTCGACAGAGCATGAGGCTTCTGCCCTTCTGTGATTGTCAAGGTGGGAAGAGAGCC
TGGAAAGAACCCAGGCTTGGAAAGAACAGAGAAGGAGCTGGGACAGAAAGCAACCTTGCA
CTTCTGCCAAGGCCAGGGCCAGCAGGACGGCAGGACTTAGGGAGGGGTGTGGCTGCAAGCTC
ATTCCAGCCAGGGCACTGGCTGACGCTTGCAAGATTTCACTTCTTCTTCTGATAGAA**CA**A
AGCGAAATGCAAGTCCACAGGAGGGAGACACAAAGCCTTTCTGCAAGCAGAGGATTGAG
ACCCATCTCTGAGAAATGGGTTTGAAGGAAGGTGAGGGCTGTGGCCCTGGACGGGTACAAT
AACACACTGTACTGATGTCA**CA**ACTTTGCAAGCTTGGCTTGGGTTCAAGCCATCTGGGCTCA
AATTTCAAGCTTCACTCACAAGCTGCTGACTTCAAA**CA**AAATGAAATCAGTCCCAAGCACTG
CGGTTTCTCATCTGTAATGTGGGATCATAACACCTACTCTATGGAGTTTGGTGAAGATG
AAATGAAGTCATGCTTTAAAGTGCTTAATAGTCCCTGGTACATGGGAGTGGCCAATAAAGC
GTAGCTATTTAAAAA**AAAA**AAAA

【図 164】

MRTLLTILTVGSLAAHAPEDPSDLLQHVKFQSSNFENILTWDSGEGPTPDTVYSIEYKTYGER
DWVAKKGQRITRKSCLNTVETGNLTELYARVAVSAGGRSATKMDTRFSSLQHTTLKPPDV
TCSIKVRSIQMIVHPTPTIRAGDGHRLTLEDIFHDLFYHLELQVNRVTQMHLGGKQREYEFF
GLTPDTEFLGTIMICVPWAKESAPYMCRVKTLPRDTWYSFSGAFPLSMGFLVAVLCYLSYR
YVTKPPAPPSNLNVQRVLTFQPLRFIQEHVILPVFDLSGPSSLAQPVQYSQIRVSGPREPAGA
PQRHSLSEITVLGGQDISILQPSNVPPQILSLPLSYAPNAPEVGPSPYAPQVTEAQPFPEYA
PQAISKVQPSYAPQATPDWSVPPSYGVCMEGSGKDSPTGLTSSPKHLRPGKQLEKPEPPAGSCM
LGLSLQEVTSLAMESQEA**SL**HQPLGICTDRSTDPNVLHSGEETGPYLKGQLPLSSVQI
EGHMSLPLQPPSGPCSPDQGPSPWGLLES**LV**CPKDEAKSPAPETSDLEQPT**EL**DSLFRGLA
LT**VQ**WES

シグナル配列。

アミノ酸 1-17

膜貫通ドメイン。

アミノ酸 233-250

N-グリコシル化部位。

アミノ酸 80-83, 87-90, 172-175

N-ミリスチル化部位。

アミノ酸 11-16, 47-52, 102-107, 531-536, 565-570

【図 165】

TGGCCTACTGGAIAAAAAAAAAAAAAAAAAAGTCACCCGGGCCCGGCTGGCCACAACAT
gGCTCGGGCGCCGGGCTGCTCTTCTGGCTGTTCGTGGGGCGCTCTGGTGGGTCCCGG
CCAGTCGGATCTCAGCCACGACGGCTTCTCGGACCTCAAAGTGTGCGGGGACGAAGATG
CAGCATGTTAATGTACCGTGGGAAAGCTCTTGAAGACTTCACGGGCCCTGATTGTCTGTTTTGT
GAA'TTTAAAAAAGGTGACGATGATATGTCTACTACAACTGCGAGGGGATCCCTGAACT
TTGGGCTGGAAGTGTTGAACACAGCTTTTGGATATTTTCCAAAAGATTTCATCAAGGTACTTCA
TAAATACACGGAAGAAGAGCTACATATTTCCACCAGATGAGACAGACTTTGTCTGCTTGAAG
AGGAAGAGATGATTTTAAAGTTATAATGTAGAAGAGCTTTAGGATCTTTGGAACGTGGAGGA
CTCTGTACCTGAAGAGTCGAAGAAGCTGAAGAAGTTTCTCAGCACAGAGAGAAATCTCCTGA
GGAGTCTCGGGGCGTGAAC'TTGACCTGTGCTGAGCCGAGGCATTTCAGAGCTGATTTCAGA
GGATGGAGAAGGTGCTTTCTCAGAGACACCGAGGGCTGCAGGGACAGCCCTCAGCTCAGGA
GAGCCACCTTCACACCAGCGTCTCTCGGCTAACGCTCAGGAGTGCAGTCTTCGTTGGACAC
TTTTGAAGAAATTTCTGCACGATAAATTTGAAAGTCCGGGAAGCGAAAGCAGAAGTGGCAATAG
TTCTCTGCCTCGGTGGAGCGGGAGAAGACAGATGCTTACAAAGTCTGAAAACAGAAATGAG
TCAGAGAGGAAGTGACAGTGCCTTATTCATTACAGCAAGGATTTCTGTTGGCATCAAATCT
AAGTTGT'TTTACAAAGATTGTTT**Tag**TACTAAGCTGCCTTGGCAGTTTGCA'TTTTGGACC
AAACAAAAATATATTTATTTCCCTCTTAAGTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【図 167】

CCAGGACAGGGCGCACCGCTCAGCCTCTCACTTGTCTAGAGGCCGGGGAAGAGAAGCAAAAGC
GCAACGGTGTGTTCCAAGCCGGGCTTCTGCTTCGCCTCTAGGACATACACGGGACCCCTAA
CTTCAGTCCCCCAAACGCCGCCCTCGAAGTCTTGAACCTCCAGCCCGCACATCCACGGCGGG
CACAGGCGCGGAGGCGGAGGTCCCGGCCGAAGGCGATGCGGCGAGGGGCTCGGCGAGCTGG
GCTCGGGCGGGGAGTAGGGCCGGCAGGAGGAGGAGGAGGCTGCATATTACAGATCGCGGG
CTGCGCCCTGGGAGAGGCGCGCTCGCTCCACGCAACACCTGCTGCTGCCACCGCGCGCGA
TGAGCGCGTGGTCTGCTGCTGCTGGGGCGCGGCTGCTCTGCGGCCACGGAGCCTTCTGCC
GCGCGTGGTCAGCGGCCAAAAGGTGTGTTTTGCTGACTTCAAGACTCCCTGCTACAAAATGG
CCTACTTCCATGAAC'TGCTCCAGCCGAGTGAGCTTTCAGGAGGCACGCTGGCTTGTGAGAGTG
AGGAGGAGTCCCTCCTCAGCCTTGAGAA'TGAAGCAGACAGAAAGTAAATAGAGAGCATGTTGC
AAAACCTGACAAAACCCGGGACAGGATTTCTGATGGTGATTCTGGATAGGGCTTTGGAGGA
ATGGAGATGGGCAAAATCTGTTGCCTGCCCCAGATCTCTACCAGTGGTCTGTAGGAAGCAATT
CCCGATCCGAAACTGGTACAGATGAACCTTCTCGGGAAGTGAAGAGTGTGTTGTGATGT
ATCACCAACCACTGCCAATCTGGCCTGGGGCTCCCTACCTTTACCAGTGGAAATGATGACA
GGTGAACATGAAGCAAAATATTTGCAAGTATGAACAGAGATTAATCCACAGCCCTG
TAGAAAAGCCTTATCTTACAAATCAACAGGAGACCCATCAGAAATGCTGCTTCTTACTGAAG
CAGGTAAATCCCAATCTAATTTATGTGCTTATACCAACAAATACCCCTGCTCTTACTGATAC
TGGTGTCTTTGGAACCTGTGTTTCCAGATGCTGCATAAAAGTAAAGGAAGAACAAAACTA
GTCCAAACAGCTCTACACTGTGGATTTCAAGAGTACCAGAAAAGAAAGTGCCATGGAAGTAT
AATAACTCATTGACTTGGTTCAGAAATTTTGAATTCCTGGATCTGTATAAGGAATGGCATCAG
AACATAGATTTGGAATGGCTTGAATCACAAAGGATCTGCAGATGAAC'TGTAAGCTCCCTCT
TGAGGCAAAATATTAAGTAATTTTATATGCTATATTTCATTAAAGAAATATGCTGTGCTA
ATAATGGAGTGAGACATGCTTATTTTGTCAAAAGATGCACCCAACTTCAAAC'TTCAAGCAAA
TGAAATGGACAATGCAGATAAAGTTGTATCAACAGCTCGGAGTATGTTGTTAGAAAGCAAT
TCC'TTTATTTCTTACCTTTTCATAAGTTGTTATCATGTCAATGTAATGTATATTGTATGA
AATTTACAGTGTGCAAAAGTATTTTACCTTGCATAAGTGTTTGATAAAATGAAC'TTCTTA
ATATTTATTTTATGGCATCTCATT'TTTCATAATACATGCTCTTTGATTAAAGAACTTATTAC
TGTGTCAACTGAATTCACACACACACAAATATAGTACCATAGAAAAAGTTTGT'TTCTCGAA
ATAATTCATCTTTAGCTTCTCTGCTTTTGGTCAATGTCTAGGAAATCTCTTTCAGAAATAAGA
AGCTATTTTCAATTAAGTGTGATATAAACCTCCTCAAACATTTTACTTAGAGGCAAGGATTGTCT
AATTTCAATTGTGCAAGCATGCGCTTATAATATTTT'TAGCTTAAATTAACAGATTTTGT
TAATAATGTAACTTTGTATAGGTGCATAAACCAATGCAGTCAATTTGAACAAAGAAAGT
GACATACAAATATAATCATATGTCTTACAGCTTGCTATATAGAGAGCAGCTCTCTG
AGGTTCTGAATCAATGTGTGCTCTCTTGCCTCACTAAACAAAGATGGTTGTCTCGGGGTT
GGAT'TGACACTGGAGGAGATAGTTGCAAGCTTAGTCTAAGCTTCCCTAGCTGTATTTAGC
TCTGACTATATATAGTATACAAAGAGTCAATGGTTGAGACAGGATGAATAGTCACTATCAG
TGTGGAGACAAGCACAGCACAGACATTTTAGGAAGGAAGGAACTACGAAATCGTGTGAAA
ATGGGTGGAAACCATCAGTGATCGCATATTATTCATGATGAGGTTTGTCTGAGATAGAAAATG
GTGGCTCCTTTCTGTCTTATCTCTAGTTTCTTCAATGCTTACGCTTGTCTTCTCAAGAGA
AAGTTGAATCTCTGTGCTTCAATATGCTCCTGTGCTCCTTTAACCAATTAAGAGTCTTGT
TTTCTGGGGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【図 166】

MAAAPGLLFWLFLVGLALWWVPGQSDLSHGRRFSDLKVCGBECSMLMYRKALEDFTGPDCRF
VNFKKGDVYVYKLAGGSLELWAGSVEHSFGYFPKDLIKVLHKYTEELHIPAETDFVCFE
GGRDDFNSYNVEELLGSLELEDSPVEESKAAEVVSQHREKSPEESRGRELDVPEPEAFRADS
EDGEGAFSESTGLQGQPSAQESHPTSGPAANAQGVQSSLDTFEILHDKLKVPGESERTGN
SSPASVEREKTDAYKVLKTEMSQRSGQCVIHYSKGFNRHQNLSLFYKDCF

タンパク質の重要な特徴:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-22

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 294-298

cAMP-及びcGMP-依存性プロテインキナーゼリン酸化部位.

アミノ酸 30-34

チロシンキナーゼリン酸化部位.

アミノ酸 67-76

N-ミリスチル化部位.

アミノ酸 205-211, 225-231, 277-283

アミド化部位.

アミノ酸 28-32

【図 168】

MSRVVSLLLGAALLCGHGAFCRRVVSQKVCFADFPHPCYKMAYPHELSSRVSFQEARLACE
SEGGVLLSLENAEQKLIESMLQNLTKPGTGISDGFWIGLWRNGDQGTSGACPDLYQWSDG
SNSQYRNWYTDPEPCGSEKCVVMYHOPTANPGLGGPYLYQWNDRCNMKHNICYKEPEINP
TAPVEKPYLTNPQGDTHQNVVVTEAGIIPNLIYVVIPTIPLLLILLVAFGTCCFQMLHKS
GRTKTSNPQSTLWISKSTRKSGMEV

タンパク質の重要な部位:

シグナルペプチド:

アミノ酸 1-21

膜貫通ドメイン:

アミノ酸 214-235

N-グリコシル化部位.

アミノ酸 86-89, 255-258

cAMP-及びcGMP-依存性プロテインキナーゼリン酸化部位.

アミノ酸 266-269

N-ミリスチル化部位.

アミノ酸 27-32, 66-71, 91-96, 93-98, 102-107, 109-114, 140-145, 212-217

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 1/19	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10	C 1 2 P 21/02	C
C 1 2 P 21/02	C 1 2 N 5/00	B
// A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 37/02	
C 1 2 P 21/08	C 1 2 P 21/08	

- (31)優先権主張番号 60/170,262
 (32)優先日 平成11年12月9日(1999.12.9)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 60/175,481
 (32)優先日 平成12年1月11日(2000.1.11)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 PCT/US00/04341
 (32)優先日 平成12年2月18日(2000.2.18)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 PCT/US00/04342
 (32)優先日 平成12年2月18日(2000.2.18)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 PCT/US00/04414
 (32)優先日 平成12年2月22日(2000.2.22)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 PCT/US00/05601
 (32)優先日 平成12年3月1日(2000.3.1)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 60/187,202
 (32)優先日 平成12年3月3日(2000.3.3)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 60/191,007
 (32)優先日 平成12年3月21日(2000.3.21)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 PCT/US00/08439
 (32)優先日 平成12年3月30日(2000.3.30)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 60/199,397
 (32)優先日 平成12年4月25日(2000.4.25)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 PCT/US00/14042
 (32)優先日 平成12年5月22日(2000.5.22)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 60/209,832
 (32)優先日 平成12年6月5日(2000.6.5)
 (33)優先権主張国 米国(US)

- (72)発明者 フィルバロッフ, エレン
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 2 1, サン フランシスコ, エイティーンズ アヴェニ
 ュー 5 3 8

- (72)発明者 ジェリッツェン, メアリー, イー .
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 4 0 2 , サン マテオ , パロット ドライブ 5 4 1
- (72)発明者 ゴッダード, オードリー
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 3 1 , サンフランシスコ , コンゴ ストリート 1 1 0
- (72)発明者 ゴドウスキー, ポール ジェー .
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 1 0 , バーリングゲーム , イーストン ドライブ 2 6
2 7
- (72)発明者 グリマルディ, クリストファー, ジェー .
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 2 2 , サンフランシスコ , サーティシックス アヴェニ
ュー 1 4 3 4
- (72)発明者 ガーニー, オースティン エル .
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 0 2 , ベルモント、デビー レーン 1
- (72)発明者 ワタナベ, コリン, ケー .
アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 5 6 , モラガ, コーリス ドライブ 1 2 8
- (72)発明者 ウッド, ウィリアム, アイ .
アメリカ合衆国 カルフォニア 9 4 0 1 0 , ヒルズボロー, サウスダウン コート 3 5

F ターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA44 BA63 BA80 CA04 CA09 CA20 DA02 DA06

DA12 EA04 GA14 HA15 HA17

4B064 AG01 AG20 CA02 CA06 CA10 CA19 CC24 DA01 DA13

4B065 AA26X AA72X AA90X AA93Y AB01 AC14 CA24 CA44 CA46

4C084 AA01 AA07 BA01 BA22 BA23

4H045 AA10 AA11 AA20 BA10 BA41 CA40 DA01 DA30 DA50 DA76

DA86 EA20 EA50 FA74

专利名称(译)	分泌的和跨膜的多肽和编码它们的核酸		
公开(公告)号	JP2005270107A	公开(公告)日	2005-10-06
申请号	JP2005118968	申请日	2005-04-15
[标]申请(专利权)人(译)	健泰科生物技术公司		
申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
[标]发明人	イートンダンエル フィルバロッフエレン ジェリッツエンメアリーイー ゴッダードオードリー ゴドウスキーポールジェー グリマルディクリストファージェー ガーニーオースティンエル ワタナベコリンケー ウッドウィリアムアイ		
发明人	イートン,ダン,エル. フィルバロッフ,エレン ジェリッツエン,メアリー,イー. ゴッダード,オードリー ゴドウスキー,ポール ジェー. グリマルディ,クリストファー,ジェー. ガーニー,オースティン エル. ワタナベ,コリン,ケー. ウッド,ウィリアム,アイ.		
IPC分类号	C12N15/09 A61K38/00 A61P19/02 A61P43/00 C07K14/47 C07K14/705 C07K16/18 C07K16/46 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/12 C12N15/62 C12P21/00 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1/68 C12R1/91 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61P19/02 A61P43/00 C07K14/47 C07K14/705		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K14/47 C07K16/18 C07K16/46 C07K19/00 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12N5/00.B A61K37/02 C12P21/08 A61K38/00 A61K38/16 C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N5 /00.102 C12N5/10		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA44 4B024/BA63 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024 /CA20 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/DA12 4B024/EA04 4B024/GA14 4B024/HA15 4B024/HA17 4B064/AG01 4B064/AG20 4B064/CA02 4B064/CA06 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064 /DA01 4B064/DA13 4B065/AA26X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065 /AC14 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA01 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA22 4C084/BA23 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045 /DA01 4H045/DA30 4H045/DA50 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74		
優先权	PCT/US1999/020111 1999-09-01 WO PCT/US1999/021090 1999-09-15 WO 60/169495 1999-12-07 US 60/170262 1999-12-09 US 60/175481 2000-01-11 US PCT/US2000/004341 2000-02-18 WO PCT/US2000/004342 2000-02-18 WO PCT/US2000/004414 2000-02-22 WO		

PCT/US2000/005601 2000-03-01 WO
60/187202 2000-03-03 US
60/191007 2000-03-21 US
PCT/US2000/008439 2000-03-30 WO
60/199397 2000-04-25 US
PCT/US2000/014042 2000-05-22 WO
60/209832 2000-06-05 US

外部リンク [Espacenet](#)

摘要(译)

解决的问题：提供在食道肿瘤中表达不足的新型多肽和编码该多肽的核酸。可能具有治疗或诊断作用的新型多肽，以及编码这些多肽的核酸分子，与包含这些核酸序列，异源多肽序列的宿主细胞和载体融合。提供了包含该多肽的嵌合多肽分子，与该多肽结合的抗体，例如单克隆抗体，以及产生该多肽的方法。 [选择图]无

特許庁 特許情報検索システム			
51) Int. Cl. ⁷		F I	テーマコード (参考)
C12N 15/09		C12N 15/00	Z N A A 4B024
C07K 14/47		C07K 14/47	4B064
C07K 16/18		C07K 16/18	4B065
C07K 16/46		C07K 16/46	4C084
C07K 19/00		C07K 19/00	4H045
		審査請求 未請求 請求項の数 36 O L (全 126 頁) 最終頁に続	
21) 出願番号	特願2005-118968 (P2005-118968)	(71) 出願人	596168317
22) 出願日	平成17年4月15日 (2005. 4. 15)		ジェネンテック・インコーポレーテッド
32) 分割の表示	特願2005-54646 (P2005-54646)		GENENTECH, INC.
原出願日	平成12年8月24日 (2000. 8. 24)		アメリカ合衆国カリフォルニア・94080-4990・サウス・サン・フランシスコ・ディーエヌイー・ウェイ・1
31) 優先権主張番号	PCT/US99/20111	(74) 代理人	100109726
32) 優先日	平成11年9月1日 (1999. 9. 1)		弁理士 園田 吉隆
33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100101199
31) 優先権主張番号	PCT/US99/21090		弁理士 小林 義教
32) 優先日	平成11年9月15日 (1999. 9. 15)		
33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	ジェネンテック・インコーポレーテッド