

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-502971

(P2007-502971A)

(43) 公表日 平成19年2月15日(2007.2.15)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 33/53</b> (2006.01)	GO 1 N 33/53 Z N A D	2 G O 4 1
<b>GO 1 N 37/00</b> (2006.01)	GO 1 N 33/53 M	4 C O 8 4
<b>GO 1 N 27/62</b> (2006.01)	GO 1 N 37/00 1 O 2	4 H O 4 5
<b>A 6 1 K 38/00</b> (2006.01)	GO 1 N 27/62 V	
<b>A 6 1 P 35/00</b> (2006.01)	A 6 1 K 37/02	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 195 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2006-523609 (P2006-523609)	(71) 出願人	504289071 ジェノバ・リミテッド GENOVA LTD. 英国領バーミューダ、エイチエム12、ハ ミルトン、ビクトリア・ストリート22番 、キャノンズ・コート
(86) (22) 出願日	平成16年8月19日 (2004.8.19)	(71) 出願人	597011463 ノバルティス アクチエンゲゼルシャフト スイス国、4056 バーゼル、リヒトシ ュトラーセ 35
(85) 翻訳文提出日	平成18年4月13日 (2006.4.13)	(74) 代理人	100062144 弁理士 青山 稔
(86) 国際出願番号	PCT/EP2004/009323	(74) 代理人	100067035 弁理士 岩崎 光隆
(87) 国際公開番号	W02005/019825		
(87) 国際公開日	平成17年3月3日 (2005.3.3)		
(31) 優先権主張番号	60/496,966		
(32) 優先日	平成15年8月20日 (2003.8.20)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 分泌ポリペプチド形質およびその使用

(57) 【要約】

本発明は、ヒト血漿で分泌されるポリペプチド形質、上記ポリペプチドをコード化する単離ポリヌクレオチド、その多形変異型、並びに検出検定および病気の診断を目的とする上記核酸およびポリペプチドまたはその組成物の使用に関するものである。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

ヒト血漿ポリペプチド（HPP）の検出方法であって、

i) 生物学的試料をHPP結合吸着剤と接触させ、そして

ii) HPP結合吸着剤へのHPPの結合を検出および/または定量する

段階を含む方法。

## 【請求項 2】

生物学的試料が血漿試料である、請求項 1 記載の方法。

## 【請求項 3】

HPP結合吸着剤がHPP特異的抗体である、請求項 1 記載の方法。

10

## 【請求項 4】

HPP結合吸着剤が基質に結合されている、請求項 1 記載の方法。

## 【請求項 5】

検出および/または定量段階が、ラジオイムノアッセイ、酵素結合免疫吸着検定法、保持物質クロマトグラフィー、タンパク質アレイ、表面強化レーザー脱離/イオン化、および質量分析法から成る群から選択される方法を含む、請求項 1 記載の方法。

## 【請求項 6】

少なくとも 1 種のヒト血漿ポリペプチド（HPP）に特異的な吸着剤を含むタンパク質アレイ。

## 【請求項 7】

個体における少なくとも 1 種のヒト血漿ポリペプチド（HPP）の異常濃度の検出方法であって、

i) 個体から試料を入手し、

ii) 試料における少なくとも 1 種のHPPの第一レベルを測定し、そして

iii) 対照試料の場合とレベルを比較する

段階を含み、第一レベルおよび対照レベル間の差異がHPPの異常濃度の診断確定的なものである方法。

20

## 【請求項 8】

HPP-38ポリペプチドの有効量および医薬上許容される担体を含む医薬組成物。

## 【請求項 9】

癌疾患または過形成に関連する疾患または病状の処置方法であって、上記疾患に罹患しているヒトを含む哺乳類にHPP-38ポリペプチドの有効量を投与することを含む方法。

30

## 【請求項 10】

過形成に関連する疾患または病状が、線維症、前立腺過形成、副腎過形成、子宮内膜増殖症、乾癬、炎症に起因する過形成から成る群から選択される疾患または病状である、請求項 8 記載の方法。

## 【請求項 11】

癌疾患または過形成に関連する疾患または病状の同定方法であって、

i) HPP-38生物活性に関して許容される試料条件下、HPP-38ポリペプチドと試験化合物とを接触させ、

ii) 少なくとも 1 種のHPP-38生物活性のレベルを測定し、

iii) 上記レベルを、試験化合物を欠く対照試料の場合と比較し、そして

iv) 癌疾患または過形成に関連する疾患または病状の予防および/または治療的処置についてのHPP-38モジュレーターとしてさらに試験することを目的として、上記レベルの変化を誘発する試験化合物を選択する

ことを含む方法。

40

## 【請求項 12】

表 4 に示された 1 個またはそれ以上の遺伝子の発現レベルを測定することにより、HPP-38生物活性レベルが測定される、請求項 11 記載の方法。

50

## 【請求項 13】

H P P - 38 の血漿レベルの検出を含む癌疾患または過形成に関連する疾患または病状の予後または診断方法であって、レベル増加が癌疾患または過形成に関連する疾患または病状を示すものである方法。

## 【請求項 14】

癌疾患または過形成に関連する疾患または病状の予後または診断方法であって、

i) 対象から入手した適切な組織の試料において表 4 で同定された少なくとも一遺伝子の発現レベルを検出することにより第一値を得、そして

ii) 無疾患対象からの遺伝子の発現レベルと第一値を比較する

ことを含み、無疾患対象からの試料と比べた場合の対象試料における発現レベルの大小が、対象が癌疾患または過形成に関連する疾患または病状に罹患し易いかまたは罹患していることの指標である方法。

## 【請求項 15】

配列番号 397 に示されたものを含むポリペプチド。

## 【請求項 16】

配列番号 395 または配列番号 396 に示されたアミノ酸配列を含む非アミド化ポリペプチド。

## 【請求項 17】

有効量の H P P - 13 ポリペプチドまたは G P A 101 ポリペプチドまたはその組合せおよび医薬上許容される担体を含む医薬組成物。

## 【請求項 18】

神経変性に関連する疾患または病状の処置方法であって、H P P - 13 または G P A 101 ポリペプチドまたはその組合せの有効量を、上記疾患に罹患している哺乳類、例えばヒトに投与することを含む方法。

## 【請求項 19】

神経変性に関連する疾患または病状が、脊椎損傷または C N S 損傷、アルツハイマー病、パーキンソン病、多発性硬化症、A L S (筋萎縮性側索硬化症)、末梢神経障害、ギラン-バレー病、糖尿病性ニューロパシー、脱髄ニューロパシーから成る群から選択される疾患または病状である、請求項 18 記載の方法。

## 【請求項 20】

神経変性に関連する疾患または病状のモジュレーターの同定方法であって、

i) H P P - 13 または G P A 101 生物活性に関して許容される試料条件下、H P P - 13 または G P A 101 ポリペプチドと試験化合物とを接触させ、

ii) 少なくとも 1 種の H P P - 13 または G P A 101 生物活性のレベルを測定し、

iii) 上記レベルを、試験化合物を欠く対照試料の場合と比較し、そして

iv) 神経変性に関連する疾患または病状の予防および/または治療的処置についての H P P - 13 または G P A 101 ポリペプチドモジュレーターとしてさらに試験することを目的として、上記レベルの変化を誘発する試験化合物を選択することを含む方法。

## 【請求項 21】

H P P - 13 生物活性レベルが、表 11 に示された 1 個またはそれ以上の遺伝子の発現レベルを測定することにより測定される、請求項 20 記載の方法。

## 【請求項 22】

H P P - 13 ポリペプチドの血漿レベルの検出を含む神経変性に関連する疾患または病状の予後または診断方法であって、レベル増加が神経変性に関連する疾患または病状を示すものである方法。

## 【請求項 23】

神経変性に関連する疾患または病状の予後または診断方法であって、

i) 対象から入手した適切な組織の試料において表 11 で同定された少なくとも一遺伝子の発現レベルを検出することにより第一値を得、そして

10

20

30

40

50

ii) 無疾患対象からの遺伝子の発現レベルと第一値を比較する

ことを含み、無疾患対象からの試料と比べた場合の対象試料における発現レベルの大小が、対象が神経変性に関連する疾患または病状に罹患し易いかまたは罹患していることの指標である方法。

【請求項 24】

鉄バランスまたは鉄輸送に関連する疾患または病状の処置方法であって、HPP-13 ポリペプチドの有効量を、上記疾患に罹患している哺乳類、例えばヒトに投与することを含む方法。

【請求項 25】

鉄バランスまたは鉄輸送に関連する疾患または病状が、ヘモクロマトーシス、遺伝性ヘモクロマトーシス、若年型ヘモクロマトーシス、サラセミア、鉄過剰負荷に関連した病状、貧血、鎌状赤血球貧血から成る群から選択される、請求項 24 記載の方法。

【請求項 26】

鉄バランスまたは鉄輸送に関連する疾患または病状のモジュレーターの同定方法であって、

i) HPP-13 生物活性に関して許容される試料条件下、HPP-13 ポリペプチドと試験化合物とを接触させ、

ii) 少なくとも 1 種の HPP-13 生物活性のレベルを測定し、

iii) 上記レベルを、試験化合物を欠く対照試料の場合と比較し、そして

iv) 鉄バランスまたは鉄輸送に関連する疾患または病状の予防および/または治療的処置についての HPP-13 モジュレーターとしてさらに試験することを目的として、上記レベルの変化を誘発する試験化合物を選択する

ことを含む方法。

【請求項 27】

HPP-13 生物活性レベルが、表 6、7、8、9 および/または 10 に示された 1 個またはそれ以上の遺伝子の発現レベルを測定することにより測定される、請求項 26 記載の方法。

【請求項 28】

HPP-13 ポリペプチドの血漿レベルの検出を含む鉄バランスまたは鉄輸送に関連する疾患または病状の予後または診断方法であって、レベル増加が鉄バランスまたは鉄輸送に関連する疾患または病状を示すものである方法。

【請求項 29】

鉄バランスまたは鉄輸送に関連する疾患または病状の予後または診断方法であって、

i) 対象から入手した適切な組織の試料において表 6、7、8、9 および/または 10 で同定された少なくとも一遺伝子の発現レベルを検出することにより第一値を得、そして

ii) 無疾患対象からの遺伝子の発現レベルと第一値を比較する

ことを含み、無疾患対象からの試料と比べた場合の対象試料における発現レベルの大小が、対象が鉄バランスまたは鉄輸送に関連する疾患または病状に罹患し易いかまたは罹患していることの指標である方法。

【請求項 30】

有効量の HPP-23 ポリペプチドおよび医薬上許容される担体を含む医薬組成物。

【請求項 31】

血清グルコース調節障害を伴う疾患の処置方法であって、HPP-23 ポリペプチドの有効量を、上記疾患に罹患している哺乳類、例えばヒトに投与することを含む方法。

【請求項 32】

血清グルコース調節障害を伴う疾患が糖尿病である、請求項 31 記載の方法。

【請求項 33】

代謝障害の処置方法であって、HPP-23 ポリペプチドの有効量を、上記障害に罹患している哺乳類、例えばヒトに投与することを含む方法。

【請求項 34】

10

20

30

40

50

代謝障害がアミロイドーシスである、請求項 33 記載の方法。

【請求項 35】

哺乳類、例えばヒトにおける血中グルコースレベルの低減化方法であって、哺乳類に H P P - 23 ポリペプチドを投与することを含む方法。

【請求項 36】

血清グルコース調節障害を伴う病気または代謝疾患のモジュレーターの同定方法であって、

i) H P P - 23 生物活性に関して許容される試料条件下、H P P - 23 ポリペプチドと試験化合物とを接触させ、

ii) 少なくとも 1 種の H P P - 23 生物活性のレベルを測定し、

iii) 上記レベルを、試験化合物を欠く対照試料の場合と比較し、そして

iv) 血清グルコース調節障害を伴う病気または代謝疾患の予防および/または治療的処置についての H P P - 23 モジュレーターとしてさらに試験することを目的として、上記レベルの変化を誘発する試験化合物を選択する

ことを含む方法。

【請求項 37】

H P P - 23 生物活性レベルが、表 12 または 14 に示された 1 個またはそれ以上の遺伝子の発現レベルを測定することにより測定される、請求項 36 記載の方法。

【請求項 38】

H P P - 23 の血漿レベル検出を含む、血清グルコース調節障害を伴う病気または代謝疾患の予後または診断方法であって、レベル増加が血清グルコース調節障害を伴う病気または代謝疾患を示すものである方法。

【請求項 39】

血清グルコース調節障害を伴う病気または代謝疾患の予後または診断方法であって、

i) 対象から入手した適切な組織の試料において表 12 または 14 で同定された少なくとも一遺伝子の発現レベルを検出することにより第一値を得、そして

ii) 無疾患対象からの遺伝子の発現レベルと第一値を比較する

ことを含み、無疾患対象からの試料と比べた場合の対象試料における発現レベルの大小が、対象が血清グルコース調節障害を伴う病気または代謝疾患に罹患し易いかまたは罹患していることの指標である方法。

【請求項 40】

H P P - 23 ポリペプチドがアミド化されていない、請求項 31 ~ 39 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、ヒト血漿で分泌されるポリペプチド形質 (species)、上記ポリペプチドをコード化する単離ポリヌクレオチド、その多型変異型、並びに検出検定法および病気の診断および医療処置を目的とする核酸およびポリペプチドまたはその組成物の使用に関するものである。

【0002】

(背景)

多くの病気の症状は非特異的性質を有するため、医療従事者にとって確定的な診断を下すのは困難な場合が多い。患者の説明は変化し易く、不正確な場合が多い。より定量的な診断方法でも、個体間および単一個体での解釈間の両方において変動するという欠点を有する。すなわち、診断の尺度は、標準化され、病歴が記録により十分に立証され、完璧である個体に適用されなければならない。これらの統制がある場合でさえ、全く異なる根元的条件についての症状が同一に思われることがあり得る。さらに、多くの深刻な状態が、要因の組み合わせ、例えば神経精神疾患 (例、統合失調症および双極性疾患、Johnston-W

10

20

30

40

50

ilson et al., Int J Neuropsychopharmacol, 2001, 4: 83 - 92 参照) および代謝疾患(例、糖尿病、Gloynおよび McCarthy, Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2001, 15: 293 - 308 参照) から生じる。現行の診断方法では、ある観察結果または解釈についての根元的誘因(複数も有る)が明らかにされないことが多い。従って、特定の陽性結果に基づいた治療戦略は、原因となる問題に取り組むものではないと思われる、場合によっては個体にとって有害なこともあり得る。

#### 【0003】

ヌクレオチド検出に頼る診断方法には、遺伝的方法および発現プロファイリングがある。例えば、特定疾患に関与することが知られている遺伝子は、一般的な遺伝子解析技術、例えばシーケンシング、ハイブリダイゼーションに基づく技術またはPCRを用いることにより突然変異についてスクリーニングされ得る。別の例では、既知遺伝子からの発現が、RT-PCR、様々なハイブリダイゼーションに基づく技術、およびシーケンシングを含む標準技術により追跡され得る。これらの戦略では、医療従事者でもmRNAプロセッシングおよびスプライシング、翻訳速度、mRNA安定性、および翻訳後修飾、例えばタンパク質加水分解的プロセッシング、リン酸化、グリコシル化およびアミド化における差異を検出できないことが多い。

10

#### 【0004】

当業界の診断状況における現時点での弱点に取り組むため、本発明は、ヒト血漿で見出されるポリペプチドの範囲に関する新たな情報を提供する。ヒト血漿は、健康および病気の両方に関連したタンパク質の最も有用な供給源である。血漿は、活性タンパク質およびテルテル疾患マーカーを含むだけではない。それは、患者および対照対象の両方から非侵襲的にかなり大量に入手され得る(対照から大量に得るのが困難であることが多い、組織とは対照的である)。さらに、血液、血漿、および血清は、全く一般的に既存の臨床試験(例、ゲノム的方法)に使用される。しかしながら、血漿のタンパク質含有量に関する細胞の多くは血液からは見出されないため、ゲノム的方法は制限される。最後に、血漿は流体であることから、プールされるため(同じく、組織とは対照的である)、分析用に大量の典型的試料が得られる。

20

#### 【0005】

血漿プロテオーム分析は、存在すると予測されるタンパク質が多数であり、少なくとも11~12桁の範囲に及ぶことが知られている、絶えず変化する広範な濃度範囲の点で興味を引かれる方法である。非常に低濃度で存在するポリペプチドを同定および特性確認するためには、質量分析法による検出にとって十分な量を確保するのに大量の試料から出発することが必要である。例えば、有効な分離、消化および質量分析法による同定に100 fmolのタンパク質が要求される場合、試料サイズ100 μlで少なくとも1 nMのタンパク質濃度が要求される。しかしながら、1リットルの試料が入手可能である場合、この必要最少濃度は100 fMに下がる。

30

#### 【0006】

明細書に記載されている本発明は、この論理に由来する。試料プールを含む工業的規模(2.5 L)方法については、小型タンパク質(分子量が約40 kD未満、ほとんどの場合20 kD未満の分子量)分析に関して詳述されている。ポリペプチドから生じる何千ものペプチドが、単一プールから同定された。本発明方法についての概念の証拠として、低存在量タンパク質、例えばレプチンおよびグレリンおよびペプチド、例えばブラジキニンが、明白に同定された。これは、ヒト血漿における小タンパク質が徹底分析された初めてのことである。すなわち、本発明は、血漿からはこれまでに見出されたことのないタンパク質を開示している。実際の血漿ポリペプチド形質を提供することにより、mRNAプロセッシングおよびスプライシング、翻訳速度、mRNA安定性、および翻訳後修飾における差異が明らかにされている。上記翻訳後修飾(例、タンパク質加水分解的プロセッシング、リン酸化、グリコシル化、およびアミド化)は、特定ポリペプチドの機能に影響を及ぼし得、実際にそうである場合が多い。さらに、血漿局在化は、本発明ポリペプチドについての新規でこれまでのところ未知の機能を指している。これらのポリペプチドは、「ヒ

40

50

ト血漿ポリペプチド」またはH P Pとして記載されている。これらのポリペプチド配列は、表1に列挙した受託番号をもつポリペプチドに関連しており、表3に列挙したアミノ酸配列の一つまたはそれ以上を含むポリペプチド形質を含む。

【0007】

本発明は、「ヒト血漿ポリペプチド」(H P P)、ヒト血漿に存在するH P Pのフラグメント、および翻訳後修飾形質を開示している。本発明のH P Pは、診断および薬剤開発にとって重要なツールを意味する。H P Pは、分泌因子であり、それ自体、例えば検出可能分子、タンパク質チップまたはモジュレーターにより検出およびターゲティングが容易である。

【0008】

10

(発明の要約)

本発明は、ヒト血漿で分泌されるポリペプチド形質に関連した組成物に関するものである。これらのポリペプチド形質を、本明細書では「ヒト血漿ポリペプチド」またはH P Pと称す。上記ヒト血漿ポリペプチドは、表3のリストから選択されたアミノ酸配列を含む。組成物は、H P P前駆体、H P Pに特異的な抗体、例えばモノクローナル抗体およびそこから誘導される他の結合組成物を含む。さらに、これらの組成物の製造および使用方法も含まれる。本発明の前駆体は、非修飾前駆体、表3からの配列から成る群のタンパク質加水分解前駆体、および表3からの配列から成る群における別のタンパク質加水分解部位から生じる中間体を包含する。

【0009】

20

本発明の好ましい態様は、翻訳後修飾、例えばリン酸化、グリコシル化、アセチル化、アミド化、またはC -、N - またはO - 結合炭化水素基を有するH P Pを含む。さらに好ましいのは、分子内または分子間相互作用、例えば高秩序構造をもたらすジスルフィドおよび水素結合をもつH P Pである。また、差次的m R N A プロセッシングまたはスプライシングから生じるH P Pも好ましい。好ましくは、H P Pは、翻訳後修飾形質、構造変異型、または血漿に存在するスプライス変異型を意味する。

【0010】

別の側面において、本発明は、表3に列挙された配列の群から選択される配列と少なくとも95パーセント同一である配列を含むH P Pを含む。好ましくは、本発明は、表3から選択された配列のいずれか一つの同一性が少なくとも97パーセント、さらに好ましくは少なくとも98パーセント、およびさらに好ましくは少なくとも99パーセントであるポリペプチドを含む。最も好ましくは、本発明は、表3に列挙された配列の群から選択される配列と少なくとも99パーセント同一である配列を含むポリペプチドを含む。

30

【0011】

別の側面において、本発明は、選択された集団で少なくとも2パーセントの頻度を有するH P Pの天然変異型を含む。さらに好ましくは、上記天然変異型は、選択された集団において少なくとも5パーセント、さらに好ましくは少なくとも10パーセントの頻度を有する。最も好ましくは、上記天然変異型は、選択された集団において少なくとも20パーセントの頻度を有する。選択された集団は、集団遺伝学分野において認められた試験集団であり得る。好ましくは、選択された集団は、白色人種、黒色人種またはアジア人種である。さらに好ましくは、選択された集団は、フランス人、ドイツ人、イギリス人、スペイン人、スイス人、日本人、中国人、アイルランド人、韓国人、シンガポール人、アイスランド人、北アメリカ人、イスラエル人、アラブ人、トルコ人、ギリシア人、イタリア人、ポーランド人、太平洋諸島人、フィンランド人、ノルウェー人、スウェーデン人、エストニア人、オーストリア人、またはインド人である。さらに好ましくは、選択された集団は、アイスランド人、サーメ(ラップ)人、フィンランド人、白色人種系フランス人、スイス人、中国系シンガポール人、韓国人、日本人、ケベック人、北アメリカピマインディアン、ペンシルベニアアーミッシュおよびアーミッシュメノナイト、ニューファンドランド人またはポリネシア人である。

40

【0012】

50

本発明の好ましい側面は、単離 H P P、すなわち H P P とは著しく異なる等電点または著しく異なる見かけ上の分子量を有するタンパク質またはタンパク質イソ型を不含有の H P P を含む組成物を提供する。H P P の等電点および分子量は、親和力およびサイズに基づく分離クロマトグラフィー、2次元ゲル分析、および質量分析法により示され得る。

【0013】

追加的側面において、本発明は修飾 H P P を含む。上記修飾には、保護/遮断基、抗体分子または他の細胞リガンドへの連鎖、および検出可能な標識、例えばタンパク質の検出および単離を可能にする酵素、蛍光、同位体またはアフィニティー標識がある。化学的修飾は、限定されるわけではないが、臭化シアン、トリプシン、キモトリプシン、パパイン、V8プロテアーゼ、NaBH<sub>4</sub>による特異的化学的開裂、アセチル化、ホルミル化、酸化、還元またはツニカマイシンの存在下における代謝合成を含む公知技術により実施され得る。

10

【0014】

また、本発明は、追加的利点、例えばポリペプチドの溶解度、安定性および循環時間の増加、または免疫原性の減少をもたらす得る本発明ポリペプチドの化学的に修飾された誘導体(例、水溶性ポリマー、例えばポリエチレングリコール、エチレングリコール/プロピレングリコールコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール)を提供する。H P P は、分子内のランダムな位置、または分子内の予め定められた位置で修飾され、1、2、3個またはそれ以上の結合された化学部分を含み得る。

【0015】

別の側面において、本発明は、診断および分析検定法(例、PCR、ハイブリダイゼーションに基づく技術)を目的とする、本発明の H P P をコード化するポリヌクレオチド、表3で列挙された配列の群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコード化するポリヌクレオチド、上記配列に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチド、H P P 遺伝子配列に相補的なオリゴヌクレオチドを包含する。

20

【0016】

別の側面において、本発明は、H P P をコード化するDNAを含むベクターを提供する。本発明はまた、上記ベクターを含む宿主細胞およびトランスジェニック非ヒト動物を含む。

【0017】

また、H P P または H P P 前駆体の製造方法も提供される。好ましい一方法は、(a)上記で開示された発現ベクターを含む宿主細胞を提供し、(b)DNAセグメントが発現される条件下で宿主細胞を培養し、そして(c)DNAセグメントによりコード化されたタンパク質を回収する段階を含む。別の好ましい方法は、(a)H P P を発現し得る宿主細胞を提供し、(b)H P P を発現させ得る条件下で宿主細胞を培養し、そして(c)H P P を回収する段階を含む。一態様内において、発現ベクターは、さらにDNAセグメントに機能し得るように結合された分泌シグナル配列を含み、細胞はタンパク質を培養培地へ分泌し、タンパク質は培地から回収される。H P P の特に好ましい製造方法は、「H P P 組成物の化学的製造」と題する項および実施例2に記載されている、標準ペプチド合成技術を用いた化学合成を含む。

30

【0018】

別の側面において、本発明は、上記ポリペプチド、ペプチドフラグメント、またはペプチドのいずれかに特異的な単離抗体を含む。好ましくは、本発明抗体はモノクローナル抗体である。さらに好ましいのは、特異的または排他的に H P P に結合する抗体、すなわち高い親和力で他のポリペプチドを認識することのない抗体である。抗 H P P 抗体は、精製、検出、診断および予後的適用性を有する。精製および検出に好ましい抗 H P P 抗体は、標識基に結合される。検出方法には、限定されるわけではないが、H P P 抗原に特異的な抗体または抗体由来の組成物を使用するものがある。好ましい検出方法は、酵素結合免疫吸着検定法(ELISA)である。上記の1つまたはそれ以上の抗体を医薬上許容される担体と一緒に含む組成物もまた、例えばインビボ検出を目的として、本発明の範囲内に含

40

50

まれる。

【0019】

特異的組織試料および生物学的流体（好ましくは血漿）においてHPPを同定するための検出方法は、本発明の一部を形成する。細胞に基づく試料からHPP発現を同定するための検出方法もまた包含される。

【0020】

さらに本発明は、体液、好ましくは血漿試料において少なくとも一つのHPPのレベルを検出することを含む方法を提供する。さらに、組織および生物学的流体、好ましくは血漿におけるHPPの量の検出および測定を目的とする、HPP遺伝子および/またはメッセンジャーRNAに相補的なプライマーおよび抗HPP抗体を含む、HPP組成物の使用 10  
方法も含まれる。さらに、本発明は、質量分析法、保持物質クロマトグラフィー（タンパク質アレイを含む）、および表面強化レーザー脱離/イオン化（SELDI）技術を含む検出方法を含む。これらの方法はまた、臨床スクリーニング、診断、治療結果のモニター、特定治療処置に応答する可能性が最も高い患者の同定に適切である。

【0021】

本発明は、上記で列挙した方法で使用され得、単一または多数の調製物、吸着剤および基質材料、抗体、標識基、必要ならば他の試薬および使用説明書を含み得るキットを提供する。キットは、診断または新規診断薬剤を同定するための検定法に使用され得る。

【0022】

好ましい態様において、少なくとも一つの本発明HPPの血漿レベル増加が検出された 20  
ということは、HPP増加に関連するHPP疾患の危険性が増加したことを示している。好ましくは、上記検出は、個体についてのHPP疾患を発現する見込みが、少なくとも1.05倍、1.1倍、1.15倍およびさらに好ましくは少なくとも1.2倍に増加したことを示す。別法として、特異的HPPにより、少なくとも一つの本発明HPPの血漿レベル減少が検出されたということは、個体についてHPP増加に関連するHPP疾患の危険性が増加したことを示している。対照試料と比較した場合の個体で観察されるHPPの増加または減少の量は、予測の確実性と相関関係を示す。個々の血漿HPPレベルは、家族歴および他の危険因子により異なるため、好ましくは各々について個別に調査する。好ましい態様において、HPPは、本発明方法によりヒト血漿試料で検出される。特に好ましい 30  
技術は、質量分析法、保持物質クロマトグラフィー（タンパク質アレイを含む）、および免疫検出法である。好ましくは、予後または診断は、対照との比較において実験的HPPレベルでの少なくとも1.1、1.15、1.2、1.25およびさらに好ましくは1.5倍増加（または減少）に基づいている。

【0023】

本発明のさらなる側面については、明細書および請求の範囲にも記載されている。

【0024】

（発明の詳細な記載）

下記で詳述されている本発明は、ヒト血漿のスクリーニングおよび診断に、特定治療処置に 40  
応答する可能性が最も高い個体の同定に、そして治療結果のモニターに有用な組成物、方法、およびキットを提供する。限定するわけではないが、開示内容を明確にするため、本発明を血漿試料の分析に関して説明する。しかしながら、当業者であれば、下記検定法および技術は、他の生物学的流体試料（例、脳脊髄液、リンパ液、胆汁、血漿、唾液または尿）または組織試料にも適用され得ることは容易に理解できるはずである。本発明の方法および組成物は、生きている個体のスクリーニング、診断および予後に有用であるが、また個体における検死解剖にも使用され得る。

【0025】

（定義）

本明細書で使用されている「核酸」および「核酸分子」の語は、DNA分子（例、cDNA 50  
DNAまたはゲノムDNA）およびRNA分子（例、mRNA）およびヌクレオチド類似体を用いて生成されるDNAまたはRNAの類似体を包含するものとする。核酸分子は、1

本鎖または2本鎖であり得るが、好ましくは2本鎖DNAである。本明細書全体を通して、「ヌクレオチド配列」という表現は、普通にポリヌクレオチドまたは核酸を表すのに使用され得る。さらに正確には、「ヌクレオチド配列」の表現は、核酸物質それ自体を包含するため、特定のDNAまたはRNA分子を生化学的に特性確認する配列情報(すなわち、4塩基文字間で選択される一連の文字)に限定されるわけではない。また、「核酸」、「オリゴヌクレオチド」および「ポリヌクレオチド」の語は、本明細書では互換的に使用される。

#### 【0026】

「単離(された)」核酸分子は、核酸の天然供給源に存在する他の核酸分子から分離されているものである。好ましくは、「単離(された)」核酸は、核酸が誘導される生物体のゲノムDNAにおいて天然で核酸の両端に隣接する配列(すなわち、核酸の5'および3'末端に位置する配列)を含まない。例えば、様々な態様において、単離HPP核酸分子は、核酸が由来する細胞のゲノムDNAにおいて天然で核酸分子の両端に隣接する約5kb、4kb、3kb、2kb、1kb、0.5kbまたは0.1kb未満のヌクレオチド配列を含み得る。さらに、「単離」核酸分子、例えばcDNA分子は、他の細胞材料、または遺伝子組換え技術により製造されたときには培養培地を実質的に含んでおらず、または化学合成された場合には化学的前駆体または他の化学物質について実質的に不含有であり得る。ハイブリダイゼーションプローブとして核酸の全部または一部分を用いることにより、HPP核酸分子は、標準ハイブリダイゼーションおよびクローニング技術を用いて単離され得る(例、Sambrook, J., Fritsh, E. F.およびManiatis, T. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*, 第2版に記載、コールドスプリングハーバー・ラボラトリー、コールドスプリングハーバー・ラボラトリー・プレス、コールドスプリングハーバー、ニューヨーク、1989)。

#### 【0027】

本明細書で使用されている「ベクター」の語は、それが結合されているもう一つの核酸を輸送し得る核酸分子をいう。ベクターのタイプは「プラスミド」であり、追加のDNAセグメントが連結され得る環状2本鎖DNAループをいう。ベクターの別のタイプはウイルスベクターであり、追加のDNAセグメントがそのウイルスゲノムに連結され得る。ある種のベクターは、それらが導入されている宿主細胞において自己複製し得る(例、細菌複製起点を有する細菌性ベクターおよびエピソーム哺乳類ベクター)。他のベクター(例、非エピソーム哺乳類ベクター)は、宿主細胞への導入時に宿主細胞のゲノムへ組込まれることにより、宿主ゲノムと一緒に複製される。さらに、ある種のベクターは、それらが機能し得るように結合されている遺伝子の発現を指令し得る。上記ベクターを本明細書では「発現ベクター」と称す。一般に、組換えDNA技術において有用な発現ベクターは、プラスミド形態であることが多い。プラスミドが最もよく使用されるベクター形態であるため、本明細書において「プラスミド」および「ベクター」は、互換的に使用され得る。しかしながら、本発明は、均等内容の機能を果たす上記の発現ベクターの他形態、例えばウイルスベクター(例、複製欠陥レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ随伴ウイルス)を包含するものとする。

#### 【0028】

本明細書で使用されている「とハイブリダイゼーションする」の語は、緩和なストリンジェンシーまたは高度ストリンジェンシーハイブリダイゼーションについての条件を述べたものとし、好ましくはハイブリダイゼーションおよび洗浄条件は、互いに少なくとも60%相同性であるヌクレオチド配列を互いにハイブリダイゼーションしたままにさせ得るものである。好ましくは、条件は、典型的には、互いに少なくとも約70%、さらに好ましくは少なくとも約80%、さらに好ましくは少なくとも約85%、90%、95%または98%相同性である配列が互いにハイブリダイゼーションしている状態を維持するものである。ストリンジェント条件は、当業者には公知であり、*Current Protocols in Molecular Biology*、ジョン・ワイリー・アンド・サンズ、ニューヨーク(1989)、6.3.1-6.3.6に記載されている。好ましい、非限定的な例では、核酸相互作用についての

10

20

30

40

50

ストリンジェントハイブリダイゼーション条件は以下の通りである：ハイブリダイゼーション段階は、6 × S S C 緩衝液、5 × デンハート溶液、0.5% S D S および 100 μ g / m l のサケ精液 D N A の存在下 65 で実施される。ハイブリダイゼーション段階に続いて以下の4洗浄段階を実施する：

- 好ましくは 2 × S S C および 0.1% S D S 緩衝液中 65 で、5 分間 2 洗浄；
- 好ましくは 2 × S S C および 0.1% S D S 緩衝液中 65 で、30 分間 1 洗浄；
- 好ましくは 0.1 × S S C および 0.1% S D S 緩衝液中 65 で、10 分間 1 洗浄；

これらのハイブリダイゼーション条件は、約 20 ヌクレオチド長の核酸分子に適切である。上記ハイブリダイゼーション条件は、当業者によく知られた技術に従って、所望の核酸長に応じて適合化され、例えば Hames B. D. および Higgins S. J. ( 1985 ) *Nucleic Acid Hybridization: A Practical Approach*. Hames および Higgins 編、I R L プレス、オックスフォード、および *Current Protocols in Molecular Biology* に開示されている内容に従って適合化されるものとする。

10

#### 【0029】

本明細書で使用されている「相同性パーセント」とは、核酸配列およびアミノ酸配列の両方に対するものである。アミノ酸または核酸「同一性」は、アミノ酸または核酸「相同性」と同等内容である。2 アミノ酸配列または 2 核酸の相同性パーセントを測定するため、最適な比較目的で配列を平行に整列させる（例、第二アミノ酸または核酸配列と最適な形で平行整列させるためギャップが第一アミノ酸の配列または核酸配列に導入され得、非相同性配列は比較目的のために無視され得る）。比較目的のために平行整列させたレファレンス配列の長さは、レファレンス配列の長さの少なくとも 30%、好ましくは少なくとも 40%、さらに好ましくは少なくとも 50%、さらに好ましくは少なくとも 60%、およびさらに好ましくは少なくとも 70%、80%、90% または 95% である。次いで、対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置でのアミノ酸残基またはヌクレオチドを比較する。第一配列における位置が第二配列における対応位置と同一のアミノ酸残基またはヌクレオチドにより占められているとき、分子はその位置で相同性である。2 配列間の相同性パーセントは、配列が共有する同一位置の数の関数である（すなわち、相同性% = 同一位置の数 / 位置の総数 × 100）。

20

#### 【0030】

2 配列間における配列比較および相同性パーセントの測定は、数学的アルゴリズムを用いて実施され得る。配列比較に使用される数学的アルゴリズムの好ましい非限定的な例は、Karlin および Altschul ( 1993 ) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90 : 5873 - 77 で修正されている、Karlin および Altschul ( 1990 ) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 : 2264 - 68 のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムは、Altschul et al. ( 1990 ) *J. Mol. Biol.* 215 : 403 - 10 の N B L A S T および X B L A S T プログラム（バージョン 2.0）に組込まれている。B L A S T ヌクレオチド検索を、N B L A S T プログラム、スコア = 100、ワード長 = 12 で実施することにより、本発明配列と相同的なヌクレオチド配列が得られる。B L A S T タンパク質検索を、X B L A S T プログラム、スコア = 50、ワード長 = 3 で実施することにより、本発明ポリペプチド配列と相同的なアミノ酸配列が得られる。比較目的のためのギャップアラインメントを得るため、Altschul et al. ( 1997 ) *Nucleic Acids Research* 25 ( 17 ) : 3389 - 3402 に記載された要領でギャップ B L A S T が使用され得る。B L A S T およびギャップ B L A S T プログラムを使用するとき、それぞれのプログラム（例、X B L A S T および N B L A S T）のデフォルトパラメーターが使用され得る。<http://www.ncbi.nlm.nih.gov> 参照。配列比較に使用される数学的アルゴリズムの別の好ましい非限定的な例は、Myers および Miller、CABIOS ( 1989 ) のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムは、G C G 配列アラインメントソフトウェアパッケージの一部である A L I G N プログラム（バージョン 2.0）に組込まれる。アミノ酸配列比較に A L I G N プログラムを用いるとき、P A M 120 重量残基表、12 のギャップ長ペナルティ、および 4 のギャップペナルティが使用され得る。

30

40

50

## 【0031】

「ポリペプチド」の語は、ポリマーの長さとは関係無く、アミノ酸のポリマーを包含する。すなわち、ペプチド、オリゴペプチドおよびタンパク質は、ポリペプチドの定義の範囲内に包含される。この語はまたポリペプチドの翻訳後修飾を特定または排除するものではないものとし、例えば、グリコシル、アセチル、リン酸、アミド、脂質、カルボキシル、アシル、または炭化水素基の共有結合を含むポリペプチドは、明白にポリペプチドの語に包含される。また、アミノ酸の1個またはそれ以上の類似体（例えば、非天然アミノ酸、非関連生物系においてのみ天然に存在するアミノ酸、哺乳類系からの修飾アミノ酸などを含む）を含むポリペプチド、置換連鎖を伴うポリペプチド、並びに天然および非天然に存するものの両方を含む、当業界で公知の他の修飾体も定義の範囲内に含まれる。

10

## 【0032】

本明細書で使用されている「タンパク質」の語は、「ポリペプチド」の語と同義的に使用され得るか、またはさらに、ペプチド結合以外の結合により結合され得る2つまたはそれ以上のポリペプチドの複合体を包含し得、例えば、タンパク質を構成する上記ポリペプチドはジスルフィド結合により結合され得る。「タンパク質」の語はまた、特に上記タンパク質が真核生物宿主で発現されたときに付加され得る、同一アミノ酸配列ではあるが異なる翻訳後修飾を有する一群のポリペプチドを包含し得る。

## 【0033】

「単離」または「精製」タンパク質またはその生物学的活性部分は、本発明タンパク質（すなわち、HPPまたはその生物活性フラグメント）が誘導される細胞または組織供給源からの細胞物質または他の汚染タンパク質を実質的に含まないものとし、または化学合成時における化学的前駆体または他の化学物質を実質的に含まないものとする。「細胞物質を実質的に含まない」の語は、本発明タンパク質が単離または遺伝子組換えにより製造される細胞の細胞成分からタンパク質が分離されているタンパク質調製物を含む。一態様において、「細胞物質を実質的に含まない」の語は、本発明タンパク質以外のタンパク質（本明細書では「汚染タンパク質」とも称す）の割合が約30%未満（乾燥重量にして）、さらに好ましくは本発明タンパク質以外のタンパク質の割合が約20%未満、さらに好ましくは本発明タンパク質以外のタンパク質の割合が約10%未満、そして最も好ましくは本発明タンパク質以外のタンパク質の割合が5%未満である本発明タンパク質の調製物を含む。本発明によるタンパク質またはその生物活性部分が遺伝子組換えにより製造されたときもまた、好ましくは培養培地を含まないものとし、すなわち、培養培地は、タンパク質調製物の体積の約20%未満、さらに好ましくは約10%未満、そして最も好ましくは約5%未満であるものとする。

20

30

## 【0034】

「化学的前駆体または他の化学物質を実質的に含まない」という語は、本発明タンパク質が化学的前駆体またはタンパク質合成に関与する他の化学物質から分離されているタンパク質調製物を含む。一態様において、「化学的前駆体または他の化学物質を実質的に含まない」の語は、化学的前駆体または非タンパク質化学物質の割合が約30%未満（乾燥重量にして）、さらに好ましくは化学的前駆体または非タンパク質化学物質の割合が約20%未満、さらに好ましくは化学的前駆体または非タンパク質化学物質の割合が約10%未満、そして最も好ましくは化学的前駆体または非タンパク質化学物質の割合が約5%未満である本発明タンパク質の調製物を含む。

40

## 【0035】

本明細書で使用されている「組換えポリペプチド」の語は、人工的に設計されたもので、最初の自然環境では連続したポリペプチド配列としては見出されない少なくとも2つのポリペプチド配列を含むポリペプチド、または組換えポリヌクレオチドから発現されたポリペプチドをいう。

## 【0036】

「漿」は、血液およびリンパ液の液体部分をいい、体積の約半分を構成する。漿は細胞不含有であり、血清とは異なり、凝固していない。血漿は、抗体および他のタンパク質を

50

含む。個体から採取された血液は、多くの場合遠心分離にかけることにより細胞成分が除去される。別の血漿分離方法には、米国特許第6241886号に記載されている、滅菌濾過が含まれる。

#### 【0037】

「ヒト血漿ポリペプチド」または「HPP」の語は、表1に列挙された受付番号のいずれか一つにより記載された配列を含むポリペプチドまたは表3の配列から成る群から選択されるアミノ酸配列をいう。上記ポリペプチドは、本明細書記載の要領で翻訳後修飾され得る。HPPはまた、他の構造的または化学的修飾、例えばジスルフィド結合またはアミノ酸側鎖相互作用、例えば複雑な二次または三次構造をもたらす水素およびアミド結合を含み得る。HPPはまた、突然変異ポリペプチド、例えば欠失、付加、置換（スワップ）または先端切除突然変異体、上記ポリペプチドを含む融合ポリペプチド、および表3の配列の少なくとも3個、好ましくは8、10、12、15または21連続アミノ酸のポリペプチドフラグメントを包含する。さらに、表3からの配列から成る群から選択される配列のHPPタンパク質加水分解前駆体および中間体も含まれる。本発明は、表3からの配列により構成されるか、本質的にそれらにより構成されるか、またはそれらを含む単離HPPを含む、HPP遺伝子またはHPP mRNA形質、好ましくはヒトHPP遺伝子およびmRNA形質の核酸配列によりコード化されるポリペプチドを包含する。好ましいHPPは、表3からのHPPの少なくとも一つの生物活性を保持している。

10

#### 【0038】

本明細書で使用されている「生物活性」の語は、HPPにより実行される機能をいう。これには、(1)ヒト個体の血流全体にわたる循環、(2)抗原性、または抗HPP特異的抗体との結合能力、(3)免疫原性、または抗HPP特異的抗体産生能力、および(4)HPP標的分子または吸着剤との相互作用があるが、限定されるわけではない。

20

#### 【0039】

「HPP関連障害」または「HPP関連疾患」は、本発明HPPに関連していることが知られている医学的状態をいう。HPP関連障害は、HPPまたはHPPポリヌクレオチドの異常レベルの存在が、個体がその状態に罹患しているかまたは発現する危険があることを示すものである状態を包含する。HPP関連障害はまた、HPPまたはHPPポリヌクレオチドの異常形態（例、突然変異、先端切除、生物活性の増加または減少、異常な翻訳後修飾またはプロセッシングに起因）の存在が、個体がその状態に罹患しているかまたはそれを発現する危険があることを示すものである状態を包含する。

30

#### 【0040】

本発明の別の側面は、抗HPP抗体に関するものである。本明細書で使用されている「抗体」の語は、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン分子の免疫活性部分、すなわち抗原、例えばHPP、またはその生物活性フラグメントまたは相同体と特異的に結合する（免疫反応する）抗原結合部位を含む分子をいう。好ましい抗体は、HPPと排他的に結合し、高い親和力で他のポリペプチドを認識することはない。免疫グロブリン分子の免疫活性部分の例には、抗体を酵素、例えばペプシンで処理することにより生成され得るF(ab)およびF(ab')<sub>2</sub>フラグメントがある。本発明は、HPPまたはその生物活性フラグメントまたは相同体と結合するポリクローナルおよびモノクローナル抗体を提供する。本明細書で使用されている「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」の語は、HPPの特定エピトープと免疫反応し得る抗原結合部位の唯一の形質を含む抗体分子の集団をいう。すなわちモノクローナル抗体組成物は、典型的にはそれが免疫反応する特定HPPについての単一結合親和力を示す。好ましいHPP抗体は、標識基に結合されている。

40

#### 【0041】

本明細書で使用されている「標識基」は、ポリヌクレオチドまたはポリペプチド（抗体を含む）に結合されたときに、上記ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの検出または精製を可能にする化合物である。標識基は、標識基に特異的な抗体を含む、二次化合物により直接的または間接的に検出または精製され得る。有用な標識基には、放射性同位元素（

50

例、<sup>3</sup><sup>2</sup>P、<sup>3</sup><sup>5</sup>S、<sup>3</sup>H、<sup>1</sup><sup>2</sup><sup>5</sup>I)、蛍光化合物(例、5-プロモデスオキシウリジン、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセイン イソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミン フルオレセイン、ダンシルクロリド、フィコエリスリンアセチルアミノフルオレン、ジゴキシゲニン)、ルミネセンス化合物(例、ルミノール、GFP、ルシフェリン、エクオリン)、酵素または酵素補因子検出可能標識(例、ペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼ)、または二次因子、例えばストレプトアビジン、GST、またはビオチンにより認識される化合物がある。好ましくは、標識基は、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの生物活性を妨げることのない形でポリヌクレオチドまたはポリペプチドに結合される。

10

## 【0042】

放射性同位元素は、放射線の直接計数、フィルム露出、または例えばシンチレーション計数管により検出され得る。酵素標識は、通常蛍光反応を誘発する生成物への適切な基質の変換の測定により検出され得る。蛍光およびルミネセンス化合物および反応は、例えば放射線、蛍光顕微鏡、蛍光活性化細胞選別、またはルミノメーターにより検出され得る。

## 【0043】

「吸着剤」は、ポリペプチド(すなわち、HPP)を吸着し得る物質をいう。本明細書で使用されている「吸着剤」の語は、ポリペプチドが曝露される単一物質(「モノプレックス吸着剤」)(例、化合物または官能基)、および試料が曝露される複数の異なる物質(「マルチプレックス吸着剤」)の両方を包含する。マルチプレックス吸着剤における吸着物質は、「吸着形質」と称される。例えば、基質における取組み可能な位置は、多くの異なる吸着形質(例、アニオン交換物質、金属キレート化剤または抗体)を特徴とし、異なる結合特性を有するマルチプレックス吸着剤を含み得る。誘引のベースは、一般的に化学的または生物学的分子認識の機能である。吸着剤およびポリペプチド間における誘引のベースには、例えば(1)塩促進相互作用、例えば疎水性相互作用、チオフィリック相互作用、および固定化染料相互作用、(2)水素結合および/またはファンデルワールス力相互作用および電荷移動相互作用、例えば親水性相互作用の場合、(3)静電相互作用、例えばイオン電荷相互作用、特に正または負イオン電荷相互作用、(4)ポリペプチドの吸着剤における金属イオンとの配位共有結合形成(すなわち配位錯体形成)能力、(5)酵素活性部位結合、(6)可逆的共有結合相互作用、例えばジスルフィド交換相互作用、(7)糖タンパク質相互作用(8)生体特異的相互作用、または(9)上記相互作用形式の2つまたはそれ以上の組み合わせがある。すなわち、吸着剤は、2つまたはそれ以上の誘引ベースを呈し得るため、「混合官能性」吸着剤として知られ得る。

20

30

## 【0044】

本発明のHPP

本発明のヒト血漿ポリペプチド(HPP)は、表1および3に記載されている。表3からの配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むHPPおよびそのフラグメントは、血漿で分泌され、循環する。

## 【0045】

本発明のHPPは、ヒト血漿からはこれまで見出されたことのない公知ポリペプチドである。すなわち、本発明は、これらのポリペプチドについての新たな役割または機能を紹介する。表1に列挙されたHPPは、表1に記載されている通り、血漿から見出されるとは予測されていないポリペプチド形質を包含する。

40

## 【0046】

本明細書で使用されている「ヒト血漿ポリペプチド」および「HPP」の語は、本発明のあらゆるペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質を全て包含する。また、本発明のポリヌクレオチドによりコード化されるポリペプチド、および上記ポリペプチドを含む融合ポリペプチドも本発明の一部を形成する。本発明は、表3の配列から成る群から選択されたアミノ酸配列により構成されるか、本質的にそれにより構成されるか、またはそれを含む単離または精製HPPを含む、ヒト由来のHPPを包含する。さらに、表3の配列から

50

成る群から選択される配列の非修飾前駆体、タンパク質加水分解前駆体および中間体も包含される。

【0047】

本発明は、表3の配列から成る群から選択されるアミノ酸配列の少なくとも3個のアミノ酸、好ましくは少なくとも8~10個のアミノ酸の連続範囲を含む単離、精製、および組換えポリペプチドフラグメントを包含しており、上記フラグメントはHPP生物活性を有するものとする。包含される態様において、アミノ酸の連続伸長部は、HPP配列におけるアミノ酸の欠失、付加、置換(スワップ)または先端切除を含む一突然変異または機能的突然変異の部位を含む。本発明はまた、本発明のHPPヌクレオチド配列、またはその相補的配列によりコード化されるポリペプチドまたはそのフラグメントに関するものである。上記ポリペプチドフラグメントは、ヒト血漿に存在する実際のペプチド形質を示し得る。上記ポリペプチドフラグメントは、例えばHPP特異的抗体の産生または別タイプのHPP特異的吸着剤の設計に使用され得る。

10

【0048】

本発明の一側面は、単離HPP、およびその生物活性部分、並びに抗HPP抗体を産生させるための免疫原としての使用に適切なポリペプチドフラグメントに関するものである。一態様において、天然HPPペプチドは、標準的タンパク質精製技術を用いる適切な精製スキームにより血漿、細胞または組織供給源から単離され得る。別の態様において、HPPは、組換えDNA技術により生成される。組換え発現に代わるものとして、HPPは、「HPP組成物の化学的製造」と題する項および実施例2の記載に従ってペプチド合成技術を用いて化学的に合成され得る。

20

【0049】

典型的には、生物活性部分は、HPPの少なくとも一活性をもつドメインまたはモチーフを含む。生物活性HPPは、例えば、表3からの配列から成る群から選択される配列からの少なくとも1、2、3または5アミノ酸変化を含むか、または表3からの配列から成る群から選択される配列からのアミノ酸の少なくとも1%、2%、3%、5%、8%、10%または15%の変化を含み得る。

【0050】

HPPの特性確認

本発明ポリペプチド、HPPは、表3のポリペプチドおよび表1に列挙された受託番号により特定される。これらのペプチドは、実施例1記載の要領で、ヒト血漿から単離され、MicroProt(登録商標)方法に従って特性確認された。各HPPについて、表1は、以下の内容を提供する：

30

- ・ 関連ポリペプチド配列に対応する、公開データベースにおける受託番号；
- ・ 公開データベースにおけるポリペプチドに関して観察されたポリペプチドを特定するアミノ酸位置；
- ・ 以下の鍵による、3範ちゅうへの分類
  - ・ a：血漿性であることが以前には知られていなかったタンパク質、分泌されると思われる。
  - ・ b：血漿性であることが以前には知られていなかったタンパク質、細胞漏出によるものと思われる。
  - ・ c：分類されていないタンパク質 - それらの大部分は、例えばDNAから予測される、新規タンパク質である。

40

【0051】

表1に列挙された受託番号の大部分は、SwissProt/TREMBLデータベースについてのレファレンスであり、それらは両方とも公的に入手可能である、例えば<http://www.expasy.ch>。しかしながら、HPP40~57は、表1で詳述されている通り、公開特許出願で現われる配列として特定される。さらに、HPP受託番号58~61についての受託番号は、表1で詳述されている通り、GenBankエントリーで若干のソフトウェアを使うことにより得られる予測タンパク質配列に対応する。HPP1~4につい

50

での受託番号は、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>でNCBIから入手可能なタンパク質エントリーを示す。最後に、HPPについての受託番号はESTを示し、その配列はdbESTデータベース、例えばNCBIから、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>で入手可能である。

【 0 0 5 2 】

【表 1】

表 1			
タンパク質	受託番号	アミノ酸	範ちゅう
HPP 1	AAH22362	1-239	c
HPP 2	AAH22823	1-233	c
HPP 3	AAH24178	1-643	c
HPP 4	AAH28090	1-234	c
HPP 5	N93909	フレーム 2 に おける翻訳の a as 51-52	c
HPP 6	000187	16-444	a
HPP 7	000508	1-1587	a
HPP 8	075368	1-114	b
HPP 9	076076	1-250	a
HPP 10	095135	1-1051	c
HPP 11	P00167	1-133	b
HPP 12	P00695	19-148	a
HPP 13	P01253	1-43	b
HPP 14	P02100	1-146	b
HPP 15	P02144	1-153	b
HPP 16	P04216	20-130	a
HPP 17	P05023	6-1023	b
HPP 18	P05060	21-677	a
HPP 19	P05092	1-164	b
HPP 20	P06703	1-90	b
HPP 21	P07108	1-86	b
HPP 22	P08493	20-96	a
HPP 23	P10645	272-319	a
HPP 24	P11082	1-309	b
HPP 25	P12111	26-3176	a
HPP 26	P12273	29-146	a
HPP 27	P19957	23-117	a
HPP 28	P20071	1-107	b
HPP 29	P23142	30-703	a
HPP 30	P25490	1-414	b
HPP 31	P28799	18-593	a
HPP 32	P28799	281-336	a
HPP 33	P28827	21-1452	a
HPP 34	P32119	1-198	b
HPP 35	P39060	1334-1516	a
HPP 36	P48052	113-417	a
HPP 37	P52758	1-137	b
HPP 38	P58062	20-85	a
HPP 39	W000/53753からの配列番号 1 5 8	1-99	c
HPP 40	ヒトヘモグロビン成人ベータタンパク質(米国特許 6, 172, 039から)	1-146	c
HPP 41	成熟ヒトアポリポタンパク質E (アポE)イソタンパ ク質, アポE3 (W001/77136から)	1-299	c
HPP 42	ヒトアポ A-I タンパク質 (W002/40501から)	1-243	c
HPP 43	欧州特許1130094から配列番号2764	1-493	c

10

20

30

40

【表 2】

表 1			
タンパク質	受託番号	アミノ酸	範ちゅう
HPP 44	ヒトアポリボタンパク質の配列(日本国特許63237795から)	1-77	c
HPP 45	抗アカゲザル D組換え抗体D7C2 軽鎖(フランス国特許2724182から)	1-238	c
HPP 46	ヒト新規タンパク質 #335 (W001/55437から)	1-384	c
HPP 47	ヒトPRO ポリペプチド配列#234 (W001/68848から)	1-97	c
HPP 48	新規ヒト分泌タンパク質#3710 (W001/79449から)	1-532	c
HPP 49	抗トロンビンIIIの成熟タンパク質配列(ATIII) (W098/36085から)	1-432	c
HPP 50	W099/16889の配列番号78	1-127	c
HPP 51	ヒトフィブリノーゲンのアルファEサブユニット(W000/09562から)	1-847	c
HPP 52	W001/75067からの配列番号32677	1-631	c
HPP 53	W001/75067からの配列番号49662	1-250	c
HPP 54	W001/75067からの配列番号59102	1-1196	c
HPP 55	genscan 予測ポリペプチド、NT_011687.5、1589772..1690791 - 配向: 偽	1-194	c
HPP 56	genscan 予測ポリペプチド、NT_008646.5、3027135..3076117 - 配向: 正	1-141	c
HPP 57	genscan 予測ポリペプチド、NT_026966.2、269455..296792 - 配向: 正	1-242	c
HPP 58	FGENESH 予測ポリペプチド、NT_026230.2、370496..630074 - 配向: 正	1-1372	c
HPP 59	Q06141	27-175	a
HPP 60	Q13228	1-472	b
HPP 61	Q14212	21-1033	c
HPP 62	Q15828	29-149	a
HPP 63	Q16610	20-540	a
HPP 64	Q92520	1-227	a
HPP 65	Q96B73	1-370	b
HPP 66	Q96E61	1-236	c
HPP 67	Q96I69	1-233	c
HPP 68	Q96ID0	1-116	c
HPP 69	Q96IV4	1-811	c
HPP 70	Q96N79	1-151	a
HPP 71	Q9BRV0	1-500	c
HPP 72	Q9BSM9	1-170	c
HPP 73	Q9BTZ2	1-278	c
HPP 74	Q9HAL8	1-286	c
HPP 75	Q9NQ76	18-525	a
HPP 76	Q9NS71	1-199	b
HPP 77	Q9UK55	22-444	a
HPP 78	Q9UIN8	18-238	a
HPP 79	Q9UP60	1-384	c

10

20

30

40

## 【0053】

本発明のHPPは全て、分子量が20kD未満または前後である。低存在量タンパク質

50

(レプチンおよびグレリン)およびペプチド(ブラジキニン)の明白な同定により、本発明検出方法の感度が確認される。

【0054】

初回分離は、カチオン交換クロマトグラフィーカラムにおけるものであり、増加塩濃度で溶離される。18のフラクションを集める。表3におけるCEX欄は、どのフラクションが各HPPについてのトリプシンペプチドを含んだかを列挙している。表2は、本明細書実施例1の段階3に記載されたプロトコルによる、各フラクションが溶離されたNaCl濃度を提供する。カチオン交換による分離は、ポリペプチド形質の全体的正電荷の指標を与える。カチオン交換に続いて、逆相HPLC分離が実施される。表3におけるRP1欄は、30フラクションのうちどのトリプシンペプチドが各HPPについて溶離されたかを列挙している。表2は、実施例1の段階4に記載されたプロトコルによる、溶離条件(%B)を提供する。逆相による分離は、ポリペプチド形質の全体的疎水性の指標を提供する。最後に、各HPPについて、表3は、各CEXフラクションおよび各RP1フラクションについて、これらのトリプシンが検出されたRP2フラクション(各トリプシン配列後の括弧内)と一緒に、これらのフラクションから検出されたトリプシンのリストを提供する。

10

【0055】

## 【表 3】

表 2

CEX フラクシオン番号	NaCl 濃度 (mM)	RP1フラクシオン番号	% B	
1-5	75	1	4.1	
6-8	100	2	12.5	
9-14	175	3	20.8	
15-16	225	4	25.96	
17	275	5	27.88	
18	1000	6	29.8	
		7	31.73	10
		8	33.65	
		9	35.7	
		10	37.5	
		11	39.42	
		12	41.34	
		13	43.27	
		14	45.2	
		15	47.1	
		16	49.02	20
		17	50.95	
		18	52.87	
		19	54.8	
		20	56.71	
		21	58.64	
		22	60.56	
		23	62.48	
		24	64.4	
		25	68.25	
		26	69	30
		27	70.17	
		28	72.1	
		29	74	
		30	87.5	

## 【 0 0 5 6 】

表 3

【表 4】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 1	1	11	TVAAPSVFIFPPSDEQLK (24)
HPP 1	6	13	DSTYLSSTLTLSK (13), FSGSGSGTDFTLK (13-15), RTVAAPSVFIFPPSDEQLK (14-15, 13), SGTASVCLLNIFYPR (13-15), TVAAPSVFIFPPSDEQLK (13-14), VDNALQSGNSQESVTEQDSK (13-15), VYACEVTHQGLSSPVTK (13-15)
HPP 1	7	11	DSTYLSSTLTLSK (19, 21), FSGSGSGTDFTLK (20), RTVAAPSVFIFPPSDEQLK (19-21), SGTASVCLLNIFYPR (19-21), TVAAPSVFIFPPSDEQLK (19-21), VDNALQSGNSQESVTEQDSK (19-21), VYACEVTHQGLSSPVTK (19-21)
HPP 1	7	14	DSTYLSSTLTLSK (8, 11), FSGSGSGTDFTLK (11), RTVAAPSVFIFPPSDEQLK (8), SGTASVCLLNIFYPR (8, 11), TVAAPSVFIFPPSDEQLK (11), VDNALQSGNSQESVTEQDSK (8), VYACEVTHQGLSSPVTK (8, 11)
HPP 1	8	13	DSTYLSSTLTLSK (11), FSGSGSGTDFTLK (11), RTVAAPSVFIFPPSDEQLK (11), SGTASVCLLNIFYPR (11), VYACEVTHQGLSSPVTK (11)
HPP 1	8	14	FSGSGSGTDFTLK (13), SGTASVCLLNIFYPR (13), TVAAPSVFIFPPSDEQLK (13), VDNALQSGNSQESVTEQDSK (13), VYACEVTHQGLSSPVTK (13)
HPP 1	8	15	HKVYACEVTHQGLSSPVTK (15), RTVAAPSVFIFPPSDEQLK (15), SGTASVCLLNIFYPR (15), VYACEVTHQGLSSPVTK (15)
HPP 1	9	13	DSTYLSSTLTLSK (13), FSGSGSGTDFTLK (13), RTVAAPSVFIFPPSDEQLK (13), SGTASVCLLNIFYPR (13), VDNALQSGNSQESVTEQDSK (13), VYACEVTHQGLSSPVTK (13)
HPP 2	1	12	YAASSYLSLTPEQWK (20)
HPP 2	8	15	AAPSVTLFPPSSEELQANK (14), ITCSGDALPK (14), LTVLGQPK (14), SYSCQVTHEGSTVEK (14), YAASSYLSLTPEQWK (14)
HPP 3	2	8	FSEAITVLLSWIER (10)
HPP 3	2	13	FSEAITVLLSWIER (17)
HPP 3	2	14	FSEAITVLLSWIER (21)
HPP 3	2	15	FSEAITVLLSWIER (16)
HPP 3	3	17	FSEAITVLLSWIER (9-10)

10

20

30

40

【表 5】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 3	3	19	FSEAITVLLSWIER (9)
HPP 3	5	24	FSEAITVLLSWIER (3)
HPP 3	6	17	FSEAITVLLSWIER (10)
HPP 4	8	14	FSGSNSGNTATLTISR (7), LTVLGQPK (7), YAASSYLSLTPEQWK (7)
HPP 5	1	5	CDSFSASIL (12)
HPP 5	1	7	CDSFSASIL (7)
HPP 6	13	15	AGYVLHR (9), LASPGFPGGEYANDQER (9)
HPP 6	13	16	LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (7)
HPP 6	13	18	WPEPVFGR (6)
HPP 6	13	19	LASPGFPGGEYANDQER (6)
HPP 6	13	20	WPEPVFGR (5)
HPP 6	13	22	WPEPVFGR (4)
HPP 6	13	23	LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (3), WPEPVFGR (3)
HPP 6	14	14	AGYVLHR (8), APGKDTFYSLGSSLDITFR (8), LASPGFPGGEYANDQER (9), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (8-9), VLATLCGQESTDTER (9), WPEPVFGR (9), WTLTAPPGYR (8-9, 11)
HPP 6	14	15	LASPGFPGGEYANDQER (9, 11), LASPGFPGGEYANDQERR (9), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (11), VLATLCGQESTDTER (9), WPEPVFGR (9, 11), WTLTAPPGYR (9, 11)
HPP 6	14	16	AGYVLHR (7-8), DTFYSLGSSLDITFR (7-12), LASPGFPGGEYANDQER (7-12), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (7-18, 21, 22), TPLGPKWPEPVFGR (7-8), VLATLCGQESTDTER (7-8, 10, 11, 12), WPEPVFGR (7-8, 10, 12), WTLTAPPGYR (7, 11, 12)
HPP 6	14	17	AGYVLHR (12-14), DTFYSLGSSLDITFR (7-8), LASPGFPGGEYANDQER (7-9, 14, 15), LASPGFPGGEYANDQERR (13), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (7-8), TPLGPKWPEPVFGR (16), WPEPVFGR (7-9, 14, 15, 17, 19, 23), WTLTAPPGYR (7-11, 13, 15, 17)
HPP 6	14	18	AGYVLHR (6-9), APGKDTFYSLGSSLDITFR (6), LASPGFPGGEYANDQER (7-8), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (6-7), TPLGPKWPEPVFGR (6), VLATLCGQESTDTER (6), WPEPVFGR (6-7, 9, 10, 11, 14), WTLTAPPGYR (7-8)
HPP 6	14	19	AGYVLHR (6-10), APGKDTFYSLGSSLDITFR (6), DTFYSLGSSLDITFR (6), LASPGFPGGEYANDQER (6-7, 9), LASPGFPGGEYANDQERR (8), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (6-7), TPLGPKWPEPVFGR (7-8), VLATLCGQESTDTER (6-7), WPEPVFGR (6-12), WTLTAPPGYR (6-7, 11)

10

20

30

40

【表 6】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 6	14	20	AGYVLHR (6-8), APGKDTFYSLGSSLDITFR (5), DTFYSLGSSLDITFR (6), LASPGFPGEYANDQER (6-7), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (5), RWLTAPPGYR (5), TPLGPKWPEPVFGR (4-5), VLATLCGQESTDTER (10), WPEPVFGR (6-7, 10, 17), WTLTAPPGYR (5, 8)
HPP 6	14	21	AGYVLHR (6-7), DTFYSLGSSLDITFR (5-7), LASPGFPGEYANDQER (5, 7, 9, 10, 12, 15, 16, 17), LASPGFPGEYANDQERR (4), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (5-7, 9, 11, 12, 14), VLATLCGQESTDTER (5-7, 10), WPEPVFGR (5-6, 9, 14), WTLTAPPGYR (5-6, 8)
HPP 6	14	22	AGYVLHR (4, 6, 7), APGKDTFYSLGSSLDITFR (3), DTFYSLGSSLDITFR (5), LASPGFPGEYANDQER (3, 11, 12, 13), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (3-4), VLATLCGQESTDTER (3), WPEPVFGR (3-9, 11, 14), WTLTAPPGYR (3-9, 13)
HPP 6	14	23	AGYVLHR (3-9, 11, 12), DTFYSLGSSLDITFR (4, 7), LASPGFPGEYANDQER (3-6, 8), LASPGFPGEYANDQERR (3), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (3-7, 11, 12), TPLGPKWPEPVFGR (3, 5), VLATLCGQESTDTER (3-4, 10), WPEPVFGR (3-6, 8, 9, 10, 13, 16), WTLTAPPGYR (3, 5, 7, 11, 12)
HPP 6	14	24	AGYVLHR (3-5), DTFYSLGSSLDITFR (2-3), LASPGFPGEYANDQER (1-8, 12), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (1-5, 7, 8, 9), VLATLCGQESTDTER (1-6), WPEPVFGR (1-6, 8, 9, 13), WTLTAPPGYR (1-4, 6, 8, 11, 12)
HPP 6	14	25	AGYVLHR (2-3, 5), DTFYSLGSSLDITFR (2-5), LASPGFPGEYANDQER (1, 5, 6, 7, 8), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (2-9, 11), VLATLCGQESTDTER (1-6, 8), WPEPVFGR (2-3, 5, 6, 7, 8, 9, 10), WTLTAPPGYR (1-5, 7, 8, 9)
HPP 6	14	26	AGYVLHR (1), DTFYSLGSSLDITFR (8), LASPGFPGEYANDQER (1-2, 7), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (5, 8), VLATLCGQESTDTER (3, 5, 7, 9), WPEPVFGR (1, 4, 7), WTLTAPPGYR (1-5, 8)
HPP 6	14	27	AGYVLHR (6), DTFYSLGSSLDITFR (1-2), LASPGFPGEYANDQER (1-2, 10), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (1, 4, 7, 8), TPLGPKWPEPVFGR (9), VLATLCGQESTDTER (1, 3, 10), WPEPVFGR (1-2, 4, 5, 7, 8), WTLTAPPGYR (1, 3, 5, 7)
HPP 6	14	28	AGYVLHR (3, 5, 6, 8), DTFYSLGSSLDITFR (3), LASPGFPGEYANDQER (4-7, 10), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (3-6), VLATLCGQESTDTER (2-4, 6, 10), WPEPVFGR (3-6, 8), WTLTAPPGYR (2-3, 6, 8)
HPP 6	14	29	AGYVLHR (3), DTFYSLGSSLDITFR (3), LASPGFPGEYANDQER (3-4, 8, 9, 10), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (3-4, 6, 7, 9), VLATLCGQESTDTER (3-4), WPEPVFGR (6, 9, 11, 12), WTLTAPPGYR (3-5, 7, 9, 10, 11)

10

20

30

40

【表 7】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 6	14	30	AGYVLHR (3), DTFYSLGSSLDITFR (3), LASPGFPGGEYANDQER (3-8, 12), LYFTHFDLELSHLCEYDFVK (3-4), VLATLCGQESTDTER (3-8), WPEPVFGR (3), WTLTAPPGYR (3-5, 7)
HPP 6	17	22	WPEPVFGR (3)
HPP 7	10	10	VPEGFTCR (8)
HPP 7	12	9	MACVDINECDEAEAASPLCVNAR (10), VPEGFTCR (8-9, 11)
HPP 7	12	10	VPEGFTCR (10-11)
HPP 7	12	13	VPEGFTCR (11)
HPP 8	7	10	GDYDAFFEAR (15), QQDVLGFLEANK (14), VYIASSSGSTAIK (13)
HPP 8	7	11	ENNAVYAFLGLTAPPGSK (15), GDYDAFFEAR (14-15), QQDVLGFLEANK (15), VYIASSSGSTAIK (14-15)
HPP 8	7	12	GDYDAFFEAR (8-10), KQQDVLGFLEANK (9), VYIASSSGSTAIK (8-9)
HPP 8	7	13	VYIASSSGSTAIK (9)
HPP 9	6	9	CPLGVPLVLDGCGCCR (17)
HPP 9	7	10	GALCLLAEDDSSCEVNGR (12)
HPP 10	2	21	IAMENDDGR (7, 10)
HPP 10	2	22	IAMENDDGR (6)
HPP 11	12	10	YYTLEEQK (9)
HPP 11	12	11	FLEEHPGGEEVLR (11), YYTLEEQK (10-11)
HPP 12	2	14	STDYGIFQINSR (6)
HPP 12	15	2	AWVAWR (1), LGMDGYR (1), STDYGIFQINSR (1), WESGYNTR (1)
HPP 12	17	13	TPGAVNACHLSCSALLQDNIADAVACAK (9)
HPP 13	7	3	NPLPSKETIEQEK (14)
HPP 13	7	4	NPLPSKETIEQEK (8), SDKPDMAEIEK (8, 11), SDKPDMAEIEKFDK (7-8, 11), TETQEKNPLPSK (7-8, 11)
HPP 13	7	8	SDKPDMAEIEKFDK (5)
HPP 13	8	5	NPLPSKETIEQEK (12), SDKPDMAEIEKFDK (13), TETQEKNPLPSK (13)
HPP 14	14	15	LLVYYPWTQR (16), LSELHCDK (16)
HPP 14	14	19	LLVYYPWTQR (8, 10), LSELHCDK (8), LVSAVAIALAHKYH (10)
HPP 15	17	15	HGATVLTALGGILK (11)
HPP 15	17	18	HGATVLTALGGILK (6)
HPP 15	17	28	YLEFISECHIQVLQSK (3)
HPP 15	18	16	HGATVLTALGGILK (7)
HPP 15	18	17	HGATVLTALGGILK (8)
HPP 15	18	18	VEADIPGHGQEVLR (6)

10

20

30

40

【表 8】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 15	18	26	HGATVLTALGGILK (3)
HPP 16	5	9	VTSLTACLVDQSLR (15)
HPP 16	6	9	TNFTSKYNMK (13), VLYLSAFTSK (12-13), VTSLTACLVDQSLR (12-13)
HPP 16	6	10	VTSLTACLVDQSLR (8)
HPP 16	7	8	VTSLTACLVDQSLR (13)
HPP 17	11	18	RAVAGDASESALLK (6)
HPP 17	11	24	RAVAGDASESALLK (2)
HPP 17	13	21	RAVAGDASESALLK (5)
HPP 18	12	11	CIIEVLSNALSK (8)
HPP 18	13	11	CIIEVLSNALSK (8)
HPP 19	13	14	VSFELFADK (8)
HPP 19	13	15	FEDENFILK (9), KITIADCGQLE (8)
HPP 19	14	13	FEDENFILK (10), KITIADCGQLE (9)
HPP 19	14	14	FEDENFILK (8), VSFELFADK (8)
HPP 19	14	15	EGMNIVEAMER (9-10), FEDENFILK (8-10), HTGPGILSMANAGPNTNGSQFFICTAK (9), VNPTVFFDIAVDGEPLGR (9)
HPP 20	17	21	LQDAEIAR (10)
HPP 20	18	21	LMEDLDR (11)
HPP 20	18	22	DQEVNFQEYVTFGLGALALIYNEALK (7), NKDQEVNFQEYVTFGLGALALIYNEALK (7)
HPP 21	13	10	QATVGDINTERPGMLDFTGK (9)
HPP 21	13	11	AYINKVEELK (14)
HPP 21	13	12	QATVGDINTERPGMLDFTGK (9), TKPSDEEMLFYGHYK (9), WDAWNEK (9)
HPP 21	14	11	TKPSDEEMLFYGHYK (11)
HPP 22	5	7	NANTFISQQR (11-12)
HPP 22	6	6	NANTFISQQR (8)
HPP 22	8	8	NANTFISQQR (7)
HPP 22	10	7	NANTFISQQR (7-8, 11), YESHESMESYELNPFINRR (12)
HPP 22	10	8	NANTFISQQR (6)
HPP 22	11	8	NANTFISQQR (8-9, 11, 12)
HPP 22	11	11	NANTFISQQR (8)
HPP 22	12	8	NANTFISQQR (6-7, 12)
HPP 22	12	9	NANTFISQQR (7-9)
HPP 22	13	8	NANTFISQQR (8)

10

20

30

40

【表 9】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 22	13	9	NANTFISPQQR (8-12)
HPP 22	14	6	NANTFISPQQR (10)
HPP 22	14	7	NANTFISPQQR (10-14)
HPP 22	14	9	NANTFISPQQR (8)
HPP 22	14	11	NANTFISPQQR (7)
HPP 22	15	7	NANTFISPQQR (16)
HPP 22	16	8	NANTFISPQQR (7)
HPP 23	2	8	SEALAVDGAGKPGAEAAQDPEGK (9)
HPP 23	3	9	SEALAVDGAGKPGAEAAQDPEGK (9)
HPP 24	15	11	QLNENQVR (17)
HPP 24	17	14	QLNENQVR (7-8)
HPP 24	17	21	QLNENQVR (4)
HPP 24	17	28	QLNENQVR (1)
HPP 24	17	30	QLNENQVR (2)
HPP 25	10	9	FWYGGCGGNENK (14, 16), VCAPVLAKPGVISVMGT (17)
HPP 25	10	10	VCAPVLAKPGVISVMGT (11)
HPP 25	11	8	FWYGGCGGNENK (13-14), VCAPVLAKPGVISVMGT (15), WYYDPNTK (13)
HPP 25	11	9	DEGTCRDFILK (13), FWYGGCGGNENK (12-17), VCAPVLAKPGVISVMGT (13, 15, 16, 17, 18), WYYDPNTK (14, 16, 17)
HPP 25	11	10	DFILK (10), FWYGGCGGNENK (9-10), VCAPVLAKPGVISVMGT (9-10, 14)
HPP 25	11	11	FWYGGCGGNENK (8-10), WYYDPNTK (9)
HPP 25	11	12	FWYGGCGGNENK (7), VCAPVLAKPGVISVMGT (7)
HPP 25	11	13	FWYGGCGGNENK (7), VCAPVLAKPGVISVMGT (7)
HPP 25	12	9	FWYGGCGGNENK (9-12), VCAPVLAKPGVISVMGT (9-12), WYYDPNTK (9-12)
HPP 25	12	10	FWYGGCGGNENK (8-10), VCAPVLAKPGVISVMGT (8-10), WYYDPNTK (8)
HPP 26	4	17	YTACLDDNPK (12)
HPP 26	5	20	ELGICPDAAVPIKNNR (6)
HPP 26	5	21	FYTIEILKVE (7), TYLISSIPLQGFNYK (7), YTACLDDNPK (7)
HPP 26	5	25	ELGICPDAAVPIK (4)
HPP 26	15	2	FYTIEILKVE (1)
HPP 27	5	8	AQEPVKGPVSTKPGSCPIILIR (7-8), VPFNGQDPVK (7)
HPP 27	6	6	VPFNGQDPVK (10)

10

20

30

40

【表 10】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 27	6	8	AQEPVKGPVSTKPGSCPIILIR (7-8), CAMLNPPNR (7-8), CLKDTDCPGIK (7), VPFNGQDPVK (7), VPFNGQDPVKGQVSVK (7)
HPP 27	8	8	AQEPVKGPVSTKPGSCPIILIR (7), CAMLNPPNR (7)
HPP 27	9	8	VPFNGQDPVK (7)
HPP 27	10	8	GPVSTKPGSCPIILIR (8)
HPP 28	10	11	GVQVETISPGDGR (12)
HPP 28	10	12	GVQVETISPGDGR (9)
HPP 28	11	11	GVQVETISPGDGR (11)
HPP 28	12	12	GVQVETISPGDGR (8)
HPP 28	12	13	GVQVETISPGDGR (12)
HPP 29	13	12	DVLEACCADGHR (6)
HPP 29	13	13	AAQAQGSCEYSMLVGYQCGQVFR (7)
HPP 30	3	21	MFRDNSAMR (6)
HPP 30	4	14	MFRDNSAMR (13)
HPP 30	4	23	MFRDNSAMR (5, 7)
HPP 30	6	23	MFRDNSAMR (4)
HPP 31	5	7	VHCCPHGAFCDLVHTR (13)
HPP 31	5	8	VHCCPHGAFCDLVHTR (11)
HPP 31	6	8	VHCCPHGAFCDLVHTR (8)
HPP 31	6	9	VHCCPHGAFCDLVHTR (8-9)
HPP 31	6	10	VHCCPHGAFCDLVHTR (7)
HPP 31	7	8	VHCCPHGAFCDLVHTR (8)
HPP 31	7	9	VHCCPHGAFCDLVHTR (8)
HPP 31	7	10	CDMEVSCPDPGYTCCR (7), VHCCPHGAFCDLVHTR (7)
HPP 31	10	23	ARSCEK (12)
HPP 31	11	8	CITPTGTHPLAK (11)
HPP 32	7	5	DVKCDMEVSCPDPGYTCCR (19-21)
HPP 32	7	6	CDMEVSCPDPGYTCCR (11), DVKCDMEVSCPDPGYTCCR (12)
HPP 32	7	7	CDMEVSCPDPGYTCCR (11), DVKCDMEVSCPDPGYTCCR (11-12)
HPP 32	7	8	CDMEVSCPDPGYTCCR (7-8), DVKCDMEVSCPDPGYTCCR (7-8)
HPP 32	7	10	CDMEVSCPDPGYTCCR (7), DVKCDMEVSCPDPGYTCCR (6)
HPP 32	8	7	CDMEVSCPDPGYTCCR (11-13), DVKCDMEVSCPDPGYTCCR (11-13)
HPP 32	8	8	CDMEVSCPDPGYTCCR (8)
HPP 33	1	9	TYNGYWNTPLLPYK (24)
HPP 33	1	12	ANGETKIDCVQVATK (10), IDCVQVATK (11), IYFQAASR (8-9, 11)

10

20

30

40

【表 1 1】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 34	9	17	ATAVVDGAFK (15), EGGLGPLNIPLLADVTR (15-16), KEGGLGPLNIPLLADVTR (15-16), LGCEVLGVSVD SQFTHLAWINTPR (15), TDEGIAYR (15-16)
HPP 34	9	19	EGGLGPLNIPLLADVTR (8), KEGGLGPLNIPLLADVTR (8), QITVNDLPVGR (8)
HPP 34	9	20	KEGGLGPLNIPLLADVTR (7)
HPP 34	9	21	KEGGLGPLNIPLLADVTR (7)
HPP 34	10	19	EGGLGPLNIPLLADVTR (9), KEGGLGPLNIPLLADVTR (9), LGCEVLGVSVD SQFTHLAWINTPR (9), QITVNDLPVGR (9)
HPP 34	10	22	KEGGLGPLNIPLLADVTR (6)
HPP 34	10	23	KEGGLGPLNIPLLADVTR (6)
HPP 34	11	18	EGGLGPLNIPLLADVTR (9), KEGGLGPLNIPLLADVTR (10), QITVNDLPVGR (9)
HPP 34	11	19	KEGGLGPLNIPLLADVTR (11), LGCEVLGVSVD SQFTHLAWINTPR (11), QITVNDLPVGR (11)
HPP 34	11	21	KEGGLGPLNIPLLADVTR (8)
HPP 34	13	18	EGGLGPLNIPLLADVTR (9), KEGGLGPLNIPLLADVTR (9-10)
HPP 34	13	20	EGGLGPLNIPLLADVTR (8)
HPP 34	14	17	EGGLGPLNIPLLADVTR (18), KEGGLGPLNIPLLADVTR (18), LSEDYGVK (18)
HPP 34	14	18	KEGGLGPLNIPLLADVTR (10)
HPP 34	14	21	EGGLGPLNIPLLADVTR (8)
HPP 34	14	22	KEGGLGPLNIPLLADVTR (7)
HPP 34	14	24	EGGLGPLNIPLLADVTR (5), KEGGLGPLNIPLLADVTR (5)
HPP 34	14	27	KEGGLGPLNIPLLADVTR (5)
HPP 34	14	28	KEGGLGPLNIPLLADVTR (6)
HPP 35	10	18	LQDLYSIVR (7)
HPP 35	11	17	DFQPVLHLVALNSPLSGGMR (9)
HPP 35	11	18	DFQPVLHLVALNSPLSGGMR (7)
HPP 35	15	18	DFQPVLHLVALNSPLSGGMR (7), TEAPSATGQASSLLGGR (7)
HPP 36	2	19	EWVTQATALWTANKIVSDYGK (11)
HPP 36	2	22	EWVTQATALWTANKIVSDYGK (8)
HPP 37	1	20	APGAIGPYSQAVLVDR (12), TTVLLADINDFNTVNEIYK (12)
HPP 37	1	24	TTVLLADINDFNTVNEIYK (6)
HPP 38	8	11	VQFLHDGSC (7-8)

10

20

30

40

【表 1 2】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 39	9	16	ADEFLNWHALFESIK (9)
HPP 39	10	16	ADEFLNWHALFESIK (9), LPFLNWDAFP (9)
HPP 39	11	15	ADEFLNWHALFESIK (14-17), ADEFLNWHALFESIKR (14), KLPFLNWDAFP (14, 16, 17), LPFLNWDAFP (14)
HPP 39	11	16	ADEFLNWHALFESIK (9-10, 12)
HPP 39	12	16	ADEFLNWHALFESIK (9), KLPFLNWDAFP (9)
HPP 40	5	23	EFTPPVQAAYQK (5)
HPP 40	6	13	EFTPPVQAAYQK (9), VVAGVANALAHK (9)
HPP 40	9	16	EFTPPVQAAYQK (12), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (12-14, 16), VNVDEVGGEALGR (12-14, 16)
HPP 40	9	19	EFTPPVQAAYQK (7), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (8), VLGAFSDGLAHLNLIK (8)
HPP 40	10	16	LLVYPWTQR (9)
HPP 40	10	17	EFTPPVQAAYQK (11), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (11-13), GTFATLSELHCDK (12), KVLGAFSDGLAHLNLIK (10-13), LLGNLVCVLAHHFGK (12), LLVYPWTQR (10-11), SAVTALWGK (12), VLGAFSDGLAHLNLIK (11-13), VNVDEVGGEALGR (12-13), VVAGVANALAHK (11)
HPP 40	10	18	EFTPPVQAAYQK (7-10), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (8-10), KVLGAFSDGLAHLNLIK (8), LLGNLVCVLAHHFGK (8), LLVYPWTQR (7, 9, 10), VLGAFSDGLAHLNLIK (9), VNVDEVGGEALGR (10), VVAGVANALAHK (7-8)
HPP 40	11	15	VVAGVANALAHK (14)
HPP 40	11	16	EFTPPVQAAYQK (12), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (11-13), GTFATLSELHCDK (11), LHVPENFR (11-12), LLGNLVCVLAHHFGK (11- 13), LLVYPWTQR (9-13), SAVTALWGK (12), VLGAFSDGLAHLNLIK (12- 13), VNVDEVGGEALGR (12-13), VVAGVANALAHK (10-13)
HPP 40	11	17	EFTPPVQAAYQK (11-14, 16, 17), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (12-16), GTFATLSELHCDK (12, 14), GTFATLSELHCDKLHVPENFR (13, 15), KVLGAFSDGLAHLNLIK (12-16), LHVPENFR (11-12), LLGNLVCVLAHHFGK (11-17), LLVYPWTQR (11-16), SAVTALWGK (12- 15), VHLTPEEK (11, 13, 14, 15, 16), VLGAFSDGLAHLNLIK (12-14, 16), VNVDEVGGEALGR (11-16), VVAGVANALAHK (11-15), VVAGVANALAHKYH (13)

10

20

30

40

【表 1 3】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 40	11	18	EFTPPVQAAYQK (8), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (8-10), GTFATLSELHCDK (8), LHVDPENFR (8), LLVYPWTQR (8, 10, 11, 12), SAVTALWGK (9), VLGAFSDGLAHLNPK (8-11), VNVDEVGGEALGR (9), VVAGVANALAHK (9)
HPP 40	11	19	EFTPPVQAAYQK (8-9), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (8-9), LHVDPENFR (8), LLVYPWTQR (8-9), SAVTALWGK (8), VNVDEVGGEALGR (8)
HPP 40	11	20	EFTPPVQAAYQK (7), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (7-8), GTFATLSELHCDK (7-8), LLVYPWTQR (7-8), VLGAFSDGLAHLNPK (7- 8), VNVDEVGGEALGR (7), VVAGVANALAHK (7)
HPP 40	11	21	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (8), KVLGAFSDGLAHLNPK (7), LLGNVLCVLAHHFGK (7), LLVYPWTQR (8-9), VLGAFSDGLAHLNPK (7), VNVDEVGGEALGR (7)
HPP 40	11	22	LLVYPWTQR (7)
HPP 40	12	16	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (10), LLGNVLCVLAHHFGK (10), LLVYPWTQR (10-11), VNVDEVGGEALGR (10-11), VVAGVANALAHK (10)
HPP 40	12	17	EFTPPVQAAYQK (7, 9), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (7-8), GTFATLSELHCDKLHVDPENFR (8), KVLGAFSDGLAHLNPK (7), LHVDPENFR (9), VLGAFSDGLAHLNPK (7, 9), VNVDEVGGEALGR (7, 9), VVAGVANALAHK (8-9), VVAGVANALAHKYH (8)
HPP 40	12	18	EFTPPVQAAYQK (7-8), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (7-8), GTFATLSELHCDK (7-8), KVLGAFSDGLAHLNPK (6, 8), LLGNVLCVLAHHFGK (7), LLVYPWTQR (7), SAVTALWGK (7-8), VHLTPEEK (7), VLGAFSDGLAHLNPK (7-9), VNVDEVGGEALGR (6-9), VVAGVANALAHK (7-9)
HPP 40	12	19	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (8), GTFATLSELHCDK (8), KVLGAFSDGLAHLNPK (8)
HPP 40	12	20	EFTPPVQAAYQK (6), LLGNVLCVLAHHFGK (7), LLVYPWTQR (6, 8), VLGAFSDGLAHLNPK (6)
HPP 40	12	22	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (5), VLGAFSDGLAHLNPK (5), VNVDEVGGEALGR (5)
HPP 40	12	23	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (5), LLVYPWTQR (5), VHLTPEEK (5)
HPP 40	13	16	EFTPPVQAAYQK (10), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (10), GTFATLSELHCDKLHVDPENFR (10), KVLGAFSDGLAHLNPK (10), LLGNVLCVLAHHFGK (10), LLVYPWTQR (10), SAVTALWGK (10), VLGAFSDGLAHLNPK (9-10)

10

20

30

40

【表 1 4】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2 フラクシオン)
HPP 40	13	17	EFTPPVQAAYQK (12, 14), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (10-11, 13, 14), KVLGAFSDGLAHLNLIK (12), LLGNVLCVLAHHFGK (10, 12), LLVYPWTQR (10-13), SAVTALWGK (11, 13, 14), VHLTPEEK (12, 14), VLGAFSDGLAHLNLIK (11-12), VNVDEVGGEALGR (10-15), VVAGVANALAHK (11-12)
HPP 40	13	18	EFTPPVQAAYQK (7-8), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (8-9), GTFATLSELHCDK (8), KVLGAFSDGLAHLNLIK (7), LHVDPENFR (9), LLGNVLCVLAHHFGK (7-8), LLVYPWTQR (7-10), SAVTALWGK (8, 10), VHLTPEEK (7), VLGAFSDGLAHLNLIK (7-8), VNVDEVGGEALGR (7-8), VVAGVANALAHK (8-10)
HPP 40	13	19	EFTPPVQAAYQK (9, 11, 12), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (8-12), GTFATLSELHCDK (9, 12), LHVDPENFR (9, 12), LLGNVLCVLAHHFGK (9- 10), LLVYPWTQR (8-11), SAVTALWGK (12), VHLTPEEK (12), VLGAFSDGLAHLNLIK (8, 10, 11), VNVDEVGGEALGR (7, 9, 11, 12), VVAGVANALAHK (9, 11)
HPP 40	13	20	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (7-8), LLVYPWTQR (9-10), VLGAFSDGLAHLNLIK (7-8)
HPP 40	13	21	EFTPPVQAAYQK (7), LLVYPWTQR (7-8)
HPP 40	13	22	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (6), LLGNVLCVLAHHFGK (5), LLVYPWTQR (5), VLGAFSDGLAHLNLIK (5-6), VNVDEVGGEALGR (5-6), VVAGVANALAHK (5)
HPP 40	13	23	LLVYPWTQR (6), VNVDEVGGEALGR (5), VVAGVANALAHK (5)
HPP 40	13	24	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (4), LLVYPWTQR (4), SAVTALWGK (4), VHLTPEEK (4), VVAGVANALAHK (4)
HPP 40	14	14	EFTPPVQAAYQK (12), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (9-10), KVLGAFSDGLAHLNLIK (10), LLVYPWTQR (10), VLGAFSDGLAHLNLIK (11), VNVDEVGGEALGR (9-10), VVAGVANALAHK (11)
HPP 40	14	15	EFTPPVQAAYQK (14, 16, 17, 18, 19), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (10, 15, 16, 17, 18, 19), GTFATLSELHCDK (15-18), KVLGAFSDGLAHLNLIK (16, 18), LLGNVLCVLAHHFGK (15-18), LLGNVLCVLAHHFGKEFTPPVQAAYQK (16), LLVYPWTQR (15-17), SAVTALWGK (15-17), SAVTALWGKVVNVDEVGGEALGR (16-17), VHLTPEEK (16-17), VLGAFSDGLAHLNLIK (15-17), VNVDEVGGEALGR (9- 10, 16, 17), VVAGVANALAHK (14-15, 17, 18, 19)

10

20

30

40

【表 15】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 40	14	16	EFTPPVQAAYQK (11-13, 16), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (11-16), GTFATLSELHCDK (11-12, 14), GTFATLSELHCDKLHVDPENFR (13), KVLGAFSDGLAHLNPK (11-12, 14, 15), LHVDPENFR (11-12, 15), LLGNLVCVLAHHFGK (9-14), LLVVYPWTQR (8-15), SAVTALWGK (11-13, 15), VHLTPEEK (11, 13), VLGAFSDGLAHLNPK (8, 11, 12, 13, 14, 15), VNVDEVGGEALGR (10-16), VVAGVANALAHK (10-11, 14, 15)
HPP 40	14	17	EFTPPVQAAYQK (9-10, 12, 13, 14, 15), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (11- 15), GTFATLSELHCDK (10-14), KVLGAFSDGLAHLNPK (9, 12, 13, 14), LHVDPENFR (12-14), LLGNLVCVLAHHFGK (9-10, 12, 14, 16), LLVVYPWTQR (8, 11, 12, 13, 14, 15, 16), SAVTALWGK (11-14), VHLTPEEK (11-14), VLGAFSDGLAHLNPK (9-10, 12, 13, 14, 15), VNVDEVGGEALGR (9-15), VVAGVANALAHK (9-10, 12, 13, 15)
HPP 40	14	18	EFTPPVQAAYQK (8-9), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (8-11), GTFATLSELHCDK (8, 10), KVLGAFSDGLAHLNPK (8, 10), LLGNLVCVLAHHFGK (7-10), LLVVYPWTQR (9), SAVTALWGK (8), VHLTPEEK (8), VLGAFSDGLAHLNPK (7-10), VNVDEVGGEALGR (7-9), VVAGVANALAHK (7-9)
HPP 40	14	19	EFTPPVQAAYQK (7-11), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (7-14), GTFATLSELHCDK (8-12), GTFATLSELHCDKLHVDPENFR (8), KVLGAFSDGLAHLNPK (7-8, 10, 12), LHVDPENFR (8-10), LLGNLVCVLAHHFGK (7-12), LLGNLVCVLAHHFGKEFTPPVQAAYQK (8), LLVVYPWTQR (8-10, 12), SAVTALWGK (8-10), VHLTPEEK (7-12), VLGAFSDGLAHLNPK (7-12), VNVDEVGGEALGR (8-13), VVAGVANALAHK (8-11), VVAGVANALAHKYH (8)
HPP 40	14	20	EFTPPVQAAYQK (7), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (7-9), GTFATLSELHCDK (7-8), GTFATLSELHCDKLHVDPENFR (6), KVLGAFSDGLAHLNPK (7), LHVDPENFR (7), LLGNLVCVLAHHFGK (6), LLVVYPWTQR (6-7, 9, 10), SAVTALWGK (6-8), VHLTPEEK (6-7), VLGAFSDGLAHLNPK (7-8), VNVDEVGGEALGR (6-8), VVAGVANALAHK (6-8)
HPP 40	14	21	EFTPPVQAAYQK (7-8), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (6-8), GTFATLSELHCDK (7-8), KVLGAFSDGLAHLNPK (6-7), LHVDPENFR (7-8), LLGNLVCVLAHHFGK (6-8), LLVVYPWTQR (6-9), SAVTALWGK (6-8), VLGAFSDGLAHLNPK (6-7), VNVDEVGGEALGR (6-9), VVAGVANALAHK (6-8)

10

20

30

40

【表 1 6】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2フラクション)
HPP 40	14	22	EFTPPVQAAYQK (6), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (5-6), GTFATLSELHCDK (5-6), KVLGAFSDGLAHLNLIK (6), LHVDPENFR (6), LLGNLVCVLAHHFGK (5-6), LLVYPWTQR (5-6), SAVTALWGK (5-6), VHLTPEEK (5-6), VLGAFSDGLAHLNLIK (6), VNVDEVGGEALGR (5-6), VVAGVANALAHK (5-6)
HPP 40	14	23	EFTPPVQAAYQK (5-6), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (5-6), GTFATLSELHCDK (6), LLGNLVCVLAHHFGK (5-6), LLVYPWTQR (5-6), SAVTALWGK (5-6), SAVTALWGKVNVDVGGGEALGR (5), VHLTPEEK (5- 6), VHLTPEEKSAVTALWGK (5), VLGAFSDGLAHLNLIK (5-6), VNVDEVGGEALGR (5-6), VVAGVANALAHK (5-6), VVAGVANALAHKYH (5)
HPP 40	14	24	EFTPPVQAAYQK (4), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (4), GTFATLSELHCDK (3-4), KVLGAFSDGLAHLNLIK (4), LHVDPENFR (4), LLGNLVCVLAHHFGK (3-5), LLGNLVCVLAHHFGKEFTPPVQAAYQK (4), LLVYPWTQR (4-5), SAVTALWGK (4), VHLTPEEK (4), VLGAFSDGLAHLNLIK (3-4), VNVDEVGGEALGR (3-4)
HPP 40	14	25	EFTPPVQAAYQK (4-5), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (4-5), GTFATLSELHCDK (3-4), KVLGAFSDGLAHLNLIK (4-5), LHVDPENFR (3-4), LLGNLVCVLAHHFGK (3-5), LLVYPWTQR (3-5), SAVTALWGK (4-5), VHLTPEEK (3-4), VLGAFSDGLAHLNLIK (3-5), VNVDEVGGEALGR (4-5), VVAGVANALAHK (4-5)
HPP 40	14	26	EFTPPVQAAYQK (3), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (3-4), GTFATLSELHCDK (3), KVLGAFSDGLAHLNLIK (3), LLGNLVCVLAHHFGK (3-4), LLVYPWTQR (3), SAVTALWGK (3), VHLTPEEK (3), VLGAFSDGLAHLNLIK (3-4), VNVDEVGGEALGR (3), VVAGVANALAHK (3-4)
HPP 40	14	27	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (3), LHVDPENFR (3), LLVYPWTQR (3), SAVTALWGK (3), VHLTPEEK (3), VLGAFSDGLAHLNLIK (3), VNVDEVGGEALGR (3), VVAGVANALAHK (3)
HPP 40	14	28	EFTPPVQAAYQK (5), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (4-5), GTFATLSELHCDK (5), KVLGAFSDGLAHLNLIK (5), LLGNLVCVLAHHFGK (5), LLVYPWTQR (5), SAVTALWGK (5), VHLTPEEK (4-5), VNVDEVGGEALGR (4-5)
HPP 40	14	29	EFTPPVQAAYQK (5), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (4-5), GTFATLSELHCDK (5), LHVDPENFR (5), LLGNLVCVLAHHFGK (4-5), LLVYPWTQR (5), VLGAFSDGLAHLNLIK (4), VNVDEVGGEALGR (5)

10

20

30

40

【表 17】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 40	14	30	EFTPPVQAAYQK (5), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (5), KVLGAFSDGLAHLNPK (5), LLVYPWTQR (5), SAVTALWGK (5), VLGAFSDGLAHLNPK (5), VNVDEVGGEALGR (5)
HPP 40	15	14	EFTPPVQAAYQK (12)
HPP 40	15	15	EFTPPVQAAYQK (18-19), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (17-20), LLGNLVCVLAHHFGK (19), LLVYPWTQR (17, 19, 20), SAVTALWGK (19), VHLTPEEK (17-20), VLGAFSDGLAHLNPK (17, 19), VVAGVANALAHK (18)
HPP 40	15	16	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (12-13, 16, 17), LLVYPWTQR (12), VNVDEVGGEALGR (12)
HPP 40	15	17	KVLGAFSDGLAHLNPK (12), LLGNLVCVLAHHFGK (10), VHLTPEEK (12), VNVDEVGGEALGR (11-12)
HPP 40	15	18	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (8-9), GTFATLSELHCDK (8), LLGNLVCVLAHHFGK (9), LLVYPWTQR (8, 10), SAVTALWGK (8-9), VLGAFSDGLAHLNPK (8-9), VNVDEVGGEALGR (8-12), VVAGVANALAHK (9)
HPP 40	15	19	EFTPPVQAAYQK (10), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (8-10), GTFATLSELHCDK (8-9), KVLGAFSDGLAHLNPK (9), LLGNLVCVLAHHFGK (9, 11, 12), LLVYPWTQR (11), SAVTALWGK (8, 10), VLGAFSDGLAHLNPK (8-9), VNVDEVGGEALGR (9-10), VVAGVANALAHK (8-9)
HPP 40	15	24	LLVYPWTQR (4), VHLTPEEK (4)
HPP 40	16	17	EFTPPVQAAYQK (12-13, 19), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (12, 14, 19), GTFATLSELHCDK (12-13, 19), KVLGAFSDGLAHLNPK (12), LLGNLVCVLAHHFGK (11-12, 19), LLVYPWTQR (12, 19, 20), SAVTALWGK (12, 19), VHLTPEEK (19), VLGAFSDGLAHLNPK (11, 14, 19), VNVDEVGGEALGR (11-14, 18, 19), VVAGVANALAHK (12, 19, 20)
HPP 40	16	18	EFTPPVQAAYQK (8), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (8), GTFATLSELHCDK (7-8), LLVYPWTQR (8), VLGAFSDGLAHLNPK (8), VNVDEVGGEALGR (7), VVAGVANALAHK (11)
HPP 40	16	19	EFTPPVQAAYQK (7), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (7, 11), GTFATLSELHCDK (7), KVLGAFSDGLAHLNPK (7), LLGNLVCVLAHHFGK (7-8), LLVYPWTQR (7-8), SAVTALWGK (7), VLGAFSDGLAHLNPK (7), VNVDEVGGEALGR (7), VVAGVANALAHK (7)
HPP 40	16	20	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (7), VNVDEVGGEALGR (7)

10

20

30

40

【表 18】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 40	16	21	EFTPPVQAAYQK (7), GTFATLSELHCDK (7), LLVYPWTQR (8), VVAGVANALAHK (7)
HPP 40	17	17	EFTPPVQAAYQK (12), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (12-13), GTFATLSELHCDK (12), KVLGAFSDGLAHLNLIK (12), LLGNLVCVLAHHFGK (12), LLVYPWTQR (13), VNVDEVGGEALGR (10- 12), VVAGVANALAHK (12-13)
HPP 40	17	18	EFTPPVQAAYQK (7-8), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (7-8), GTFATLSELHCDK (8), LHVDPENFR (8), LLGNLVCVLAHHFGK (7-8), LLVYPWTQR (7-8), SAVTALWGK (8), VLGAFSDGLAHLNLIK (7-8), VNVDEVGGEALGR (7-8), VVAGVANALAHK (8)
HPP 40	17	19	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (8), SAVTALWGK/VNVDEVGGEALGR (8), VVAGVANALAHK (8)
HPP 40	17	20	EFTPPVQAAYQK (7), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (6-7, 9), GTFATLSELHCDK (8), LLGNLVCVLAHHFGK (7), LLVYPWTQR (7), SAVTALWGK (7-8), VHLTPEEK (7), VLGAFSDGLAHLNLIK (7), VNVDEVGGEALGR (7-8, 10)
HPP 40	17	21	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (7), GTFATLSELHCDK (7), LLVYPWTQR (7)
HPP 40	17	22	GTFATLSELHCDK (5)
HPP 40	17	23	VHLTPEEK (5)
HPP 40	17	24	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (4), LLVYPWTQR (3), VLGAFSDGLAHLNLIK (4), VVAGVANALAHK (3)
HPP 40	17	26	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (3)
HPP 40	18	17	EFTPPVQAAYQK (11), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (11), LLVYPWTQR (10-11), VNVDEVGGEALGR (10, 12)
HPP 40	18	18	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (7-8), GTFATLSELHCDK (8), LLGNLVCVLAHHFGK (7-8), LLVYPWTQR (7-8), VLGAFSDGLAHLNLIK (7-8), VVAGVANALAHK (7-8)
HPP 40	18	19	EFTPPVQAAYQK (8), FFESFGDLSTPDAVMGNPK (8), GTFATLSELHCDK (8), LHVDPENFR (8), LLVYPWTQR (8), VLGAFSDGLAHLNLIK (8), VNVDEVGGEALGR (8)
HPP 40	18	20	VVAGVANALAHK (6)
HPP 40	18	22	LLGNLVCVLAHHFGK (5), LLVYPWTQR (5), VNVDEVGGEALGR (5), VVAGVANALAHK (5)
HPP 40	18	23	FFESFGDLSTPDAVMGNPK (5), VLGAFSDGLAHLNLIK (5), VNVDEVGGEALGR (5)

10

20

30

40

【表 19】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 40	18	24	GTFATLSELHCDK (3), VNVDEVGGEALGR (3-4)
HPP 40	18	26	LLVVYPWTQR (4)
HPP 40	18	29	LLVVYPWTQR (4), VNVDEVGGEALGR (4), VVAGVANALAHK (4)
HPP 40	18	30	LLVVYPWTQR (4), VNVDEVGGEALGR (4)
HPP 41	1	5	AATVGSLAGQPLQER (18)
HPP 41	8	22	WELALGR (8), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (8)
HPP 41	9	18	AATVGSLAGQPLQER (10), LGPLVEQGR (10), LKSWFEPLVEDMQR (10), SWFEPLVEDMQR (11)
HPP 41	9	19	AATVGSLAGQPLQER (8, 12), AKLEEQAQQIR (10-13), LEEQAQQIR (10-13), LGPLVEQGR (10-11), LQAEAFQAR (8, 13), QWAGLVEK (12), SWFEPLVEDMQR (10-13), VQAAVGTSAAPVPSDNH (8-13)
HPP 41	9	20	KVEQAVETEPEPELR (16), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (9, 11, 15, 16)
HPP 41	9	21	AKLEEQAQQIR (8-9), LEEQAQQIR (8-9), LGPLVEQGR (7-9), LKSWFEPLVEDMQR (9), LQAEAFQAR (8), QWAGLVEK (8), SWFEPLVEDMQR (8-9), VQAAVGTSAAPVPSDNH (7-8), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (9)
HPP 41	9	22	AATVGSLAGQPLQER (6), AKLEEQAQQIR (6), LKSWFEPLVEDMQR (7), LQAEAFQAR (5-6), QWAGLVEK (7), VQAAVGTSAAPVPSDNH (6-7)
HPP 41	10	17	AKLEEQAQQIR (10-11), LGPLVEQGR (10-11), VQAAVGTSAAPVPSDNH (10-11)
HPP 41	10	19	WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (12)
HPP 41	10	20	AATVGSLAGQPLQER (7-8), AKLEEQAQQIR (7-9), LAVYQAGAR (7), LEEQAQQIR (7), LGPLVEQGR (6-8), LGPLVEQGRVR (7), LQAEAFQAR (6-8), QWAGLVEK (7-9), SWFEPLVEDMQR (8-9), VQAAVGTSAAPVPSDNH (6-8), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (9)
HPP 41	10	21	AATVGSLAGQPLQER (7-9), AKLEEQAQQIR (9), LDEVKEQVAEVR (9), LEEQAQQIR (9), LGPLVEQGR (8-9), LQAEAFQAR (8-9), QWAGLVEK (8, 10), SWFEPLVEDMQR (8-10), VQAAVGTSAAPVPSDNH (7-8, 10), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (13)
HPP 41	10	22	KVEQAVETEPEPELR (9, 11), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (8-11)
HPP 41	11	15	AKLEEQAQQIR (16)
HPP 41	11	19	AATVGSLAGQPLQER (8-11), AKLEEQAQQIR (8, 10), LEEQAQQIR (7, 11), LGPLVEQGR (8-10), LQAEAFQAR (8, 12), SWFEPLVEDMQR (10-11), VQAAVGTSAAPVPSDNH (7-9, 11), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (13)

10

20

30

40

【表 2 0】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 41	11	20	AATVGSLAGQPLQER (7-10), AKLEEQAQQIR (7, 9, 10), LAVYQAGAR (9), LGPLVEQGR (8-10), LQAEAFQAR (8-11), QWAGLVEK (8-11), SWFEPLVEDMQR (8-11), VQAAVGTSAAPVPSDNH (8-9)
HPP 41	11	21	AATVGSLAGQPLQER (9-11), AKLEEQAQQIR (10-11), LEEQAQQIR (11), LGPLVEQGR (11), LQAEAFQAR (9-11), SWFEPLVEDMQR (10-11), VQAAVGTSAAPVPSDNH (9-11), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (12-16)
HPP 41	11	22	AKLEEQAQQIR (7), AQAWGER (7), KVEQAVETEPEPELR (12), LEEQAQQIR (7), LQAEAFQAR (7-8), SWFEPLVEDMQR (7), VQAAVGTSAAPVPSDNH (8), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (12)
HPP 41	11	23	LEEQAQQIR (7), LGPLVEQGR (7), LQAEAFQAR (6-8), SWFEPLVEDMQR (6, 8)
HPP 41	12	20	AATVGSLAGQPLQER (6-8), AKLEEQAQQIR (7), LAVYQAGAR (8), LGPLVEQGR (6-8), LKSWFEPLVEDMQR (8), LQAEAFQAR (8, 10), QWAGLVEK (7-8, 10), SWFEPLVEDMQR (6-8), VQAAVGTSAAPVPSDNH (6-8), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (8-9)
HPP 41	12	21	AATVGSLAGQPLQER (6-8), AKLEEQAQQIR (6-7, 9), KVEQAVETEPEPELR (16), LAVYQAGAR (7-8), LGPLVEQGR (6-8), LQAEAFQAR (6-7, 9), QWAGLVEK (7-8), SWFEPLVEDMQR (7-9), VQAAVGTSAAPVPSDNH (6- 7), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (14-16)
HPP 41	12	22	AKLEEQAQQIR (6), VQAAVGTSAAPVPSDNH (5-6)
HPP 41	13	19	LAVYQAGAR (9)
HPP 41	13	20	AATVGSLAGQPLQER (8), AKLEEQAQQIR (8-9), LAVYQAGAR (8), LGPLVEQGR (6-9), LQAEAFQAR (6, 8), QWAGLVEK (8), SWFEPLVEDMQR (8-9), VQAAVGTSAAPVPSDNH (8-9)
HPP 41	13	21	KVEQAVETEPEPELR (16), QWAGLVEK (8), SELEEQLTPVAEETR (11), SWFEPLVEDMQR (7-9), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (9-10, 12, 13)
HPP 41	13	22	AATVGSLAGQPLQER (7), AKLEEQAQQIR (7), LAVYQAGAR (7), LGPLVEQGR (7), LQAEAFQAR (6-7), QWAGLVEK (7-8), SWFEPLVEDMQR (7-8), VQAAVGTSAAPVPSDNH (8), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (10)
HPP 41	13	23	EQVAEVR (11), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (11-13)
HPP 41	14	19	LGPLVEQGR (13), LQAEAFQAR (13-14), VQAAVGTSAAPVPSDNH (13)
HPP 41	14	21	LEEQAQQIR (9), LGPLVEQGR (9)
HPP 41	14	22	LEEQAQQIR (7), LGPLVEQGR (7)
HPP 41	14	23	WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (12)

10

20

30

40

【表 2 1】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 41	17	20	AATVGSLAGQPLQER (11-12), AKLEEQAQQIR (11-12), LQAEAFQAR (12)
HPP 41	17	21	AATVGSLAGQPLQER (11, 13, 14), AYKSELEEQLTPVAEETR (10), LAVYQAGAR (9-12, 14, 15), LGADMEDVCGR (13-14), LGPLVEQGR (9-11, 13, 14, 15), LQAEAFQAR (9-10, 12, 15), QWAGLVEK (9), SELEEQLTPVAEETR (9-12), VQAAVGTSAAPVPSDNH (9-11, 14, 15), WELALGR (10-11), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (9)
HPP 41	17	22	AATVGSLAGQPLQER (7-8, 10, 12, 13), AKLEEQAQQIR (8, 10), AYKSELEEQLTPVAEETR (8, 11), GEVQAMLGQSTEELR (7, 10), KVEQAVETEPEPELR (9), LAVYQAGAR (8-9, 11), LGADMEDVCGR (7, 9, 10, 11), LGPLVEQGR (8-9, 11, 12), LKSWFEPLVEDMQR (8), LQAEAFQAR (6, 9), QWAGLVEK (9-10), SELEEQLTPVAEETR (9), SWFEPLVEDMQR (9- 10), VQAAVGTSAAPVPSDNH (7-8, 10, 11), WELALGR (7, 9), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (7-10)
HPP 41	17	23	AATVGSLAGQPLQER (7-8, 10, 11, 12, 13), AKLEEQAQQIR (9-12), AYKSELEEQLTPVAEETR (9-12), FWDYLR (8), GEVQAMLGQSTEELR (7- 11), KVEQAVETEPEPELR (7-11), LAVYQAGAR (8-10), LEEQAQQIR (8-9), LGADMEDVCGR (7-11), LGPLVEQGR (8-10), LQAEAFQAR (9-10), QWAGLVEK (8), SELEEQLTPVAEETR (7-12), SWFEPLVEDMQR (9-11), VQAAVGTSAAPVPSDNH (8-10, 12), WELALGR (8-10), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (7-11)
HPP 41	17	24	AATVGSLAGQPLQER (6-7), AKLEEQAQQIR (7-8), GEVQAMLGQSTEELR (8), KVEQAVETEPEPELR (7), LAVYQAGAR (6-7), LGADMEDVCGR (7-8), LGPLVEQGR (6-8), LQAEAFQAR (6), QWAGLVEK (6), SELEEQLTPVAEETR (6-8), SWFEPLVEDMQR (6-7), WELALGR (7), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (5-7)
HPP 41	17	25	AATVGSLAGQPLQER (7-8), AATVGSLAGQPLQERAQAWGER (8), AKLEEQAQQIR (7), AQAWGERLR (8), GEVQAMLGQSTEELR (7), GLSAIRER (8), KVEQAVETEPEPELR (7), LAVYQAGAR (7-8), LDEVKEQVAEVR (8), LGADMEDVCGR (6-7), LGPLVEQGR (7-8), LQAEAFQAR (6-8), QQTEWQSGQR (7), QWAGLVEK (7-8), SELEEQLTPVAEETR (6-7), SWFEPLVEDMQR (7), VQAAVGTSAAPVPSDNH (7-8), WELALGR (6-8), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (7)

10

20

30

40

【表 2 2】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 41	17	26	AATVGSLAGQPLQER (5, 8, 9), FWDYLR (8), LAVYQAGAR (5, 7), LGPLVEQGR (5), SELEEQLTPVAEETR (7-8), SWFEPLVEDMQR (7-9), VQAAVGTSAAPVPSDNH (7-9), WELALGR (7-8), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (6-8, 10)
HPP 41	17	27	AATVGSLAGQPLQER (7-9), AKLEEQAQQIR (8), KVEQAVETEPEPELR (8), LGPLVEQGR (8-9), LQAEAFQAR (7-8), SELEEQLTPVAEETR (6, 8), VQAAVGTSAAPVPSDNH (8)
HPP 41	17	28	AATVGSLAGQPLQER (7-8), KVEQAVETEPEPELR (7), LAVYQAGAR (7), LGPLVEQGR (7-8), SELEEQLTPVAEETR (7-8), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (8)
HPP 41	17	29	AKLEEQAQQIR (7), LAVYQAGAR (7), LGPLVEQGR (7), LQAEAFQAR (7), SELEEQLTPVAEETR (8)
HPP 41	18	21	AATVGSLAGQPLQER (10-11), AKLEEQAQQIR (9), GEVQAMLGQSTEELR (9), KVEQAVETEPEPELR (11), LGPLVEQGR (9), LQAEAFQAR (9, 12), SELEEQLTPVAEETR (11), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (8-9)
HPP 41	18	22	AATVGSLAGQPLQER (9), AKLEEQAQQIR (8, 10), ALMDETMKELK (8), AYKSELEEQLTPVAEETR (8), GEVQAMLGQSTEELR (7), LAVYQAGAR (8- 10), LEEQAQQIR (9), LGADMEDVCGR (9-10), LGPLVEQGR (8-11), LQAEAFQAR (8-11), SELEEQLTPVAEETR (8-10), SWFEPLVEDMQR (9), VQAAVGTSAAPVPSDNH (8-9), WELALGR (8-10), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (7-9)
HPP 41	18	23	AATVGSLAGQPLQER (9, 11), AKLEEQAQQIR (8, 10), GEVQAMLGQSTEELR (8-10), LAVYQAGAR (8, 10), LGPLVEQGR (9, 11), LQAEAFQAR (8), QWAGLVEK (8-10), SELEEQLTPVAEETR (8, 10), SWFEPLVEDMQR (9), VQAAVGTSAAPVPSDNH (7-10), WELALGR (9-10), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (7-9)
HPP 41	18	24	AATVGSLAGQPLQER (8), AKLEEQAQQIR (6-7), GEVQAMLGQSTEELR (7), KVEQAVETEPEPELR (6-7), LAVYQAGAR (7-8), LEEQAQQIR (8), LGADMEDVCGR (7-8), LGPLVEQGR (7-8), LQAEAFQAR (8), QWAGLVEK (7), SELEEQLTPVAEETR (6-8), SWFEPLVEDMQR (7), VQAAVGTSAAPVPSDNH (7), WELALGR (7), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (6-7)
HPP 41	18	25	AATVGSLAGQPLQER (6), AKLEEQAQQIR (7), FWDYLR (7), LAVYQAGAR (6-8), LGADMEDVCGR (7), LGPLVEQGR (5-8), QWAGLVEK (6-7), SELEEQLTPVAEETR (6-7), VQAAVGTSAAPVPSDNH (6-8), WELALGR (6- 8), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (7-8)

10

20

30

40

【表 2 3】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 41	18	26	AATVGSLAGQPLQER (9-10), AKLEEQAAQQIR (9), LGADMEDVCGR (8), LGPLVEQGR (8-9), LQAEAFQAR (7-8), QWAGLVEK (7-8), SELEEQLTPVAEETR (6-9), SWFEPLVEDMQR (7-8), VQAAVGTSAAPVPSDNH (9), WELALGR (8), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (6-9)
HPP 41	18	27	AATVGSLAGQPLQER (8-9), AYKSELEEQLTPVAEETR (8), KVEQAVETEPEPELR (9), LGPLVEQGR (8), LQAEAFQAR (8, 10), SELEEQLTPVAEETR (7-8), SWFEPLVEDMQR (8), VQAAVGTSAAPVPSDNH (8), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (7-8)
HPP 41	18	28	AATVGSLAGQPLQER (7-8), FWDYLR (7), LAVYQAGAR (8), LEEQAAQQIR (8), LGPLVEQGR (7), LKSWFEPLVEDMQR (7), LQAEAFQAR (8), QWAGLVEK (8), SELEEQLTPVAEETR (8), VQAAVGTSAAPVPSDNH (7-8), WELALGR (7), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (7-8)
HPP 41	18	29	AATVGSLAGQPLQER (6-10), AKLEEQAAQQIR (6-9), LAVYQAGAR (7), LGADMEDVCGR (7-8), LGPLVEQGR (6-8), LQAEAFQAR (6-8), SELEEQLTPVAEETR (6, 9), SWFEPLVEDMQR (7-8), VQAAVGTSAAPVPSDNH (7-8), WELALGR (6-7), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (7-9)
HPP 41	18	30	AATVGSLAGQPLQER (7), ALMDETMKELK (7), AYKSELEEQLTPVAEETR (7-8), LAVYQAGAR (8), LGADMEDVCGR (7), LGPLVEQGR (7-8), LQAEAFQAR (6-9), LSKELQAAQAR (7), VQAAVGTSAAPVPSDNH (6), WVQTLSEQVQEELLSSQVTQELR (6)
HPP 42	1	11	VSFLSALEEYTK (13-17)
HPP 42	1	12	DEPPQSPWDR (11, 15, 16), DLATVYVDVLK (13), VSFLSALEEYTK (11-14)
HPP 42	1	13	DEPPQSPWDR (17-18), DYVSQFEGSALGK (21), VKDLATVYVDVLK (16- 17), VSFLSALEEYTK (9, 13, 16)
HPP 42	1	14	VSFLSALEEYTK (7)
HPP 42	1	15	DEPPQSPWDR (9), VSFLSALEEYTK (9)
HPP 42	1	16	DEPPQSPWDR (7-8), DLATVYVDVLK (7), DYVSQFEGSALGK (8), VKDLATVYVDVLK (7)
HPP 42	1	17	QGLLPVLESFK (16)
HPP 42	1	18	QGLLPVLESFK (12-13), VSFLSALEEYTK (12, 14)
HPP 42	1	19	QGLLPVLESFK (9)
HPP 42	2	6	DYVSQFEGSALGK (12)
HPP 42	2	7	DYVSQFEGSALGK (12)

10

20

30

40

【表 2 4】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 42	2	9	VSFLSALEEYTK (21)
HPP 42	2	10	VSFLSALEEYTK (13-16)
HPP 42	2	11	VSFLSALEEYTK (8, 10, 12, 14, 21)
HPP 42	2	12	QGLLPVLESFK (8)
HPP 42	2	15	DYVSQFEGSALGK (13, 17, 23), LLDNWDSVTSTFSK (19, 23), VSFLSALEEYTK (20)
HPP 42	2	16	LLDNWDSVTSTFSK (23), LREQLPVTQEFWDNLEK (23)
HPP 42	2	19	LLDNWDSVTSTFSK (10, 12)
HPP 42	2	20	DYVSQFEGSALGK (10)
HPP 42	3	12	VSFLSALEEYTK (7-10)
HPP 42	3	13	VSFLSALEEYTK (8-10)
HPP 42	3	17	DYVSQFEGSALGK (11), LLDNWDSVTSTFSK (11)
HPP 42	3	18	VSFLSALEEYTK (8)
HPP 42	3	19	VSFLSALEEYTK (8)
HPP 42	3	20	DYVSQFEGSALGK (9-10), LLDNWDSVTSTFSK (8)
HPP 42	3	21	DSGRDYVSQFEGSALGK (9), DYVSQFEGSALGK (7-10), EQLGPVTQEFWDNLEK (9-10), LLDNWDSVTSTFSK (8-10), VKDLATVYVDVLK (9)
HPP 42	3	22	DEPPQSPWDR (8), DLATVYVDVLK (8), DYVSQFEGSALGK (7-9), EQLGPVTQEFWDNLEK (8-9), LLDNWDSVTSTFSK (7-9), VKDLATVYVDVLK (8)
HPP 42	3	23	DYVSQFEGSALGK (7, 9), EQLGPVTQEFWDNLEK (9), LLDNWDSVTSTFSK (8-9), LREQLPVTQEFWDNLEK (9), VKDLATVYVDVLK (7, 9)
HPP 42	4	12	VSFLSALEEYTK (8-9)
HPP 42	4	13	VSFLSALEEYTK (9-10)
HPP 42	4	18	QGLLPVLESFK (8), VSFLSALEEYTK (8)
HPP 42	4	19	DYVSQFEGSALGK (13)
HPP 42	4	20	DYVSQFEGSALGK (9), LLDNWDSVTSTFSK (8)
HPP 42	4	21	DYVSQFEGSALGK (10, 12)
HPP 42	4	22	DLATVYVDVLK (10), DYVSQFEGSALGK (8-10), EQLGPVTQEFWDNLEK (9-10), LREQLPVTQEFWDNLEK (9-10), VKDLATVYVDVLK (10)
HPP 42	4	23	DEPPQSPWDR (9), DSGRDYVSQFEGSALGK (9), DYVSQFEGSALGK (8- 10), EQLGPVTQEFWDNLEK (8), LLDNWDSVTSTFSK (8-10), LREQLPVTQEFWDNLEK (8)

10

20

30

40

【表 2 5】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 42	5	13	VSFLSALEEYTK (9)
HPP 42	5	17	VSFLSALEEYTK (3, 5, 6)
HPP 42	5	20	DYVSQFEGSALGK (8)
HPP 42	5	21	DYVSQFEGSALGK (9-10)
HPP 42	5	22	DYVSQFEGSALGK (7-8)
HPP 42	5	23	DLATVYVDVVK (9), DYVSQFEGSALGK (7-9), EQLGPVTQEFWDNLEK (9), LLDNWDSVTSTFSK (9), QGLLPVLESFK (5), VSFLSALEEYTK (5)
HPP 42	5	24	QGLLPVLESFK (3)
HPP 42	5	25	EQLGPVTQEFWDNLEK (5), LLDNWDSVTSTFSK (5)
HPP 42	5	27	DSGRDYVSQFEGSALGK (4)
HPP 42	5	28	DEPPQSPWDR (7), DLATVYVDVVK (8), DYVSQFEGSALGK (7-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (8), LLDNWDSVTSTFSK (7), LREQLPVTQEFWDNLEK (7-8), VSFLSALEEYTK (7)
HPP 42	5	29	DYVSQFEGSALGK (7-8)
HPP 42	6	11	VSFLSALEEYTK (11-12)
HPP 42	6	12	VSFLSALEEYTK (9)
HPP 42	6	13	VSFLSALEEYTK (10)
HPP 42	6	17	VSFLSALEEYTK (9)
HPP 42	6	19	DYVSQFEGSALGK (10), VSFLSALEEYTK (8)
HPP 42	6	21	DLATVYVDVVK (9-11), DSGRDYVSQFEGSALGK (8, 12), DYVSQFEGSALGK (9, 11, 12)
HPP 42	6	22	DLATVYVDVVK (8-9), DSGRDYVSQFEGSALGK (10), DYVSQFEGSALGK (8-11), EQLGPVTQEFWDNLEK (10), LLDNWDSVTSTFSK (10), LREQLPVTQEFWDNLEK (10-11), VKDLATVYVDVVK (10), VQPYLDDFQK (8, 10), VSFLSALEEYTK (5)
HPP 42	6	23	DYVSQFEGSALGK (8), EQLGPVTQEFWDNLEK (8), LLDNWDSVTSTFSK (6, 8), LREQLPVTQEFWDNLEK (7-8), VSFLSALEEYTK (5, 7, 8, 9)
HPP 42	6	24	DLATVYVDVVK (7), DYVSQFEGSALGK (5, 7), LLDNWDSVTSTFSK (7), VKDLATVYVDVVK (7-8)
HPP 42	6	25	DYVSQFEGSALGK (6)
HPP 42	7	10	VSFLSALEEYTK (12)
HPP 42	7	11	VSFLSALEEYTK (12-13)
HPP 42	7	12	VSFLSALEEYTK (9)
HPP 42	7	17	VSFLSALEEYTK (11)
HPP 42	7	18	DYVSQFEGSALGK (9), LLDNWDSVTSTFSK (10)

10

20

30

40

【表 2 6】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 42	7	20	DYVSQFEGSALGK (8, 10), EQLGPVTQEFWDNLEK (8)
HPP 42	7	21	DYVSQFEGSALGK (8-10), LLDNWDSVTSTFSK (9), VSFLSALEEYTK (6)
HPP 42	7	22	DYVSQFEGSALGK (6-7, 9, 10), QLNLKLLDNWDSVTSTFSK (9), VSFLSALEEYTK (4-5)
HPP 42	7	23	DYVSQFEGSALGK (9-10, 12), LLDNWDSVTSTFSK (10, 12), LREQLGPVTQEFWDNLEK (12)
HPP 42	7	24	DYVSQFEGSALGK (7), LLDNWDSVTSTFSK (7)
HPP 42	8	13	VSFLSALEEYTK (7-9)
HPP 42	8	18	ATEHLSTLSEK (6), QGLLPVLESFK (6), VSFLSALEEYTK (5-6)
HPP 42	8	19	QGLLPVLESFK (9), VSFLSALEEYTK (9)
HPP 42	8	20	ATEHLSTLSEK (6), DYVSQFEGSALGK (7), QGLLPVLESFK (6-7), VSFLSALEEYTK (6-7)
HPP 42	8	21	DLATVYVDVLK (8), DSGRDYVSQFEGSALGK (8), DYVSQFEGSALGK (8-10), EQLGPVTQEFWDNLEK (7), LLDNWDSVTSTFSK (9)
HPP 42	8	22	DSGRDYVSQFEGSALGK (7-8), DYVSQFEGSALGK (6-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (6-8), LLDNWDSVTSTFSK (6-8), QGLLPVLESFK (6), VKDLATVYVDVLK (7), VSFLSALEEYTK (7), WQEEMELYR (6)
HPP 42	8	23	ATEHLSTLSEK (7), DEPPQSPWDR (7-9), DLATVYVDVLK (8), DSGRDYVSQFEGSALGK (7-10), DYVSQFEGSALGK (7, 9, 10, 11), LLDNWDSVTSTFSK (6-9), LREQLGPVTQEFWDNLEK (8), QGLLPVLESFK (6-8), THLAPYSDELRR (7), VKDLATVYVDVLK (8), VQPYLDDFQK (7-8, 10), VQPYLDDFQK (8), VSFLSALEEYTK (6-7), WQEEMELYR (7, 9)
HPP 42	8	24	DEPPQSPWDR (7), DLATVYVDVLK (7-8), DSGRDYVSQFEGSALGK (7), DYVSQFEGSALGK (7-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (5-8), LLDNWDSVTSTFSK (5-8), LREQLGPVTQEFWDNLEK (5-8), QGLLPVLESFK (5-6), VKDLATVYVDVLK (7), WQEEMELYR (6-7)
HPP 42	8	25	DYVSQFEGSALGK (7-8), LLDNWDSVTSTFSK (7)
HPP 42	9	11	VSFLSALEEYTK (12)
HPP 42	9	15	VSFLSALEEYTK (10)
HPP 42	9	16	AKPALEDLR (9), ATEHLSTLSEK (9-10), QGLLPVLESFK (9-10), VSFLSALEEYTK (9-10)
HPP 42	9	17	DYVSQFEGSALGK (14-15), LLDNWDSVTSTFSK (12)

10

20

30

40

【表 27】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 42	9	18	ATEHLSTLSEK (7), DLATVYVDVLK (9), DSGRDYVSQFEGSALGK (10), DYVSQFEGSALGK (8-10, 12, 13), EQLGPVTQEFWDNLEK (9, 11), LLDNWDSVTSTFSK (8-11), LREQLGPVTQEFWDNLEK (11-12), VSFLSALEEYTK (9, 11, 12)
HPP 42	9	19	DLATVYVDVLK (13), DYVSQFEGSALGK (11-14), EQLGPVTQEFWDNLEK (12-13), LLDNWDSVTSTFSK (13-14), LREQLGPVTQEFWDNLEK (12), QGLLPVLESFK (6, 12), VSFLSALEEYTK (6-7, 12)
HPP 42	9	20	DEPPQSPWDR (11, 13, 14, 15, 16), DLATVYVDVLK (7, 11, 12, 14), DYVSQFEGSALGK (7-10, 12, 13, 15, 16, 17), EQLGPVTQEFWDNLEK (7-8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16), EQLGPVTQEFWDNLEKETEGLR (13, 15, 16), ETEGLRQEMSK (14-15), LLDNWDSVTSTFSK (7-8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17), LREQLGPVTQEFWDNLEK (9-11, 13, 14, 15, 16, 17), VKDLATVYVDVLK (12-14, 16), VQPYLDDFQK (8, 13), VSFLSALEEYTK (11), WQEEMELYR (12-16)
HPP 42	9	21	DEPPQSPWDR (14), DLATVYVDVLK (8), DSGRDYVSQFEGSALGK (13- 15), DYVSQFEGSALGK (9-15), EQLGPVTQEFWDNLEK (7-8, 13, 14), ETEGLRQEMSK (14), LLDNWDSVTSTFSK (13-14), LREQLGPVTQEFWDNLEK (12-14), VQPYLDDFQK (8, 13, 14), VQPYLDDFQKK (14), WQEEMELYR (8, 14)
HPP 42	9	22	LLDNWDSVTSTFSK (8), VSFLSALEEYTK (8)
HPP 42	9	23	DEPPQSPWDR (8), DLATVYVDVLK (7-8), DLATVYVDVLKDSGR (8), DSGRDYVSQFEGSALGK (8), DYVSQFEGSALGK (7-10), EQLGPVTQEFWDNLEK (7-9), KWQEEMELYR (8), LLDNWDSVTSTFSK (7- 9), LREQLGPVTQEFWDNLEK (7-9), VKDLATVYVDVLK (8), VQPYLDDFQKK (8), WQEEMELYR (7, 9)
HPP 42	9	24	DYVSQFEGSALGK (7), EQLGPVTQEFWDNLEK (7), LLDNWDSVTSTFSK (7), LREQLGPVTQEFWDNLEK (7), WQEEMELYR (7)
HPP 42	10	17	VSFLSALEEYTK (8)
HPP 42	10	18	ATEHLSTLSEK (6-7), QGLLPVLESFK (6-7), VSFLSALEEYTK (6-7, 9)
HPP 42	10	19	DLATVYVDVLK (9-10), DYVSQFEGSALGK (8-10, 13), EQLGPVTQEFWDNLEK (8-10), LLDNWDSVTSTFSK (9, 11), LREQLGPVTQEFWDNLEK (10), QGLLPVLESFK (10-11, 13), VKDLATVYVDVLK (10-11), VSFLSALEEYTK (8-11, 13)

10

20

30

40

【表 28】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 42	10	20	DLATVYVDVLK (8), DYVSQFEGSALGK (7-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (8), LLDNWDSVTSTFSK (8-9), LREQLGPTQEFWDNLEK (8), QGLLPVLESFK (7-9), VKDLATVYVDVLK (9), VQPYLDDFQK (8), VSFLSALEEYTK (8-9), WQEEMELYR (8)
HPP 42	10	21	DYVSQFEGSALGK (10), LLDNWDSVTSTFSK (9-10), LREQLGPTQEFWDNLEK (9), QGLLPVLESFK (9-10), VKDLATVYVDVLK (10), VSFLSALEEYTK (8-9)
HPP 42	10	22	DLATVYVDVLK (8-9), DYVSQFEGSALGK (6-8, 10, 11), EQLGPVTQEFWDNLEK (7-10), LLDNWDSVTSTFSK (6-11), LREQLGPTQEFWDNLEK (7-9, 11), QGLLPVLESFK (7, 9), QKVEPLR (7), THLAPYSDEL R (7), VKDLATVYVDVLK (7, 9, 10), VQPYLDDFQK (7), VSFLSALEEYTK (7-8), WQEEMELYR (8, 10)
HPP 42	10	23	DLATVYVDVLK (11), EQLGPVTQEFWDNLEK (10-11), LLDNWDSVTSTFSK (10-11), LREQLGPTQEFWDNLEK (10), VKDLATVYVDVLK (10-11), VQPYLDDFQK (8, 10)
HPP 42	11	17	ATEHLSTLSEK (9), LEALKENGGAR (8-9), QGLLPVLESFK (8-9), THLAPYSDEL R (9), VSFLSALEEYTK (8-10)
HPP 42	11	18	DLATVYVDVLK (9, 11), DYVSQFEGSALGK (9-11), EQLGPVTQEFWDNLEK (9), LLDNWDSVTSTFSK (8-10), LSPLGEEMR (11), QGLLPVLESFK (7-9, 11, 12), VKDLATVYVDVLK (8, 11, 12), VQPYLDDFQK (11), VSFLSALEEYTK (7-11)
HPP 42	11	19	DEPPQSPWDR (13), DSGRDYVSQFEGSALGK (12-13), DYVSQFEGSALGK (9-14), EQLGPVTQEFWDNLEK (9-11, 13), EQLGPVTQEFWDNLEKETEGLR (10), LLDNWDSVTSTFSK (9-13), LREQLGPTQEFWDNLEK (9-11, 13, 14), QGLLPVLESFK (7, 10, 11, 12, 13, 14, 15), QGLLPVLESFKVSFLSALEEYTK (12), VKDLATVYVDVLK (10-11, 13), VQPYLDDFQK (9, 11), VSFLSALEEYTK (7-10, 12, 13), WQEEMELYR (14)
HPP 42	11	20	DYVSQFEGSALGK (10), LLDNWDSVTSTFSK (10-11), LREQLGPTQEFWDNLEK (9), QGLLPVLESFK (6, 8, 9, 10, 11), VQPYLDDFQK (10), VSFLSALEEYTK (6, 9, 10)
HPP 42	11	21	DYVSQFEGSALGK (10, 12, 13, 14, 15), EQLGPVTQEFWDNLEK (8-10, 12, 14), LLDNWDSVTSTFSK (8, 10, 12, 13, 14, 15), LREQLGPTQEFWDNLEK (8-10, 12, 14), QGLLPVLESFK (8-11, 13, 15), VKDLATVYVDVLK (9-13), VQPYLDDFQK (11), VSFLSALEEYTK (6-7, 10, 11, 12, 13, 14), WQEEMELYR (11)

10

20

30

40

【表 2 9】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 42	11	22	DEPPQSPWDR (9, 22), DLATVYVDVLK (10-12), DLEEVK (11-12), DYVSQFEGSALGK (9, 12), EQLGPVTQEFWDNLEK (8-10), EQLGPVTQEFWDNLEKETEGLR (9), LLDNWDSVTSTFSK (10-12), LREQLGPVTQEFWDNLEK (8-9, 11, 12), QGLLPVLESFK (8), VKDLATVYVDVLK (10-11, 13), VQPYLDDFQK (11-12), VSFLSALEEYTK (8), WQEEMELYR (9)
HPP 42	11	23	DYVSQFEGSALGK (8), LLDNWDSVTSTFSK (8)
HPP 42	11	24	DYVSQFEGSALGK (7), EQLGPVTQEFWDNLEK (8), LLDNWDSVTSTFSK (7-8)
HPP 42	12	17	QGLLPVLESFK (8)
HPP 42	12	18	QGLLPVLESFK (7)
HPP 42	12	19	DLATVYVDVLK (13-14), DSGRDYVSQFEGSALGK (9), DYVSQFEGSALGK (12), LLDNWDSVTSTFSK (9-13), LREQLGPVTQEFWDNLEK (14), QGLLPVLESFK (15), VSFLSALEEYTK (7, 9, 11, 13, 15, 17)
HPP 42	12	20	DSGRDYVSQFEGSALGK (8), DYVSQFEGSALGK (7), LLDNWDSVTSTFSK (7), LREQLGPVTQEFWDNLEK (8), QGLLPVLESFK (7, 10), QGLLPVLESFKVSFLSALEEYTK (8), VSFLSALEEYTK (6-8, 10)
HPP 42	12	21	ATEHLSTLSEK (10), DEPPQSPWDR (13), DLATVYVDVLK (9-10), DLATVYVDVLKDSGR (11), DSGRDYVSQFEGSALGK (11-12), DYVSQFEGSALGK (8, 10, 11, 12, 13, 15), EQLGPVTQEFWDNLEK (9-10, 13, 14), KWQEEMELYR (11), LLDNWDSVTSTFSK (8-13), LREQLGPVTQEFWDNLEK (8-15), LSPLGEEMR (13), QGLLPVLESFK (8, 10, 12, 13, 14), THLAPYSDELK (10), VKDLATVYVDVLK (8-13, 15), VQPYLDDFQK (8-9, 13, 14), VQPYLDDFQKK (11-12), VSFLSALEEYTK (7- 10, 13, 16), WQEEMELYR (11-13)
HPP 42	12	22	DLATVYVDVLK (8), DYVSQFEGSALGK (7, 9), QGLLPVLESFK (8), VKDLATVYVDVLK (7), VSFLSALEEYTK (8)
HPP 42	12	23	EQLGPVTQEFWDNLEK (8), LLDNWDSVTSTFSK (9), LREQLGPVTQEFWDNLEK (8)
HPP 42	13	16	VSFLSALEEYTK (8)
HPP 42	13	18	DLATVYVDVLK (9), DYVSQFEGSALGK (11), EQLGPVTQEFWDNLEK (9), QGLLPVLESFK (7, 12), VKDLATVYVDVLK (8), VQPYLDDFQK (11), VSFLSALEEYTK (7, 9, 10, 11, 12)

10

20

30

40

【表 3 0】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 42	13	19	ATEHLSTLSEK (9, 13), DEPPQSPWDR (8), DLATVYVDVLK (9), DSGRDYVSQFEGSALGK (10), DYVSQFEGSALGK (9, 13), EQLGPVTQEFWDNLEK (9, 12), LLDNWDSVTSTFSK (9-10), LREQLGPVTQEFWDNLEK (10), QGLLPVLESFK (9, 11), VKDLATVYVDVLK (8, 10), VQPYLDDFQKK (8, 10), VSFLSALEEYTK (8-9, 11, 12, 13)
HPP 42	13	20	DLATVYVDVLK (8), DYVSQFEGSALGK (8-9), EQLGPVTQEFWDNLEK (8), LLDNWDSVTSTFSK (7-9), LREQLGPVTQEFWDNLEK (8-9), QGLLPVLESFK (7-9), VQPYLDDFQK (8), VSFLSALEEYTK (7-8)
HPP 42	13	21	ATEHLSTLSEK (10), DEPPQSPWDR (8-10), DSGRDYVSQFEGSALGK (8- 9), DYVSQFEGSALGK (7-12, 14), EQLGPVTQEFWDNLEK (8, 10, 11, 13), LLDNWDSVTSTFSK (8-10, 14), LREQLGPVTQEFWDNLEK (10, 13), LSPLGEEMR (13), QGLLPVLESFK (9-10, 13), QKLHELQEK (13), THLAPYSDELRL (10), VEPLRAELQEGAR (13), VKDLATVYVDVLK (8, 10, 13), VQPYLDDFQK (7, 10), VQPYLDDFQKK (9), VSFLSALEEYTK (8-10, 13, 14, 15), WQEEMELYR (8, 10, 13)
HPP 42	13	22	DEPPQSPWDR (7, 9), DLATVYVDVLK (9), DYVSQFEGSALGK (7-10, 12), EQLGPVTQEFWDNLEK (8-9), EQLGPVTQEFWDNLEKETEGLR (8), LLDNWDSVTSTFSK (7-8), LREQLGPVTQEFWDNLEK (8, 10), LSPLGEEMR (8), QGLLPVLESFK (9), VKDLATVYVDVLK (7-10), VQPYLDDFQK (9-10), VSFLSALEEYTK (7-9), WQEEMELYR (7-10)
HPP 42	13	23	DLATVYVDVLK (8-10), DYVSQFEGSALGK (9-10), EQLGPVTQEFWDNLEK (8, 10), LLDNWDSVTSTFSK (7, 9, 12), LREQLGPVTQEFWDNLEK (8), QGLLPVLESFK (8-9), VKDLATVYVDVLK (7), VQPYLDDFQK (8), VSFLSALEEYTK (7-9), WQEEMELYR (8-9)
HPP 42	13	24	DYVSQFEGSALGK (7-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (8), LLDNWDSVTSTFSK (8), VQPYLDDFQK (7)
HPP 42	14	15	VSFLSALEEYTK (10-11)
HPP 42	14	16	QGLLPVLESFK (9), VSFLSALEEYTK (14)
HPP 42	14	17	AKPALEDLR (15, 18), ATEHLSTLSEK (15-21), DEPPQSPWDR (15, 18), DLATVYVDVLK (15, 17), DSGRDYVSQFEGSALGK (16, 18, 21), DYVSQFEGSALGK (15-18, 20), EQLGPVTQEFWDNLEK (14, 17, 18, 19, 20), LLDNWDSVTSTFSK (16-19), LREQLGPVTQEFWDNLEK (14-15, 17, 18, 19, 20), LSPLGEEMR (18, 20, 21), QGLLPVLESFK (14, 16, 17, 18), THLAPYSDELRL (17-20), VKDLATVYVDVLK (17), VQPYLDDFQK (20), VSFLSALEEYTK (15-21), WQEEMELYR (17, 19)

10

20

30

40

【表 3 1】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 42	14	18	AKPALEDLR (9, 12, 13), ATEHLSTLSEK (9-15), DEPPQSPWDR (10-12), DLATVYVDVVK (10-14), DSGRDYVSQFEGSALGK (14-15), DYVSQFEGSALGK (10-13, 15, 16), EQLGPVTQEFWDNLEK (8-16), EQLGPVTQEFWDNLEKETEGRL (9), KWQEEMELYR (11), LEALKENGGAR (15), LLDNWDSVTSTFSK (9-16), LREQLGPVTQEFWDNLEK (10-15), LSPLGEEMR (10-12, 15), QGLLPVLESFK (8-16, 19), THLAPYSDELRL (11- 14, 16), VEPLRAELQEGAR (15), VKDLATVYVDVVK (9, 11, 12, 13, 14, 15), VQPYLDDFQK (11-13, 15), VQPYLDDFQKK (15), VSFLSALEEYTK (8-9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 19), WQEEMELYR (11-16)
HPP 42	14	19	AKPALEDLR (11, 14, 15, 17), ATEHLSTLSEK (13-18), DEPPQSPWDR (13- 14, 16, 17, 18), DLATVYVDVVK (14-18), DSGRDYVSQFEGSALGK (13, 15), DYVSQFEGSALGK (10, 12, 15, 16, 17, 18, 19), EQLGPVTQEFWDNLEK (14, 16, 17, 18, 19), LEALKENGGAR (15), LLDNWDSVTSTFSK (11, 15, 16, 17, 18), LREQLGPVTQEFWDNLEK (11, 15, 16, 18), LSPLGEEMR (11-17), QGLLPVLESFK (9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21), THLAPYSDELRL (13- 16, 18), VKDLATVYVDVVK (14-18), VQPYLDDFQK (12-14, 16, 17, 18, 19), VQPYLDDFQKK (16), VSFLSALEEYTK (9-11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21), WQEEMELYR (14-18)
HPP 42	14	20	AHVDALR (10, 12), AKPALEDLR (11, 13), ATEHLSTLSEK (10-16), DEPPQSPWDR (10, 12), DLATVYVDVVK (8, 10, 12), DSGRDYVSQFEGSALGK (13-15), DYVSQFEGSALGK (8-15), EQLGPVTQEFWDNLEK (8, 10, 11, 13, 14), EQLGPVTQEFWDNLEKETEGRL (14), KWQEEMELYR (12-13), LEALKENGGAR (10, 16), LLDNWDSVTSTFSK (9-15), LREQLGPVTQEFWDNLEK (9-12, 14, 15, 16), LSPLGEEMR (10-17), QGLLPVLESFK (9-13, 15, 16, 17), QKLHELQEK (14, 16), THLAPYSDELRL (10, 12, 13, 15, 16), VKDLATVYVDVVK (10-11, 13, 14, 15), VQPYLDDFQK (9, 11, 12, 15, 16), VQPYLDDFQKK (14), VSFLSALEEYTK (8-14, 17), WQEEMELYR (12-13, 16)
HPP 42	14	21	DLATVYVDVVK (8), DYVSQFEGSALGK (8, 11, 12, 13, 14, 16), EQLGPVTQEFWDNLEK (8, 10, 11, 12), LLDNWDSVTSTFSK (8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16), LREQLGPVTQEFWDNLEK (10-12, 16), QGLLPVLESFK (8, 11, 13, 15), THLAPYSDELRL (13), VQPYLDDFQK (13), VSFLSALEEYTK (8, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17)

10

20

30

40

【表 3 2】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 42	14	22	AKPALEDLR (7), DEPPQSPWDR (8), DLATVYVDVLK (7-8), DYVSQFEGSALGK (7-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (7-9), LLDNWDSVTSTFSK (7-9), LREQLGPVTQEFWDNLEK (7, 9), LSPLGEEMR (7), QGLLPVLESFK (7-11), THLAPYSDLR (7-8), VSFLSALEEYTK (7-12), WQEEMELYR (8)
HPP 42	14	23	ATEHLSTLSEK (8), DLATVYVDVLK (8-9), DYVSQFEGSALGK (7-8, 11, 12), EQLGPVTQEFWDNLEK (8-9, 11, 12), LLDNWDSVTSTFSK (8-11), LREQLGPVTQEFWDNLEK (8-9, 12), LSPLGEEMR (8), QGLLPVLESFK (6- 9, 11), THLAPYSDLR (8), VKDLATVYVDVLK (9), VQPYLDDFQK (9), VSFLSALEEYTK (7-11), WQEEMELYR (8-9)
HPP 42	14	24	DLATVYVDVLK (7), DYVSQFEGSALGK (6-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (6, 8), LLDNWDSVTSTFSK (6-8), LREQLGPVTQEFWDNLEK (6), QGLLPVLESFK (5, 7), VSFLSALEEYTK (6-8), WQEEMELYR (6-7)
HPP 42	14	25	AHVDALR (7), DLATVYVDVLK (6-7), DYVSQFEGSALGK (6-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (6-8), LHELQEK (7), LLDNWDSVTSTFSK (6-8), LREQLGPVTQEFWDNLEK (6), QGLLPVLESFK (6-8), VSFLSALEEYTK (6- 8), WQEEMELYR (7)
HPP 42	14	26	ATEHLSTLSEK (6), DYVSQFEGSALGK (6), LLDNWDSVTSTFSK (6), VSFLSALEEYTK (6)
HPP 42	14	27	EQLGPVTQEFWDNLEK (6), QGLLPVLESFK (6), VSFLSALEEYTK (5-7)
HPP 42	14	28	VSFLSALEEYTK (7)
HPP 42	15	9	DLATVYVDVLK (8)
HPP 42	15	15	AHVDALR (12), AKPALEDLR (11), ATEHLSTLSEK (11-12), LEALKENGGAR (12-13), QGLLPVLESFK (10-12, 16, 18, 19), VSFLSALEEYTK (10-12, 14, 15, 17, 19)
HPP 42	15	16	ATEHLSTLSEK (8, 16, 17), DYVSQFEGSALGK (13-14, 16), EQLGPVTQEFWDNLEK (12, 14, 15, 16), LLDNWDSVTSTFSK (12-14, 16), LREQLGPVTQEFWDNLEK (12, 14, 15), LSPLGEEMR (16), QGLLPVLESFK (9, 14), VSFLSALEEYTK (8-10, 12, 13, 14, 17), WQEEMELYR (13, 15)

10

20

30

40

【表 3 3】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 42	15	17	AKPALEDLR (8-9), ATEHLSTLSEK (8-9, 11, 12, 13), DEPPQSPWDR (9, 12), DLATVYVDVLK (8-9, 11), DSGRDYVSQFEGSALGK (8), DYVSQFEGSALGK (8-11, 13), EQLGPVTQEFWDNLEK (8-12), KWQEEMELYSR (9), LEALKENGGAR (10), LLDNWDSVTSTFSK (8-11), LREQLGPVTQEFWDNLEK (11), LSPLGEEMR (8-11), QGLLPVLESFK (7-12), THLAPYSDEL (8-9, 11, 12), VKDLATVYVDVLK (8-12), VQPYLDDFQK (8, 10, 11), VSFLSALEEYTK (7-12), WQEEMELYSR (8, 11)
HPP 42	15	18	AHVDALR (9-11), AKPALEDLR (9, 12), AKVQPYLDDFQK (8), ATEHLSTLSEK (7-13), DEPPQSPWDR (8-9, 11), DLATVYVDVLK (9), DSGRDYVSQFEGSALGK (9, 11, 12), DYVSQFEGSALGK (7-13), EQLGPVTQEFWDNLEK (10), LEALKENGGAR (8-9, 12), LHELQEK (10), LLDNWDSVTSTFSK (7-10, 12), LSPLGEEMR (7, 10, 11, 13), QGLLPVLESFK (7-10), QGLLPVLESFKVSFLSALEEYTK (9), QKLHELQEK (8-9, 12), THLAPYSDEL (8-10, 13), THLAPYSDELRR (8-9), VEPLRAELQEGAR (9), VKDLATVYVDVLK (7, 10, 11, 12), VQPYLDDFQK (9-13), VQPYLDDFQKK (8-9), VSFLSALEEYTK (6-11), VSFLSALEEYTKK (9), WQEEMELYSR (8-9, 11)
HPP 42	15	19	AHVDALR (11, 17), AHVDALRTHLAPYSDEL (14), AKPALEDLR (10-12, 17), AKPALEDLRQGLLPVLESFK (13), ATEHLSTLSEK (9-13, 16, 17, 18, 19, 20, 21), DEPPQSPWDR (11-14, 16, 18), DEPPQSPWDRVK (13), DLATVYVDVLK (11-12, 14, 16, 17), DSGRDYVSQFEGSALGK (14-15), DYVSQFEGSALGK (10-16, 18, 21, 22), EQLGPVTQEFWDNLEK (9, 11, 12, 16, 17, 18), EQLGPVTQEFWDNLEKETEGLR (10, 12, 17, 18), KWQEEMELYSR (13-14, 16), LEALKENGGAR (12-15, 17, 18, 20), LHELQEK (11, 16, 17, 18), LLDNWDSVTSTFSK (9-19), LREQLGPVTQEFWDNLEK (12-15, 17, 18), LSPLGEEMR (10-11, 16, 17, 18, 20), QGLLPVLESFK (7, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18), QGLLPVLESFKVSFLSALEEYTK (12-15), QKLHELQEK (12, 15, 18), THLAPYSDEL (10-11, 14, 15, 16, 18, 19, 20), THLAPYSDELRR (13-15), VEPLRAELQEGAR (10, 15, 18), VKDLATVYVDVLK (10-19), VQPYLDDFQK (10-11, 13, 14, 16, 17, 18), VQPYLDDFQKK (10, 12, 13, 15, 17, 18, 20), VSFLSALEEYTK (7-8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22), VSFLSALEEYTKK (14-15), WQEEMELYSR (10-14, 16, 17, 18, 19)

10

20

30

40

【表 3 4】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 42	15	20	AHVDALR (7-9, 14), AKPALEDLR (7, 9, 10, 11), ATEHLSTLSEK (7-12, 14), DEPPQSPWDR (8-10, 12), DLATVYVDVLK (7-9, 11, 12), DSGRDYVSQFEGSALGK (11-12, 14), DYVSQFEGSALGK (7-12), EQLGPVTQEFWDNLEK (7-12), EQLGPVTQEFWDNLEKETEGLR (10-11), KWQEEMELYR (10-11), LEALKENGGAR (11), LHELQEK (7-8, 10, 11, 12, 14), LLDNWDSVTSTFSK (7-12, 14), LREQLGPVTQEFWDNLEK (7, 9, 10, 11, 12, 14), LSPLGEEMR (7-12, 14), QGLLPVLESFK (7-11, 14), QLNLKLLDNWDSVTSTFSK (11-12), THLAPYSDEL R (7-10), VKDLATVYVDVLK (9-11, 14), VQPYLDDFQK (8-11), VQPYLDDFQKK (10- 11), VSFLSALEEYTK (7-12, 14), WQEEMELYR (7-12)
HPP 42	15	21	ATEHLSTLSEK (9, 11, 12, 13), DEPPQSPWDR (9-10, 12), DLATVYVDVLK (8-11), DSGRDYVSQFEGSALGK (11-12), DYVSQFEGSALGK (7-13), EQLGPVTQEFWDNLEK (8-13), LLDNWDSVTSTFSK (8, 10, 11, 12), LREQLGPVTQEFWDNLEK (10-13), LSPLGEEMR (10-13), QGLLPVLESFK (7, 11, 12), THLAPYSDEL R (7-8, 10, 11, 12, 13), VKDLATVYVDVLK (9-11), VQPYLDDFQK (8-9), VSFLSALEEYTK (8-13), WQEEMELYR (8, 11, 12, 13)
HPP 42	15	22	AKPALEDLR (9), ATEHLSTLSEK (7-11), DEPPQSPWDR (9), DLATVYVDVLK (7-9), DSGRDYVSQFEGSALGK (10), DYVSQFEGSALGK (7, 9, 10, 11, 13), EQLGPVTQEFWDNLEK (7-10), KWQEEMELYR (7, 9), LLDNWDSVTSTFSK (7-10), LREQLGPVTQEFWDNLEK (10), LSPLGEEMR (7, 9, 10), QGLLPVLESFK (7-10), QKVEPLR (9), THLAPYSDEL R (7, 10, 11), VKDLATVYVDVLK (9-10), VQPYLDDFQK (7), VSFLSALEEYTK (6-11), WQEEMELYR (7-9)
HPP 42	15	23	AHVDALR (7, 11), AKPALEDLR (7, 10), ATEHLSTLSEK (7-12), DEPPQSPWDR (7-9), DLATVYVDVLK (8-10), DSGRDYVSQFEGSALGK (10-11), DYVSQFEGSALGK (7-12), EQLGPVTQEFWDNLEK (7-10), EQLGPVTQEFWDNLEKETEGLR (10-11), ETEGLRQEMSK (7), KWQEEMELYR (7, 9), LEALKENGGAR (9, 12), LHELQEK (7, 10), LLDNWDSVTSTFSK (7-11), LREQLGPVTQEFWDNLEK (7, 11), LSPLGEEMR (7-8, 10), QGLLPVLESFK (7-11), THLAPYSDEL R (7-9, 11), VKDLATVYVDVLK (10-11), VQPYLDDFQK (7-8, 10, 12), VSFLSALEEYTK (7-12), WQEEMELYR (7-11)

10

20

30

40

【表 3 5】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 42	15	24	AKPALEDLR (6), ATEHLSTLSEK (6-8), DEPPQSPWDR (6-7), DLATVYVDVLK (5, 7, 8, 9), DYVSQFEGSALGK (5-8, 10, 12), EQLGPVTQEFWDNLEK (5-9), EQLGPVTQEFWDNLEKETEGLR (6), LLDNWDSVTSTFSK (5-9), LREQLGPVTQEFWDNLEK (6-7, 9), LSPLGEEMR (7-8, 10), QGLLPVLESFK (5, 7, 9, 10, 12), THLAPYSDEL R (7), VQPYLDDFQK (5-7), VSFLSALEEYTK (5-8, 11, 12), WQEEMELYR (6-8)
HPP 42	15	25	DYVSQFEGSALGK (6, 9), EQLGPVTQEFWDNLEK (7-8), LLDNWDSVTSTFSK (6-7), LSPLGEEMR (7), QGLLPVLESFK (6-8), VSFLSALEEYTK (5-6, 8, 9, 10)
HPP 42	15	26	ATEHLSTLSEK (5-6), DLATVYVDVLK (6), DYVSQFEGSALGK (4-8), LLDNWDSVTSTFSK (5, 7), LREQLGPVTQEFWDNLEK (5-7), LSPLGEEMR (6), QGLLPVLESFK (4, 6, 8), VSFLSALEEYTK (4-8), WQEEMELYR (6)
HPP 42	15	27	DYVSQFEGSALGK (6-7), LLDNWDSVTSTFSK (6), QGLLPVLESFK (4, 6, 7), VSFLSALEEYTK (5-6)
HPP 42	15	28	ATEHLSTLSEK (7), LLDNWDSVTSTFSK (7), QGLLPVLESFK (7), VKDLATVYVDVLK (7), VSFLSALEEYTK (7)
HPP 42	15	29	DYVSQFEGSALGK (7), EQLGPVTQEFWDNLEK (7), LREQLGPVTQEFWDNLEK (7), LSPLGEEMR (7), QGLLPVLESFK (7), VSFLSALEEYTK (7)
HPP 42	16	17	ATEHLSTLSEK (17), QGLLPVLESFK (17, 19), VSFLSALEEYTK (11, 17, 18, 19)
HPP 42	16	18	QGLLPVLESFK (7-8), VSFLSALEEYTK (9)
HPP 42	16	19	DLATVYVDVLK (12-13), QGLLPVLESFK (6-7), VSFLSALEEYTK (6-7)
HPP 42	16	20	ATEHLSTLSEK (11), DLATVYVDVLK (8-9), DYVSQFEGSALGK (8-13), EQLGPVTQEFWDNLEK (7-12), LLDNWDSVTSTFSK (8-10), LREQLGPVTQEFWDNLEK (10-11), LSPLGEEMR (9-10), QGLLPVLESFK (5, 7, 8, 9, 10), THLAPYSDEL R (8), VQPYLDDFQK (8), VSFLSALEEYTK (5, 7, 8, 10, 11), WQEEMELYR (8-12)
HPP 42	16	21	ATEHLSTLSEK (7-8), DLATVYVDVLK (7), DYVSQFEGSALGK (6-9), EQLGPVTQEFWDNLEK (7-8), LLDNWDSVTSTFSK (6-8), LREQLGPVTQEFWDNLEK (8), LSPLGEEMR (8), QGLLPVLESFK (6-8), THLAPYSDEL R (8), VQPYLDDFQK (7-8), VSFLSALEEYTK (5-8), WQEEMELYR (7-8)

10

20

30

40

【表 3 6】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2 フラクション)
HPP 42	16	22	AKPALEDLR (8), DSGRDYVSQFEGSALGK (8), DYVSQFEGSALGK (8, 10), EQLGPVTQEFWDNLEK (7), LEALKENGGAR (8), LLDNWDSVTSTFSK (8), QGLLPVLESFK (8), VQPYLDDFQK (8), VSFLSALEEYTK (7-8, 10)
HPP 42	16	23	AHVDALR (8), ATEHLSTLSEK (7-8), DEPPQSPWDR (7), DLATVYVDVLK (7-8), DYVSQFEGSALGK (5, 7, 8, 9), EQLGPVTQEFWDNLEK (7-8), KWQEEMELYSR (7), LLDNWDSVTSTFSK (7-8), LREQLGPVTQEFWDNLEK (7-8), LSPLGEEMR (7-8), QGLLPVLESFK (7-8), VKDLATVYVDVLK (8), VQPYLDDFQK (7-8), VSFLSALEEYTK (5, 8), WQEEMELYSR (7-8)
HPP 42	16	24	AKPALEDLR (5), ATEHLSTLSEK (4-6), DYVSQFEGSALGK (5, 7), EQLGPVTQEFWDNLEK (4-5, 7), LLDNWDSVTSTFSK (5, 7), LREQLGPVTQEFWDNLEK (4-7), LSPLGEEMR (5-6), QGLLPVLESFK (4-7), THLAPYSDELRSR (4-5), VSFLSALEEYTK (4-7), WQEEMELYSR (5-7)
HPP 42	16	25	AHVDALR (6), AKPALEDLR (5), DYVSQFEGSALGK (5-7), EQLGPVTQEFWDNLEK (5-7), LLDNWDSVTSTFSK (5-6), LSPLGEEMR (5-7), QGLLPVLESFK (5-7), THLAPYSDELRSR (6), VQPYLDDFQK (7), VSFLSALEEYTK (5-7), WQEEMELYSR (5-6)
HPP 42	16	26	DLATVYVDVLK (7), DYVSQFEGSALGK (6-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (7-8), QGLLPVLESFK (5, 8), VQPYLDDFQK (7-8), VSFLSALEEYTK (6-8), WQEEMELYSR (7)
HPP 42	16	27	DYVSQFEGSALGK (6-7), EQLGPVTQEFWDNLEK (6), LLDNWDSVTSTFSK (6-7), VSFLSALEEYTK (5-8), WQEEMELYSR (7)
HPP 42	16	28	DYVSQFEGSALGK (6-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (5-7), LLDNWDSVTSTFSK (6), QGLLPVLESFK (6-7), VQPYLDDFQK (7), VSFLSALEEYTK (5-8), WQEEMELYSR (6-7)
HPP 42	16	29	DYVSQFEGSALGK (6-7), LLDNWDSVTSTFSK (6), QGLLPVLESFK (6), VSFLSALEEYTK (5-7)
HPP 42	16	30	ATEHLSTLSEK (6), DYVSQFEGSALGK (6-7), EQLGPVTQEFWDNLEK (6-7), LREQLGPVTQEFWDNLEK (6), LSPLGEEMR (6), QGLLPVLESFK (6-7), VQPYLDDFQK (6-7), VSFLSALEEYTK (6-7), WQEEMELYSR (6)
HPP 42	17	18	ATEHLSTLSEK (6), QGLLPVLESFK (6-7), THLAPYSDELRSR (6), VSFLSALEEYTK (6-7)
HPP 42	17	19	DYVSQFEGSALGK (11-12), EQLGPVTQEFWDNLEK (11), QGLLPVLESFK (8, 11), VSFLSALEEYTK (9-10, 12)

10

20

30

40

【表 3 7】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 42	17	20	AKPALEDLR (8), ATEHLSTLSEK (8), DEPPQSPWDR (8-9), DLATVYVDVLK (8), DYVSQFEGSALGK (8-9), EQLGPVTQEFWDNLEK (8-9), LLDNWDSVTSTFSK (9), LREQLGPVTQEFWDNLEK (11), LSPLGEEMR (8), QGLLPVLESFK (6, 8, 9, 11, 12), THLAPYSDEL R (9), VKDLATVYVDVLK (8, 12), VQPYLDDFQK (8), VSFLSALEEYTK (5-6, 8, 9, 11)
HPP 42	17	21	AHVDALR (10-11, 13), AKPALEDLR (9-10, 13), ATEHLSTLSEK (7, 9, 10, 11, 12, 13, 14), DLATVYVDVLK (9-12), DSGRDYVSQFEGSALGK (9-11, 14), DYVSQFEGSALGK (8-13, 15, 16), EQLGPVTQEFWDNLEK (9-12), EQLGPVTQEFWDNLEKETEGLR (10-15), ETEGLRQEMSK (11), KWQEEMEL YR (12-13), LEALKENGGAR (14), LHELQEK (13), LLDNWDSVTSTFSK (7, 9, 10, 11, 12, 13), LREQLGPVTQEFWDNLEK (7, 9, 10, 11, 12, 13), LSPLGEEMR (9-12), QGLLPVLESFK (5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16), QKLHELQEK (14), THLAPYSDEL R (7, 9, 10, 11, 12, 13), VEPLRAELQEGAR (15), VKDLATVYVDVLK (10-16), VQPYLDDFQK (9-12, 14, 15), VQPYLDDFQKK (10-11, 13, 14), VSFLSALEEYTK (6-15, 17), WQEEMEL YR (9-12, 14, 15, 16)
HPP 42	17	22	AKPALEDLR (7), AKPALEDLRQGLLPVLESFK (8), ATEHLSTLSEK (7-8), DEPPQSPWDR (8), DLATVYVDVLK (8-9), DSGRDYVSQFEGSALGK (8), DYVSQFEGSALGK (7-9), EQLGPVTQEFWDNLEK (7-9), KWQEEMEL YR (8), LLDNWDSVTSTFSK (8-9), LREQLGPVTQEFWDNLEK (8-9), QGLLPVLESFK (3, 7, 8, 9, 10), QGLLPVLESFKVSFLSALEEYTK (8), QKLHELQEK (8), QLNKLLDNWDSVTSTFSK (8), VKDLATVYVDVLK (7-8), VQPYLDDFQK (9), VSFLSALEEYTK (3-5, 8, 9, 10, 11), WQEEMEL YR (7-8)
HPP 42	17	23	AKPALEDLR (8), ATEHLSTLSEK (6-8), DEPPQSPWDR (7-8), DLATVYVDVLK (8), DSGRDYVSQFEGSALGK (7), DYVSQFEGSALGK (6-9), EQLGPVTQEFWDNLEK (6-8), KWQEEMEL YR (8), LEALKENGGAR (8), LLDNWDSVTSTFSK (6-10), LREQLGPVTQEFWDNLEK (6-9), QGLLPVLESFK (6-8, 10), THLAPYSDEL R (7-9), VKDLATVYVDVLK (7-8), VQPYLDDFQK (6-8), VSFLSALEEYTK (4, 6, 7, 8, 9, 10), WQEEMEL YR (6-9)
HPP 42	17	24	ATEHLSTLSEK (5-6), DLATVYVDVLK (5-7), DSGRDYVSQFEGSALGK (5), DYVSQFEGSALGK (4-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (4-8), EQLGPVTQEFWDNLEKETEGLR (5), LLDNWDSVTSTFSK (4-7), LREQLGPVTQEFWDNLEK (4-7), LSPLGEEMR (5-7), QGLLPVLESFK (4-8), THLAPYSDEL R (5-7), VEPLRAELQEGAR (5), VKDLATVYVDVLK (5-7), VQPYLDDFQK (4-7), VQPYLDDFQKK (5), VSFLSALEEYTK (2, 4, 5, 6, 7, 8), VSFLSALEEYTKK (5), WQEEMEL YR (5-6)

10

20

30

40

【表 3 8】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2 フラクション)
HPP 42	17	25	AHVDALR (6), AKPALEDLR (4, 6, 7), ATEHLSTLSEK (5-7), DEPPQSPWDR (6), DLATVYVDVLK (5-7), DSGRDYVSQFEGSALGK (4-6), DYVSQFEGSALGK (4-8, 10), EQLGPVTQEFWDNLEK (5-7), EQLGPVTQEFWDNLEKETEGLR (6), LEALKENGGAR (6), LLDNWDSVTSTFSK (4-8), LREQLGPTQEFWDNLEK (5-7), LSPLGEEMR (5-7), QGLLPVLESFK (4-7), QKVEPLR (6), VKDLATVYVDVLK (6-7), VQPYLDDFQK (5-7), VQPYLDDFQKK (4-5), VSFLSALEEYTK (3-8), WQEEMELR (5-7)
HPP 42	17	26	AKPALEDLR (5-6), ATEHLSTLSEK (4-5, 7), DSGRDYVSQFEGSALGK (6-7), DYVSQFEGSALGK (3-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (8), LEALKENGGAR (6-7), LLDNWDSVTSTFSK (5-8), LREQLGPTQEFWDNLEK (8), LSPLGEEMR (5, 7, 8), QGLLPVLESFK (5), THLAPYSDEL (5), VKDLATVYVDVLK (6-7), VQPYLDDFQK (4-5), VQPYLDDFQKK (7), VSFLSALEEYTK (3-5, 7, 8, 9), WQEEMELR (5-8)
HPP 42	17	27	ATEHLSTLSEK (6-7), DEPPQSPWDR (7), DLATVYVDVLK (6-7), DSGRDYVSQFEGSALGK (7), DYVSQFEGSALGK (5-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (5-7), LLDNWDSVTSTFSK (5-8), LREQLGPTQEFWDNLEK (6-7), LSPLGEEMR (6-8), QGLLPVLESFK (5-8), THLAPYSDEL (7), VKDLATVYVDVLK (6), VQPYLDDFQK (6-7), VSFLSALEEYTK (4-8)
HPP 42	17	28	ATEHLSTLSEK (7), DLATVYVDVLK (5-6), DYVSQFEGSALGK (6-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (5-8), LLDNWDSVTSTFSK (7), LREQLGPTQEFWDNLEK (7), LSPLGEEMR (6-7), QGLLPVLESFK (5-10), VSFLSALEEYTK (4-9), WQEEMELR (7)
HPP 42	17	29	ATEHLSTLSEK (7), DLATVYVDVLK (7), DYVSQFEGSALGK (6-7), EQLGPVTQEFWDNLEK (6-8), LLDNWDSVTSTFSK (6-7), LREQLGPTQEFWDNLEK (6-7), QGLLPVLESFK (6-7), THLAPYSDEL (6-7), VQPYLDDFQK (8), VSFLSALEEYTK (6-7, 9)
HPP 42	17	30	DLATVYVDVLK (7), DYVSQFEGSALGK (6-7), EQLGPVTQEFWDNLEK (6-8), LLDNWDSVTSTFSK (6-7), LREQLGPTQEFWDNLEK (7), QGLLPVLESFK (6, 8), THLAPYSDEL (6), VQPYLDDFQK (7), VSFLSALEEYTK (6-8), WQEEMELR (7)
HPP 42	18	12	VSFLSALEEYTK (9)
HPP 42	18	18	QGLLPVLESFK (6), VSFLSALEEYTK (6)

10

20

30

40

【表 3 9】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 42	18	19	DSGRDYVSQFEGSALGK (9), DYVSQFEGSALGK (11), EQLGPVTQEFWDNLEK (11), LLDNWDSVTSTFSK (10), LREQLGPVTQEFWDNLEK (11), QGLLPVLESFK (10-11), VSFLSALEEYTK (8-9, 11)
HPP 42	18	20	ATEHLSTLSEK (7, 9), DEPPQSPWDR (7), DLATVYVDVLK (8), DLATVYVDVLKDSGR (8), DSGRDYVSQFEGSALGK (7-8), DYVSQFEGSALGK (7-9), EQLGPVTQEFWDNLEK (7-9), EQLGPVTQEFWDNLEKETEGLR (8), LLDNWDSVTSTFSK (7-9), LREQLGPVTQEFWDNLEK (8), QGLLPVLESFK (7-8, 12), THLAPYSDEL (7), VKDLATVYVDVLK (7-8), VQPYLDDFQK (9), VSFLSALEEYTK (5-7, 9, 10, 12), WQEEMELYR (7)
HPP 42	18	21	ATEHLSTLSEK (8-10), DEPPQSPWDR (8-10), DLATVYVDVLK (8-10), DYVSQFEGSALGK (7-9, 11, 12), EQLGPVTQEFWDNLEK (8-11), LLDNWDSVTSTFSK (8-11), LREQLGPVTQEFWDNLEK (8-10), LSPLGEEMR (8, 10), QGLLPVLESFK (7-12), THLAPYSDEL (8-9), VKDLATVYVDVLK (8, 10), VQPYLDDFQK (7-10), VSFLSALEEYTK (5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13), WQEEMELYR (8-11)
HPP 42	18	22	AKPALEDLR (6, 8, 9), AKPALEDLRQGLLPVLESFK (8), ATEHLSTLSEK (6, 8), DEPPQSPWDR (7), DLATVYVDVLK (6-9), DSGRDYVSQFEGSALGK (7- 8), DYVSQFEGSALGK (6-10), EQLGPVTQEFWDNLEK (6-7), KLNTQ (7), KWQEEMELYR (7-8), LAEYHAK (7), LLDNWDSVTSTFSK (6-9), LREQLGPVTQEFWDNLEK (6-7), LSPLGEEMR (6-7, 9), QGLLPVLESFK (4- 10), THLAPYSDEL (7-10), VEPLRAELQEGAR (7), VKDLATVYVDVLK (6- 8), VQPYLDDFQK (6-7, 9), VQPYLDDFQK (7-8), VSFLSALEEYTK (4-10), VSFLSALEEYTKK (7-8), WQEEMELYR (6-7, 9)
HPP 42	18	23	AKPALEDLR (7), ATEHLSTLSEK (6-9), DEPPQSPWDR (6, 8), DLATVYVDVLK (7-9), DYVSQFEGSALGK (5-7, 9, 10, 11), EQLGPVTQEFWDNLEK (6-9), LLDNWDSVTSTFSK (6-10), LREQLGPVTQEFWDNLEK (6-9), LSPLGEEMR (7-9), QGLLPVLESFK (6, 9, 10), THLAPYSDEL (6-10), VKDLATVYVDVLK (6-9), VQPYLDDFQK (6-7), VSFLSALEEYTK (4-10), WQEEMELYR (6-9)

10

20

30

40

【表 4 0】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 42	18	24	AKPALEDLR (4-5), ATEHLSTLSEK (4-7), DEPPQSPWDR (6), DLATVYVDVLK (4-6), DYVSQFEGSALGK (4-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (4-7), EQLGPVTQEFWDNLEKETEGLR (6), LLDNWDSVTSTFSK (4-7), LREQLGPVTQEFWDNLEK (4-6), LSPLGEEMR (4-6, 8), QGLLPVLESFK (2, 4, 5, 6, 7, 8), THLAPYSDEL R (4-7), VKDLATVYVDVLK (6), VQPYLDDFQK (7), VSFLSALEEYTK (2, 4, 5, 6, 7, 8), WQEEMELYR (4-7)
HPP 42	18	25	AKPALEDLR (4-5), ATEHLSTLSEK (5-6), DEPPQSPWDR (6-7), DLATVYVDVLK (4-8), DSGRDYVSQFEGSALGK (4-5), DYVSQFEGSALGK (4-7), EQLGPVTQEFWDNLEK (4-8), LLDNWDSVTSTFSK (4-8), LREQLGPVTQEFWDNLEK (5-7), LSPLGEEMR (6-7), QGLLPVLESFK (2-8), THLAPYSDEL R (2, 4, 5, 6, 8), VKDLATVYVDVLK (5-6), VQPYLDDFQK (5- 8), VQPYLDDFQKK (5), VSFLSALEEYTK (2-9), WQEEMELYR (4-6)
HPP 42	18	26	AKPALEDLRQGLLPVLESFK (5-6), ATEHLSTLSEK (7), DEPPQSPWDR (6- 7), DLATVYVDVLK (6-8), DSGRDYVSQFEGSALGK (6), DYVSQFEGSALGK (5-9), EQLGPVTQEFWDNLEK (5-9), LEALKENGGAR (6), LLDNWDSVTSTFSK (5-9), LREQLGPVTQEFWDNLEK (5-9), QGLLPVLESFK (5-9), THLAPYSDEL R (5-9), THLAPYSDEL RQR (5-6), VKDLATVYVDVLK (6-7), VQPYLDDFQK (6-7), VSFLSALEEYTK (5-10), WQEEMELYR (6-8)
HPP 42	18	27	AKPALEDLR (6), ATEHLSTLSEK (5-8), DEPPQSPWDR (7), DLATVYVDVLK (7), DYVSQFEGSALGK (6-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (5-9), LLDNWDSVTSTFSK (5, 7, 8), LREQLGPVTQEFWDNLEK (7-8), LSPLGEEMR (7-8), QGLLPVLESFK (5, 7, 9, 10), VQPYLDDFQK (8), VSFLSALEEYTK (5, 7, 8, 11), WQEEMELYR (7)
HPP 42	18	28	AKPALEDLR (5-6), AKPALEDLRQGLLPVLESFK (7), ATEHLSTLSEK (6-7), DEPPQSPWDR (7), DLATVYVDVLK (5-6), DSGRDYVSQFEGSALGK (7), DYVSQFEGSALGK (5-8), EQLGPVTQEFWDNLEK (5-8), LLDNWDSVTSTFSK (5-8), LREQLGPVTQEFWDNLEK (5-7), LSPLGEEMR (6-8), QGLLPVLESFK (3, 6, 7, 8), QKLHELQEK (7), THLAPYSDEL R (6-7), THLAPYSDEL RQR (7), VKDLATVYVDVLK (6), VQPYLDDFQK (5-6, 8), VQPYLDDFQKK (7), VSFLSALEEYTK (4-10), WQEEMELYR (6-7)

10

20

30

40

【表 4 1】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 42	18	29	AKPALEDLR (5), ATEHLSTLSEK (5-7), DEPPQSPWDR (6), DLATVYVDVLK (7), DSGRDYVSQFEGSALGK (5), DYVSQFEGSALGK (5-7), EQLGPVTQEFWDNLEK (6-7), LLDNWDSVTSTFSK (6-8), LREQLGPVTQEFWDNLEK (7), LSPLGEEMR (7), QGLLPVLESFK (5-9), THLAPYSDEL R (5-6), VKDLATVYVDVLK (5-7), VQPYLDDFQK (6-7), VQPYLDDFQKK (5-6), VSFLSALEEYTK (4-9), WQEEMELYR (5-7)
HPP 42	18	30	AKPALEDLR (5-7), AKPALEDLRQGLLPVLESFK (7), ATEHLSTLSEK (6-7), DEPPQSPWDR (5-7), DSGRDYVSQFEGSALGK (6-7), DYVSQFEGSALGK (5-9), EQLGPVTQEFWDNLEK (5-7), LEALKENGGAR (6), LLDNWDSVTSTFSK (5, 7), LREQLGPVTQEFWDNLEK (5-8), LSPLGEEMR (6-7), QGLLPVLESFK (5-7, 9), THLAPYSDEL R (5-6), THLAPYSDEL RQR (6-7), VQPYLDDFQK (6-7), VQPYLDDFQKK (5-6), VSFLSALEEYTK (5-10), WQEEMELYR (5-7)
HPP 43	9	20	DASGVFTFTWTPSSGK (7), DLGCGYSVSSVLPGCAEPWNHGK (7), KGDTFSCMVGHEALPLAFTQK (7), QEPSQGTTFVAVTSILR (7), TFTCTAAYPEK (7), TPLTATLSK (7), WLQGSQELPR (7)
HPP 43	9	23	DASGVFTFTWTPSSGK (6), DLGCGYSVSSVLPGCAEPWNHGK (6), QEPSQGTTFVAVTSILR (6), TPLTATLSK (6), WLQGSQELPR (6)
HPP 44	1	11	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (16)
HPP 44	1	15	SKEQLTPLIK (21)
HPP 44	1	16	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (13-14, 17, 18, 20), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (17-18), SKEQLTPLIK (13-17, 20), VKSPELQAEAK (13-15)
HPP 44	1	17	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (18-20), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (18), EQLTPLIK (18), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (18, 20), VKSPELQAEAK (18)
HPP 44	1	18	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22), EQLTPLIK (12-13, 15), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 23), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (20), SKEQLTPLIK (9-10, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22), SPELQAEAK (17-19, 21), SPELQAEAKSYFEK (13-14), VKSPELQAEAK (13-15, 18)

10

20

30

40

【表 4 2】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 44	1	19	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 20, 21), DLMEK (19-20, 22), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-9, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24), EQLTPLIK (10, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-11, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22, 24), SKEQLTPLIK (7-8, 10, 11, 14, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 23, 24), SPELQAEAK (7-8, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24), SPELQAEAKSYFEK (21), SYFEK (14-15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24), VKSPELQAEAK (8, 20, 21, 22, 23)
HPP 44	1	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-19), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5, 8, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (19), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19), SKEQLTPLIK (12-13, 15, 16, 17, 18, 19, 20), SPELQAEAK (18), SPELQAEAKSYFEK (17-18), VKSPELQAEAK (11, 15, 17, 19)
HPP 44	1	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-9), EQLTPLIK (8), SKEQLTPLIK (10), SPELQAEAK (8), VKSPELQAEAK (10)
HPP 44	1	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-24), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-12, 14, 15, 16, 18), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8-11, 13, 14, 17), EQLTPLIK (7-8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-22, 24), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-9), SKEQLTPLIK (7-10, 12), SPELQAEAK (8-9), VKSPELQAEAK (8-10)
HPP 44	1	23	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (20), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8), EQLTPLIK (11), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-10), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9), SKEQLTPLIK (7-12), SPELQAEAK (7-8), SYFEK (7-8), VKSPELQAEAK (8-10)
HPP 44	1	24	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), EQLTPLIK (8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9), SKEQLTPLIK (8-9)
HPP 44	1	25	EQLTPLIK (9), SKEQLTPLIK (8-9), SPELQAEAK (8)
HPP 44	2	1	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (1-3, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (1-3, 10), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (1-2, 7, 9, 10, 11, 22)
HPP 44	2	3	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (3, 5, 6, 11, 14), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (17), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-7, 10, 11, 12, 14, 17, 19)
HPP 44	2	10	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (16-17, 19, 20, 21, 22, 23), SKEQLTPLIK (24), SPELQAEAK (19-20, 22)

10

20

30

40

【表 4 3】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 44	2	11	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (24), VKSPELQAEAK (15)
HPP 44	2	13	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (17, 24)
HPP 44	2	14	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (21-22), SKEQLTPLIK (10)
HPP 44	2	15	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (20-23), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (18-23), EQLTPLIK (18, 23, 24), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (18-23), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (19-21), SKEQLTPLIK (18-21, 23, 24), SPELQAEAK (19, 21), SYFEK (18-20), VKSPELQAEAK (19-20)
HPP 44	2	16	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9, 15, 17, 18, 19, 21, 22, 24), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (10, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (21), EQLTPLIK (9, 14, 17, 18, 19), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (14-24), SKEQLTPLIK (16, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24), SPELQAEAK (16-18), SYFEK (17-18)
HPP 44	2	17	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-11, 19, 20, 21, 22, 23), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-9, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24), EQLTPLIK (7-9, 21, 22), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-9, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), SKEQLTPLIK (8-9, 19, 20, 21, 22), SPELQAEAK (8, 19, 20, 21, 22), SYFEK (20-21), VKSPELQAEAK (9, 19, 20, 21, 22)
HPP 44	2	18	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-11, 19), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-9, 11, 12, 13, 16, 17, 19, 20, 21, 22, 23), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (16-17, 22, 23), EQLTPLIK (7, 9, 12, 16, 19, 20, 21, 22), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-8, 11, 12, 16, 17, 19, 20, 21, 22), SKEQLTPLIK (6-13, 16, 17, 19, 20, 21, 23), SPELQAEAK (7-9, 11, 12, 16, 19, 20, 21), SYFEK (8, 20), VKSPELQAEAK (8-10, 16, 17, 18, 22)
HPP 44	2	19	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (10-24), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (10-24), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (13, 20), EQLTPLIK (10, 14, 21), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (10-13, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (12), SKEQLTPLIK (9-16, 19, 20, 21, 22, 24), SPELQAEAK (10-11, 14, 16, 18, 19, 24), VKSPELQAEAK (9, 13, 14, 21, 24)

10

20

30

40

【表 4 4】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 44	2	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-17, 20, 21, 22, 23), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-17, 21, 22, 23, 24), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8-9, 11, 14, 15, 16, 17, 22, 23), EQLTPLIK (9-11, 14, 15, 16, 21, 22, 23), EQLTPLIKK (11), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-17, 19, 20, 21, 22, 23, 24), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9, 22), SKEQLTPLIK (8-13, 15, 16, 17, 21, 23, 24), SPELQAEAK (10, 16), SYFEK (8, 10), VKSPELQAEAK (8-10, 12, 13, 15, 16, 22)
HPP 44	2	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (15, 23), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8- 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 22, 23, 24), EQLTPLIK (9, 12, 13, 14, 15, 16, 17), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (13-15, 17), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (12), SKEQLTPLIK (11-17), SPELQAEAK (9-17), VKSPELQAEAK (9, 12, 13, 14, 15, 16, 17)
HPP 44	2	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9, 11), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7- 10), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-8), SKEQLTPLIK (8-11), SPELQAEAK (8-10), VKSPELQAEAK (9-10)
HPP 44	2	23	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (10)
HPP 44	2	25	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7, 21)
HPP 44	2	30	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (2, 4)
HPP 44	3	8	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-8, 13, 15, 19), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (1, 3, 4, 6, 9, 11, 13)
HPP 44	3	12	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (10)
HPP 44	3	13	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9-12)
HPP 44	3	14	KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (1)
HPP 44	3	15	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (1-2, 8, 11, 17)
HPP 44	3	17	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (10-11, 13), SPELQAEAK (13)
HPP 44	3	18	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (1, 3), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), SKEQLTPLIK (8), SPELQAEAK (8), VKSPELQAEAK (8)
HPP 44	3	19	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-15), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6, 8, 9, 10, 11, 12, 14), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (9, 11), EQLTPLIK (9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-13), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-9), SKEQLTPLIK (8-10), SPELQAEAK (9-10), SYFEK (9), VKSPELQAEAK (9-10)

10

20

30

40

【表 4 5】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 44	3	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-15), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5-14), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (9), EQLTPLIK (7-9, 11), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-12, 14), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-8, 10, 11, 13), SKEQLTPLIK (7-10), SPELQAEAK (7-8, 10), SYFEK (7-10), VKSPELQAEAK (7-9)
HPP 44	3	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-19, 21, 22, 23, 24), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-18, 20, 21, 23), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (9-12), EQLTPLIK (9-12), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-13, 15, 17, 18, 22, 24), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-10), SKEQLTPLIK (8-13), SPELQAEAK (9-13), SPELQAEAKSYFEK (12), SYFEK (9-10, 13), VKSPELQAEAK (8, 10, 11, 12)
HPP 44	3	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-10, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (7-10, 12, 14, 16), EQLTPLIK (8-9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-12, 14, 16, 17), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-9), SKEQLTPLIK (7-10), SPELQAEAK (8-9), SPELQAEAKSYFEK (9), SYFEK (7, 9), VKSPELQAEAK (7-10)
HPP 44	3	23	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7, 9, 10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8-10), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-10), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), SKEQLTPLIK (7-10), SPELQAEAKSYFEK (9), VKSPELQAEAK (9)
HPP 44	3	24	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5-7, 9), EQLTPLIK (8), SKEQLTPLIK (6-8), VKSPELQAEAK (7-8)
HPP 44	4	3	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (15), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7, 11)
HPP 44	4	12	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9, 12)
HPP 44	4	13	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9-13), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (10), SPELQAEAK (9)
HPP 44	4	14	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8, 14, 15, 16, 17)
HPP 44	4	16	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (10-11)
HPP 44	4	17	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (14)
HPP 44	4	18	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-10), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9), SKEQLTPLIK (9), SPELQAEAK (9)

10

20

30

40

【表 4 6】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 44	4	19	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-13), EQLTPLIK (8-10), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-12), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), SKEQLTPLIK (9-11), SPELQAEAK (9-10), VKSPELQAEAK (8, 10)
HPP 44	4	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-15), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-15), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8-10, 14), EQLTPLIK (8, 10, 11, 12, 14), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-12), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-8, 13), SKEQLTPLIK (7-14), SPELQAEAK (8-9), VKSPELQAEAK (7-11, 13, 14)
HPP 44	4	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (10-13, 15, 16, 17, 20, 23, 24), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9-18), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (11-12), EQLTPLIK (9-10, 13), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-20), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (11), SKEQLTPLIK (9-15), SPELQAEAK (9-10, 12), SYFEK (12), VKSPELQAEAK (9-12)
HPP 44	4	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9, 11), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8-9), EQLTPLIK (8-12), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-10), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), SKEQLTPLIK (7-12), SPELQAEAK (8, 13), SYFEK (10), VKSPELQAEAK (8, 10)
HPP 44	4	23	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9, 11, 12, 13), DLMEK (12-13), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-13), EQLTPLIK (8-13), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-14), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9), SKEQLTPLIK (8-14), SPELQAEAK (10-13), SYFEK (12-13), VKSPELQAEAK (8-12)
HPP 44	4	24	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8, 10, 11, 13), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), SKEQLTPLIK (7-8), VKSPELQAEAK (8, 11)
HPP 44	4	27	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6)
HPP 44	5	9	SKEQLTPLIK (12), SPELQAEAK (12), VKSPELQAEAK (12)
HPP 44	5	11	SKEQLTPLIK (10)
HPP 44	5	13	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (10, 12, 13)
HPP 44	5	14	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8)
HPP 44	5	16	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (14, 17)
HPP 44	5	17	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7, 13)

10

20

30

40

【表 4 7】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 44	5	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-14, 16, 20, 21, 22), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22), EQLTPLIK (7-8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-10, 14), SKEQLTPLIK (7-8), SPELQAEAK (7, 9)
HPP 44	5	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-10, 12, 13, 14, 16), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-13), EQLTPLIK (8, 10), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-11), SKEQLTPLIK (7-11), SPELQAEAK (7-11), SYFEK (10), VKSPELQAEAK (7, 9, 10, 11)
HPP 44	5	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-12, 14, 15, 17, 20), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-17, 19, 20, 21, 22, 24), EQLTPLIK (7-9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-8), SKEQLTPLIK (7), SPELQAEAK (7, 9), SYFEK (7), VKSPELQAEAK (7, 9)
HPP 44	5	23	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5, 7, 8, 9, 10), EQLTPLIK (5, 7, 9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7, 9, 10), SKEQLTPLIK (4-5, 7, 9), SPELQAEAK (7-9), SPELQAEAKSYFEK (9), VKSPELQAEAK (7, 9)
HPP 44	5	24	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (4-6, 8, 9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (2-5, 7, 8, 9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (5), EQLTPLIK (3), EQLTPLIKK (4), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (4-6), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (4-6), SKEQLTPLIK (3-5), SPELQAEAK (7, 9), SYFEK (7), VKSPELQAEAK (4)
HPP 44	5	25	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (4-6, 8, 9, 10, 15, 22, 23), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (2-10, 14), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (5), EQLTPLIK (7-8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (4-8, 10, 11, 14, 15), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (4, 7, 10), SKEQLTPLIK (4-5, 8, 9), SPELQAEAK (8), VKSPELQAEAK (7, 9)
HPP 44	5	26	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (4, 6, 7, 10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (4-7), EQLTPLIK (4-5), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (4-6), SKEQLTPLIK (4), SPELQAEAK (4-6), VKSPELQAEAK (4-5)
HPP 44	5	27	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-8), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5-10, 12, 13, 15), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (4), EQLTPLIK (5, 7), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (4), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (4), SKEQLTPLIK (4-5, 7), SPELQAEAK (4-6), VKSPELQAEAK (4, 6)

10

20

30

40

【表 4 8】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 44	5	28	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5-8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-8), SKEQLTPLIK (6, 8, 9), VKSPQLQAEAK (7-8)
HPP 44	5	29	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-8), EQLTPLIK (8), SKEQLTPLIK (7-9), SPELQAEAK (8), VKSPQLQAEAK (8)
HPP 44	5	30	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5, 19, 20)
HPP 44	6	7	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7, 9, 13), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (1- 2, 4, 7, 9, 19)
HPP 44	6	8	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (2, 8), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (1)
HPP 44	6	12	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9, 11)
HPP 44	6	13	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (10)
HPP 44	6	17	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (10-12), SKEQLTPLIK (10-11)
HPP 44	6	18	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8- 13), EQLTPLIK (8, 10), EQLTPLIKK (9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-11), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9), SKEQLTPLIK (9-11), SYFEK (10), VKSPQLQAEAK (9-10)
HPP 44	6	19	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-10, 12, 13), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (12), EQLTPLIK (9-10), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9, 11), SKEQLTPLIK (8-11), SPELQAEAK (8-10), VKSPQLQAEAK (8-9, 11, 12)
HPP 44	6	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-13, 15, 17, 19, 22, 24), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-24), EQLTPLIK (7-10), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-11, 13, 14, 16, 19, 24), SKEQLTPLIK (9), SPELQAEAK (10-11), VKSPQLQAEAK (7-11)
HPP 44	6	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8, 10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6- 12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8), EQLTPLIK (9-10), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-12), SKEQLTPLIK (6-12), SPELQAEAK (7-11), SYFEK (7), VKSPQLQAEAK (7, 9, 10, 11, 12)
HPP 44	6	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-11, 13, 14), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (4-14, 17, 18), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (7-10), EQLTPLIK (5-8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-11), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7), SKEQLTPLIK (5-11), SPELQAEAK (7-8), VKSPQLQAEAK (6, 11)

10

20

30

40

【表 4 9】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 44	6	23	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5-6, 9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (3, 5, 6, 7, 8), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (6-8), EQLTPLIK (8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5-8), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-7), SKEQLTPLIK (6-8), SPELQAEAK (6, 8), SYFEK (5, 7), VKSPELQAEAK (5-8)
HPP 44	6	24	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5-7), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (3-8), EQLTPLIK (5), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5), SKEQLTPLIK (3-8), SPELQAEAK (5-6), VKSPELQAEAK (4, 7, 8)
HPP 44	6	25	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (1-2, 5, 6, 7), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (1-11, 13, 14, 17, 20, 21, 22, 23), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (6), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5), SKEQLTPLIK (4), SYFEK (5), VKSPELQAEAK (4-5)
HPP 44	7	9	SKEQLTPLIK (10)
HPP 44	7	16	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (13), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (12-13), SKEQLTPLIK (12-13)
HPP 44	7	17	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (11, 13, 14, 15), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (11-18), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (11-12, 14, 15, 16, 17), SKEQLTPLIK (10-16), SPELQAEAK (11-17), VKSPELQAEAK (11-17)
HPP 44	7	18	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (11), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (11), EQLTPLIK (10-12), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8, 11), SKEQLTPLIK (9-11), SPELQAEAK (8-12), VKSPELQAEAK (9, 11, 12)
HPP 44	7	19	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-10, 12, 13, 18), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-15, 17, 18), EQLTPLIK (9, 17), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-10, 13, 16, 17), SKEQLTPLIK (9-13, 15, 17, 18), SPELQAEAK (11-13, 17), VKSPELQAEAK (8-9, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18)
HPP 44	7	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9, 13), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-11), EQLTPLIK (8-9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-11), SKEQLTPLIK (7-11), SPELQAEAK (8, 10, 11), VKSPELQAEAK (8-11)
HPP 44	7	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9, 12, 13, 15, 16, 17), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-16), EQLTPLIK (8-9, 11, 12, 13), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8, 11, 12, 13, 16), SKEQLTPLIK (7-12, 14, 15), SPELQAEAK (8, 10, 11, 12, 13, 14), VKSPELQAEAK (7, 9, 10, 12, 15)

10

20

30

40

【表 5 0】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 44	7	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9, 11, 12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5-10, 12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (6-10), EQLTPLIK (6, 8, 9), EQLTPLIKK (8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-10), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), SKEQLTPLIK (6-10), SPELQAEAK (5-9), SYFEK (5-7), VKSPELQAEAK (5-10)
HPP 44	7	23	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-11), EQLTPLIK (8-9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7, 9, 10, 11), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7), SKEQLTPLIK (6-10), SPELQAEAK (6), VKSPELQAEAK (6-9)
HPP 44	7	24	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-8), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5-8), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (6-7), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-7), SKEQLTPLIK (5-7), VKSPELQAEAK (5-6)
HPP 44	7	25	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5-7), EQLTPLIK (7), SKEQLTPLIK (5-7), SPELQAEAK (7)
HPP 44	7	26	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (4-5), SKEQLTPLIK (4-5)
HPP 44	7	27	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (4), SKEQLTPLIK (3-4)
HPP 44	7	28	SKEQLTPLIK (4-5), SPELQAEAK (4, 6), VKSPELQAEAK (6)
HPP 44	8	10	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (3, 20)
HPP 44	8	13	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (10)
HPP 44	8	16	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7, 9, 10, 11)
HPP 44	8	18	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7), SKEQLTPLIK (7)
HPP 44	8	19	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8, 10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-10), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-9), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-8), SKEQLTPLIK (7-8), SYFEK (7), VKSPELQAEAK (7)
HPP 44	8	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7, 10, 11, 12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8), EQLTPLIK (7), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-10), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-8), SKEQLTPLIK (6-8), SPELQAEAK (6), VKSPELQAEAK (8)

10

20

30

40

【表 5 1】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 44	8	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (4-12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8, 11), EQLTPLIK (7, 10), EQLTPLIKK (8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-11), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), SKEQLTPLIK (6-8, 10, 11), SPELQAEAK (6-9, 11), SYFEK (7), VKSPELQAEAK (8, 10)
HPP 44	8	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5-21, 23, 24), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (4-24), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (7-10, 12), EQLTPLIK (6-9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 24), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-8), SKEQLTPLIK (6-10, 12), SPELQAEAK (6-10, 12), VKSPELQAEAK (5, 7, 8)
HPP 44	8	23	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (7-8), EQLTPLIK (8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-9), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-8), SKEQLTPLIK (7-9), SPELQAEAK (7-8), SYFEK (7-8), VKSPELQAEAK (7-9)
HPP 44	8	24	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5-8), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (3-8), EQLTPLIK (7), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5-7), SKEQLTPLIK (5-7), VKSPELQAEAK (6-7)
HPP 44	9	16	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (11-12, 15, 16), SPELQAEAK (11)
HPP 44	9	17	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (1-3, 10, 11, 12, 13, 14, 17, 18, 19), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (1-3, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 19, 23), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (10-12, 14, 15, 16, 17), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (13), SKEQLTPLIK (10, 12, 13, 14, 15, 16, 17), SPELQAEAK (10, 12), VKSPELQAEAK (9-15, 17, 18)
HPP 44	9	18	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-13), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (12), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (11), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (11), SKEQLTPLIK (9, 11, 12, 13), VKSPELQAEAK (11-12)
HPP 44	9	19	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-14), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-17), EQLTPLIK (11), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-8, 10, 11, 13, 14, 16), SKEQLTPLIK (10-16), SPELQAEAK (10-15), SYFEK (11), VKSPELQAEAK (9-12)
HPP 44	9	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-11, 14), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-17), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (9), EQLTPLIK (8, 11, 12), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-10, 13), SKEQLTPLIK (6-7, 9, 10, 11), SPELQAEAK (6-8, 10, 11), SYFEK (8), VKSPELQAEAK (9, 11, 13)

10

20

30

40

【表 5 2】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 44	9	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (1, 7, 8, 9, 10, 13, 14, 18, 24), DLMEK (8), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (1, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8-10), EQLTPLIK (7-10), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9), SKEQLTPLIK (8-10), SPELQAEAK (7-11, 13), SYFEK (7-8), VKSPELQAEAK (7-9, 11)
HPP 44	9	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-11), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6, 8, 9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (7), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-8, 10), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), SKEQLTPLIK (6-8), SPELQAEAKSYFEK (7)
HPP 44	9	23	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7, 9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (7-8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-8), SKEQLTPLIK (7, 9)
HPP 44	9	24	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-8), SKEQLTPLIK (7)
HPP 44	10	18	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), SKEQLTPLIK (8)
HPP 44	10	19	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-13), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8- 12), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-10), SKEQLTPLIK (9-12), SPELQAEAK (9-10, 12), VKSPELQAEAK (11-12)
HPP 44	10	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8, 11), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-9, 11), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-10), SKEQLTPLIK (9), VKSPELQAEAK (9)
HPP 44	10	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8, 10, 11, 14), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-14), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8-9, 13), EQLTPLIK (10, 12), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (10-12), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8, 10), SKEQLTPLIK (9-13), SPELQAEAK (9, 12), VKSPELQAEAK (9-11)
HPP 44	10	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-10, 12, 13, 15, 16, 23), EQLTPLIK (8-9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-9), SKEQLTPLIK (8-9, 12)
HPP 44	10	23	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9-10, 12)
HPP 44	10	26	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6)

10

20

30

40

【表 5 3】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 44	10	27	SPELQAEAK (13)
HPP 44	11	8	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6, 9, 10, 16, 21), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7, 9, 10, 11, 14, 17)
HPP 44	11	16	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9)
HPP 44	11	18	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-12), EQLTPLIK (9, 11), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-10), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8, 12), SKEQLTPLIK (9, 11, 12), SPELQAEAK (9)
HPP 44	11	19	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-16), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-16), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (12-13), EQLTPLIK (10-11, 14), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-13), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (12), SKEQLTPLIK (9-11, 13, 14, 15, 16), SPELQAEAK (10-11, 13), SYFEK (10, 13), VKSPELQAEAK (10-13, 16)
HPP 44	11	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (11-12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-14), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (10-11), EQLTPLIK (10-11, 14), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-14), SKEQLTPLIK (8-13), VKSPELQAEAK (10)
HPP 44	11	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (13-14), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-15), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (9, 11), EQLTPLIK (8, 10, 11, 12, 14), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-13, 15), SKEQLTPLIK (7-14), SPELQAEAK (11), VKSPELQAEAK (8-9, 11, 12)
HPP 44	11	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5, 7, 8, 9, 11, 12, 15, 18, 21, 22), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-13), EQLTPLIK (7), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5, 7, 8, 9, 10), SKEQLTPLIK (7-9, 11, 12, 13), SPELQAEAK (6, 10, 11, 12, 13, 14), SYFEK (7), VKSPELQAEAK (7, 9)
HPP 44	11	23	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8-9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9), SKEQLTPLIK (8-9)
HPP 44	11	24	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-8), EQLTPLIK (7), SKEQLTPLIK (6-7)
HPP 44	11	30	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (2, 8, 10, 12, 18, 19, 22)
HPP 44	12	13	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (1, 5, 6, 9, 10, 11, 14)
HPP 44	12	18	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-8), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-8), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), SKEQLTPLIK (7-8), VKSPELQAEAK (8)

10

20

30

40

【表 5 4】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 44	12	19	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (14), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-10, 13, 14), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9-10), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (10), SPELQAEAK (13)
HPP 44	12	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7, 11, 12, 13, 15), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5-11), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8, 11), EQLTPLIK (7-8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-9), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (11), SKEQLTPLIK (8-12), SPELQAEAK (8), VKSPELQAEAK (8, 10, 11)
HPP 44	12	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-13), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-14, 16), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8, 11, 12), EQLTPLIK (7, 9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-12), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (11-12), SKEQLTPLIK (8-13), SPELQAEAK (10-11), VKSPELQAEAK (8-13)
HPP 44	12	23	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9)
HPP 44	12	28	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (4, 7)
HPP 44	13	12	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (1, 8, 10, 12, 15, 19, 20), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (14)
HPP 44	13	18	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-11), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-11), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-10), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), SKEQLTPLIK (8-9, 11)
HPP 44	13	19	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5, 13, 16, 21, 22), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-13, 21), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5-6, 8, 13), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (10), SKEQLTPLIK (8, 10, 11, 12, 13, 16), SPELQAEAK (9), VKSPELQAEAK (9, 13)
HPP 44	13	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-11), EQLTPLIK (8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9), SKEQLTPLIK (6-11), VKSPELQAEAK (8-9)
HPP 44	13	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-11, 13, 14, 15, 16, 17), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-11, 13, 15, 16, 17, 19), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (9, 13), EQLTPLIK (8, 10, 11), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-11, 13, 14, 15, 17), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9, 13), SKEQLTPLIK (7-11, 13), SPELQAEAK (8, 11, 12), SYFEK (9-10), VKSPELQAEAK (9-11)
HPP 44	13	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-11), EQLTPLIK (9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-10), SKEQLTPLIK (9), SPELQAEAK (9)

10

20

30

40

【表 5 5】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 44	13	23	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9, 13, 14), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-13), EQLTPLIK (8-10), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9), SKEQLTPLIK (8, 10), SPELQAEAK (9), SYFEK (9)
HPP 44	13	25	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7)
HPP 44	14	14	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5, 12, 19)
HPP 44	14	16	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (14-15), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (1, 14)
HPP 44	14	17	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (13, 16), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (14, 18, 19), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (13, 18), SKEQLTPLIK (14, 16), VKSPELQAEAK (13, 16)
HPP 44	14	18	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (10-11, 13, 14, 15), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (14), EQLTPLIK (10), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (14), SKEQLTPLIK (10, 13, 14), VKSPELQAEAK (10, 14)
HPP 44	14	19	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (10, 14, 17), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (10, 14, 16, 17, 18, 19), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (17-18), EQLTPLIK (14, 17, 18), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (17-18), SKEQLTPLIK (14, 16, 17, 18), VKSPELQAEAK (14, 18)
HPP 44	14	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9, 11, 12, 18), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-11, 13, 14), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9, 11, 13), SKEQLTPLIK (9-10, 13), SPELQAEAK (8)
HPP 44	14	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-10, 13), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-14), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9)
HPP 44	14	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9, 12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-12), EQLTPLIK (9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-10), SKEQLTPLIK (7, 9, 10), SPELQAEAK (9-10)
HPP 44	14	23	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6, 11), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-11), EQLTPLIK (7), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-9), SKEQLTPLIK (7-8, 10)
HPP 44	14	24	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-8), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5-8), EQLTPLIK (5, 7), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5-7), SKEQLTPLIK (5-6)

10

20

30

40

【表 5 6】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 44	14	25	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5-7, 9, 11, 12, 14, 16), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5-9, 11, 12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-8), SKEQLTPLIK (6-7), SPELQAEAK (6-7)
HPP 44	14	26	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5)
HPP 44	15	2	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5, 9, 20)
HPP 44	15	8	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (10-11, 22), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (10-11)
HPP 44	15	17	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-9)
HPP 44	15	18	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9)
HPP 44	15	19	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (15), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (16), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (12)
HPP 44	15	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-9)
HPP 44	15	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8-9)
HPP 44	15	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9-10), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9), SKEQLTPLIK (9)
HPP 44	15	23	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (1, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 15, 18), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (1, 5, 12, 13, 15)
HPP 44	15	24	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-8)
HPP 44	15	26	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8)
HPP 44	16	17	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (17)
HPP 44	16	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (1, 8, 9, 10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-10), EQLTPLIK (9), SKEQLTPLIK (10)
HPP 44	16	21	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7, 10), EQLTPLIK (8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7), SKEQLTPLIK (7-8)
HPP 44	16	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-8, 12, 14), EQLTPLIK (6-7), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9), SKEQLTPLIK (7-8), SPELQAEAK (7)
HPP 44	16	23	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-11), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (9), EQLTPLIK (7), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7, 9, 10), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7, 9), SKEQLTPLIK (8), SPELQAEAK (7- 9), VKSPELQAEAK (8-9)
HPP 44	16	24	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6)

10

20

30

40

【表 5 7】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 44	16	25	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6)
HPP 44	16	29	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (5-7, 9, 14, 15, 18, 22), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (1, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24)
HPP 44	17	1	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (2-8, 15, 16, 19), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (1-10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (3, 7, 10, 22)
HPP 44	17	19	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9), SKEQLTPLIK (9), VKSPELQAEAK (9)
HPP 44	17	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-9, 11, 12), EQLTPLIK (10), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-9), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7), SKEQLTPLIK (7-10, 12), SPELQAEAK (10)
HPP 44	17	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-9, 11, 12, 14), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-14), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (10-13), EQLTPLIK (9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8-12), SKEQLTPLIK (9-13), SPELQAEAK (8-11), SYFEK (9), VKSPELQAEAK (9, 11, 12, 13)
HPP 44	17	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (8), EQLTPLIK (7), EQLTPLIKK (8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-9), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), SKEQLTPLIK (7-9), SPELQAEAKSYFEK (8)
HPP 44	17	23	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (7), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-8), SKEQLTPLIK (7-8)
HPP 44	17	24	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6, 9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5-7), EQLTPLIK (6-7), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6-7), SKEQLTPLIK (5, 7), VKSPELQAEAK (7)
HPP 44	17	25	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (5, 7), VKSPELQAEAK (5)
HPP 44	17	28	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9)
HPP 44	18	9	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (2-5, 9, 10, 11, 13, 16, 18, 19, 21), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (1-22), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (1, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 18, 19, 20, 22)
HPP 44	18	18	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8)

10

20

30

40

【表 5 8】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 44	18	19	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9-10), EQLTPLIKK (9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (9), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9), SKEQLTPLIK (9), SYFEK (10), VKSPELQAEAK (8-10)
HPP 44	18	20	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (8, 10, 11, 12, 13), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-12), EQLTPLIK (7, 9), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-8), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-8), SKEQLTPLIK (7-9), SYFEK (9), VKSPELQAEAK (7-9)
HPP 44	18	21	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7, 9, 11, 12), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-12), EQLTPLIK (8, 11, 12), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-12), SKEQLTPLIK (8-12), VKSPELQAEAK (9, 11, 12)
HPP 44	18	22	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-9, 11), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6- 10), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (7-8), EQLTPLIK (7-8), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7-9), QAKEPCVESLVSQYFQTVTDYGK (8), SKEQLTPLIK (6-9), VKSPELQAEAK (6)
HPP 44	18	23	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6-9), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (7), EQLTPLIK (7), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7), SKEQLTPLIK (8)
HPP 44	18	24	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (4-6), SKEQLTPLIK (4-5)
HPP 44	18	25	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6), EPCVESLVSQYFQTVTDYGKDLMEK (5), SKEQLTPLIK (5-6)
HPP 44	18	26	AGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (6), EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7-8), EQLTPLIK (7), KAGTELVNFLSYFVELGTQPATQ (7), VKSPELQAEAK (6)
HPP 44	18	27	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (7, 10)
HPP 44	18	28	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (6)
HPP 44	18	29	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9)
HPP 44	18	30	EPCVESLVSQYFQTVTDYGK (9-10)
HPP 45	5	18	ATLVCLISDFYPGAVTLAWK (4), YAASSYLSLTPEQWK (4)
HPP 45	8	15	ATLVCLISDFYPGAVTLAWK (15), LTVLQPK (15), QSNKYAASSYLSLTPEQWK (15), YAASSYLSLTPEQWK (15)
HPP 46	7	15	SGTASVVCLLNNFYPR (9), VDNALQSGNSQESVTEQDSK (9)
HPP 46	8	30	VYACEVTHQGLSSPVTK (3)
HPP 46	9	25	VDNALQSGNSQESVTEQDSK (4), VYACEVTHQGLSSPVTK (4)
HPP 47	8	10	VLSNTEDLPLVTK (7)
HPP 47	8	11	VLSNTEDLPLVTK (10)
HPP 47	9	10	VLSNTEDLPLVTK (9, 11)

10

20

30

40

【表 5 9】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 47	9	11	VLSNTEDLPLVTK (11)
HPP 48	9	20	KGDTFSCMVGHEALPLAFTQK (7), QKPSQGTTFVAVTSILR (7)
HPP 48	9	22	QKPSQGTTFVAVTSILR (7)
HPP 48	9	23	KGDTFSCMVGHEALPLAFTQK (5), QKPSQGTTFVAVTSILR (5)
HPP 49	2	12	EVPLNTIIFMGR (9)
HPP 49	3	13	ANRPFLVFIR (10)
HPP 49	3	14	EVPLNTIIFMGR (9)
HPP 49	4	13	ANRPFLVFIR (8-10), EVPLNTIIFMGR (8-10), SLNPNRVTFK (8)
HPP 49	4	14	EVPLNTIIFMGR (9)
HPP 49	4	15	EVPLNTIIFMGR (8)
HPP 49	5	13	EVPLNTIIFMGR (9-10)
HPP 49	5	15	EVPLNTIIFMGR (7)
HPP 49	5	17	ANRPFLVFIR (5), FATTFYQHLADSK (5)
HPP 49	5	18	EVPLNTIIFMGR (4)
HPP 49	5	20	EVPLNTIIFMGR (3)
HPP 49	6	11	ANRPFLVFIR (10), EVPLNTIIFMGR (11-12), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (10-12)
HPP 49	6	12	EVPLNTIIFMGR (8-9)
HPP 49	6	13	ANRPFLVFIR (8-9), EVPLNTIIFMGR (9-11), FATTFYQHLADSK (8-9), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (8-9)
HPP 49	6	21	EQLQDMGLVDFLSPEK (8-10), EVPLNTIIFMGR (9-10)
HPP 49	6	23	EQLQDMGLVDFLSPEK (7), EVPLNTIIFMGR (7), HGSPVDICTAKPR (6)
HPP 49	7	10	ANRPFLVFIR (10)
HPP 49	8	11	ATEDEGSEQIPEATNR (9)
HPP 49	8	12	FATTFYQHLADSK (8), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (7-8)
HPP 49	8	13	ANRPFLVFIR (8), FATTFYQHLADSK (8)
HPP 49	8	14	NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (6-7)
HPP 49	8	15	EVPLNTIIFMGR (6)
HPP 49	9	4	ATEDEGSEQIPEATNR (12)
HPP 49	9	5	ATEDEGSEQIPEATNR (17)
HPP 49	9	16	EQLQDMGLVDFLSPEK (15-16), VAEGTQVLELPFK (14)
HPP 49	10	5	HGSPVDICTAKPR (12, 14)
HPP 49	10	6	ATEDEGSEQIPEATNR (8), HGSPVDICTAKPR (8)
HPP 49	10	13	ATEDEGSEQIPEATNR (9), FATTFYQHLADSK (9), HGSPVDICTAKPR (8)
HPP 49	10	16	VAEGTQVLELPFK (9)

10

20

30

40

【表 6 0】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 49	10	18	VAEGTQVLELPPFK (9)
HPP 49	10	22	EQLQDMGLVDFLSPEK (5)
HPP 49	11	7	ATEDEGSEQKIPEATNR (12), HGSPVDICTAKPR (12)
HPP 49	11	14	EVPLNTIIFMGR (7)
HPP 49	11	17	VAEGTQVLELPPFK (14)
HPP 49	11	20	VAEGTQVLELPPFK (7)
HPP 49	11	23	EQLQDMGLVDFLSPEK (6)
HPP 49	12	14	EVPLNTIIFMGR (7)
HPP 49	13	18	ANRPFLVFIR (8), EQLQDMGLVDFLSPEK (9), EVPLNTIIFMGR (8-9), VAEGTQVLELPPFKGDDITMVLILPKPEK (8)
HPP 49	14	17	EQLQDMGLVDFLSPEK (14), FATTFYQHLADSK (15), VAEGTQVLELPPFK (14)
HPP 49	14	18	DDLVSADFHK (8), EQLQDMGLVDFLSPEK (8-9), EVPLNTIIFMGR (9), FATTFYQHLADSK (9), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (9), VAEGTQVLELPPFK (8-9)
HPP 49	14	19	EQLQDMGLVDFLSPEK (9, 11, 12), EVPLNTIIFMGR (11-12), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (11-12), TSDQIHFFFAK (9-10), VAEGTQVLELPPFK (12)
HPP 49	14	20	ANRPFLVFIR (8), ATEDEGSEQKIPEATNR (7)
HPP 49	14	21	EQLQDMGLVDFLSPEK (7-8), GDDITMVLILPKPEK (8), VAEGTQVLELPPFK (8)
HPP 49	14	22	EQLQDMGLVDFLSPEK (6), EVPLNTIIFMGR (6), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (6-7), TSDQIHFFFAK (6), VAEGTQVLELPPFK (6-7)
HPP 49	14	23	ANRPFLVFIR (6), DDLVSADFHK (6), GDDITMVLILPKPEK (6), VAEGTQVLELPPFK (6)
HPP 49	14	24	EQLQDMGLVDFLSPEK (5), EVPLNTIIFMGR (5), VAEGTQVLELPPFK (5)
HPP 49	14	25	DDLVSADFHK (4), EVPLNTIIFMGR (5), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (4), VAEGTQVLELPPFK (5)
HPP 49	14	26	EQLQDMGLVDFLSPEK (4-5), VAEGTQVLELPPFK (4)
HPP 49	14	27	EQLQDMGLVDFLSPEK (4)
HPP 49	14	28	EQLQDMGLVDFLSPEK (6)
HPP 49	14	30	EQLQDMGLVDFLSPEK (5)
HPP 49	15	13	ANRPFLVFIR (8), EVPLNTIIFMGR (11)
HPP 49	15	15	EVPLNTIIFMGR (9), HGSPVDICTAKPR (21)

10

20

30

40

【表 6 1】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 49	15	16	ADGESCASAMMYQEGK (16), ATEDEGSEQKIPEATNR (14, 16), EQLQDMGLVDFLSPEK (12-17), EVPLNTIIFMGR (14-16), FATTFYQHLADSK (14, 17), HGSPVDICTAKPR (16, 18), IEDGFSLKEQLQDMGLVDFLSPEK (14), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (12- 16), TSDQIHFFFAK (15), VAEGTQVLELPPFK (13-14, 17)
HPP 49	15	17	HGSPVDICTAKPR (17)
HPP 49	15	18	ANRPFLVFIR (10-12), DDLYVSDAFHK (10-11), EQLQDMGLVDFLSPEK (9- 12), EVPLNTIIFMGR (10-12), FATTFYQHLADSK (10), FRIEDGFSLK (12), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (9-12), TSDQIHFFFAK (10, 12), VAEGTQVLELPPFK (9-12)
HPP 49	15	19	AFLEVNEEGSEAAASTAVVIAGR (11-12), ANRPFLVFIR (12), ATEDEGSEQKIPEATNR (11-12), DDLYVSDAFHK (12), EQLQDMGLVDFLSPEK (11-13), EVPLNTIIFMGR (11, 13), FATTFYQHLADSK (10-13), HGSPVDICTAKPR (11, 14), IEDGFSLK (12), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (11-13), TSDQIHFFFAK (10-13)
HPP 49	15	20	DDLYVSDAFHK (7), EQLQDMGLVDFLSPEK (7-8), FATTFYQHLADSK (7-8), HGSPVDICTAKPR (7), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (7), VAEGTQVLELPPFK (7-8)
HPP 49	15	21	EQLQDMGLVDFLSPEK (8), FATTFYQHLADSK (7), HGSPVDICTAKPR (8), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (7)
HPP 49	15	22	EQLQDMGLVDFLSPEK (6), EVPLNTIIFMGR (6)
HPP 49	15	24	EQLQDMGLVDFLSPEK (5), FATTFYQHLADSK (5), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (4-5), VAEGTQVLELPPFK (5)
HPP 49	15	25	EVPLNTIIFMGR (5), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (5)
HPP 49	15	26	EQLQDMGLVDFLSPEK (4), EVPLNTIIFMGR (4), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (5), VAEGTQVLELPPFK (3-4)
HPP 49	15	27	ATEDEGSEQKIPEATNR (4), FATTFYQHLADSK (4), LPGIVAEGR (4)
HPP 49	16	14	ANRPFLVFIR (9), EVPLNTIIFMGR (7-9)
HPP 49	16	15	EVPLNTIIFMGR (15)

10

20

30

【表 6 2】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 49	16	17	AFLEVNEEGSEAAASTAVVIAGR (16), ANRPFLVFIR (14-16, 18, 20), ATEDEGSEQKIPEATNR (16, 19, 20), DDLYVSDAFHK (17, 19, 20), EQLQDMGLVDFLSPEK (14-20), EVPLNTIIFMGR (14-21), FATTFYQHLADSK (16-17, 19, 20, 21), FRIEDGFSLK (15), IEDGFSLK (19- 21), IEDGFSLKEQLQDMGLVDFLSPEK (16), LPGIVAEGR (19-21), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (14, 16, 17, 18, 19, 20), TSDQIHFFFAK (15- 16, 19, 20, 21), VAEGTQVLELPPFK (14-15, 19, 20, 21)
HPP 49	16	18	ATEDEGSEQKIPEATNR (8), EQLQDMGLVDFLSPEK (8, 10), EVPLNTIIFMGR (8-11), FATTFYQHLADSK (9, 11), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (8, 10), VAEGTQVLELPPFK (9-10)
HPP 49	16	19	ANRPFLVFIR (8), ATEDEGSEQKIPEATNR (7), EVPLNTIIFMGR (7-8), HGSPVDICTAKPR (8), TSDQIHFFFAK (8)
HPP 49	16	20	ATEDEGSEQKIPEATNR (7), DDLYVSDAFHK (7), EQLQDMGLVDFLSPEK (7-8), EVPLNTIIFMGR (7-8), FATTFYQHLADSK (8), GDDITMVLILPKPEK (7), IEDGFSLK (7), LPGIVAEGR (7), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (8), VAEGTQVLELPPFK (7, 9)
HPP 49	16	21	AFLEVNEEGSEAAASTAVVIAGR (7-8), ANRPFLVFIR (7-9), DDLYVSDAFHK (7), EQLQDMGLVDFLSPEK (7-8), EVPLNTIIFMGR (6-8), FATTFYQHLADSK (7-8), IEDGFSLK (6), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (8), TSDQIHFFFAK (7-8), VAEGTQVLELPPFK (6-8), VAEGTQVLELPPFKGDDITMVLILPKPEK (9)
HPP 49	16	22	ATEDEGSEQKIPEATNR (6), DDLYVSDAFHK (5, 7), EVPLNTIIFMGR (5-6), FATTFYQHLADSK (5, 7), LPGIVAEGR (5), TSDQIHFFFAK (6), VAEGTQVLELPPFK (5-6)
HPP 49	16	23	DDLYVSDAFHK (5), EVPLNTIIFMGR (5), FATTFYQHLADSK (5), IEDGFSLK (5), LPGIVAEGR (5), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (5), VAEGTQVLELPPFK (5)
HPP 49	16	24	DDLYVSDAFHK (3-6), EQLQDMGLVDFLSPEK (3-5), EVPLNTIIFMGR (4-5), FATTFYQHLADSK (3-5), GDDITMVLILPKPEK (4), LPGIVAEGR (3), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (3, 5), TSDQIHFFFAK (4), VAEGTQVLELPPFK (3-4)
HPP 49	16	25	EVPLNTIIFMGR (4-6), LPGIVAEGR (3), LQPLDFKENAEQSR (4), TSDQIHFFFAK (4), VAEGTQVLELPPFK (4-5)
HPP 49	16	26	DDLYVSDAFHK (5), EQLQDMGLVDFLSPEK (7), EVPLNTIIFMGR (5), FATTFYQHLADSK (5), VAEGTQVLELPPFK (5)

10

20

30

40

【表 6 3】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 49	16	27	EVPLNTIIFMGR (5), FATTFYQHLADSK (5), IEDGFSLK (5), VAEGTQVLELPPFK (5)
HPP 49	16	28	EQLQDMGLVDFLSPEK (5), EVPLNTIIFMGR (5-7), FATTFYQHLADSK (4-5, 8), LPGIVAEGR (5)
HPP 49	16	29	DDLYVSDAFHK (4-5), EVPLNTIIFMGR (4-6), FATTFYQHLADSK (4-5)
HPP 49	16	30	DDLYVSDAFHK (4-5), EQLQDMGLVDFLSPEK (4-5), EVPLNTIIFMGR (4, 6), FATTFYQHLADSK (5), LQPLDFK (5), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (4-5)
HPP 49	17	4	HGSPVDICTAKPR (8)
HPP 49	17	6	DIPMNPNCIYR (7), HGSPVDICTAKPR (7-8)
HPP 49	17	7	HGSPVDICTAKPR (8)
HPP 49	17	15	EVPLNTIIFMGR (7)
HPP 49	17	16	EVPLNTIIFMGR (5-7)
HPP 49	17	18	ADGESCSASMMYQEGK (8-9), AFLEVNEEGSEAAASTAVVIAGR (8), ATEDEGSEQKIPEATNR (9), DDLYVSDAFHK (8), EQLQDMGLVDFLSPEK (8-9), EVPLNTIIFMGR (8-9), FATTFYQHLADSK (7-9), GDDITMVLILPKPEK (9), HGSPVDICTAKPR (12), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (7-9), TSDQIHFFFAK (8), VAEGTQVLELPPFK (7-9)
HPP 49	17	19	ATEDEGSEQKIPEATNR (8), EQLQDMGLVDFLSPEK (8-9), EVPLNTIIFMGR (8), FATTFYQHLADSK (8-9), TSDQIHFFFAK (8-9), VAEGTQVLELPPFK (8)
HPP 49	17	20	AFLEVNEEGSEAAASTAVVIAGR (7), DDLYVSDAFHK (7, 9, 10), ELFYK (7), EVPLNTIIFMGR (7, 10), FATTFYQHLADSK (7-9), FDTISEK (7), GDDITMVLILPKPEK (9), HGSPVDICTAKPR (9), IEDGFSLK (9), LPGIVAEGR (7-8, 10, 11), TSDQIHFFFAK (7-8), VAEGTQVLELPPFK (7-11)
HPP 49	17	21	AFLEVNEEGSEAAASTAVVIAGR (7), ANRPFLVFIR (7), ATEDEGSEQKIPEATNR (7), DDLYVSDAFHK (8), DIPMNPNCIYR (7), EQLQDMGLVDFLSPEK (7-9), EVPLNTIIFMGR (7, 9), FATTFYQHLADSK (7- 8), GDDITMVLILPKPEK (7), IEDGFSLK (7), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (7-9), TSDQIHFFFAK (7), VAEGTQVLELPPFK (7-8)
HPP 49	17	22	ANRPFLVFIR (5-6), EQLQDMGLVDFLSPEK (5-6), EVPLNTIIFMGR (5-6), FATTFYQHLADSK (5), IEDGFSLK (5), LPGIVAEGR (5), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (5-6), TSDQIHFFFAK (5), VAEGTQVLELPPFK (5-6)

10

20

30

40

【表 6 4】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 49	17	23	AFLEVNEEGSEAAASTAVVIAGR (5), ATEDEGSEQKIPEATNR (6), EQLQDMGLVDFLSPEK (5-6), EVPLNTIIFMGR (5), FATTFYQHLADSK (5-6), FDTISEK (5), IEDGFSLK (5), LPGIVAEGR (6), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (5-6), VAEGTQVLELPPFK (5-6)
HPP 49	17	24	AFLEVNEEGSEAAASTAVVIAGR (4), ANRPFLVFIR (4-5), ATEDEGSEQKIPEATNR (4), DDLYVSDAFHK (4), EQLQDMGLVDFLSPEK (4), EVPLNTIIFMGR (3-5), FATTFYQHLADSK (4-5), IEDGFSLK (4), LPGIVAEGR (3-4), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (4-6), TSDQIHFFFAK (4), VAEGTQVLELPPFK (4)
HPP 49	17	25	AFLEVNEEGSEAAASTAVVIAGR (4), ANRPFLVFIR (4), ATEDEGSEQKIPEATNR (4-5), DDLYVSDAFHK (4), EQLQDMGLVDFLSPEK (3-5), EVPLNTIIFMGR (4-5), FATTFYQHLADSK (3-5), GDDITMVLILPKPEK (4), IEDGFSLK (4), LPGIVAEGR (4), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (4-5), RVWELSK (4), TSDQIHFFFAK (4), VAEGTQVLELPPFK (3-5), VAEGTQVLELPPFKGDDITMVLILPKPEK (4)
HPP 49	17	26	AFLEVNEEGSEAAASTAVVIAGR (5), ATEDEGSEQKIPEATNR (5), DDLYVSDAFHK (5), EQLQDMGLVDFLSPEK (3-5, 8), EVPLNTIIFMGR (4), FATTFYQHLADSK (3-5), GDDITMVLILPKPEK (4-5), LPGIVAEGR (5), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (5), TSDQIHFFFAK (4), VAEGTQVLELPPFK (4-5, 8)
HPP 49	17	27	ANRPFLVFIR (5), ATEDEGSEQKIPEATNR (6), DDLYVSDAFHK (5), EQLQDMGLVDFLSPEK (4-7), EVPLNTIIFMGR (5-7), FATTFYQHLADSK (5-7), GDDITMVLILPKPEK (4), IEDGFSLK (5), LPGIVAEGR (5), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (5-6), VAEGTQVLELPPFK (5-6)
HPP 49	17	28	ATEDEGSEQKIPEATNR (6), DDLYVSDAFHK (5, 8), EQLQDMGLVDFLSPEK (4-6), EVPLNTIIFMGR (4-7), FATTFYQHLADSK (5-6), GDDITMVLILPKPEK (5), HGSPVDICTAKPR (5), IEDGFSLK (5), LPGIVAEGR (5), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (5-7), TSDQIHFFFAK (5), VAEGTQVLELPPFK (4-6)
HPP 49	17	29	ADGESCSASMMYQEGK (5), ATEDEGSEQKIPEATNR (5), EQLQDMGLVDFLSPEK (5-6, 8), EVPLNTIIFMGR (5-7), FATTFYQHLADSK (5, 7), IEDGFSLK (5), LPGIVAEGR (5), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (5-6), TSDQIHFFFAK (5), VAEGTQVLELPPFK (5-6)
HPP 49	17	30	ATEDEGSEQKIPEATNR (5-6), EQLQDMGLVDFLSPEK (5-6), EVPLNTIIFMGR (5-6), FATTFYQHLADSK (5-6), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (5-6)

10

20

30

40

【表 6 5】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2 フラクション)
HPP 49	18	13	ANRPFLVFIR (8)
HPP 49	18	18	ANRPFLVFIR (9), EQLQDMGLVDFLSPEK (8), EVPLNTIIFMGR (8-9), IEDGFSLK (8-9), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (9), TSDQIHFFFAK (8-9), VAEGTQVLELPFK (8-9)
HPP 49	18	19	DDLVSADFHK (9), EQLQDMGLVDFLSPEK (9-11), EVPLNTIIFMGR (8-10), FATTFYQHLADSK (9), GDDITMVLILPKPEK (9), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (9), TSDQIHFFFAK (9), VAEGTQVLELPFK (8-9)
HPP 49	18	20	ATEDEGSEQKIPEATNR (7), EQLQDMGLVDFLSPEK (7), EVPLNTIIFMGR (7), FATTFYQHLADSK (7), GDDITMVLILPKPEK (7), HGSPVDICTAKPR (7), TSDQIHFFFAK (7)
HPP 49	18	21	ATEDEGSEQKIPEATNR (7), EQLQDMGLVDFLSPEK (7), EVPLNTIIFMGR (7), FATTFYQHLADSK (7), IEDGFSLK (7), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (7), VAEGTQVLELPFK (7)
HPP 49	18	22	ANRPFLVFIR (6), EQLQDMGLVDFLSPEK (5), EVPLNTIIFMGR (5), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (6), TSDQIHFFFAK (6), VAEGTQVLELPFK (5-6)
HPP 49	18	23	EQLQDMGLVDFLSPEK (5-6), EVPLNTIIFMGR (5-6), FATTFYQHLADSK (6), TSDQIHFFFAK (6), VAEGTQVLELPFK (5-6)
HPP 49	18	24	EQLQDMGLVDFLSPEK (4), EVPLNTIIFMGR (4), FATTFYQHLADSK (4), IEDGFSLK (4), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (4), VAEGTQVLELPFK (3)
HPP 49	18	25	ANRPFLVFIR (4), EQLQDMGLVDFLSPEK (4), EVPLNTIIFMGR (4), GDDITMVLILPKPEK (4), HGSPVDICTAKPR (4), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (4), TSDQIHFFFAK (4), VAEGTQVLELPFK (4)
HPP 49	18	26	ANRPFLVFIR (5), ATEDEGSEQKIPEATNR (5), DDLVSADFHK (5), EQLQDMGLVDFLSPEK (5), EVPLNTIIFMGR (5), FATTFYQHLADSK (5), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (5-6), VAEGTQVLELPFK (4-5)
HPP 49	18	27	AFLEVNEEGSEAAASTAVVIAGR (5), EQLQDMGLVDFLSPEK (5), FATTFYQHLADSK (5), RVWELSK (5), TSDQIHFFFAK (5)
HPP 49	18	28	ANRPFLVFIR (5), EQLQDMGLVDFLSPEK (5), EVPLNTIIFMGR (5), FATTFYQHLADSK (5), GDDITMVLILPKPEK (5), IEDGFSLK (5), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (5), TSDQIHFFFAK (5), VAEGTQVLELPFK (5)
HPP 49	18	29	ANRPFLVFIR (5), EQLQDMGLVDFLSPEK (4), EVPLNTIIFMGR (4-5), NDNDNIFLSPLSISTAFAMTK (5), TSDQIHFFFAK (5)

10

20

30

40

【表 6 6】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 49	18	30	ANRPFLVFIR (5), ATEDEGSEQKIPEATNR (5), EQLQDMGLVDLFSPEK (5), EVPLNTIIFMGR (5), HGSPVDICTAKPR (5)
HPP 50	1	7	GPTGTGESKCPLMK (8), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (19, 21), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (19, 21), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (19, 21)
HPP 50	1	8	YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11-13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11-13)
HPP 50	1	9	RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (12)
HPP 50	1	10	ALGISPFHEHAEVFTANDSGPR (11), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8, 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8)
HPP 50	1	11	AADDTWEPFASGK (20), GPTGTGESKCPLMK (8), GSPAINVAVHVFR (15-16, 18, 19), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9)
HPP 50	1	12	AADDTWEPFASGK (12-14), GSPAINVAVHVFR (15)
HPP 50	1	13	AADDTWEPFASGK (19), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPR (16-17), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (21), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (17), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (19, 21)
HPP 50	1	15	AADDTWEPFASGK (8), GSPAINVAVHVFR (8-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (18)
HPP 50	1	16	ALGISPFHEHAEVFTANDSGPR (7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7)
HPP 50	1	19	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7)
HPP 50	1	22	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4)
HPP 50	1	24	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3)
HPP 50	2	7	AADDTWEPFASGK (21), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (16), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (16, 19, 20, 21, 23), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (19-21)
HPP 50	2	8	AADDTWEPFASGK (15), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-10, 12, 15, 16), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-10, 12, 13, 14, 15, 17), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-11, 13, 15, 16)
HPP 50	2	9	AADDTWEPFASGK (18, 20, 21), GSPAINVAVHVFR (18-22), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (12-13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (15-16), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9, 12, 13, 15, 16, 17)
HPP 50	2	10	AADDTWEPFASGK (12-16), GSPAINVAVHVFR (12-15, 18), KAADDTWEPFASGK (14), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-10)

10

20

30

40

【表 6 7】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 50	2	11	AADDWPEPFASGK (10), GSPAINVAVHVFR (9-10, 12, 15), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (16, 24)
HPP 50	2	12	AADDWPEPFASGK (20), GSPAINVAVHVFR (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (17-18)
HPP 50	2	13	AADDWPEPFASGK (17, 23, 24), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (16-18), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (17), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (17- 18), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (12, 17)
HPP 50	2	14	AADDWPEPFASGK (10, 20), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (10, 20), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (10)
HPP 50	2	15	AADDWPEPFASGK (11-13, 15, 18, 20), GSPAINVAVHVFR (12), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (11- 12, 14, 16, 17, 18, 20), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (13, 17)
HPP 50	2	16	AADDWPEPFASGK (8-9, 14), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (12, 20)
HPP 50	2	18	GSPAINVAVHVFR (6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (6, 8)
HPP 50	2	19	GSPAINVAVHVFR (8)
HPP 50	2	20	AADDWPEPFASGK (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7)
HPP 50	2	21	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7, 10)
HPP 50	2	22	AADDWPEPFASGK (7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3-4, 6, 9), GSPAINVAVHVFR (3, 6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-4, 6, 7, 8, 9)
HPP 50	2	23	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (4)
HPP 50	2	25	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3)
HPP 50	3	9	GSPAINVAVHVFR (10-13), GSPAINVAVHVFRK (13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (13)
HPP 50	3	10	ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (9-11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (9- 10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (10-11)
HPP 50	3	11	AADDWPEPFASGK (10-14), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (11-14), GSPAINVAVHVFR (10-13), KAADDWPEPFASGK (10-12), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (12, 14)
HPP 50	3	12	AADDWPEPFASGK (7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (8), GSPAINVAVHVFR (7-10), GSPAINVAVHVFRK (8), KAADDWPEPFASGK (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (7-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (8)
HPP 50	3	13	AADDWPEPFASGK (8, 12, 13), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (8-9), GSPAINVAVHVFR (8-11, 13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (9, 12, 13, 14)

10

20

30

40

【表 6 8】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	3	14	ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (10), VEIDTKSYWK (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8)
HPP 50	3	15	AADDWEPFASGK (10), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (9-12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9)
HPP 50	3	16	AADDWEPFASGK (8-9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (8-10), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (8), GSPAINVAVHVFR (8-9), KAADDWEPFASGK (8-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8-9), VEIDTKSYWK (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9)
HPP 50	3	17	AADDWEPFASGK (8-11, 14), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-11), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (9), GSPAINVAVHVFR (8-12), GSPAINVAVHVFRK (9), KAADDWEPFASGK (8-11), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8, 10), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-10)
HPP 50	3	18	AADDWEPFASGK (6-8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7), CPLMVKVLDVAVR (7), GSPAINVAVHVFR (8), GSPAINVAVHVFRK (8), KAADDWEPFASGK (8), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (6-7, 9), VLDVAVR (7-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6)
HPP 50	3	19	AADDWEPFASGK (7-8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-10), KAADDWEPFASGK (8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-8)
HPP 50	3	20	AADDWEPFASGK (5-6, 8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (6), GSPAINVAVHVFR (5-6), GSPAINVAVHVFRK (7), KAADDWEPFASGK (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5, 7, 8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7)
HPP 50	3	21	AADDWEPFASGK (6, 8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (6-7), GSPAINVAVHVFR (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (6, 8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7)
HPP 50	3	22	AADDWEPFASGK (4-5), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-5)
HPP 50	3	23	AADDWEPFASGK (4-5), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7), GSPAINVAVHVFRK (5), KAADDWEPFASGK (5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3, 7, 9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3, 9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-6, 8)

10

20

30

40

【表 6 9】

Table 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	3	24	AADDTWEPFASGK (3-4), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (2), GSPAINVAVHVFR (2-4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2)
HPP 50	3	25	AADDTWEPFASGK (3), GSPAINVAVHVFR (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2)
HPP 50	3	27	ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2)
HPP 50	3	28	ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3)
HPP 50	4	9	GSPAINVAVHVFR (10-11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11-13)
HPP 50	4	10	RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9)
HPP 50	4	11	AADDTWEPFASGK (11-12), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (11-13), GSPAINVAVHVFR (10, 12), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9, 11, 12, 13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11-12)
HPP 50	4	12	AADDTWEPFASGK (8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7, 9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (7), GSPAINVAVHVFR (8-9), GSPAINVAVHVFRK (7-8), VLDVAVRGSPAINVAVHVFR (7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8)
HPP 50	4	13	AADDTWEPFASGK (8, 11), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (8), GSPAINVAVHVFR (8, 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9, 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8)
HPP 50	4	14	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8)
HPP 50	4	15	AADDTWEPFASGK (9-12, 14), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (9, 11, 12, 13), GSPAINVAVHVFR (9-10), KAADDTWEPFASGK (9-10), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9, 11, 12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (9-15), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10-12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10-13)
HPP 50	4	16	AADDTWEPFASGK (7, 9, 10, 11, 12, 13), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-12), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (8), GSPAINVAVHVFR (8-9), GSPAINVAVHVFRK (9), KAADDTWEPFASGK (9-11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-13), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-10, 12)

10

20

30

40

【表 7 0】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	4	17	AADDTWEPFASGK (8-13, 15), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-13, 16), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (8-9), CPLMVKVLDAVR (12), GSPAINVAVHVFR (7-12, 16), GSPAINVAVHVFRK (8-10), KAADDTWEPFASGK (8-10, 12, 14), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11, 14), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8-17), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (8-10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8- 13, 16)
HPP 50	4	18	AADDTWEPFASGK (7-10), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-10), CPLMVK (7), GSPAINVAVHVFR (6, 8), GSPAINVAVHVFRK (7), KAADDTWEPFASGK (7-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (6-10, 12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6, 8, 9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7)
HPP 50	4	19	AADDTWEPFASGK (7-8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-9), GSPAINVAVHVFR (7-9), KAADDTWEPFASGK (8), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-9)
HPP 50	4	20	AADDTWEPFASGK (5-8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5, 7, 8), GSPAINVAVHVFR (5-8), KAADDTWEPFASGK (7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7)
HPP 50	4	22	GSPAINVAVHVFR (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5, 7, 8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5)
HPP 50	4	23	AADDTWEPFASGK (3-7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3, 7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (5), GSPAINVAVHVFR (3-6, 8), GSPAINVAVHVFRK (5), KAADDTWEPFASGK (4-5), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-10, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3, 7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3, 5)
HPP 50	4	24	AADDTWEPFASGK (2-3), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (2), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-4, 7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2- 3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2)
HPP 50	4	25	AADDTWEPFASGK (2-3), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (2), GSPAINVAVHVFR (2-3), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2)
HPP 50	4	26	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-3)

10

20

30

40

【表 7 1】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	4	27	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2)
HPP 50	5	9	CPLMVK (7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11)
HPP 50	5	10	GSPAINVAVHVFR (9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9)
HPP 50	5	11	ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (11-12), GSPAINVAVHVFR (9-10), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10-11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-12)
HPP 50	5	12	AADDTWEPFASGK (7-8), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (7), GSPAINVAVHVFR (7-8), KAADDTWEPFASGK (7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7), VLDAVR (7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-8)
HPP 50	5	13	AADDTWEPFASGK (9), GSPAINVAVHVFR (7, 9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7, 10)
HPP 50	5	14	AADDTWEPFASGK (7-8), GPTGTGESKCPLMVK (4), GSPAINVAVHVFR (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-9), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (4-5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9)
HPP 50	5	15	AADDTWEPFASGK (9-12), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (9-12), GSPAINVAVHVFR (9-11, 13), GSPAINVAVHVFRK (10-12), KAADDTWEPFASGK (10-11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8, 10, 11, 12, 13, 17), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6, 9, 10, 11, 12, 13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9)
HPP 50	5	16	AADDTWEPFASGK (4, 7, 9, 10, 11, 13, 14, 15), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (4, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 16), CPLMVK/VLDAVR (11-12), GSPAINVAVHVFR (3, 10, 11, 14, 16), KAADDTWEPFASGK (11-12), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4, 10, 14), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-14, 16, 17), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 17), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10-11, 15)

10

20

30

40

【表 7 2】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	5	17	AADDTWEPFASGK (4, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14), CPLMVKVLDAVR (10-12), GPTGTGESKCPLMVK (10), GSPAINVAVHVFR (4-5, 8, 9, 10, 11, 12, 14), GSPAINVAVHVFRK (9), KAADDTWEPFASGK (8- 13), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4, 11, 12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8-15), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-5, 8, 9, 10, 11, 12, 14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4, 8, 10, 11)
HPP 50	5	18	AADDTWEPFASGK (6, 8, 9), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (6-8), GSPAINVAVHVFR (6-9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6, 9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-9), VLDAVR (7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9)
HPP 50	5	19	AADDTWEPFASGK (5-8), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (6-7), GSPAINVAVHVFR (5-7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-6, 8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5)
HPP 50	5	20	AADDTWEPFASGK (4-8), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (3-7), CPLMVK (6), GSPAINVAVHVFR (4-8), KAADDTWEPFASGK (4, 6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6)
HPP 50	5	21	AADDTWEPFASGK (4-8), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (4-8), CPLMVK (4), GSPAINVAVHVFR (3-8), GSPAINVAVHVFRK (6), KAADDTWEPFASGK (6), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-8), VEIDTK (5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-7)
HPP 50	5	22	AADDTWEPFASGK (3-6), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (3-6), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPRR (3-5), GPTGTGESKCPLMVK (4), GSPAINVAVHVFR (3-6), GSPAINVAVHVFRK (4-5), KAADDTWEPFASGK (3-5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (3-4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-6)
HPP 50	5	23	AADDTWEPFASGK (3-7), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (3-5, 8, 9), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPRR (4), CPLMVKVLDAVR (4-5), GSPAINVAVHVFR (3-7), GSPAINVAVHVFRK (4-5), KAADDTWEPFASGK (3-5), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-5, 7, 8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-5, 7, 8, 9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3, 5, 7, 8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4, 6)

10

20

30

40

【表 7 3】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	5	24	AADDWPEPFASGK (1, 3, 5), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (1-3, 5), GSPAINVAVHVFR (1-2, 5), KAADDWPEPFASGK (1-2), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1, 3), SYWK (2), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1-3, 5)
HPP 50	5	25	AADDWPEPFASGK (1-4, 7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (2-4), GSPAINVAVHVFR (1-3, 8), KAADDWPEPFASGK (2), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-3, 7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3- 4)
HPP 50	5	26	AADDWPEPFASGK (1-2), CPLMVK (2), GSPAINVAVHVFR (2), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2, 4)
HPP 50	5	27	ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (2), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2)
HPP 50	5	28	AADDWPEPFASGK (2-5), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (4), GSPAINVAVHVFR (3-4), GSPAINVAVHVFRK (3), KAADDWPEPFASGK (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3)
HPP 50	5	29	AADDWPEPFASGK (3-4), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3-4), GSPAINVAVHVFR (3), KAADDWPEPFASGK (3-4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4)
HPP 50	5	30	AADDWPEPFASGK (3-4), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3), CPLMVK (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-4)
HPP 50	6	5	CPLMVK (12)
HPP 50	6	6	CPLMVK (7-8), GPTGTGESKCPLMVK (8)
HPP 50	6	8	YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9)
HPP 50	6	9	GSPAINVAVHVFR (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10, 13, 14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11)
HPP 50	6	10	ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (8-10), CPLMVK (5), GSPAINVAVHVFR (8), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9, 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-10)
HPP 50	6	11	AADDWPEPFASGK (9-10), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (8-11), GSPAINVAVHVFR (9-11), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8- 13)

10

20

30

40

【表 7 4】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	6	12	AADDWEPFASGK (9), GSPAINVAVHVFR (8-9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (9-11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7)
HPP 50	6	13	AADDWEPFASGK (9, 11, 12, 13, 14), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (12-15), GSPAINVAVHVFR (8-11, 13), GSPAINVAVHVFRK (7), KAADDWEPFASGK (12-13), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8, 11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (10, 12, 13, 14, 15, 16), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8, 11, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10, 12)
HPP 50	6	14	AADDWEPFASGK (8-12), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (8-12, 15), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPRR (8-9), GSPAINVAVHVFR (8-12), GSPAINVAVHVFRK (8-9), KAADDWEPFASGK (8-11), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8-16), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9, 11)
HPP 50	6	15	AADDWEPFASGK (8-15), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (9-16, 18), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPRR (11-12, 14), GPTGTGESKCPLMVK (9- 10, 12, 13, 14), GSPAINVAVHVFR (9-13, 15, 16), GSPAINVAVHVFRK (9- 14), KAADDWEPFASGK (8-15), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11-14, 16), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (9-13), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (9-12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9, 11, 12)
HPP 50	6	16	AADDWEPFASGK (7-12), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (7-12), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPRR (8-9), CPLMVKVLDAVR (11), GPTGTGESKCPLMVK (8-9), GSPAINVAVHVFR (7-11), GSPAINVAVHVFRK (8-9), KAADDWEPFASGK (7-11), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (8-9), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-10, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-12)

10

20

30

40

【表 7 5】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	6	17	AADDTWEPFASGK (7-13), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPR (7-13), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPRR (7-9), GPTGTGESK (9), GPTGTGESKCPLMVK (7-10), GSPAINVAVHVFR (7-12), GSPAINVAVHVFRK (7-12), KAADDTWEPFASGK (7-12), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8- 13), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (7-8, 11), VEIDTK (10), VLDVARGSPAINVAVHVFR (7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (7-12)
HPP 50	6	18	AADDTWEPFASGK (5-9), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPR (5-9), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPRR (6-7, 9), CPLMVK (5), CPLMVKVLDVAVR (8-9), GPTGTGESKCPLMVK (6-7), GSPAINVAVHVFR (5, 7, 8, 10), GSPAINVAVHVFRK (7, 9), KAADDTWEPFASGK (5-7, 9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (6-7), VLDVARGSPAINVAVHVFR (6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-8, 10, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (6-7, 9)
HPP 50	6	19	AADDTWEPFASGK (5-11, 13), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPR (5, 7, 8, 9, 10, 11, 12), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPRR (5, 7), CPLMVKVLDVAVR (7- 9, 12), GPTGTGESKCPLMVK (6-8), GSPAINVAVHVFR (5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13), GSPAINVAVHVFRK (6-7), KAADDTWEPFASGK (5, 7, 9, 10), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7, 10, 11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-13), VLDVARGSPAINVAVHVFR (6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5, 7, 8, 9, 10, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (6, 8, 10)
HPP 50	6	20	AADDTWEPFASGK (5-8), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPR (5-9, 11), GPTGTGESKCPLMVK (5-6), GSPAINVAVHVFR (5-9), GSPAINVAVHVFRK (5), KAADDTWEPFASGK (5-6), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-7, 9, 10, 11, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-6, 8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (5)
HPP 50	6	21	AADDTWEPFASGK (5-7), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPR (4-9), CPLMVKVLDVAVR (7), GPTGTGESKCPLMVK (5), GSPAINVAVHVFR (5-9), GSPAINVAVHVFRK (6), KAADDTWEPFASGK (5, 7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4, 6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4- 12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (5-6), VLDVAVR (6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (4-6, 8)

10

20

30

40

【表 7 6】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 50	6	22	AADDTWEPFASGK (4-5), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (4-5), CPLMVK (4), GPTGTGESKCPLMVK (4), GSPAINVAVHVFR (4-6), GSPAINVAVHVFRK (4-5), KAADDTWEPFASGK (5), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-5, 9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-6, 8, 9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-6)
HPP 50	6	23	AADDTWEPFASGK (3-6, 8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (4-5), CPLMVK (4), GSPAINVAVHVFR (3-5), KAADDTWEPFASGK (3), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-6, 8, 9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (3-4), VLDVR (3-4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4, 6, 8)
HPP 50	6	24	AADDTWEPFASGK (2-4, 6), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (2-3, 5), GSPAINVAVHVFR (2-3), KAADDTWEPFASGK (2-3), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2)
HPP 50	6	25	ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (2-3), KAADDTWEPFASGK (2), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1, 3, 4, 5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3)
HPP 50	7	4	CPLMVK (9-10, 13), GPTGTGESKCPLMVK (9-10, 13)
HPP 50	7	5	GPTGTGESKCPLMVK (9-10, 12, 13, 14)
HPP 50	7	6	CPLMVK (8), GPTGTGESKCPLMVK (7, 9)
HPP 50	7	7	GPTGTGESKCPLMVK (8)
HPP 50	7	8	GPTGTGESKCPLMVK (7), GSPAINVAVHVFR (9-10), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10-11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10, 12)
HPP 50	7	9	GPTGTGESKCPLMVK (6), GSPAINVAVHVFR (9-10), GSPAINVAVHVFRK (9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10-11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (12)
HPP 50	7	10	AADDTWEPFASGK (9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (9-12), GPTGTGESKCPLMVK (5-6), GSPAINVAVHVFR (8, 11), KAADDTWEPFASGK (9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8, 10)

10

20

30

40

【表 7 7】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 50	7	11	AADDTWEPFASGK (10-12, 16, 17), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (10-11), GPTGTGESKCPLMVK (6), GSPAINVAVHVFR (10, 12, 17), KAADDTWEPFASGK (11), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11-12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (17), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9, 11, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10, 12)
HPP 50	7	12	AADDTWEPFASGK (7-10, 13, 14), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (8-9, 13, 15), GSPAINVAVHVFR (7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15), KAADDTWEPFASGK (8, 11, 13), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11-12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (9, 12, 14, 16), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7, 10)
HPP 50	7	13	AADDTWEPFASGK (11, 14, 15, 16, 18, 19), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (14-20), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (15), GSPAINVAVHVFR (11, 14, 16, 19, 20), KAADDTWEPFASGK (14-17, 20), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (14-17, 19), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (19), VLDAVR (19), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (14-18), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (14-15, 19, 20)
HPP 50	7	14	AADDTWEPFASGK (8-15), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (8-15), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (9), GPTGTGESKCPLMVK (14-15), GSPAINVAVHVFR (8-15), GSPAINVAVHVFRK (9-10, 12, 13), KAADDTWEPFASGK (9-12, 14), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8-15), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (9), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-11, 15), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9, 11, 12)
HPP 50	7	15	AADDTWEPFASGK (9-17), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (9-18), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (9, 12, 13, 14), CPLMVK (13), GPTGTGESKCPLMVK (11-15), GSPAINVAVHVFR (9-17), GSPAINVAVHVFRK (9-10, 12, 16, 17), KAADDTWEPFASGK (9-17), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10-11, 13, 14, 15, 16, 17), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (9-18), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (9, 11, 12), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (11, 14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10-17), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9, 11, 12, 13, 14, 15, 16)

10

20

30

40

【表 7 8】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	7	16	AADDTWEPFASGK (7-13), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-14), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (8-10), CPLMVK (12), GPTGTGESKCPLMVK (8-10), GSPAINVAVHVFR (7-14), GSPAINVAVHVFRK (7-12), KAADDTWEPFASGK (7-12), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7, 9, 10, 11, 13), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-17, 21, 22), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (8, 10), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (7-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (7-14)
HPP 50	7	17	AADDTWEPFASGK (7-14), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-15), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (8-10), CPLMVK (6, 9, 10, 11), CPLMVKVLDAVR (10), GPTGTGESKCPLMVK (8-10), GSPAINVAVHVFR (7-14), GSPAINVAVHVFRK (8-11, 13), KAADDTWEPFASGK (7-11), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-11, 13, 14), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-14, 16, 17, 18), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (9-10, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (8- 11, 13, 15)
HPP 50	7	18	AADDTWEPFASGK (5-6, 8, 9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5-10), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (5, 7), GPTGTGESKCPLMVK (6-7), GSPAINVAVHVFR (6-8), GSPAINVAVHVFRK (5-6), KAADDTWEPFASGK (5-7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5, 7, 8, 9, 10, 11, 12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (5-7), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (5-6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (5-8)
HPP 50	7	19	AADDTWEPFASGK (6-11), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-10), CPLMVKVLDAVR (7), GPTGTGESKCPLMVK (6), GSPAINVAVHVFR (6-8, 10, 12, 18), GSPAINVAVHVFRK (6-8), KAADDTWEPFASGK (6-8), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-15), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-9, 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (8)

10

20

30

40

【表 7 9】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 50	7	20	AADDTWEPFASGK (4-6, 11), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5-7, 10, 11), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (6), CPLMVKVLDAVR (7), GPTGTGESKCPLMVK (5-6), GSPAINVAVHVFR (5-6, 8), GSPAINVAVHVFRK (5-6), KAADDTWEPFASGK (5-6), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6, 11)
HPP 50	7	21	AADDTWEPFASGK (4-7, 9, 11), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5-6, 9, 10, 11, 12), GPTGTGESKCPLMVK (5-6), GSPAINVAVHVFR (5, 8, 9, 12), GSPAINVAVHVFRK (5), KAADDTWEPFASGK (5-6, 8), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-9, 11, 12, 13, 14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-6, 10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5)
HPP 50	7	22	AADDTWEPFASGK (3-8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3-5), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (5), GPTGTGESKCPLMVK (4-5), GSPAINVAVHVFR (3-7), GSPAINVAVHVFRK (3-5), KAADDTWEPFASGK (3-5), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4, 6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (4), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-8)
HPP 50	7	23	AADDTWEPFASGK (3-6, 9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3-7, 9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (3-6), GPTGTGESKCPLMVK (4-5), GSPAINVAVHVFR (3, 5, 6), GSPAINVAVHVFRK (3, 5, 6), KAADDTWEPFASGK (3-7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3, 6, 7, 8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (3, 5), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-7)
HPP 50	7	24	AADDTWEPFASGK (1-7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (1-5, 7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (1, 3), GSPAINVAVHVFR (1-7), GSPAINVAVHVFRK (3), KAADDTWEPFASGK (1-2, 4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1-5, 7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (3-4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1, 3, 5, 6, 7)

10

20

30

40

【表 8 0】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	7	25	AADDTWEPFASGK (1-5), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (1-4), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (3), GPTGTGESKCPLMVK (2-3), GSPAINVAVHVFR (1-4), GSPAINVAVHVFRK (2-4), KAADDTWEPFASGK (2-4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1-2), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (2), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1-3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-3)
HPP 50	7	26	AADDTWEPFASGK (1-3), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (1-3), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (2-3), GPTGTGESKCPLMVK (3), GSPAINVAVHVFR (1-3), KAADDTWEPFASGK (1-2), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-4), VLDVARGSPAINVAVHVFR (3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1-2), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-3)
HPP 50	7	27	AADDTWEPFASGK (1-4), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (2-3), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (1-2), GPTGTGESKCPLMVK (1-2), GSPAINVAVHVFR (1-4), GSPAINVAVHVFRK (2), KAADDTWEPFASGK (1- 2), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (2), VLDVARGSPAINVAVHVFR (1), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1, 3)
HPP 50	7	28	AADDTWEPFASGK (3-4), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3-4), CPLMVK (3), GSPAINVAVHVFR (3-4), KAADDTWEPFASGK (3-4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-4), VLDVAVR (3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3)
HPP 50	7	29	AADDTWEPFASGK (3)
HPP 50	7	30	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3)
HPP 50	8	6	GPTGTGESKCPLMVK (7, 9)
HPP 50	8	10	GSPAINVAVHVFR (6), GSPAINVAVHVFRK (7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-8)
HPP 50	8	11	ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (9-10), GSPAINVAVHVFR (9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7, 9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8- 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-8)
HPP 50	8	12	AADDTWEPFASGK (7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (6-8), GSPAINVAVHVFR (6-8), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-8)

10

20

30

40

【表 8 1】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	8	13	AADDTWEPFASGK (6), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (6-8), GSPAINVAVHVFR (6, 9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6)
HPP 50	8	14	AADDTWEPFASGK (7), GSPAINVAVHVFR (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7)
HPP 50	8	15	AADDTWEPFASGK (8-10, 15, 16, 17), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (8- 11), GPTGTGESKCPLMVK (12), GSPAINVAVHVFR (8-9, 11, 14, 15), GSPAINVAVHVFRK (9), KAADDTWEPFASGK (9-10, 15), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8-12, 14, 15), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9- 10)
HPP 50	8	16	AADDTWEPFASGK (6-9), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (7-9), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPRR (8), CPLMVK (7-8), GPTGTGESKCPLMVK (7-8), GSPAINVAVHVFR (7-9), KAADDTWEPFASGK (7-8), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (7-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9)
HPP 50	8	17	AADDTWEPFASGK (6-9), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (6-9), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPRR (7), GPTGTGESKCPLMVK (6-8), GSPAINVAVHVFR (6-8), GSPAINVAVHVFRK (6-9), KAADDTWEPFASGK (6-7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (6-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (7-9), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-8)
HPP 50	8	18	AADDTWEPFASGK (4-8), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (5-8), CPLMVKVLDAVR (6), GSPAINVAVHVFR (4, 6, 7, 8), GSPAINVAVHVFRK (5, 8), KAADDTWEPFASGK (4, 6, 7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (6), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-7)

10

20

30

40

【表 8 2】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	8	19	AADDTWEPFASGK (5-10), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (6-10), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (7-8), CPLMVK (6), GPTGTGESKCPLMVK (7), GSPAINVAVHVFR (6-9), GSPAINVAVHVFRK (6), KAADDTWEPFASGK (5-8), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-6, 8, 9, 11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (6-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-9)
HPP 50	8	20	AADDTWEPFASGK (4-7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (6-7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (7), CPLMVK (5), CPLMVKVLDVAVR (6), GSPAINVAVHVFR (4, 6, 7), GSPAINVAVHVFRK (7), KAADDTWEPFASGK (6-7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-7, 9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4, 6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-7)
HPP 50	8	21	AADDTWEPFASGK (4-8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5-7, 10), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (8), GSPAINVAVHVFR (5-6), KAADDTWEPFASGK (5-7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-5, 7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-9, 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4- 7, 10, 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-7, 10)
HPP 50	8	22	AADDTWEPFASGK (3, 5, 6, 7, 10, 12), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3- 7), CPLMVK (4), GSPAINVAVHVFR (3-6), KAADDTWEPFASGK (4-5), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3- 10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3, 5, 6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3, 7)
HPP 50	8	23	AADDTWEPFASGK (3-5), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3-4), GPTGTGESKCPLMVK (4), GSPAINVAVHVFR (3, 7), KAADDTWEPFASGK (3, 5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3, 6), VLDVAVRGSPAINVAVHVFR (4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3- 4)
HPP 50	8	24	AADDTWEPFASGK (1-4, 6), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (1-5, 8), GSPAINVAVHVFR (1-2, 5, 7), KAADDTWEPFASGK (1-3), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2, 5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-5, 8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-5, 8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-5)

10

20

30

40

【表 8 3】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	8	25	AADDTWEPFASGK (2), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (2), GSPAINVAVHVFR (2-3), GSPAINVAVHVFRK (3), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-3)
HPP 50	8	30	GSPAINVAVHVFR (3)
HPP 50	9	5	CPLMVK (9, 13), GPTGTGESKCPLMVK (9, 13)
HPP 50	9	6	CPLMVK (7), GPTGTGESKCPLMVK (7-8)
HPP 50	9	9	RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10-11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10-11, 13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10-11)
HPP 50	9	10	GSPAINVAVHVFR (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9)
HPP 50	9	11	AADDTWEPFASGK (11), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (11), GSPAINVAVHVFRK (12), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11)
HPP 50	9	12	ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8)
HPP 50	9	13	AADDTWEPFASGK (15, 17, 18), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (15-17), GSPAINVAVHVFR (14-16), KAADDTWEPFASGK (15-16), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (14-16), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (12, 14, 15), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (15), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (15-18), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (14, 18)
HPP 50	9	14	AADDTWEPFASGK (8-9, 12, 15), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (9, 12, 14), GPTGTGESKCPLMVK (14), GSPAINVAVHVFR (10-14), KAADDTWEPFASGK (11-13), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11-12, 14), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8-15), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10- 11, 13, 14)
HPP 50	9	15	AADDTWEPFASGK (9-17, 19), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (9-17), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (12, 14), CPLMVK (10-11), GPTGTGESKCPLMVK (12-15), GSPAINVAVHVFR (10-17), GSPAINVAVHVFRK (10-12, 14, 15), KAADDTWEPFASGK (10-17), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9, 11, 13, 14, 16, 17), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8-19), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-11, 13, 14, 15, 16, 17), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (12, 14)

10

20

30

40

【表 8 4】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	9	16	AADDTWEPFASGK (7-16), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-15), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (9), CPLMVK (9), CPLMVKVLDAVR (10-11), GPTGTGESK (7), GPTGTGESKCPLMVK (8), GSPAINVAVHVFR (7-10, 12, 13, 14), GSPAINVAVHVFRK (7-8), KAADDTWEPFASGK (7-15), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-17), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (9-10, 14), VLDAVR (10, 14), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-17), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-16)
HPP 50	9	17	AADDTWEPFASGK (7-11, 14, 15), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-12, 14, 15), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (8), GPTGTGESKCPLMVK (8), GSPAINVAVHVFR (7-14), GSPAINVAVHVFRK (9), KAADDTWEPFASGK (7, 9, 11, 13), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7, 9, 10, 11, 12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (8-10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-12, 14, 15), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-12, 16)
HPP 50	9	18	AADDTWEPFASGK (6-7, 9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (6-9, 11), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (6-7), CPLMVKVLDAVR (7-8), GPTGTGESKCPLMVK (7), GSPAINVAVHVFR (6-8), GSPAINVAVHVFRK (7), KAADDTWEPFASGK (7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-10, 13), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (6-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-9, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-8)
HPP 50	9	19	AADDTWEPFASGK (5-8, 12), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5-8, 10, 11), GSPAINVAVHVFR (5-7), KAADDTWEPFASGK (5), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-7, 11, 12, 13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-10, 12)
HPP 50	9	20	AADDTWEPFASGK (5-8, 10, 11), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (4-8), CPLMVK (6), GSPAINVAVHVFR (5-7), KAADDTWEPFASGK (6), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-12, 15), VEIDTK (5-6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-8, 11)

10

20

30

40

【表 8 5】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	9	21	AADDWEPFASGK (5-7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (4-8), CPLMVK (5), GSPAINVAVHVFR (4-7), KAADDWEPFASGK (4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-8, 10), VEIDTK (6-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-6)
HPP 50	9	22	AADDWEPFASGK (4-5), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3-4), GSPAINVAVHVFR (3), KAADDWEPFASGK (4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4)
HPP 50	9	23	AADDWEPFASGK (3-5, 7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (4), KAADDWEPFASGK (4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-5, 7, 10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4)
HPP 50	9	24	AADDWEPFASGK (1, 5), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (2), KAADDWEPFASGK (1), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-2, 4, 5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1-2), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1-2, 5)
HPP 50	9	25	AADDWEPFASGK (1), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3-4), GSPAINVAVHVFR (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2, 6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3)
HPP 50	9	26	AADDWEPFASGK (2), GSPAINVAVHVFR (2), KAADDWEPFASGK (2), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2)
HPP 50	9	27	AADDWEPFASGK (1)
HPP 50	9	28	AADDWEPFASGK (3)
HPP 50	9	30	AADDWEPFASGK (3-4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-4), VLDAVR (4)
HPP 50	10	5	GPTGTGESKCPLMVK (16)
HPP 50	10	9	YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (12)
HPP 50	10	14	AADDWEPFASGK (9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (9, 11)
HPP 50	10	15	AADDWEPFASGK (9, 11, 12, 13, 14), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (9-15), GSPAINVAVHVFR (10-14), GSPAINVAVHVFRK (9), KAADDWEPFASGK (10-12), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-10, 12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8-14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-12, 14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9, 11, 12, 13)

10

20

30

40

【表 8 6】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 50	10	16	AADDTWEPFASGK (9-12), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (8-10, 12), GSPAINVAVHVFR (7-10), GSPAINVAVHVFRK (8), KAADDTWEPFASGK (9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-9, 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-10, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9)
HPP 50	10	17	AADDTWEPFASGK (7-11, 13), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-10), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (9), CPLMVK (9), CPLMVKVLDAVR (11), GPTGTGESKCPLMVK (8-9), GSPAINVAVHVFR (7-11), GSPAINVAVHVFRK (8-9), KAADDTWEPFASGK (9-10), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-11)
HPP 50	10	18	AADDTWEPFASGK (5-7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (6-7), CPLMVKVLDAVR (7-8), GSPAINVAVHVFR (8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (6-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-7)
HPP 50	10	19	AADDTWEPFASGK (5, 7, 8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-8), GSPAINVAVHVFR (7-8), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5, 7, 8, 10, 12, 13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7)
HPP 50	10	20	AADDTWEPFASGK (6-8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (4-5, 7), GSPAINVAVHVFR (7, 9), KAADDTWEPFASGK (6), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7)
HPP 50	10	21	ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8)
HPP 50	10	22	AADDTWEPFASGK (4-5), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7), GSPAINVAVHVFR (4-5), KAADDTWEPFASGK (4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-5, 7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-5, 7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5)
HPP 50	10	23	AADDTWEPFASGK (4-5), GSPAINVAVHVFR (4-5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-5, 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5)

10

20

30

40

【表 8 7】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	10	24	AADDTWEPFASGK (1-3), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (2-3), GSPAINVAVHVFR (2-3), KAADDTWEPFASGK (2), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-3)
HPP 50	10	25	GSPAINVAVHVFR (1, 3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1, 4)
HPP 50	10	26	AADDTWEPFASGK (1)
HPP 50	10	27	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2)
HPP 50	10	28	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4)
HPP 50	10	29	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3)
HPP 50	11	6	GPTGTGESKCPLMVK (8)
HPP 50	11	8	RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11)
HPP 50	11	9	YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11-12)
HPP 50	11	11	ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (11)
HPP 50	11	13	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (18)
HPP 50	11	14	AADDTWEPFASGK (9-13), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (9, 11, 12, 13), CPLMVK (11), GSPAINVAVHVFR (9-13), GSPAINVAVHVFRK (9), KAADDTWEPFASGK (9-12), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (9-13, 15), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (12)
HPP 50	11	15	AADDTWEPFASGK (10-12), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (10-14, 17, 18), CPLMVK (14), GSPAINVAVHVFR (7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16), KAADDTWEPFASGK (11, 14), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (12, 14, 15, 16), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (10-17), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (16), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11-12, 15, 16), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (12-13, 15, 17)
HPP 50	11	16	AADDTWEPFASGK (8-13, 15), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (8-11), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (8-10), CPLMVK (11), GPTGTGESKCPLMVK (10), GSPAINVAVHVFR (8-12), GSPAINVAVHVFRK (9-10), KAADDTWEPFASGK (8, 10, 11), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9- 11, 13), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-15), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (10), VLDAVR (11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9, 11, 12, 13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (8-13, 15)

10

20

30

40

【表 8 8】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 50	11	17	AADDWEPFASGK (7-12), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (8-13, 16), CPLMVKVLDAVR (12), GPTGTGESKCPMLVK (10), GSPAINVAVHVFR (7-12, 14), GSPAINVAVHVFRK (10), KAADDWEPFASGK (9-11), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-12, 14, 15, 16, 17, 18), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (11), VEIDTK (9), VLDAVR (10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-12, 14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-11, 13)
HPP 50	11	18	AADDWEPFASGK (7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7, 9, 12, 13), GSPAINVAVHVFR (6-9), GSPAINVAVHVFRK (7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-10), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-9, 11, 12, 13, 14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7, 9, 10, 11, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-8, 12)
HPP 50	11	19	AADDWEPFASGK (6-11), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-11), CPLMVK (7), GSPAINVAVHVFR (7-9, 11), KAADDWEPFASGK (8-9, 11), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-10), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (6-11, 13, 14, 15, 16), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7, 9, 10, 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10)
HPP 50	11	20	AADDWEPFASGK (5, 7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5, 8), CPLMVKVLDAVR (7), GSPAINVAVHVFR (8), KAADDWEPFASGK (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-9)
HPP 50	11	21	AADDWEPFASGK (6), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (6), GSPAINVAVHVFR (6), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6, 8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-6, 8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6)
HPP 50	11	22	AADDWEPFASGK (4-7), CPLMVK (5), GSPAINVAVHVFR (5), KAADDWEPFASGK (3), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-6)
HPP 50	11	23	AADDWEPFASGK (4-5), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5, 7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5)
HPP 50	11	24	AADDWEPFASGK (1), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3)
HPP 50	11	25	AADDWEPFASGK (3), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3), GSPAINVAVHVFR (3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3)

10

20

30

40

【表 8 9】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 50	11	29	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3)
HPP 50	12	9	YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8)
HPP 50	12	13	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (17)
HPP 50	12	14	AADDTWEPFASGK (9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (9, 11), GSPAINVAVHVFR (8-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8-11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (8-9)
HPP 50	12	15	AADDTWEPFASGK (10), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (11-14, 16), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (12), GSPAINVAVHVFR (10-11, 13), KAADDTWEPFASGK (10), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (10-16), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10- 13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (10)
HPP 50	12	16	AADDTWEPFASGK (9-10), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (8-10), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (8), GSPAINVAVHVFR (8-9), KAADDTWEPFASGK (8-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7, 9, 10, 12, 13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (8- 9)
HPP 50	12	17	AADDTWEPFASGK (8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-9), GSPAINVAVHVFR (8), KAADDTWEPFASGK (8), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8, 10, 11, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8)
HPP 50	12	18	AADDTWEPFASGK (5, 7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5, 7), GSPAINVAVHVFR (5, 7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5, 7, 8, 9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (5)
HPP 50	12	19	AADDTWEPFASGK (6), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-8), GSPAINVAVHVFR (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-9, 12, 13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (7)
HPP 50	12	20	AADDTWEPFASGK (4-8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (6-7), GSPAINVAVHVFR (4, 6, 7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5, 7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-7, 9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (5, 7, 8)

10

20

30

40

【表 9 0】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	12	21	AADDTWEPFASGK (5-7, 9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5, 7, 8), GSPAINVAVHVFR (7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-8)
HPP 50	12	22	AADDTWEPFASGK (3), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3), GSPAINVAVHVFR (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3)
HPP 50	12	23	AADDTWEPFASGK (3-4), GSPAINVAVHVFR (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5, 7)
HPP 50	12	25	ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (1), GSPAINVAVHVFR (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3)
HPP 50	13	10	YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9)
HPP 50	13	14	AADDTWEPFASGK (9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (9-10), KAADDTWEPFASGK (9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (9-12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9- 10)
HPP 50	13	15	AADDTWEPFASGK (11, 13), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (11-14), CPLMVK (12), GSPAINVAVHVFR (10-13), KAADDTWEPFASGK (13), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (14), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (9-10, 13, 15), VLDVARGSPAINVAVHVFR (10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11, 13, 14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (13)
HPP 50	13	16	AADDTWEPFASGK (9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (8-9), GSPAINVAVHVFR (8-9), GSPAINVAVHVFRK (9), KAADDTWEPFASGK (7-9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-10), VLDVARGSPAINVAVHVFR (7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9)
HPP 50	13	17	AADDTWEPFASGK (9, 11, 12), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (8-13), GPTGTGESKCPLMVK (10), GSPAINVAVHVFR (8-10), GSPAINVAVHVFRK (10), KAADDTWEPFASGK (9-11), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8-12, 14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10, 12)
HPP 50	13	18	AADDTWEPFASGK (5, 7, 8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-8), GSPAINVAVHVFR (6-9), KAADDTWEPFASGK (6, 8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-7, 9, 10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-8)

10

20

30

40

【表 9 1】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2 フラクション)
HPP 50	13	19	AADDTWEPFASGK (7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (8-9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (8), GSPAINVAVHVFR (6-8), KAADDTWEPFASGK (6-7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (6, 9, 10, 11, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6, 11)
HPP 50	13	20	AADDTWEPFASGK (5-6), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5-6), GSPAINVAVHVFR (5-8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (6-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6)
HPP 50	13	21	AADDTWEPFASGK (5-9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5-12), GSPAINVAVHVFR (5-6, 8), KAADDTWEPFASGK (5), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5- 12, 14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6)
HPP 50	13	22	AADDTWEPFASGK (3-5, 7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7), GSPAINVAVHVFR (3-5), KAADDTWEPFASGK (4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-5, 7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5)
HPP 50	13	23	AADDTWEPFASGK (4-5), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5), GSPAINVAVHVFR (3-4), KAADDTWEPFASGK (4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-5, 7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5)
HPP 50	13	24	AADDTWEPFASGK (2-3), GSPAINVAVHVFR (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3)
HPP 50	13	25	AADDTWEPFASGK (3), GSPAINVAVHVFR (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3)
HPP 50	13	26	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3)
HPP 50	14	9	YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11-12)
HPP 50	14	13	AADDTWEPFASGK (15), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (15), GSPAINVAVHVFR (15), GSPAINVAVHVFRK (15), KAADDTWEPFASGK (15), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (12-13, 15, 16), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (15), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (15)
HPP 50	14	14	AADDTWEPFASGK (8, 12), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (9-10, 12), GSPAINVAVHVFR (8-12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (9-12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9, 11, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8)

10

20

30

40

【表 9 2】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	14	15	AADDWEPFASGK (9-14), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (11-14), GPTGTGESKCPLMVK (13), GSPAINVAVHVFR (10-12, 14, 15), GSPAINVAVHVFRK (13), KAADDWEPFASGK (10, 12, 13, 14), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10, 12, 14), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8-16), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10-12, 14, 15), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-10, 12, 14, 15)
HPP 50	14	16	AADDWEPFASGK (7-11), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-12), CPLMVK (9), CPLMVKVLDAVR (11), GSPAINVAVHVFR (8-11), KAADDWEPFASGK (9-10), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8-13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9, 11, 12)
HPP 50	14	17	AADDWEPFASGK (8-11, 14, 15), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (9-11, 13), CPLMVK (9, 11, 12), GSPAINVAVHVFR (8-10, 12, 14), GSPAINVAVHVFRK (11), KAADDWEPFASGK (11), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8, 12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-16), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (7-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (12)
HPP 50	14	18	AADDWEPFASGK (6-10), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (6), GPTGTGESKCPLMVK (7), GSPAINVAVHVFR (6-8), KAADDWEPFASGK (6-7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (6-12, 14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-7)
HPP 50	14	19	AADDWEPFASGK (6-8, 11, 12), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (6-8), CPLMVK (7), GPTGTGESKCPLMVK (7), GSPAINVAVHVFR (6-7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (6-7, 9, 10, 11, 12, 13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-7, 9, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-7, 12)
HPP 50	14	20	AADDWEPFASGK (6-7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (6, 10), GSPAINVAVHVFR (5-8), KAADDWEPFASGK (6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-10, 12, 13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6, 9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6)
HPP 50	14	21	AADDWEPFASGK (5-6, 8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5-6), GSPAINVAVHVFR (5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-10, 13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6)

10

20

30

40

【表 9 3】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	14	22	AADDTWEPFASGK (4-5), GSPAINVAVHVFR (4-5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5)
HPP 50	14	23	AADDTWEPFASGK (3-6), GSPAINVAVHVFR (3), KAADDTWEPFASGK (4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4, 6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-8), VLDVAVRGSPAINVAVHVFR (4)
HPP 50	14	24	AADDTWEPFASGK (3), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (1, 4), GSPAINVAVHVFR (1), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-5), VLDVAVRGSPAINVAVHVFR (3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-3)
HPP 50	14	25	AADDTWEPFASGK (2-3), CPLMVK (2), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3, 5)
HPP 50	14	26	AADDTWEPFASGK (2), GSPAINVAVHVFR (1), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-5, 7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3)
HPP 50	14	27	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-3)
HPP 50	14	28	AADDTWEPFASGK (4), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4)
HPP 50	14	29	AADDTWEPFASGK (5), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-5)
HPP 50	14	30	AADDTWEPFASGK (4), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-5)
HPP 50	15	9	YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11)
HPP 50	15	13	AADDTWEPFASGK (16-18), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (14, 16, 17, 18), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (16-17), KAADDTWEPFASGK (15, 17), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (14, 16), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (12, 14, 15, 16, 18), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (16, 18), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (16, 19)
HPP 50	15	14	AADDTWEPFASGK (12-13, 15), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (10-13, 15), GSPAINVAVHVFR (10, 13), KAADDTWEPFASGK (12-13, 15), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (13, 15), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (11-15), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (12-13, 15), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11-13, 15)

10

20

30

40

【表 9 4】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	15	15	AADDWEPFASGK (10-17), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (11, 13, 14), CPLMVK (15), GSPAINVAVHVFR (10-12, 14, 16), GSPAINVAVHVFRK (13), KAADDWEPFASGK (13, 15), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11, 15, 16), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (10-19), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (14-15, 17), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (16-17)
HPP 50	15	16	AADDWEPFASGK (8-12), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (9), GSPAINVAVHVFR (8), KAADDWEPFASGK (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-10, 12, 13, 14, 15), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-10, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11)
HPP 50	15	17	AADDWEPFASGK (11, 13), GSPAINVAVHVFR (8, 10, 11, 12), KAADDWEPFASGK (10-11), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8, 10, 11, 14), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9-12)
HPP 50	15	18	GSPAINVAVHVFR (7-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (6-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-8)
HPP 50	15	19	AADDWEPFASGK (7), GSPAINVAVHVFR (11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8, 10, 11)
HPP 50	15	20	AADDWEPFASGK (5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5)
HPP 50	15	21	AADDWEPFASGK (4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6)
HPP 50	15	22	AADDWEPFASGK (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-4, 6, 7, 8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4)
HPP 50	15	23	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-5)
HPP 50	15	24	AADDWEPFASGK (2), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-6, 8)
HPP 50	15	25	AADDWEPFASGK (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-4)
HPP 50	15	26	AADDWEPFASGK (1-3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3)
HPP 50	15	27	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3)
HPP 50	15	29	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3)
HPP 50	16	9	YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10)

10

20

30

40

【表 9 5】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	16	12	AADDTWEPFASGK (8), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPR (9), GSPAINVAVHVFR (8), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-9, 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8)
HPP 50	16	14	AADDTWEPFASGK (17), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPR (17), GSPAINVAVHVFR (11, 13), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (10-11, 17, 18), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11-12)
HPP 50	16	15	AADDTWEPFASGK (15-20), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPR (16-18), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPRR (16), GSPAINVAVHVFR (16-17), KAADDTWEPFASGK (16), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10-11, 16, 17), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 22), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10-12, 16, 17, 18), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (16-17)
HPP 50	16	16	AADDTWEPFASGK (9), GSPAINVAVHVFR (9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (9)
HPP 50	16	17	AADDTWEPFASGK (7-11, 14, 16, 17, 18, 19), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPR (9-11, 18), CPLMVKVLDAVR (11, 19), GSPAINVAVHVFR (7, 10, 11, 13, 17, 18, 19), KAADDTWEPFASGK (10-11), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-8, 11, 16, 17, 18), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-21), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-12, 16, 18), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11, 18)
HPP 50	16	18	AADDTWEPFASGK (5-9), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPR (6-8), GSPAINVAVHVFR (7), KAADDTWEPFASGK (7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-8, 10, 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6)
HPP 50	16	19	AADDTWEPFASGK (5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-7, 9, 10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-7)
HPP 50	16	20	AADDTWEPFASGK (6, 8), GSPAINVAVHVFR (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5)
HPP 50	16	21	AADDTWEPFASGK (5-7), ALGISPFHEHAEVFTANDSGPR (5), GSPAINVAVHVFR (5-6), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5)

10

20

30

40

【表 9 6】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 50	16	22	AADDWEPFASGK (2-5), GSPAINVAVHVFR (4, 6), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-5)
HPP 50	16	23	AADDWEPFASGK (2-4), GSPAINVAVHVFR (2-4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2)
HPP 50	16	24	AADDWEPFASGK (1-4), CPLMVK (2), GSPAINVAVHVFR (1-3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2)
HPP 50	16	25	AADDWEPFASGK (2-3), GSPAINVAVHVFR (2), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-3, 5, 6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-3)
HPP 50	16	26	AADDWEPFASGK (2-3), GSPAINVAVHVFR (2-3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-4, 7, 9)
HPP 50	16	27	AADDWEPFASGK (2-4, 7), GSPAINVAVHVFR (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3)
HPP 50	16	28	AADDWEPFASGK (2-4), GSPAINVAVHVFR (3-4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-5, 7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4)
HPP 50	16	29	AADDWEPFASGK (2-4), GSPAINVAVHVFR (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-5)
HPP 50	16	30	AADDWEPFASGK (2-4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4)
HPP 50	17	10	RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8)
HPP 50	17	14	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (9-10)
HPP 50	17	15	AADDWEPFASGK (9-11), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (9, 11, 13), CPLMVK (12), GSPAINVAVHVFR (9, 11, 12), GSPAINVAVHVFRK (9-10), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11-12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (8- 14), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (12-13)
HPP 50	17	16	AADDWEPFASGK (7-9), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (8-9), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPRR (8-9), GPTGTGESKCPLMVK (9), GSPAINVAVHVFR (8-9), GSPAINVAVHVFRK (8-9), KAADDWEPFASGK (9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7- 10, 12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-9)

10

20

30

40

【表 97】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2 フラクション)
HPP 50	17	17	AADDTWEPFASGK (7-12), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (7-10), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPRR (9), CPLMVK (9-10), CPLMVKVLDAVR (11), GPTGTGESKCPLMVK (9), GSPAINVAVHVFR (8-10), KAADDTWEPFASGK (7, 9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-10), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-14), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (11), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (8-12)
HPP 50	17	18	AADDTWEPFASGK (6-8), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (6-8, 10), GSPAINVAVHVFR (6-8), KAADDTWEPFASGK (6-7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (6-9, 11), VLDAVRGSPAINVAVHVFR (6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (5, 7)
HPP 50	17	19	AADDTWEPFASGK (6-7), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (7-8), GSPAINVAVHVFR (7), KAADDTWEPFASGK (6-8), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (6-7)
HPP 50	17	20	AADDTWEPFASGK (5-6, 9), GPTGTGESKCPLMVK (6), GSPAINVAVHVFR (5-6), GSPAINVAVHVFRK (6), KAADDTWEPFASGK (5-6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5, 8, 9, 10, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (5-6)
HPP 50	17	21	AADDTWEPFASGK (5-8), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (7), GSPAINVAVHVFR (5), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-9, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4- 6, 8)
HPP 50	17	22	AADDTWEPFASGK (3-6), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (4, 6), GSPAINVAVHVFR (3-4), KAADDTWEPFASGK (4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-5, 7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-6)
HPP 50	17	23	AADDTWEPFASGK (4, 6), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (5-6), KAADDTWEPFASGK (3-4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPKE (4)
HPP 50	17	24	AADDTWEPFASGK (2, 4), ALGISPFHEHAEVVFTANDSGPR (2-3), GSPAINVAVHVFR (1-3), GSPAINVAVHVFRK (2), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-3)

10

20

30

40

【表 9 8】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 50	17	25	AADDTWEPFASGK (3-4), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (4), GSPAINVAVHVFR (1-4), GSPAINVAVHVFRK (4), KAADDTWEPFASGK (4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1, 3, 4, 5, 7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (2), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1, 3, 4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2)
HPP 50	17	26	AADDTWEPFASGK (1, 4), GSPAINVAVHVFR (4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-5, 8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4)
HPP 50	17	27	AADDTWEPFASGK (4-5), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3-4), GSPAINVAVHVFR (3-5), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4)
HPP 50	17	28	AADDTWEPFASGK (3-4), GSPAINVAVHVFR (3-4), KAADDTWEPFASGK (3-4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3)
HPP 50	17	29	AADDTWEPFASGK (4), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3-4), GSPAINVAVHVFR (3-4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4)
HPP 50	17	30	AADDTWEPFASGK (3-4, 7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (4), GSPAINVAVHVFR (3), KAADDTWEPFASGK (4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4)
HPP 50	18	13	TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (10)
HPP 50	18	15	AADDTWEPFASGK (10), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (10), GSPAINVAVHVFR (9-10), KAADDTWEPFASGK (10), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (9-11, 13), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (10)
HPP 50	18	16	AADDTWEPFASGK (7-8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-9), CPLMVK (8), GSPAINVAVHVFR (7-9), GSPAINVAVHVFRK (7), KAADDTWEPFASGK (7-8), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-10), VLD AVR (8), VLD AVR GSPAINVAVHVFR (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-8)

10

20

30

40

【表 9 9】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	18	17	AADDTWEPFASGK (7-12), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (7-9, 12), CPLMVK (9), GSPAINVAVHVFR (7-10, 12), GSPAINVAVHVFRK (7, 9), KAADDTWEPFASGK (8-10), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (8-9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (7-12), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7-12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7, 9, 10, 11, 12)
HPP 50	18	18	AADDTWEPFASGK (5-11), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5-11), GSPAINVAVHVFR (5-11), KAADDTWEPFASGK (6, 9), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-7, 9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (5- 9, 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6, 9)
HPP 50	18	19	AADDTWEPFASGK (5-7, 9, 10, 11, 14), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (6-9, 11), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (7), GPTGTGESKCPLMVK (7- 8), GSPAINVAVHVFR (6, 9, 10), GSPAINVAVHVFRK (7, 9, 10), KAADDTWEPFASGK (6-7), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (7, 10, 11), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (6-8, 11, 12, 13), VLDVARGSPAINVAVHVFR (8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (6, 10, 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5, 9, 11)
HPP 50	18	20	AADDTWEPFASGK (4-8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (4-7, 9), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (5-7), CPLMVK (5), GPTGTGESKCPLMVK (6), GSPAINVAVHVFR (4-8), GSPAINVAVHVFRK (5, 7, 8), KAADDTWEPFASGK (5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-6, 8, 9, 12), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-5, 9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-6, 8, 10)
HPP 50	18	21	AADDTWEPFASGK (4-8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (5, 8), GSPAINVAVHVFR (5-8), KAADDTWEPFASGK (6), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5-7), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4- 11), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5)
HPP 50	18	22	AADDTWEPFASGK (3-6), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (4), CPLMVK (6), GSPAINVAVHVFR (3-7), GSPAINVAVHVFRK (3-4), KAADDTWEPFASGK (3-4), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (4-6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-5)

10

20

30

40

【表 100】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 50	18	23	AADDTWEPFASGK (3-6), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3-7), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (4), GPTGTGESKCPLMVK (4), GSPAINVAVHVFR (3-7), GSPAINVAVHVFRK (4), KAADDTWEPFASGK (6), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3, 5, 6), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-5, 7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4)
HPP 50	18	24	AADDTWEPFASGK (1-6), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (1-2), GPTGTGESKCPLMVK (2), GSPAINVAVHVFR (1-6), GSPAINVAVHVFRK (2), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1- 2, 5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2)
HPP 50	18	25	AADDTWEPFASGK (1-2, 4, 8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (1-3), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (2), GPTGTGESKCPLMVK (4), GSPAINVAVHVFR (2-5), GSPAINVAVHVFRK (2), KAADDTWEPFASGK (2- 3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (1-5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3, 8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (1, 3)
HPP 50	18	26	AADDTWEPFASGK (3-8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3-4), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (4), GPTGTGESKCPLMVK (4-5), GSPAINVAVHVFR (3-5), GSPAINVAVHVFRK (3-6), KAADDTWEPFASGK (3-5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-4, 6, 8), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5, 8), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-6)
HPP 50	18	27	AADDTWEPFASGK (3-6, 8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (4), GSPAINVAVHVFR (3-5), KAADDTWEPFASGK (4-5), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4-5), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3- 10), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-4, 6)
HPP 50	18	28	AADDTWEPFASGK (3-6, 8), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (4-5), CPLMVK (4), GPTGTGESKCPLMVK (4), GSPAINVAVHVFR (2, 4, 6), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (3-6, 8, 9), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2, 4, 6)
HPP 50	18	29	AADDTWEPFASGK (3-6), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPR (3, 6), ALGISPFHEHAEEVFTANDSGPRR (4), GPTGTGESKCPLMVK (4), GSPAINVAVHVFR (2-4), KAADDTWEPFASGK (3-5), RYTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2-7), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3, 6), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (3-5, 7)

10

20

30

40

【表 1 0 1】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP 2 フラクション)
HPP 50	18	30	AADDTWEPFASGK (2-6, 9), GPTGTGESKCPLMVK (4), GSPAINVAVHVFR (3-5), GSPAINVAVHVFRK (3-4), KAADDTWEPFASGK (4), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYK (2, 5, 7, 8, 9), TSESGELHGLTTEEEFVEGIYKVEIDTK (3-4), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (5), YTIAALLSPYSYSTTAVVTNPK (2-4)
HPP 51	1	7	GGSTSYGTGSETESPR (9), NPSSAGSWNSGSSGPGSTGNR (9)
HPP 51	2	3	ADSGEGDFLAEGGGVRGPR (16-17)
HPP 51	2	4	ADSGEGDFLAEGGGVRGPR (9), QFTSSTSYNRGDSTFESK (9)
HPP 51	3	4	ADSGEGDFLAEGGGVRGPR (8)
HPP 51	3	12	ESSSHHPGIAEFPSR (7), GSESGIFTNTK (7), QFTSSTSYNR (7), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (7)
HPP 51	4	12	ESSSHHPGIAEFPSR (6-7), ESSSHHPGIAEFPSRGK (7), GSESGIFTNTK (6-7), GSESGIFTNTKESSSHHPGIAEFPSR (7), QFTSSTSYNRGDSTFESK (6-7), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (7-8)
HPP 51	5	7	ADSGEGDFLAEGGGVR (10-11), ADSGEGDFLAEGGGVRGPR (10-12), GSESGIFTNTK (11)
HPP 51	6	8	ADSGEGDFLAEGGGVR (8), ESSSHHPGIAEFPSR (7), GGSTSYGTGSETESPR (8), QFTSSTSYNRGDSTFESK (7)
HPP 51	6	10	ESSSHHPGIAEFPSR (7-8), GSESGIFTNTK (4-5, 7, 8), HRHPDEAAFFDTASTGK (8), QFTSSTSYNR (7-8), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (7-8)
HPP 51	6	12	ESSSHHPGIAEFPSR (6-7), QFTSSTSYNR (7), QFTSSTSYNRGDSTFESK (6-7), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (7, 9)
HPP 51	6	13	GSESGIFTNTK (8), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (8)
HPP 51	7	8	ESSSHHPGIAEFPSR (8-9), GSESGIFTNTK (8-9), QFTSSTSYNR (8), QFTSSTSYNRGDSTFESK (6, 8)
HPP 51	7	9	ESSSHHPGIAEFPSR (8-9), GSESGIFTNTK (8), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (9)
HPP 51	7	10	ESSSHHPGIAEFPSR (7-9), GSESGIFTNTK (8-9), HRHPDEAAFFDTASTGK (9, 11), QFTSSTSYNR (8), QFTSSTSYNRGDSTFESK (8), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (8-9)
HPP 51	7	11	ESSSHHPGIAEFPSR (7-10), GSESGIFTNTK (7-10), HRHPDEAAFFDTASTGK (12), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (9-10)
HPP 51	8	4	ESSSHHPGIAEFPSR (12), QFTSSTSYNR (12)

10

20

30

40

【表 1 0 2】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 51	8	11	ESSSHHPGIAEFPSR (8), GSESGIFTNTK (9), HRHPDEAAFFDTASTGK (8-9), QLEQVIAK (12)
HPP 51	8	12	ESSSHHPGIAEFPSR (5-6), GSESGIFTNTK (5), QFTSSTSYNR (5), QLEQVIAK (7), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (6)
HPP 51	8	13	ESSSHHPGIAEFPSR (6-8), HPDEAAFFDTASTGK (8), HRHPDEAAFFDTASTGK (7-9), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (6-8)
HPP 51	9	11	ADSGEGDFLAEGGGVR (10), HPDEAAFFDTASTGK (10), MKPVPDLVPGNFK (16), QFTSSTSYNR (9-10), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (9)
HPP 51	9	12	ESSSHHPGIAEFPSR (7-8), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (7-8)
HPP 51	10	8	EVVTSEDGSDCPEAMD LGT LSGIGTLDGFR (9-10)
HPP 51	10	9	GGSTSYGTGSETESPR (15), HRHPDEAAFFDTASTGK (14-15), QFTSSTSYNR (14-15)
HPP 51	10	11	ESSSHHPGIAEFPSR (8), HPDEAAFFDTASTGK (8), HRHPDEAAFFDTASTGK (8-9), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (8-9)
HPP 51	10	13	HRHPDEAAFFDTASTGK (7-8), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (7)
HPP 51	11	8	EVVTSEDGSDCPEAMD LGT LSGIGTLDGFR (7), GSESGIFTNTK (7)
HPP 51	11	11	ESSSHHPGIAEFPSR (9), GSESGIFTNTK (9), HRHPDEAAFFDTASTGK (9), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (9)
HPP 51	13	8	EVVTSEDGSDCPEAMD LGT LSGIGTLDGFR (8)
HPP 51	13	10	EVVTSEDGSDCPEAMD LGT LSGIGTLDGFR (7)
HPP 51	13	12	ESSSHHPGIAEFPSR (8), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (8)
HPP 51	14	9	ESSSHHPGIAEFPSR (8), GSESGIFTNTK (8), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (9)
HPP 51	14	10	ESSSHHPGIAEFPSR (9), EVVTSEDGSDCPEAMD LGT LSGIGTLDGFR (8), GSESGIFTNTK (9), HPDEAAFFDTASTGK (8-9), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (8-9)
HPP 51	14	11	ESSSHHPGIAEFPSR (7)
HPP 51	15	10	ESSSHHPGIAEFPSR (7-8), EVVTSEDGSDCPEAMD LGT LSGIGTLDGFR (7-8), GSESGIFTNTK (7), HPDEAAFFDTASTGK (8), HRHPDEAAFFDTASTGK (8), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (8)
HPP 51	15	11	ESSSHHPGIAEFPSR (8-9), GSESGIFTNTK (7, 9, 10), HPDEAAFFDTASTGK (8-9), HRHPDEAAFFDTASTGK (8), QFTSSTSYNR (7, 10), QFTSSTSYNRGDSTFESK (8), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (8-12)

10

20

30

40

【表 1 0 3】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 51	15	12	ESSSHHPGIAEFPSR (7-8), EVVTSEdGSDCPEAMDLGTLsGIGTLdGFR (7-8), GSESGIFTNTK (7), HPDEAAFFDTASTGK (7), QFTSSTSYNR (6-7), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (6-8, 10)
HPP 51	15	13	ESSSHHPGIAEFPSR (7-8), EVVTSEdGSDCPEAMDLGTLsGIGTLdGFR (9), HPDEAAFFDTASTGK (8-9), HRHPDEAAFFDTASTGK (8-9), QFTSSTSYNRGDSTFESK (7), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (8-9)
HPP 51	16	12	ESSSHHPGIAEFPSR (6-8), GSESGIFTNTK (7-8), QFTSSTSYNR (7), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (7-8)
HPP 51	16	13	ESSSHHPGIAEFPSR (6-7), HPDEAAFFDTASTGK (6-7), HRHPDEAAFFDTASTGK (6-7), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (6-7)
HPP 51	16	14	ESSSHHPGIAEFPSR (6), GSESGIFTNTK (1, 6), QFTSSTSYNR (6)
HPP 51	16	20	TFPGFFSPMLGEFVSETESR (1)
HPP 51	17	14	ADSGEGDFLAEGGGVR (9, 11), ALTDMPQMR (9), ESSSHHPGIAEFPSR (5-6), GGSTSYGTGSETESPR (11), GLIDEVNQDFTNR (9), HRHPDEAAFFDTASTGK (5), MELERPGGNEITR (9), MKPVPDLVPGNFK (9), NSLFYQK (9), QFTSSTSYNR (9), QLEQVIK (9, 11), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (6, 8, 9), VQHIQLLQK (9)
HPP 51	17	15	ADSGEGDFLAEGGGVR (9, 11, 12, 13, 14), ADSGEGDFLAEGGGVRGPR (10), ALTDMPQMR (12), DSDWPFCSDEDWNYK (12), DSHSLTTNIMEILR (9-14), ESSSHHPGIAEFPSR (9), EVDLKDYEDQQK (13), GDFSSANNRDNTYNR (10), GGSTSYGTGSETESPR (13), GLIDEVNQDFTNR (9, 11, 12, 13, 14), HRHPDEAAFFDTASTGK (10, 13, 14), MELERPGGNEITR (13), NPSSAGSWNSGSSGPGSTGNR (9, 11), NSLFYQK (9, 12), QFTSSTSYNR (12), QFTSSTSYNRGDSTFESK (10), QLEQVIK (9, 13, 14), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (9-13), VQHIQLLQK (9, 13)
HPP 51	17	16	ADSGEGDFLAEGGGVR (7, 9), GLIDEVNQDFTNR (7), NSLFYQK (9)
HPP 51	17	17	ADSGEGDFLAEGGGVR (8-12), ESSSHHPGIAEFPSR (9, 12), GLIDEVNQDFTNR (8-12), HRHPDEAAFFDTASTGK (9, 11, 12), NPSSAGSWNSGSSGPGSTGNR (8, 10)
HPP 51	17	18	ADSGEGDFLAEGGGVR (6), GLIDEVNQDFTNR (6)
HPP 51	17	19	ADSGEGDFLAEGGGVRGPR (6), DSHSLTTNIMEILR (6)
HPP 51	17	20	ADSGEGDFLAEGGGVRGPR (4), HRHPDEAAFFDTASTGK (4), NSLFYQK (4), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (4)

10

20

30

40

【表 104】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 51	17	21	ADSGEGDFLAEGGGVR (4), GLIDEVNQDFTNR (5), NSLFYEQK (4), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (4), VQHIQLLQK (4)
HPP 51	17	22	ADSGEGDFLAEGGGVR (3), DSHSLTTNIMEILR (3), GLIDEVNQDFTNR (3), QFTSSTSYNRGDSTFESK (2), QLEQVIK (3), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (2-3), VQHIQLLQK (3)
HPP 51	17	23	ADSGEGDFLAEGGGVR (3), DCDDVLQTHPSGTQSGIFNIK (2), DSDWPFCSEDEDWNYK (3), GLIDEVNQDFTNR (3), NPSSAGSWNSGSSGPGSTGNR (3), QFTSSTSYNR (2-3), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (3)
HPP 51	17	24	ADSGEGDFLAEGGGVRGPR (1)
HPP 51	17	25	ADSGEGDFLAEGGGVRGPR (1), DLLPSRDR (1), HRHPDEAAFFDTASTGK (1), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (1)
HPP 51	17	26	ADSGEGDFLAEGGGVRGPR (2-3), GDFSSANNRDNTYNR (2), NNKDSHSLTTNIMEILR (3), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (3)
HPP 51	17	27	ADSGEGDFLAEGGGVR (3), DSHSLTTNIMEILR (3), GLIDEVNQDFTNR (2- 5), MKPVPDLVPGNFK (3), QLEQVIK (3), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (3), VQHIQLLQK (3)
HPP 51	17	28	ADSGEGDFLAEGGGVR (2), GLIDEVNQDFTNR (3), NPSSAGSWNSGSSGPGSTGNR (2-3), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (3), VQHIQLLQK (4)
HPP 51	17	29	ADSGEGDFLAEGGGVR (2-3), DSDWPFCSEDEDWNYK (3), DSHSLTTNIMEILR (3), EVTSEDGSDCPEAMDGLTSGIGTLDGFR (2), GGSTSYGTGSETESPR (2), GLIDEVNQDFTNR (3), HPDEAAFFDTASTGK (3), NPSSAGSWNSGSSGPGSTGNR (2-3), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (2-3)
HPP 51	17	30	ADSGEGDFLAEGGGVR (2, 5), DSDWPFCSEDEDWNYK (2), GGSTSYGTGSETESPR (2-3), GLIDEVNQDFTNR (3), QFTSSTSYNR (2), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (2-3), VQHIQLLQK (3)
HPP 51	18	17	ADSGEGDFLAEGGGVR (12-13), ESSSHHPGIAEFPSR (12-13), EVDLKDYEDQQK (12), HRHPDEAAFFDTASTGK (12-13), MELERPGNEITR (12), QFTSSTSYNR (12-13), QLEQVIK (12-13), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (6, 12)
HPP 51	18	18	GLIDEVNQDFTNR (5)
HPP 51	18	19	ADSGEGDFLAEGGGVR (5), EVTSEDGSDCPEAMDGLTSGIGTLDGFR (5)

10

20

30

40

【表 105】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 51	18	29	NNKDSHSLTTNIMEILR (2), TFPGFFSPMLGEFVSETESR (2)
HPP 51	18	30	TFPGFFSPMLGEFVSETESR (4)
HPP 52	4	23	TPHVLTHR (5)
HPP 52	9	12	TPHVLTHR (18)
HPP 53	3	6	SNNKYAASSYLSLTPEQWK (7), SYSCQVTHEGSTVEK (7), YAASSYLSLTPEQWK (7)
HPP 53	4	6	SNNKYAASSYLSLTPEQWK (8)
HPP 54	9	9	IHERTHIGQK (8)
HPP 54	9	11	IHERTHIGQK (14)
HPP 54	13	9	IHERTHIGQK (8)
HPP 54	14	7	IHERTHIGQK (11)
HPP 55	3	17	HLELMISSFLIR (10)
HPP 55	3	25	HLELMISSFLIR (6)
HPP 55	4	13	HLELMISSFLIR (19)
HPP 55	4	23	HLELMISSFLIR (6)
HPP 55	7	22	HLELMISSFLIR (4)
HPP 56	15	12	VLKESEPPK (13)
HPP 57	6	8	LYACEVTHQGLSSPVTK (7)
HPP 57	8	14	DSTYLSSTLTLSK (9), LYACEVTHQGLSSPVTK (9), SGTASVWCLLNIFYPR (9), TVAAPSVFIFPPSDEQLK (9), VDNALQSGNSQESVTEQDSK (9)
HPP 57	8	22	LYACEVTHQGLSSPVTK (2)
HPP 58	3	11	VQEGYTCDCFDGYHLD TAK (9)
HPP 58	3	12	CLCLPGYVPSDKPNYCTPLNTALNLEK (7)
HPP 58	4	9	MTCVDVNECDELNNR (14), VQEGYTCDCFDGYHLD TAK (13-14)
HPP 58	4	10	VQEGYTCDCFDGYHLD TAK (8)
HPP 58	4	11	VQEGYTCDCFDGYHLD TAK (8)
HPP 58	4	12	VQEGYTCDCFDGYHLD TAK (6-7)
HPP 59	12	16	RPSGNLVS VLSGAEGSFVSSLVK (8)
HPP 59	12	17	RPSGNLVS VLSGAEGSFVSSLVK (8)
HPP 59	13	16	RPSGNLVS VLSGAEGSFVSSLVK (8)
HPP 59	13	17	RPSGNLVS VLSGAEGSFVSSLVK (9)
HPP 60	3	9	EEIVYLPCIYR (16-17), NTGTEAPDYLATVDVDPK (16)
HPP 60	3	10	NTGTEAPDYLATVDVDPK (12)
HPP 60	5	9	SPQYCQVIHR (14-15)

10

20

30

40

【表 106】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 60	14	18	GGFVLLDGETFEVK (10), GGPVQVLEDEELK (10)
HPP 60	15	9	SPQYCQVIHR (15)
HPP 61	10	23	AWILERAFFQCLR (5)
HPP 61	10	25	AWILERAFFQCLR (4)
HPP 61	14	27	AWILERAFFQCLR (6, 8, 12, 13)
HPP 61	14	28	AWILERAFFQCLR (6-7)
HPP 61	15	24	AWILERAFFQCLR (12)
HPP 62	6	13	AQSQLVAGIK (13), VTGDHVDLTTCPAAGAQQEK (11-13)
HPP 62	6	15	VTGDHVDLTTCPAAGAQQEK (9)
HPP 62	7	13	VTGDHVDLTTCPAAGAQQEK (13)
HPP 63	1	5	ASEGGFTATGQR (23)
HPP 63	1	7	ASEGGFTATGQR (10)
HPP 63	18	12	FSCFQEEAPQPHYQLR (10)
HPP 63	18	13	ELLALIQLER (11), EVGPPLQEA VPLQK (9), LTFINDLCGPR (10-12)
HPP 63	18	19	FSCFQEEAPQPHYQLR (4)
HPP 64	9	20	AIQDGTIVLMGTYDDGATK (8), ICLEDNVLMMSGVK (8)
HPP 64	10	19	ICLEDNVLMMSGVK (7), LIADLGSTSITNLGFR (7)
HPP 64	10	21	ICLEDNVLMMSGVK (7-8), LIADLGSTSITNLGFR (8)
HPP 64	10	22	AIQDGTIVLMGTYDDGATK (6-7), DNWVFCGK (7), ICLEDNVLMMSGVK (6-7), LIADLGSTSITNLGFR (5-6), MASGAANVVGPK (5-6), SPFEQHIK (5-7), YFDMWGGDVAPFIEFLK (5-7)
HPP 64	11	18	ICLEDNVLMMSGVK (7)
HPP 64	11	21	AIQDGTIVLMGTYDDGATK (8-9), DNWVFCGK (8-9), ICLEDNVLMMSGVK (7-8), LIADLGSTSITNLGFR (7-8), MASGAANVVGPK (8-9), SPFEQHIK (7), YFDMWGGDVAPFIEFLK (7-8)
HPP 64	11	22	LIADLGSTSITNLGFR (7), YFDMWGGDVAPFIEFLK (7)
HPP 64	12	21	AIQDGTIVLMGTYDDGATK (7-8), ICLEDNVLMMSGVK (7-8), LIADLGSTSITNLGFR (8), MASGAANVVGPK (7-8), SPFEQHIK (7), YFDMWGGDVAPFIEFLK (8)
HPP 64	12	22	ICLEDNVLMMSGVK (6), MASGAANVVGPK (5)
HPP 64	13	22	AIQDGTIVLMGTYDDGATK (6), DNWVFCGK (6-7), GINVALANGK (6), ICLEDNVLMMSGVK (6), LIADLGSTSITNLGFR (6-7), MASGAANVVGPK (6), SPFEQHIK (6), YFDMWGGDVAPFIEFLK (6-7)
HPP 64	13	23	AIQDGTIVLMGTYDDGATK (7), ICLEDNVLMMSGVK (7), YFDMWGGDVAPFIEFLK (7)

10

20

30

40

【表 107】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 65	13	8	AAGRLSIHSLEAQLR (8)
HPP 65	14	6	AAGRLSIHSLEAQLR (12), LSIHSLEAQLR (10)
HPP 65	15	6	AAGRLSIHSLEAQLR (9-11), LSIHSLEAQLR (9-10)
HPP 65	16	6	AAGRLSIHSLEAQLR (7, 9, 10, 11), LSIHSLEAQLR (7, 9, 10)
HPP 65	16	7	LSIHSLEAQLR (10, 12)
HPP 65	16	8	AAGRLSIHSLEAQLR (6), LSIHSLEAQLR (6)
HPP 65	16	9	LSIHSLEAQLR (7)
HPP 65	16	13	AAGRLSIHSLEAQLR (8)
HPP 66	2	13	VTVLGQPK (12)
HPP 66	3	14	ANPTVTLFPPSSEELQANK (7), SYSCQVTHEGSTVEK (7-8), VTVLGQPK (7-8), YAASSYLSLTPEQWK (7-8)
HPP 66	3	15	VTVLGQPK (8-9), YAASSYLSLTPEQWK (8-9)
HPP 66	4	17	QSNKYAASSYLSLTPEQWK (7), SYSCQVTHEGSTVEK (7), VTVLGQPK (7)
HPP 66	6	12	VTVLGQPK (9), YAASSYLSLTPEQWK (9)
HPP 66	6	13	ANPTVTLFPPSSEELQANK (10), ATLVCLISDFYPGAVTVAWK (12), SYSCQVTHEGSTVEK (11-12), VTVLGQPK (10-12), YAASSYLSLTPEQWK (10-12)
HPP 66	6	14	ATLVCLISDFYPGAVTVAWK (8), VTVLGQPK (8), YAASSYLSLTPEQWK (8)
HPP 66	7	13	SYSCQVTHEGSTVEK (11-12), VTVLGQPK (11-12), YAASSYLSLTPEQWK (12)
HPP 66	8	15	SYSCQVTHEGSTVEK (14), VTVLGQPK (14), YAASSYLSLTPEQWK (14)
HPP 67	3	13	ANPTVTLFPPSSEELQANK (14), ATLVCLISDFYPGAVTVAWK (14), SYSCQVTHEGSTVEK (14), YAASSYLSLTPEQWK (14)
HPP 67	4	13	ANPTVTLFPPSSEELQANK (11-13), ATLVCLISDFYPGAVTVAWK (11-13), SYSCQVTHEGSTVEK (11-13), YAASSYLSLTPEQWK (11-13)
HPP 67	5	14	ANPTVTLFPPSSEELQANK (7), SYSCQVTHEGSTVEK (7), YAASSYLSLTPEQWK (7)
HPP 67	8	14	ANPTVTLFPPSSEELQANK (6), ATLVCLISDFYPGAVTVAWK (6), SYSCQVTHEGSTVEK (6)
HPP 67	9	5	SYSCQVTHEGSTVEK (11)
HPP 67	9	16	ATLVCLISDFYPGAVTVAWK (8)
HPP 67	9	23	SYSCQVTHEGSTVEK (3)
HPP 68	1	15	LTVLGQPK (9)
HPP 68	1	16	LTVLGQPK (8)

10

20

30

40

【表 108】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 68	2	12	LTVLGQPK (12, 14, 16)
HPP 68	2	13	LTVLGQPK (14, 17)
HPP 68	2	22	LTVLGQPK (2-3)
HPP 68	3	14	LTVLGQPK (6-7, 9)
HPP 68	3	15	LTVLGQPK (8)
HPP 68	3	17	LTVLGQPK (7)
HPP 68	3	23	LTVLGQPK (2)
HPP 68	4	24	LTVLGQPK (1)
HPP 68	5	14	LTVLGQPK (7)
HPP 68	5	19	LTVLGQPK (5)
HPP 68	5	28	LTVLGQPK (2)
HPP 68	6	13	LTVLGQPK (9-13)
HPP 68	6	14	LTVLGQPK (8-9)
HPP 68	6	18	LTVLGQPK (5)
HPP 68	7	12	LTVLGQPK (12)
HPP 68	8	14	LTVLGQPK (7)
HPP 68	8	15	LTVLGQPK (6, 8, 14, 15)
HPP 68	9	12	LTVLGQPK (11)
HPP 68	9	14	LTVLGQPK (8)
HPP 68	10	14	LTVLGQPK (8, 10)
HPP 68	13	15	LTVLGQPK (9)
HPP 69	14	24	ILTCMQGMEEIR (1)
HPP 69	15	15	ILTCMQGMEEIR (12)
HPP 70	6	8	VVEPPEKDDQLVLFVPVQKPK (8)
HPP 70	6	10	AWMETEDTLGR (8)
HPP 70	7	9	VVEPPEKDDQLVLFVPVQKPK (12)
HPP 70	8	10	AWMETEDTLGR (8), VVEPPEKDDQLVLFVPVQKPK (8)
HPP 70	8	11	AWMETEDTLGR (8-9), HWPSEQDPEKAWGAR (8), LLTTEEKPR (8), LWVMPNHQVLLGPEEDQDHIYHPQ (8), VVEPPEKDDQLVLFVPVQKPK (8)
HPP 70	9	8	LLTTEEKPR (11-13), VVEPPEKDDQLVLFVPVQKPK (12)
HPP 70	9	9	AWMETEDTLGR (11, 13, 14, 15), GPILPGTK (13), HWPSEQDPEK (14), HWPSEQDPEKAWGAR (12), LLTTEEKPR (10, 13, 15, 17), VVEPPEKDDQLVLFVPVQKPK (11-15)

10

20

30

40

【表 109】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 70	9	10	AWMETEDTLGR (9-11, 13, 14), DDQLVVLFPVQKPK (9-10), LWVMPNHQVLLGPEEDQDHIYHPQ (10), VVEPPEKDDQLVVLFPVQKPK (11)
HPP 70	9	11	AWMETEDTLGR (9-11, 13), GPILPGTK (11-12), HWPSEQDPEKAWGAR (11), LLTTEEKPR (10-12), LLTTEEKPRGQGR (11), LWVMPNHQVLLGPEEDQDHIYHPQ (11-12), VLSPEPDHDSLYHPPPEEDQGEERPR (11), VVEPPEKDDQLVVLFPVQKPK (10-11)
HPP 70	10	9	AWMETEDTLGR (15-18), LLTTEEKPR (14-16), VVEPPEKDDQLVVLFPVQKPK (17)
HPP 70	10	10	AWMETEDTLGR (8, 10, 11), HWPSEQDPEK (10), LLTTEEKPR (10), LWVMPNHQVLLGPEEDQDHIYHPQ (10-11), VVEPPEKDDQLVVLFPVQKPK (9-11)
HPP 70	10	11	AWMETEDTLGR (8), VVEPPEKDDQLVVLFPVQKPK (11)
HPP 70	11	9	LLTTEEKPR (14), VVEPPEKDDQLVVLFPVQKPK (16-17)
HPP 70	11	10	AWMETEDTLGR (11), LWVMPNHQVLLGPEEDQDHIYHPQ (11), VVEPPEKDDQLVVLFPVQKPK (9, 11)
HPP 71	13	20	KGDTFSCMGHEALPLAFTQETIDR (6), QEPSQGTTFFAVTSILR (6)
HPP 72	10	21	SRCQLEVK (9)
HPP 73	15	21	MHKAGLLGLCAR (4)
HPP 73	16	18	MHKAGLLGLCAR (16)
HPP 73	17	26	MHKAGLLGLCAR (2)
HPP 74	13	18	SCYLKSGNQK (10)
HPP 75	11	7	SQNYFTNR (12)
HPP 75	12	7	GFEDGDDAISK (8)
HPP 76	8	19	EVMPISIQSLDALVK (5)
HPP 76	8	20	EVMPISIQSLDALVK (5)
HPP 76	8	22	EVMPISIQSLDALVK (3-4), GLMYSVNPKN (4)
HPP 76	8	24	EVMPISIQSLDALVK (3)
HPP 76	8	25	EVMPISIQSLDALVK (3)
HPP 77	1	12	ETSNFGFSLLR (15)
HPP 78	2	21	EFLEDTCVQYVQK (7), TQSGLQSYLLQFHGLVR (7)
HPP 78	2	22	CFLGCELPPEGSR (6), EFLEDTCVQYVQK (6), TQSGLQSYLLQFHGLVR (4, 6)
HPP 78	2	23	EFLEDTCVQYVQK (6), TQSGLQSYLLQFHGLVR (5)

10

20

30

40

【表 1 1 0】

表 3			
タンパク質	CEX	RP1	トリプシン配列 (RP2フラクション)
HPP 79	4	13	DASGVTFWTWTPSSGK (11)
HPP 79	9	22	TFTCTAAYPEK (4)
HPP 79	12	20	QEPSQGTTFVAVTSILR (7)

10

## 【0057】

## H P P 核酸

本発明の一面は、本明細書でさらに詳述されている H P P またはその生物学的活性部分をコード化する精製または単離核酸分子、並びにその核酸フラグメントに関するものである。上記核酸は、例えば本明細書でさらに詳述されている検出方法において使用され得る。

## 【0058】

本発明の一目的は、H P P、それと相補的な配列、およびそのフラグメントをコードする精製、単離、または組換え核酸である。本発明はまた、H P P をコードするポリヌクレオチドとの少なくとも 95% ヌクレオチド同一性、有利には 99% ヌクレオチド同一性、好ましくは 99.5% ヌクレオチド同一性および最も好ましくは H P P をコードするポリヌクレオチド、またはそれと相補的な配列またはその生物学的活性フラグメントとの 99.8% ヌクレオチド同一性を有するポリヌクレオチドを含む精製または単離核酸に関するものである。本発明の別の目的は、H P P をコードするポリヌクレオチド、またはそれと相補的な配列またはその変異型またはその生物学的活性フラグメントと、本明細書記載のストリンジェントハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイゼーションするポリヌクレオチドを含む精製、単離または組換え核酸に関するものである。

20

## 【0059】

別の好ましい面において、本発明は、H P P の一部分または変異型をコード化する精製または単離核酸分子に関するものであり、その一部分または変異型は、H P P 生物学的活性を示す。好ましくは、上記一部分または変異型は、天然 H P P またはその前駆体の一部分または変異型である。

30

## 【0060】

本発明の別の目的は、表 3 からの配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むか、それにより本質的に構成されるか、またはそれにより構成される H P P をコード化する精製、単離または組換え核酸であり、単離核酸分子は一つまたはそれ以上のモチーフ、例えば標的結合部位をコード化するものとする。

## 【0061】

「H P P の生物学的活性部分」をコード化する核酸フラグメントは、H P P をコードするヌクレオチド配列の一部であって、H P P 生物学的活性を有するポリペプチドをコード化する部分を単離し、H P P のコード化部分を（例、インビトロまたはインビボ組換え発現により）発現させ、そして H P P のコード化部分の活性を評価することにより製造され得る。

40

## 【0062】

さらに本発明は、遺伝コードの縮重故に本発明 H P P ヌクレオチド配列とは異なるが、本発明の同じ H P P をコード化する核酸分子も包含する。

## 【0063】

上記 H P P ヌクレオチド配列に加えて、当業者であれば、H P P のアミノ酸配列に変化をもたらす DNA 配列多型が一集団（例、ヒト集団）内に存在し得ることは容易に理解で

50

きるはずである。上記遺伝子多型は、天然の対立遺伝子変異故に一集団内の個体間に存在し得る。上記天然対立遺伝子変異は、典型的にはH P Pコード化遺伝子のヌクレオチド配列または核酸配列に1～5%の変動をもたらし得る。

【0064】

本発明H P P核酸の天然対立遺伝子変異型および相同体に対応する核酸分子は、ストリンジェントハイブリダイゼーション条件下での標準ハイブリダイゼーション技術によるハイブリダイゼーションプローブとして、本明細書で開示されているc D N Aまたはその一部分を用いることにより、本明細書で開示されているH P P核酸とのそれらの相同性に基づいて単離され得る。

【0065】

本発明は、本発明のポリヌクレオチドのいずれかによりコード化されるアミノ酸配列を有するポリペプチドを包含するものとする。

【0066】

H P P核酸の使用

H P Pをコード化するポリヌクレオチド配列（またはその相補体）は、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用を含め、様々な適用性を有する。さらに、H P Pコード化核酸は、本明細書に記載されている通り、遺伝子組換え技術によるH P Pの製造に有用である。本明細書記載のポリヌクレオチドは、その配列変異型を含め、検出検定法で使用され得る。従って、体液または組織試料における上記ポリヌクレオチドの存在の検出は、本発明の一つの特徴である。本発明による核酸に基づく検出検定法の例には、限定されるわけではないが、ハイブリダイゼーション検定法（例、*in situ* ハイブリダイゼーションまたはヌクレオチドアレイ）およびP C Rに基づく検定法がある。本明細書に記載されている、延長されたポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチド、その配列変異型およびフラグメントは、上記検定法で使用されるハイブリダイゼーションプローブまたはP C Rプライマーの生成に使用され得る。上記プローブおよびプライマーは、本明細書記載のH P Pポリヌクレオチドと類似しているかまたは相補的であるゲノム配列を含むポリヌクレオチド配列を検出し得る。

【0067】

本発明は、P C Rを実施することにより、本発明ポリヌクレオチドのセグメントを増幅させるプライマー対を包含する。一对の各プライマーは、15～30ヌクレオチド間の長さを有するオリゴヌクレオチドであり、i) 対の一方のプライマーが本発明ポリヌクレオチドの一鎖と完全マッチした二重らせんを形成し、対の他方のプライマーが同ポリヌクレオチドの相補鎖と完全マッチ二重らせんを形成する、そしてii) 対のプライマーが10～2500ヌクレオチド間の距離により分離されたポリヌクレオチドにおける部位で上記の完全マッチ二重らせんを形成する形をとる。好ましくは、対の各プライマーのその各相補的配列へのアニーリング温度は実質的に同じである。

【0068】

本発明ポリヌクレオチドから誘導されるハイブリダイゼーションプローブは、例えば、組織試料、例えば顕微鏡スライド上で調製された固定または冷凍組織片または懸濁細胞において*in situ* ハイブリダイゼーションを実施する場合に使用され得る。簡単に述べると、標識D N AまたはR N Aプローブは、制御条件下、顕微鏡スライド上の組織片においてそのD N AまたはR N A標的試料を結合させ得る。一般的に、プラスミドまたはバクテリオファージD N Aベクターへクローン化された興味の対象であるD N Aから成るd s D N Aプローブがこの目的には使用されるが、s s D N Aまたはs s D N Aプローブもまた使用され得る。プローブは、一般的に約15～40ヌクレオチド間の長さのオリゴヌクレオチドである。別法として、プローブは、P C Rランダムプライミングプライマー伸長またはプラスミドからのR N Aのインビトロ転写により生成されるポリヌクレオチドプローブ（リボプローブ）であり得る。これらの後者のプローブは、典型的には長さが数100の塩基対である。プローブは、若干の標識基のいずれかにより標識され得、特定の検出方法は、プローブで使用される標識のタイプに対応する（例、適切なものとしてオートラジオ

10

20

30

40

50

グラフィー、X線検出、蛍光または視覚的顕微鏡分析)。反応物は、使用される検出用分子の標識に対して指向した免疫細胞化学技術、例えば蛍光標識プローブに存在するフルオレセイン部分に指向した抗体を用いることにより、その場でさらに増幅され得る。特異的標識および *in situ* 検出方法は、例えばHoward, G. C.編、Methods in Nonradioactive Detection、Appleton & Lange、ノーウオーク、コネティカット(1993)に記載されている(出典明示により援用する)。

**【0069】**

ハイブリダイゼーションプローブおよびPCRプライマーはまた、天然に存するポリペプチドをコード化する遺伝子のプロモーター、エンハンサーエレメントおよびイントロンを含む、本発明に従って同定された完全長タンパク質に対応するゲノム配列から選択され得る。HPPをコード化するヌクレオチド配列はまた、そのHPPをコード化する遺伝子のマッピングおよび個体の遺伝子解析に用いられるハイブリダイゼーションプローブの構築に使用され得る。本発明のHPPをコード化する遺伝子の変異型または突然変異をもつ個体は、様々な技術によりDNAレベルで検出され得る。診断に使用される核酸は、例えば組織生検および剖検材料を含む、患者の細胞から入手される。ゲノムDNAは、検出に直接使用され得るか、または解析前にPCR(Saiki et al. Nature 324: 163-166 (1986))を用いることにより酵素的に増幅され得る。RNAまたはcDNAはまた、同じ目的に使用され得る。一例として、本発明の核酸に相補的なPCRプライマーは、本発明遺伝子における突然変異の同定および解析に使用され得る。欠失および挿入は、正常遺伝子型と比べた増幅産物のサイズの変化により検出され得る。点突然変異は、増幅DNAを本発明の放射性標識RNAまたは別法として本発明の放射性標識アンチセンスDNA配列とハイブリダイゼーションさせることにより同定され得る。特定位置での配列変化はまた、ヌクレアーゼ保護検定法、例えばリボヌクレアーゼおよびS1保護または化学的開裂方法(例、Cotton, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 4397-4401 (1988))、または融解温度の差異により示され得る。「分子ビーコン」(Kostrikis L. G. et al., Science 279: 1228-1229 (1998))、本発明核酸に相補的であるプローブ配列を含むヘアピン形状、一本鎖合成オリゴヌクレオチドもまた、点突然変異または他の配列変化の検出並びにHPP発現レベルのモニターに使用され得る。

10

20

30

**【0070】**

PCRプライマーおよびプローブを含む本発明ヌクレオチドは、市販されている自動式DNA合成装置、例えばアプライド・バイオシステムズ(フォスター・シティー、カリフォルニア)モデル380B、392または394 DNA/RNA合成装置における慣用的手段により合成され得る。好ましくは、ホスホルアミダイト化学作用が使用され、これは例えば以下の参考文献で開示されている: Beaucage および Iyer, Tetrahedron, 48: 2223-2311 (1992); Molko et al., 米国特許第4980460号、Koster et al., 米国特許第4725677号; Caruthers et al., 米国特許第4415732号、同第4458066号および同第4973679号。

**【0071】**

本発明のプライマーおよびプローブはまた、例えば、適切な配列のクローニングおよび制限および例えばNarang SA et al (Methods Enzymol 1979; 68: 90-98)のホスホジエステル法、Brown EL et al (Methods Enzymol 1979; 68: 109-151)のホスホジエステル法、Beaucage et al (Tetrahedron Lett 1981, 22: 1859-1862)のジエチルホスホルアミダイト法および欧州特許第0707592号記載の固体支持体法といった方法による直接的化学合成により製造され得る。

40

**【0072】**

検出プローブは、一般的に核酸配列または非荷電核酸類似体、例えば国際公開第92/20702号に開示されているペプチド核酸、米国特許第5185444号、同第5034506号および同第5142047号に記載されているモルホリノ類似体である。所望ならば、プローブは、追加のdNTPがプローブに付加され得ないという点で「非伸長性

50

」にされ得る。本質的に、そしてそれ自体、類似体は通常非伸長性であり、核酸プローブは、ヒドロキシル基がそれ以上延長に関与し得ないようにプローブの3'末端を修飾することにより非伸長性にされ得る。例えば、プローブの3'末端を捕捉または検出標識で官能性にすることにより、ヒドロキシル基は消費または他の形で遮断され得る。

#### 【0073】

本発明ポリヌクレオチドは、いずれも所望ならば顕微鏡、光化学的、生化学的、免疫化学的または化学的手段により検出可能であることが当業界では公知である標識基を組み込むことにより標識され得る。追加的な例には、Urdea et al. (Nucleic Acids Research, 11: 4937 - 4957, 1988) または Sanchez - Pescador et al. (J. Clin. Microbiol. 26 (10): 1934 - 1938, 1988) に記載された核酸フラグメントの非放射性標識がある。さらに、本発明によるプローブは、それらがシグナル増幅を可能にするような構造的特徴を有し得、上記の構造的特徴は、例えば Urdea et al (Nucleic Acids Symp. Ser., 24: 197 - 200, 1991) または欧州特許第 EP 0 2 2 5 8 0 7 号 (Chiron) により報告されているような分枝 DNA プローブであり得る。

10

20

#### 【0074】

また、標識をプライマーの捕捉に使用することにより、固体支持体におけるプライマーまたはプライマー伸長産物、例えば増幅 DNA の固定化が容易になり得る。捕捉標識は、プライマーまたはプローブに結合され、固相試薬特異的結合要員 (例、ビオチンおよびストレプトアビジン) との結合対を形成する特異的結合要員になり得る。従って、ポリヌクレオチドまたはプローブが担う標識のタイプによって、それは標的 DNA の捕捉または検出に使用され得る。さらに、本発明で提供されるポリヌクレオチド、プライマーまたはプローブは、それら自体、捕捉標識としての機能を果たし得ることがわかる。例えば、固相試薬結合要員が核酸配列である場合、それがプライマーまたはプローブの相補的部分と結合することにより、プライマーまたはプローブを固相に固定化するように選択され得る。ポリヌクレオチドプローブそれ自体が結合要員としての機能を果たす場合、当業者であれば、プローブが、標的とは相補的ではない配列または「テイル」を含むことは容易に認め得るはずである。ポリヌクレオチドプライマーそれ自体が捕捉標識としての機能を果たす場合、プライマーの少なくとも一部分が遊離していることにより、固相上の核酸とハイブリダイゼーションする。DNA 標識技術は、当業者にはよく知られている。

30

#### 【0075】

本発明プローブは、若干の目的に有用である。それらは特にゲノム DNA とのサザーンハイブリダイゼーションで使用され得る。プローブはまた、PCR 増幅産物の検出に使用され得る。それらはまた、他の技術を用いて HPP コード化遺伝子または mRNA における誤対合を検出するのにも使用され得る。

#### 【0076】

本発明の核酸、ポリヌクレオチド、プライマーおよびプローブは、いずれも固体支持体に好都合に固定化され得る。固体支持体は当業者には公知であり、反応トレーのウェルの壁、試験管、ポリスチレンビーズ、磁気ビーズ、ニトロセルロースストリップ、膜、微粒子、例えばラテックス粒子、ヒツジ (または他の動物) 赤血球、デュラサイト (duracyte) などが挙げられる。固体支持体については厳密なものではなく、当業者により選択され得る。すなわち、ラテックス粒子、微粒子、磁気または非磁気ビーズ、膜、プラスチック管、マイクロタイターウェルの壁、ガラスまたはマイクロチップ、ヒツジ (または他の適切な動物) 赤血球およびデュラサイトは全て適切な例である。固相における核酸の適切な固定化方法には、イオン性、疎水性、共有結合相互作用などがある。本発明で使用される固体支持体は、不溶性であればいずれの材料でもよく、または後続反応により不溶性にされ得る。固体支持体は、捕捉試薬を誘引および固定化するその固有の能力に関して選択され得る。別法として、固相は、捕捉試薬を誘引および固定化する能力を有する追加の受容体を保持し得る。追加の受容体は、捕捉試薬それ自体または捕捉試薬にコンジュゲートした荷電物質に関して反対に荷電している荷電物質を含み得る。さらに別の方法として、受容体分子は、固体支持体に結合され、特異的結合反応を通して捕捉試薬を固定化する能力

40

50

を有する特異的結合要員であり得る。受容体分子は、検定法実施前または検定法実施中に捕捉試薬を固体支持体材料へ間接的に結合させ得る。すなわち、固相は、プラスチック、誘導体化プラスチック、磁性または非磁性金属、試験管のガラスまたは珪素表面、マイクロタイターウェル、シート、ビーズ、微粒子、チップ、ヒツジ（または他の適切な動物）赤血球、デュラサイトおよび当業者に公知の他の立体配置であり得る。本発明の核酸、ポリヌクレオチド、プライマーおよびプローブは、固体支持体上に個々に、または単一固体支持体へ本発明の少なくとも2、5、8、10、12、15、20または25の異なるポリヌクレオチドから成る群で結合または固定化され得る。さらに、本発明のもの以外のポリヌクレオチドも、本発明の1種またはそれ以上のポリヌクレオチドと同じ固体支持体に結合され得る。

10

**【0077】**

本発明で提供されるポリヌクレオチドは、いずれも固体支持体上のオーバーラップ領域またはランダムな位置に結合され得る。別法として、本発明ポリヌクレオチドは規則正しく配列されたアレイに結合され得、各ポリヌクレオチドは、他のポリヌクレオチドの結合部位とは重複しない固体支持体の異なる領域に結合される。好ましくは、ポリヌクレオチドの規則正しく配列された上記アレイは「アドレス可能」であるように設計され、明確な場所が記録され、検定手順の一部として評価され得る。アドレス可能なポリヌクレオチドアレイは、典型的には異なる既知の場所における基質の表面にカップリングされた複数の異なるオリゴヌクレオチドプローブを含む。各ポリヌクレオチド位置の正確な場所の情報により、これらの「アドレス可能」アレイはハイブリダイゼーション検定法で特に有用な

20

**【0078】**

## 変異型核酸およびポリペプチドの入手方法

集団に存在し得るHPP配列の天然に存する対立遺伝子変異型に加えて、当業者であれば、HPPをコードするヌクレオチド配列への突然変異により変化が導入されることにより、HPPの機能的能力の改変を伴い、または伴わずにコード化HPPのアミノ酸配列の

30

**【0079】**

変異型の幾つかのタイプは、1)アミノ酸残基の1個またはそれ以上が、保存または非保存アミノ酸残基により置換されており、上記置換アミノ酸残基が遺伝コードによりコード化されたものである場合もそうでない場合もあり得るもの、または2)アミノ酸残基の1個またはそれ以上が置換基を含むもの、または3)突然変異HPPが別の化合物、例えばポリペプチドの半減期を増加させる化合物（例えば、ポリエチレングリコール）と融合されているもの、または4)追加アミノ酸、例えばリーダー、シグナルまたはアンカー配列、HPPの精製に使用される配列、または前駆体タンパク質からの配列がHPPに融合されているものを含むと考えられる。上記変異型も、当業者の研究領域内に含まれると考

40

**【0080】**

本発明は、HPPキメラまたは融合タンパク質を提供する。本明細書で使用されているHPP「キメラタンパク質」または「融合タンパク質」は、非HPPポリペプチド配列と枠内で機能し得るように結合または融合された、本発明のHPPまたはそのフラグメントを包含する。好ましい態様において、HPP融合タンパク質は、HPPの少なくとも一つの生物学的活性部分を含む。別の好ましい態様において、HPP融合タンパク質は、HPPの少なくとも2つの生物学的活性部分を含む。例えば、一態様において、融合タンパク質は、HPPドメイン配列がGST配列のC-末端に融合されているGST-HPP融合タンパク質である。上記融合タンパク質は、組換えHPPの精製を容易にし得る。別の態

50

様において、融合タンパク質は、そのN-末端に異種シグナル配列を含むHPPであり、例えばある種の宿主細胞において所望の細胞局在性をもたらす得る。さらに別の態様では、融合体は、HPP生物学的活性フラグメントおよび免疫グロブリン分子である。上記融合タンパク質は、例えばHPP結合部位の結合価を増加させるのに有用である。例えば、二価HPP結合部位は、生物学的活性HPPフラグメントをIgGFcタンパク質に融合させることにより形成され得る。

#### 【0081】

好ましい態様において、本発明のHPP融合タンパク質は、対象において抗HPP抗体を産生させるための免疫原として、HPPを精製するため、またはHPPリガンドおよび吸着剤として使用される。

10

#### 【0082】

さらに、HPPの単離フラグメントはまた、ペプチドをコード化する核酸の対応するフラグメントから遺伝子組換えにより製造されたペプチドをスクリーニングすることにより得られる。さらに、フラグメントは、当業界で公知の技術、例えば慣用的メリフィールド固相f-Mocまたはt-Boc化学作用を用いて化学合成され得る。例えば、本発明のHPPは、フラグメントの重複を伴わない所望の長さのフラグメントへ任意に分割されるか、または好ましくは所望の長さのオーバーラップフラグメントに分割され得る。フラグメントを（遺伝子組換えまたは化学合成により）製造および試験することにより、HPP生物学的活性をもつペプチジルフラグメントが、例えば顕微注入検定法またはインビトロタンパク質結合検定法により同定され得る。例証的態様において、HPPのペプチジル部分、例えばHPP標的結合領域は、各々HPPの別々のフラグメントを含む、チオレドキシ融合タンパク質としての発現によりHPP活性（例、免疫原性）について試験され得る（例えば、米国特許第5270181号および同第5292646号および国際公開第94/02502号参照）。

20

#### 【0083】

##### HPP組成物の化学的製造

本発明のペプチドは、標準技術（例、StewartおよびYoung、Solid Phase Peptide Synthesis、第2版、ピアス・ケミカル・カンパニー、ロックフォード、イリノイ、1984）により合成される。好ましくは、市販のペプチド合成装置、例えばアプライド・バイオシステムズ、インコーポレイテッド（フォスター・シティー、カリフォルニア）モデル430Aが使用され、本発明ポリペプチドは、収束合成方法で多数の別々に合成および精製されたペプチドから構築され得る、例、Kent et al.、米国特許第6184344号およびDawsonおよびKent、Annu. Rev. Biochem.、69:923-960(2000)。本発明のペプチドは、カルボキシル末端残基から出発し、ペプチド全体が形成されるまでアミノ酸を段階的に付加する架橋ポリスチレン支持体での固相合成により構築され得る。以下の参考文献は合成中に使用される化学作用への指針である：Schnolzer et al.、Int. J. Peptide Protein Res.、40:180-193(1992)；Merrifield、J. Amer. Chem. Soc.、第85巻、2149頁(1963)；Kent et al.、185頁、Peptides 1984、Ragnarsson編（AlmquistおよびWeksell、ストックホルム、1984）；Kent et al.、217頁、Peptide Chemistry 84、Izumiya編（プロテイン・リサーチ・ファンデーション、B. H. Osaka、1985）；Merrifield、Science、第232巻、341-347頁(1986)；Kent、Ann. Rev. Biochem.、第57巻、957-989頁(1988)およびこれら最後の2参考文献で挙げられている参考文献。

30

40

#### 【0084】

好ましくは、本発明ポリペプチドの化学合成は、Dawson et al.、Science、266:776-779(1994)およびKent et al.、米国特許第6184344号により記載された要領で、天然化学連結反応によるペプチドフラグメントの構築により実施される。簡単に述べると、この方法では、第一ペプチドフラグメントに非酸化スルフヒドリル側鎖を有するN-末端システインを付加し、第二ペプチドフラグメントにC-末端チオエステルを付加する。次いで、N-末端システインの非酸化スルフヒドリル側鎖をC-末端チオ

50

エステルと縮合することにより、第一および第二ペプチドフラグメントを  $\alpha$ -アミノチオエステル結合で結合する中間体ペプチドフラグメントを製造する。次いで、中間体ペプチドフラグメントの  $\alpha$ -アミノチオエステル結合に対し、分子内転位を行うことにより、第一および第二ペプチドフラグメントをアミド結合で結合するペプチドフラグメント生成物を製造する。好ましくは、内部フラグメントのN-末端システインは、下記の通り環状チアゾリジン保護基により望ましくない閉環および/または鎖状体形成反応から保護される。好ましくは、上記環状チアゾリジン保護基はチオプロリニル基である。

#### 【0085】

C-末端チオエステルを有するペプチドフラグメントは、以下の参考文献（これらについては出典明示により援用する）に記載された要領で製造され得る：Kent et al、米国特許第6184344号、Tam et al.、Proc. Natl. Acad. Sci.、92：12485-12489（1995）；Blake、Int. J. Peptide Protein Res.、17：273（1981）；Canne et al、Tetrahedron Letters、36：1217-1220（1995）；Hackeng et al、Proc. Natl. Acad. Sci.、94：7845-7850（1997）；またはHackeng et al、Proc. Natl. Acad. Sci.、96：10068-10073（1999）。好ましくは、Hackeng et al（1999）により記載された方法を使用する。簡単に述べると、Schnolzer et al、Int. J. Peptide Protein Res.、40：180-193（1992）（出典明示により援用する）により開示されたBoc化学作用についてのin situ中和/HBTU活性化手順を用いることにより典型的には0.25 mmol規模で固相支持体（下記）においてペプチドフラグメントを合成する。（HBTUは、2-（1H-ベンゾトリアゾール-1-イル）-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェートおよびBocはtert-ブトキシカルボニルである）。各合成サイクルは、純TFAによる1~2分処理、1分DMFフロー洗浄、DIEAの存在下における1.0 mmolの前活性化Boc-アミノ酸との10~20分カップリング時間、および第二DMFフロー洗浄によるN-Boc除去により構成される。（TFAはトリフルオロ酢酸であり、DMFはN,N-ジメチルホルムアミドであり、DIEAはN,N-ジイソプロピルエチルアミンである）。N-Boc-アミノ酸（1.1 mmol）を、過剰のDIEA（3 mmol）の存在下1.0 mmolのHBTU（DMF中0.5 M）により3分間前活性化する。各カップリング工程後、例えばSarin et al、Anal. Biochem.、117：147-157（1981）に開示されている、慣用的定量ニンヒドリン検定法で残留遊離アミンを測定することにより収量を測定する。Gln残基のカップリング後、TFAを用いることによる脱保護の前後にDCMフロー洗浄を使用して、可能性のある高温（TFA/DMF）-触媒ピロリドン形成を阻止する。鎖構築が完了後、ペプチドフラグメントを脱保護し、スカベンジャーとして4% p-クレゾールを用い、1時間0 で無水HFでの処理により樹脂から開裂させる。dnp-除去手順はC-末端チオエステル基と相容れないため、イミダゾール側鎖2,4-ジニトロフェニル（dnp）保護基はHis残基に残っている。しかしながら、dnpは、連結反応中にチオールにより徐々に除去される。開裂後、ペプチドフラグメントを氷冷ジエチルエーテルで沈澱させ、水性アセトニトリルに溶かし、凍結乾燥する。

#### 【0086】

好ましくは、Hackeng et al（1999）により開示された要領またはそれと同等のプロトコルに従って製造された、トリチル会合メルカプトプロピオン酸ロイシン（TAMPAL）樹脂において上記チオエステルペプチドフラグメントを合成する。簡単に述べると、N-Boc-Leu（4 mmol）を、6 mmolのDIEAの存在下で3.6 mmolのHBTUにより活性化し、16分間2 mmolのp-メチルベンズヒドリルアミン（MBHA）樹脂、または均等内容物とカップリングする。次に、3 mmolのS-トリチルメルカプトプロピオン酸を、6 mmolのDIEAの存在下で2.7 mmolのHBTUにより活性化し、16分間Leu-MBHA樹脂とカップリングする。生成したTAMPAL樹脂は、TFA中の3.5% トリイソプロピルシランおよび2.5% H<sub>2</sub>Oでの2回の1分処理によるトリチル保護基除去後、ポリペプチド-鎖構築用の出発樹脂として使

用され得る。チオエステル結合は、Schnolzer et al (前出)により開示された要領で、1時間標準 *in situ* 中和ペプチドカップリングプロトコルを用いることにより、所望のアミノ酸により形成され得る。無水HFによる最終ペプチドフラグメントの処理により、C-末端活性化メルカプトプロピオン酸-ロイシン(MPAL)チオエステルペプチドフラグメントを得る。

#### 【0087】

好ましくは、チアゾリジン保護チオエステルペプチドフラグメント中間体は、Hackeng et al (1999)により記載された条件または同等条件下での天然化学的連結反応で使用される。簡単に述べると、6Mグアニジン、4%(体積/体積)ベンジルメルカプタン、および4%(体積/体積)チオフェノールを含む0.1Mリン酸緩衝液(pH8.5)を、乾燥ペプチドに加えて連結させ、凍結乾燥ペプチドからのチオールおよびTFAの添加故に低下した、約pH7で1~3mMの最終ペプチド濃度を得る。好ましくは、連結反応は、加熱ブロックにおいて37°Cで実施され、周期的に渦状に攪拌することによりチオール付加物を平衡状態にする。この反応は、MALDI-MSまたはHPLCおよびエレクトロスプレーイオン化MSにより完了の程度についてモニターされ得る。

10

#### 【0088】

天然化学的連結反応が完了または停止後、生成物のN-末端チアゾリジン環を、37°Cで2時間、pH3.5~4.5でのシステイン脱保護剤、例えばO-メチルヒドロキシルアミン(0.5M)による処理により開環させ、その後10倍過剰のトリス-(2-カルボキシエチル)-ホスフィンを反応混合物に加えることにより、慣用的分取HPLCによる生成物の精製前に酸化反応成分があればそれらを完全に還元する。好ましくは、連結反応産物含有フラクションは、エレクトロスプレーMSにより同定され、プールされ、凍結乾燥される。

20

#### 【0089】

合成が完了し、最終生成物を精製した後、最終ポリペプチド生成物は、例えばCreighton、Meth. Enzymol.、107:305-329(1984);White、Meth. Enzymol.、11:481-484(1967);Wetlaufer、Meth. Enzymol.、107:301-304(1984)などの慣用的技術により再生され得る。好ましくは、最終生成物は、以下の手順による空気酸化などにより再生される。還元凍結乾燥生成物を、pH8.6で、100mMトリス、10mMメチオニン含有の1Mグアニジン塩酸塩(または同様のカオトロピック剤)に溶解する(約0.1mg/mLで)。一晩緩やかに攪拌後、慣用的プロトコルでの逆相HPLCにより再生生成物を単離する。

30

#### 【0090】

##### 組換え発現ベクターおよび宿主細胞

本明細書記載のポリヌクレオチド配列は、適切な宿主細胞において対応するポリペプチドの発現を指令する組換えDNA分子で使用され得る。遺伝コードの縮重故に、他のDNA配列でも、同等のアミノ酸配列をコード化し得、そしてHPPをクローン化および発現させるのに使用され得る。特定宿主細胞により好まれるコドンを選択し、天然ヌクレオチド配列へ置換することにより、発現の速度および/または有効性が高められ得る。所望のHPPをコード化する核酸(例、cDNAまたはゲノムDNA)が、クローニング(DNAの増幅)用または発現用の複製可能なベクターへ挿入され得る。ポリペプチドは、当業界で公知の方法(Ausubel et al.編、Current Protocols in Molecular Biology、ジョン・ワイリー・アンド・サンズ、ニューヨーク、1990)に従って若干の発現系のいずれかにおいて遺伝子組換えにより発現され得る。適切な宿主細胞には、酵母、細菌、古細菌、真菌および昆虫、および哺乳類細胞を含む動物細胞、例えば一次細胞、限定されるわけではないが、例えば骨髄幹細胞を含む幹細胞がある。さらに具体的には、これらの例としては、限定されるわけではないが、微生物、例えば組換えバクテリオファージ、プラスミドまたはコスミドDNA発現ベクターにより形質転換された細菌、および酵母発現ベクターにより形質転換された酵母がある。また、組換え昆虫ウイルス(例えばバクテリオウイルス)により感染させた昆虫細胞、および哺乳類発現系も含まれる。発現される核酸配列は、

40

50

様々な手順によりベクターへ挿入され得る。一般に、DNAは、当業界で公知の技術を用いて適切な制限エンドヌクレアーゼ部位へ挿入される。ベクター成分としては、一般的にシグナル配列、複製起点、1種またはそれ以上のマーカー遺伝子、エンハンサーエレメント、プロモーター、および転写終結配列のうちの一つまたはそれ以上が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。これらの成分の一つまたはそれ以上を含む適切なベクターの構築は、当業者には公知のものである標準連結技術を用いる。

#### 【0091】

本発明のHPPは、タンパク質の発現を誘導または誘発するのに適切な条件下で、HPPをコード化する核酸を含む発現ベクターにより形質転換された宿主細胞を培養することにより製造される。HPP発現に適切な条件は、当業者により確認されている通り、発現ベクターおよび宿主細胞の選択により変化する。例えば、発現ベクターにおける構成プロモーターの使用は、宿主細胞成長および増殖の常用の最適化手順を必要とし得、誘導性プロモーターの使用は誘導に適切な成長条件を必要とする。さらに、態様によっては、採取のタイミングが重要な場合もある。例えば、昆虫細胞発現で使用されるバクテリオウイルス系は、溶菌ウイルスであるため、採取時間の選択は生成物の収率にとって重大なものであり得る。

10

#### 【0092】

宿主細胞株は、挿入された配列の発現をモジュレーションするかまたは発現タンパク質を所望の形でプロセッシングするその能力を基に選択され得る。タンパク質の上記修飾には、グリコシル、アセチル、リン酸、アミド、脂質、カルボキシル、アシルまたは炭水化物基があるが、これらに限定されるわけではない。また、翻訳後プロセッシングは、タンパク質の「プレプロ」形態を開裂するもので、正確な挿入、折りたたみおよび/または機能にとっては重要であり得る。例として、宿主細胞、例えばCHO、ヒーラ、BHK、MDC K、293、W138などは、上記の翻訳後活性に特異的な細胞組織および特徴的な機構を有し、導入された外来タンパク質の正確な修飾およびプロセッシングを確実にするように選択され得る。特に興味深いものは、ドロソフィラ・メラノガスター (*Drosophila melanogaster*) 細胞、サッカロマイシス・セレヴィシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) および他の酵母、エシェリキア・コリ (*E. coli*)、バシラス・サチラス (*Bacillus subtilis*)、SF9細胞、C129細胞、293細胞、ニューロスポラ (*Neurospora*)、BHK、CHO、COS、およびヒーラ細胞、線維芽細胞、神経鞘腫細胞株、不死化哺乳類骨髄およびリンパ球細胞株、ジャーカット細胞、ヒト細胞および他の初代細胞である。

20

30

#### 【0093】

HPPをコード化する核酸は、別の核酸配列との機能的関係にそれを配置させることにより、「機能し得るように結合されて」いなければならない。例えば、前駆配列または分泌先導配列についてのDNAは、それがポリペプチドの分泌に関与するプレタンパク質として発現される場合には、ポリペプチドについてのDNAに機能し得るように結合されている。プロモーターまたはエンハンサーは、それがコーディング配列の転写に影響を及ぼす場合にはその配列に機能し得るように結合されている。またはリボソーム結合部位は、それが翻訳し易くするように配置されている場合にはコーディング配列に機能し得るように結合されている。一般的に、「機能し得るように結合されている」DNA配列は連続しており、そして分泌先導または他のポリペプチド配列の場合には、読取相において連続している。しかしながら、エンハンサーは連続している必要は無い。連鎖は、慣用的制限部位での連結反応により達成される。上記部位が存在しない場合、合成オリゴヌクレオチドアダプターまたはリンカーは、慣用的実施方法に従って使用される。プロモーター配列は、構成的または誘導性プロモーターをコード化する。プロモーターは、天然に存するプロモーターまたはハイブリッドプロモーターであり得る。ハイブリッドプロモーターは、複数のプロモーターのエレメントを組合わせたもので、当業界でも公知であり、本発明においては有用である。発現ベクターは追加のエレメントを含み得、例えば、発現ベクターは、2つの複製系を有し得るため、2種の生物体、例えば発現については哺乳類または昆虫細胞およびクローニングおよび増幅については原核生物宿主で維持され得る。発現および

40

50

クローニングの両ベクターは、一つまたはそれ以上の選択された宿主細胞においてベクターを複製させ得る核酸配列を含む。上記配列は、様々な細菌、酵母、およびウイルスについてよく知られている。プラスミド pBR322 からの複製起点は、ほとんどのグラム陰性菌に適切であり、2 : プラスミド起点は、酵母に適切であり、そして様々なウイルス起点 (SV40、ポリオーマ、アデノウイルス、VSV または BPV) は、哺乳類細胞におけるクローニングベクターに有用である。さらに、発現ベクターを組込むため、発現ベクターは、宿主細胞ゲノムと相同的な少なくとも一つの配列、および好ましくは、発現構築物の両端に隣接する二つの相同性配列を含む。組込みベクターは、ベクターにおける含有に適切な相同性配列を選択することにより宿主細胞における特定位置に指向され得る。組込みベクターについての構築物は当業界ではよく知られている。追加的態様において、異種発現制御エレメントは、相同的組換えにより宿主細胞における内在性遺伝子と機能し得るように結合され得る (米国特許第 6410266 号および同第 6361972 号に記載)。この技術により、宿主細胞により内在的に発現された HPP の適正なプロセッシングおよび修飾を確実にしながら、選択された制御エレメントで所望のレベルに発現を調節することが可能となる。有用な異種発現制御エレメントには、CMV 即時型プロモーター、HSV チミジンキナーゼプロモーター、初期および後期 SV40 プロモーター、レトロウイルスLTRのプロモーター、例えばラウス肉腫ウイルス (RSV) のプロモーター、およびメタロチオネインプロモーターがあるが、これらに限定されるわけではない。

10

#### 【0094】

好ましくは、発現ベクターは、形質転換宿主細胞の選択を可能にする選択可能マーカー遺伝子を含む。選択遺伝子は当業界ではよく知られており、使用される宿主細胞により異なる。発現およびクローニングベクターは、典型的には選択可能マーカーとも呼ばれる選択遺伝子を含む。典型的な選択遺伝子は、(a) 抗生物質または他の毒素、例えばアンピシリン、ネオマイシン、メトトレキセートまたはテトラサイクリンに対する耐性を付与する、(b) 栄養要求性遺伝子欠失を補完する、または (c) 複合培地からは入手できない重大な栄養素を供給するタンパク質をコード化し、例えばバシラス (*Bacilli*) についての D-アラニンラセマーゼをコード化する遺伝子がある。

20

#### 【0095】

HPP をコード化するヌクレオチド配列により形質転換された宿主細胞は、細胞培養からのコード化タンパク質の発現および回収に適切な条件下で培養され得る。組換え細胞により製造されるタンパク質は、配列および/または使用されるベクターにより分泌されるか、膜結合されるか、または細胞内に含まれ得る。当業者であれば容易に理解できるように、HPP をコード化するポリヌクレオチドを含む発現ベクターは、原核生物または真核生物細胞膜を通した HPP の分泌を指令するシグナル配列を伴う形で設計され得る。所望の HPP は、遺伝子組換えにより直接的に、またシグナル配列または成熟タンパク質またはポリペプチドの N-末端に特異的開裂部位を有する他のポリペプチドであり得る、異種ポリペプチドとの融合ポリペプチドとしても製造され得る。一般に、シグナル配列はベクターの成分であり得るか、またはそれは、ベクターへ挿入された HPP コード化 DNA の一部分であり得る。シグナル配列は、例えば、アルカリ性ホスファターゼ、ペニシリナーゼ、Ipp または熱安定性エンテロトキシン II 先導配列から成る群から選択される原核生物シグナル配列であり得る。酵母分泌については、シグナル配列は、例えば、酵母インベルターゼ先導配列、アルファ因子先導配列 (サッカロマイシス (*Saccharomyces*) および クルイベロマイシス (*Kluyveromyces*)  $\alpha$ -因子先導配列を含む、後者は米国特許第 5010182 号に記載)、または酸性ホスファターゼ先導配列、カンジダ・アルビカンス (*C. albicans*) グルコアミラーゼ先導配列 (1990年4月4日公開の欧州特許第 362179 号)、または 1990年11月15日公開の国際公開第 90/113646 号に記載されたシグナルであり得る。哺乳類細胞発現において、哺乳類シグナル配列は、タンパク質の分泌を指令するのに使用され得、例えば同一または関連種の分泌ポリペプチドからのシグナル配列、およびウイルス分泌先導配列も挙げられる。選択された発現系により、コーディング配列は適切なベクターへ挿入され、それはある種の特徴的な「制御エレメン

30

40

50

ト」または「調節配列」の存在を必要とし得る。適切な構築物は、当業界では公知であり (Ausubel et al., 1990)、そして多くの場合、販売供給業者、例えばインビトロゲン (サンディエゴ、カリフォルニア)、ストラタジーン (ラジョラ、カリフォルニア)、ギブコ BRL (ロックビル、メリーランド) またはクロンテック (パロアルト、カリフォルニア) から入手可能である。

#### 【0096】

##### 細菌系での発現

細菌細胞の形質転換は、誘導性プロモーター、例えば「BLUESCRIPT」ファージミド (ストラタジーン) または「pSPORT1」 (ギブコ BRL) のハイブリッド lacZ プロモーターを用いて達成され得る。さらに、細菌細胞で使用するにより、容易に検出および/または精製され得る開裂可能な融合タンパク質を製造させる若干の発現ベクターが選択され得、限定されるわけではないが、例えば「BLUESCRIPT」 (a-ガラクトシダーゼ; ストラタジーン) または pGEX (グルタチオン S-トランスフェラーゼ; プロメガ、マディソン、ウィスコンシン) が挙げられる。適切な細菌性プロモーターは、細菌性 RNA ポリメラーゼと結合し、mRNA への HPP 遺伝子のコーディング配列の下流 (3') 転写を開始させ得る核酸配列である。細菌性プロモーターは、通常コーディング配列の 5' 末端の近位に位置する転写開始領域を有する。この転写開始領域は、典型的には RNA ポリメラーゼ結合部位および転写開始部位を含む。代謝経路酵素をコード化する配列からは、特に有用なプロモーター配列が提供される。例としては、糖代謝酵素、例えばガラクトース、ラクトースおよびマルトースから誘導されるプロモーター配列、および生合成酵素、例えばトリプトファンから誘導される配列がある。バクテリオファージからのプロモーターもまた使用され得、当業界では公知である。さらに、合成プロモーターおよびハイブリッドプロモーターもまた有用である。例えば、tat プロモーターは、trp および lac プロモーター配列のハイブリッドである。さらに、細菌性プロモーターは、細菌性 RNA ポリメラーゼとの結合および転写開始能力を有する非細菌起源の天然に存するプロモーターを含み得る。有効なリボソーム-結合部位も望ましい。発現ベクターはまた、細菌において HPP を分泌させるシグナルペプチド配列を含み得る。シグナル配列は、当業界では十分認識されているように、典型的には細胞からのタンパク質の分泌を指令する疎水性アミノ酸により構成されるシグナルペプチドをコード化する。タンパク質は、成長培地 (グラム陽性菌) または細胞 (グラム陰性菌) の内膜と外膜の間にある周辺腔へ分泌される。細菌性発現ベクターはまた、形質転換された細菌株の選択を可能にする選択可能マーカー遺伝子を含み得る。適切な選択遺伝子には、例えばアンピシリン、クロラムフェニコール、エリスロマイシン、カナマイシン、ネオマイシンおよびテトラサイクリンといった薬剤耐性遺伝子が含まれる。また、選択可能マーカーには、生合成遺伝子、例えばヒスチジン、トリプトファンおよびロイシン生合成経路におけるものがある。例えば抗体誘導について大量の HPP が必要とされる場合、容易に精製される融合タンパク質の高レベル発現を指令するベクターが望ましいものであり得る。上記ベクターには、多機能性エシェリキア・コリ (E. coli) クローニングおよび発現ベクター、例えば BLUESCRIPT (ストラタジーン)、この場合 HPP コーディング配列は、アミノ末端 Met およびベータ-ガラクトシダーゼの後続 7 残基についての配列との枠でベクターへ連結され得、その結果ハイブリッドタンパク質が製造される; PIN ベクター (Van Heeke & Schuster J Biol Chem 264: 5503-5509, 1989); PET ベクター (ノヴァゲン、マディソン、ウィスコンシン) などがあるが、これらに限定はされない。細菌用の発現ベクターは、上記の様々な成分を含み、当業界では公知である。例としては、特にバシラス・サチラス (Bacillus subtilis)、エシェリキア・コリ (E. coli)、ストレプトコッカス・クレモリス (Streptococcus cremoris)、およびストレプトコッカス・リビダンス (Streptococcus lividans) についてのベクターがある。細菌性発現ベクターは、当業界で公知の技術、例えば塩化カルシウム介在トランスフェクション、電気穿孔などを用いて細菌宿主細胞に形質転換される。

#### 【0097】

10

20

30

40

50

### 酵母における発現

酵母発現系は当業界ではよく知られており、サッカロマイシス・セレヴィシエ (*Saccharomyces*)、カンジダ・アルビカンス (*Candida albicans*) およびカンジダ・マルトサ (*C. maltosa*)、ハンセヌラ・ポリモルファ (*Hansenula polymorpha*)、クルイペロマイシス・フラギリス (*Kluyveromyces fragilis*) およびクルイペロマイシス・ラクティス (*K. lactis*)、ピキア・ギレルモンディ (*Pichia guilliermondii*) およびピキア・パストリス (*P. pastoris*)、シゾサッカロマイシス・ポンベ (*Schizosaccharomyces pombe*) およびヤロウリア・リポリティカ (*Yarrowia lipolytica*) についての発現ベクターが含まれる。酵母宿主での使用に適切なプロモーターの例には、3 - ホスホグリセレートキナーゼ (Hitzeman et al., *J. Biol. Chem.* 255 : 2073 (1980)) または他の解糖酵素 (Hess et al., *J. Adv. Enzyme Reg.* 7 : 149 (1968); Holland, *Biochemistry* 17 : 4900 (1978))、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、ピ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、ピルビン酸キナーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、ホスホグルコースイソメラーゼ、アルファ因子についてのプロモーター、ADH2IGAPDHプロモーター、グルコキナーゼアルコールオキシダーゼ、およびPGHがある。例えば、Ausubel et al., 1990; Grant et al., *Methods in Enzymology* 153 : 516 - 544 (1987) 参照。誘導性である他の酵母プロモーターは、成長条件により制御される転写の追加利点を有し、アルコールデヒドロゲナーゼ2、イソシトクロムC、酸性ホスファターゼ、窒素代謝に関連する分解酵素、メタロチオネイン、グリセルアルデヒド - 3 - リン酸デヒドロゲナーゼ、およびマルトースおよびガラクトース利用に関与する酵素についてのプロモーター領域を含む。酵母発現での使用に適切なベクターおよびプロモーターについては、さらに欧州特許第73657号に記載されている。酵母選択可能マーカーには、ADE2・HIS4・LEU2・TRP1、およびALG7 (ツニカマイシンへの耐性を付与する)、G418への耐性を付与するネオマイシンホストランスフェラーゼ遺伝子、および銅イオンの存在下で酵母を成長させ得るCUP1遺伝子がある。酵母発現ベクターは、興味の対象であるHPPをコード化するDNAからのHPPの細胞内生産および分泌用に構築され得る。例えば、選択されたシグナルペプチドおよび適切な構成的または誘導性プロモーターは、HPPの直接細胞内発現用に選択されたプラスミドにおける適切な制限部位に挿入され得る。HPPを分泌させるため、HPPをコード化するDNAは、HPPの発現を目的とする、プロモーター、酵母アルファ - 因子分泌シグナル / 先導配列、およびリンカー配列 (必要に応じて) をコード化するDNAと一緒に、選択されたプラスミドへクローン化され得る。次いで、酵母細胞は、上記発現プラスミドにより形質転換され、そして適切な発酵培地で培養され得る。次いで、上記形質転換酵母により生産されたタンパク質が、10% トリクロロ酢酸による沈澱により濃縮され、SDS - PAGEによる分離およびクーマシー・ブルー染料でのゲル染色後、分析され得る。組換えHPPは、当業者に公知の技術により発酵培地から連続して単離および精製され得る。

10

20

30

### 【0098】

#### 哺乳類系における発現

HPPは、哺乳類細胞で発現され得る。哺乳類発現系は、当業界では公知であり、レトロウイルスベクター仲介発現系を含む。哺乳類宿主細胞は、若干の異なるウイルスベース発現系のいずれか、例えばアデノウイルスにより形質転換され得、その場合コーディング配列は、後期プロモーターおよび三部分先導配列から成るアデノウイルス転写 / 翻訳複合体へ連結され得る。ウイルスゲノムの非本質的E1またはE3領域における挿入により、感染宿主細胞において興味の対象であるポリペプチドを発現し得る生存可能なウイルスが生じる。好ましい発現ベクター系は、レトロウイルスベクター系であり、それ自体PCT / US97 / 01019およびPCT / US97 / 101048に総括的に記載されている。適切な哺乳類発現ベクターは、哺乳類RNAポリメラーゼと結合し、mRNAへのHPPについてのコーディング配列の下流 (3') 転写を開始させ得るDNA配列である哺

40

50

乳類プロモーターを含む。プロモーターは、通常コーディング配列の5'末端の近位に配置される転写開始領域、および転写開始部位の上流に位置する25～30塩基対を用いた、TATAボックスを有する。TATAボックスは、RNAポリメラーゼIIを指令してRNA合成を正確な部位で開始させると考えられる。哺乳類プロモーターはまた、典型的にはTATAボックスの上流100～200塩基対内に位置する、上流プロモーターエレメント(エンハンサーエレメント)を含む。上流プロモーターエレメントは、転写が開始される速度を決定し、いずれかの配向で作用し得る。ウイルス遺伝子は高度発現されることが多く、広範な宿主範囲を有するため、哺乳類プロモーターとして特に有用なのは哺乳類ウイルス遺伝子からのプロモーターである。例としては、ウイルス、例えばポリオーマウイルス、鶏痘ウイルス(1989年7月5日公開英国特許第2211504号)、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型肝炎ウイルスおよびシミアンウイルス40(SV40)のゲノムから得られるプロモーター、異種哺乳類プロモーターから、例えばアクチンプロモーターまたは免疫グロブリンプロモーター、および熱ショックプロモーターからのものがあり、上記プロモーターは宿主細胞系と適合し得るものとする。高等真核生物によりHPPをコード化するDNAの転写は、ベクターへエンハンサー配列を挿入することにより増強され得る。エンハンサーは、通常約10～300bpである、DNAのシス作用性エレメントであり、プロモーターに作用してその転写を増加させる。多くのエンハンサー配列は、哺乳類遺伝子に由来することが知られている(グロビン、エラスターゼ、アルブミン、a-フェトプロテインおよびインスリン)。しかしながら、典型的には、真核生物細胞ウイルスからのエンハンサーが使用される。例としては、SV40エンハンサー、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の後期側におけるポリオーマエンハンサー、およびアデノウイルスエンハンサーがある。エンハンサーは、好ましくはプロモーターから5'部位に位置する。一般に、哺乳類細胞により認識される転写終結およびポリアデニル化配列は、翻訳停止コドンに対し3'に位置する調節領域であるため、プロモーターエレメントと一緒に、コーディング配列の両端に隣接する。成熟mRNAの3'末端は、部位特異的翻訳後開裂およびポリアデニル化により形成される。転写ターミネーターおよびポリアデニル化シグナルの例としては、SV40から誘導されるものがある。組換えタンパク質の長期高収率生産は、安定した発現系で実施され得る。ウイルス複製起点または内在性発現エレメントおよび選択可能マーカー遺伝子を含む発現ベクターは、この目的に使用され得る。哺乳類細胞で使用される選択可能マーカーを含む適切なベクターは、容易に購入でき、当業者には公知である。上記選択可能マーカーの例には、tk-またはhprt-細胞でそれぞれ使用される単純疱疹ウイルスチミジンキナーゼおよびアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼがあるが、これらに限定されるわけではない。外生核酸を哺乳類宿主、および他の宿主へ導入する方法は、当業界では公知であり、使用される宿主細胞によって異なる。技術としては、デキストラン介在トランスフェクション、リン酸カルシウム沈澱、ポリブレン介在トランスフェクション、プロトプラスト融合、電気穿孔、ウイルス感染、リボソームにおけるポリヌクレオチド(複数可)の封入、および核へのDNAの直接顕微注入がある。

10

20

30

40

50

#### 【0099】

HPPは、HPPコード化配列をもつ発現ベクターにより一時的トランスフェクションまたは安定して形質転換された哺乳類細胞の培養上清から精製され得る。好ましくは、HPPは、pcD発現ベクターにより一時的にトランスフェクションされたCOS7細胞の培養上清から精製される。pcDによるCOS7細胞のトランスフェクションは以下の要領で進められる：トランスフェクションの1日前、約 $10^6$ のCOS7細胞を、10%胎児ウシ血清および2mMグルタチオン含有ダルベッコ修飾イーグル培地(DME)における個々の100mmプレートへ播種する。トランスフェクションを実施するため、培地を各プレートから吸引し、50mMのトリス・HCl pH7.4、400mg/mlのDEAE-デキストランおよび50μgのプラスミドDNAを含む4mlのDMEと置き換える。プレートを4時間37℃でインキュベーションし、次いでDNA含有培地を除去

し、5 ml の血清不含有 DME でプレート を 2 回洗淨する。DME をプレート に再び加え、次いでさらに 3 時間 37 ° でインキュベーションする。プレートを DME で 1 回洗淨した後、4 % 胎児ウシ血清、2 mM グルタチオン、ペニシリン (100 U/L) およびストレプトマイシン (100 µg/L) を含む標準濃度の DME を加える。次いで、細胞を 37 ° で 72 時間インキュベーションした後、HPP を精製するため成長培地を集める。エシェリキア・コリ (*E. coli*) MC 1061 (Casadaban および Cohen により報告、*J. Mol. Biol.*、第 138 巻、179 - 207 頁 (1980)) または同様の生物体に HPP コード化 cDNA 挿入体を含む、pcD (SR) または同様の発現ベクターを成長させることにより、トランスフェクション用のプラスミド DNA を得る。プラスミド DNA を標準技術により培養から単離する、例、Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*、第 2 版 (コールドスプリングハーバー・ラボラトリー、ニューヨーク、1989) または Ausubel et al. (1990、前出)。

#### 【0100】

##### 昆虫細胞における発現

HPP はまた、昆虫細胞でも生産され得る。昆虫細胞の形質転換用発現ベクター、および特にバクテリオファージに基づく発現ベクターは、当業界では公知である。上記系の一つにおいて、HPP コード化 DNA を、バクテリオファージ発現ベクター内に含まれるエピトープ標識の上流で融合させる。アウトグラフィ・カリフォルニカ (*Autographa californica*) 核多角病ウイルス (AcNPV) をベクターとして使用することにより、スポドプテラ・フルギペルダ (*Spodoptera frugiperda*) Sf9 細胞またはトリコプルシア・ラーバエ (*Trichoplusia larvae*) において外来遺伝子が発現される。HPP コード化配列を、ウイルスの非本質的領域、例えば多角体タンパク質遺伝子ヘクロン化し、多角体タンパク質プロモーターの制御下におく。HPP コード化配列の有効な挿入により、多角体タンパク質遺伝子は不活性にされ、コートタンパク質コートを欠く組換えウイルスが製造される。次いで、組換えウイルスを用いて、HPP が発現されるスポドプテラ・フルギペルダ (*Spodoptera frugiperda*) 細胞またはトリコプルシア・ラーバエ (*Trichoplusia larvae*) を感染させる (Smith et al., *J. Wol.* 46 : 584 (1994) ; Engelhard E K et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91 : 3224 - 3227 (1994))。HPP コード化 DNA との融合に適切なエピトープ標識には、ポリ his 標識および免疫グロブリン標識 (同じく IgG の Fc 領域) がある。市販のプラスミド、例えば pVL1393 (ノヴァゲン) を含む、様々なプラスミドが使用され得る。簡単に述べると、HPP コード化 DNA または HPP コード化 DNA の所望の部分は、5' および 3' 領域と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、フランキング制限部位を組み込み得る。次いで、PCR 産物を選択された制限酵素で消化し、発現ベクターへサブクローニングする。組換えバクテリオファージは、リポフェクチン (ギブコ - BRL から市販されている)、または当業者に知られている他の方法を用いて、上記プラスミドおよび BaculoGold TM ウイルス DNA (ファーマンゲン) をスポドプテラ・フルギペルダ (*Spodoptera frugiperda*) («Sf9») 細胞 (ATCC CRL 1711) へ共トランスフェクションすることにより生成される。ウイルスは、28 ° での Sf9 細胞における培養の 4 ~ 5 日目までに製造され、さらなる増幅に使用される。さらに O'Reilly et al., *BACULOVIRUS EXPRESSION VECTORS: A LABORATORY MANUAL*、オックスフォード・ユニバーシティ・プレス (1994) 記載された手順を実施する。抽出物は、Rupert et al., *Nature* 362 : 175 - 179 (1993) に記載された要領で組換えウイルス感染 Sf9 細胞から製造され得る。別法として、発現されたエピトープ標識 HPP は、アフィニティークロマトグラフィーにより精製され得、または例えば、IgG 標識 (または Fc 標識) HPP の精製は、プロテイン A またはプロテイン G カラムクロマトグラフィーを含む、クロマトグラフィー技術を用いて実施され得る。

#### 【0101】

##### 遺伝子発現の評価

遺伝子発現は、試料において直接的、例えば当業者に公知の標準技術、例えばノーザン

・プロットングにより mRNA の転写を測定するか、ドットプロットング (DNA または RNA)、または本発明で提供された配列に基づいた適切な標識プローブを用いる *in situ* ハイブリダイゼーションにより評価され得る。別法として、抗体は、ポリペプチド、核酸、例えば特異的デュプレックス、例えば DNA デュプレックス、RNA デュプレックス、および DNA - RNA ハイブリッドデュプレックスまたは DNA - タンパク質デュプレックスを検出するための検定で使用され得る。上記抗体を標識し、デュプレックスを表面に結合させることにより、表面上でデュプレックスが形成されたとき、デュプレックスに結合した抗体の存在が検出され得るように検定が実施され得る。別法として、遺伝子発現を、細胞または組織片の免疫組織化学的染色および細胞培養または体液の検定を用いて測定することにより、HPP ポリペプチドまたはポリヌクレオチドの発現が直接評価され得る。上記免疫学的検定法に有用な抗体は、モノクローナルまたはポリクローナルであり得、天然配列 HPP に対して製造され得る。タンパク質レベルもまた、質量分析法により検出され得る。さらなるタンパク質検出方法は、保持物質クロマトグラフィー (タンパク質アレイを含む) および表面強化レーザー脱離 / イオン化 (SELDI) 技術によるものである。

10

20

30

40

50

#### 【0102】

##### 発現されたタンパク質の精製

発現された HPP は、当業者に公知の様々な方法のいずれかを用いることにより、発現後に精製または単離され得る。適切な技術は、他の如何なる成分が試料に存在するかにより異なる。単離または精製により除去される汚染成分は、典型的にはポリペプチドについての診断または治療上の使用を妨害する物質であり、酵素、ホルモン、および他の溶質が含まれ得る。選択された精製工程 (複数も可) は、例えば、使用される製造方法および製造された特定 HPP の性質により異なる。HPP は分泌されるため、それらは培養培地から回収され得る。別法として、HPP は、宿主細胞ライゼートから回収され得る。膜結合の場合、それは、適切なデタージェント溶液 (例、トリトン - X 100) を用いるかまたは酵素的開裂により膜から解離され得る。別法として、HPP の発現に使用される細胞は、様々な物理的または化学的手段、例えば冷凍解凍サイクル、超音波処理、機械的破壊、または細胞溶解剤の使用により破壊され得る。精製方法の例としては、イオン交換カラムクロマトグラフィー、シリカゲルまたはカチオン交換樹脂、例えば DEAE を用いたクロマトグラフィー、例えばセファデックス G - 75 を用いたゲル濾過、プロテイン A セファロースカラムによる汚染物質、例えば IgG の除去、金属キレート化カラムを用いて HPP のエピトープ標識形態を結合させるクロマトグラフィー、エタノール沈澱、逆相 HPLC、クロマトフォーカシング、SDS - PAGE、および硫酸アンモニウム沈澱法があるが、これらに限定はされない。通常、単離 HPP は、少なくとも一精製工程により製造される。例えば、HPP は、標準抗 HPP 抗体カラムを用いて精製され得る。タンパク質濃度と関係させた、限外濾過および透析技術もまた有用である (例えば、Scopes, R., PROTEIN PURIFICATION、スプリンガー - フェルラーク、ニューヨーク、ニューヨーク、1982 参照)。必要な精製度は、HPP の使用により異なる。場合によっては、精製が必要ではないこともある。必要に応じて発現および精製された、本発明の HPP および核酸は、本明細書で詳述されている若干の適用法において有用である。

#### 【0103】

##### HPP 活性の評価

さらに本発明は、HPP および HPP 配列の機能的フラグメントおよび変異型の活性を試験するかまたはそれらを得る方法を提供するものとする。上記方法では、変異型または修飾 HPP コード化核酸を提供し、コード化されたポリペプチドが HPP 生物学的活性を示すか否かを評価する。すなわち、HPP の機能の評価方法であって、(a) HPP、またはその生物学的活性フラグメントまたは相同体を提供し、そして (b) HPP 活性に適切な条件下で、HPP 生物学的活性について HPP またはその生物学的活性フラグメントまたは相同体を試験することを含む方法も包含される。無細胞検定法、細胞に基づく検定法およびインビボ検定法も HPP 活性の試験に使用され得る。例えば、上記検定法は、宿

主細胞においてH P P核酸を発現させ、上記細胞および他の罹患細胞においてH P P活性を観察することを含み得る。別の例では、H P Pまたはその生物学的活性フラグメントまたは相同体を、細胞と接触させ、そしてH P P生物学的活性を観察する。

【0104】

H P P生物学的活性は、(1)ヒト個体の血流全体にわたる循環、(2)抗原性、または抗H P P特異的抗体との結合能力、(3)免疫原性、または抗H P P特異的抗体産生能力、および(4)H P P標的分子または吸着剤との相互作用を含む。

【0105】

H P P生物学的活性は、当業界で公知の適切な方法により検定され得る。抗原性および免疫原性は、例えば、「抗H P P抗体」および「H P P抗体の使用」と題する項で記載されている要領で欠失され得る。血漿における循環は、「診断および予後的使用」に記載された要領で検出され得る。

10

【0106】

H P PがH P P標的分子に結合またはそれと相互作用する能力の測定は、当業界では一般的である、直接的または間接的な結合測定方法により実施され得る。上記方法は、細胞に基づくか(例、膜結合H P Pへの結合が検出される形をとる)または無細胞であり得る。試験化合物とH P Pの相互作用は、例えばH P Pまたはその生物学的活性部分を標識基とカップリングすることにより検出され得るもので、それは、H P Pまたはその生物学的活性部分とその同族標的分子の結合が、複合体における標識H P Pまたはその生物学的活性部分を検出することにより測定され得る方法である。例えば、複合体形成の範囲は、複合体の免疫沈降またはゲル電気泳動の実施により測定され得る。また、H P PがH P P標的分子に結合する能力の測定は、例えばリアルタイム生体分子相互作用分析(BIA)といった技術を用いて遂行され得る。Sjolander, S. およびUrbaniczky, C. (1991) *Anal. Chem.* 63: 2338 - 2345 および Szabo et al. (1995) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 5: 699 - 705。本明細書で使用されている「BIA」は、反応体(例、BIAコア)をいずれも標識せずに、リアルタイムでの生物特異的相互作用を試験する技術である。表面プラスモン共鳴(SPR)の光学的現象における変化は、生物分子間におけるリアルタイム反応の指標として使用され得る。タンパク質アレイ方法は相互作用の検出に有用である。例えば、受容体/リガンド対の一員を吸着剤にドッキングさせ、その結合パートナーとの結合能力を試験物質の存在下で測定する。吸着が試験され得る迅速さ故に、試験物質のコンビナトリアルライブラリーは、それらの相互作用モジュレーション能力について容易にスクリーニングされ得る。好ましい方法では、H P Pを吸着剤にドッキングさせる。好ましくは結合パートナーを標識することにより、相互作用が検出され得る。別法として、ある種の態様では、試験物質を吸着剤にドッキングさせる。本発明ポリペプチドを試験物質に曝露し、結合を検出する。

20

30

【0107】

抗H P P抗体

本発明は、H P Pに特異的な抗体および結合組成物を提供する。上記抗体および結合組成物には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、そのFabおよび側鎖Fvフラグメント、二重特異性抗体、ヘテロコンジュゲート、およびヒト化抗体が含まれる。上記抗体および結合組成物は、ハイブリドーマ培養、細菌または哺乳類細胞培養物における組換え発現、およびトランスジェニック動物における組換え発現を含む、様々な方法で製造され得る。特定の製造方法の選択については文献に豊富なガイダンスが記載されている: 例、ChaddおよびChamow, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 12: 188 - 194 (2001)。

40

【0108】

製造方法の選択は、所望の抗体構造、抗体に対する炭水化物部分の重要性、培養および精製の容易さ、および費用を含む幾つかの因子に左右される。多くの異なる抗体構造は、完全長抗体、抗体フラグメント、例えばFabおよびFvフラグメント、並びに異なる種からの成分を含むキメラ抗体を含む、標準発現技術を用いて生成され得る。エフェクター機能をもたず、薬物動態(pharmokinetic)活性が制限されたサイズの小さい抗体フラグ

50

メント、例えばF a bおよびF vフラグメントは、細菌発現系で生成され得る。1本鎖F vフラグメントは、インビボ腫瘍については高度選択性であり、良好な腫瘍浸透性および低い免疫原性を示し、血液から急速に消去される、例、Freyre et al., J. Biotechnol., 76 : 157 - 163 (2000)。すなわち、上記分子は放射性免疫検出に望ましい。

#### 【0109】

##### ポリクローナル抗体

本発明の抗H P P抗体は、ポリクローナル抗体であり得る。上記ポリクローナル抗体は、哺乳類において、例えば免疫化剤および好ましくはアジュバントの1回またはそれ以上の注射後に生成され得る。典型的には、免疫化剤および/またはアジュバントを、一連の皮下または腹腔内注射により哺乳類に注射する。免疫化剤は、H P Pまたはその融合タンパク質を含み得る。免疫化される哺乳類において免疫原性であることが知られているタンパク質に抗原をコンジュゲートすることは、有用であり得る。上記免疫原性タンパク質の例には、キーホールリンペットヘモシアニン(K L H)、メチル化ウシ血清アルブミン(m B S A)、ウシ血清アルブミン(B S A)、B型肝炎表面抗原、血清アルブミン、ウシチログロブリン、および大豆トリプシンインヒビターがあるが、これらに限定されるわけではない。アジュバントには、例えばフロイント完全アジュバントおよび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・ミコレート)がある。免疫化プロトコルは、当業者により標準プロトコルに基づいて、または常用の実験により決定され得る。

10

20

#### 【0110】

別法として、H P Pまたはその一部分について濃厚化された粗タンパク質調製物は、抗体の産生に使用され得る。上記タンパク質、フラグメントまたは調製物は、適切なアジュバントの存在下で非ヒト哺乳類に導入される。血清が望ましくないエピトープに対するポリクローナル抗体を含む場合、ポリクローナル抗体は、イムノアフィニティークロマトグラフィーにより精製される。

#### 【0111】

有効なポリクローナル抗体生産は、抗原および宿主の種の両方に関連した多くの因子による影響を受ける。また、宿主動物は、接種部位および用量に応じて変化し、抗原の用量が不十分な場合および過剰な場合は両方とも低力価の抗血清となる。多くの皮内部位で投与された小用量(n gレベル)の抗原は、最も信頼性が高いと思われる。ポリクローナル抗血清の製造および加工処理技術は、当業界では公知であり、例えば、MayerおよびWalker(1987)参照。ウサギについての有効な免疫化プロトコルは、Vaitukaitis, J. et al. J. Clin. Endocrinol. Metab. 33 : 988 - 991 (1971)に記載されている。ブースター注射を一定間隔で行い、半定量的に、例えば既知濃度の抗原に対する寒天での二重免疫拡散により測定される、その抗体力価が低下し始めたとき、抗血清が採取され得る。例えば、Ouchterlony, O. et al., 19章、Handbook of Experimental Immunology D. Wier(編)ブラックウェル(1973)参照。抗体のプラトー濃度は通常血清の0.1 ~ 0.2 mg / mlの範囲である。抗原についての抗血清の親和力は、例えば、Fisher, D., 42章、Manual of Clinical Immunology、第2版(RoseおよびFriedman編) Amer. Soc. For Microbiol., ワシントン、D.C.(1980)に記載された要領による、競合的結合曲線の作成により測定される。

30

40

#### 【0112】

##### モノクローナル抗体

別法として、抗H P P抗体はモノクローナル抗体であり得る。モノクローナル抗体は、ハイブリドーマにより生産され得、その場合マウス、ハムスターまたは他の適切な宿主動物を免疫化剤で免疫化することにより、免疫化剤に特異的に結合する抗体を産生するかまたは産生し得るリンパ球を誘導する、例、KohlerおよびMilstein、Nature 256 : 495 (1975)。免疫化剤は、典型的にはH P Pまたはその融合タンパク質および所望による担体を含む。別法として、リンパ球はインビトロで免疫化され得る。一般的に、ヒト

50

以外の哺乳類供給源が望ましい場合、脾臓細胞またはリンパ節細胞を使用するか、またはヒト由来の細胞が望ましい場合、末梢血リンパ球（「PBL」）を使用する。適切な融合剤、例えばポリエチレングリコールを用いて、リンパ球を不死化細胞株と融合することにより、ハイブリドーマ細胞を製造する、例、Goding、MONOCLONAL ANTIBODIES: PRINCIPLES AND PRACTICE、アカデミック・プレス、59-103（1986）；LiddellおよびCryer、A Practical Guide to Monoclonal Antibodies（ジョン・ワイリー・アンド・サンズ、ニューヨーク、1991）；MalikおよびLillenoj編、Antibody Techniques（アカデミック・プレス、ニューヨーク、1994）。一般に、不死化細胞株は、形質転換哺乳類細胞、例えば、ラット、マウス、ウシまたはヒトに由来する骨髄腫細胞である。好ましくは、非融合不死化細胞の成長または生存を阻害する1種またはそれ以上の物質を含む適切な培養培地において、ハイブリドーマ細胞を培養する。例えば、親細胞が酵素ヒポキサンチンゲアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（HGPRT）を欠く場合、ハイブリドーマ用の培養培地は、典型的にはヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジン（HAT）、すなわちHGPRT欠損細胞の成長を阻止する物質を含む。好ましい不死化細胞株は、有効に融合し、抗体の安定した高レベル生産を支え、例えばHAT培地といった培地に感受性を示すものである。さらに好ましい不死化細胞株は、マウスまたはヒト骨髄腫ラインであり、例えば、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（ATCC、ロックビル、メリーランド）から入手され得る。ヒト骨髄腫およびマウス-ヒトヘテロ骨髄腫細胞株はまた、ヒトモノクローナル抗体の生産について報告されている、例、Kozbor、J. Immunol. 133:3001（1984）；Brodeur et al.、Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications、マーセル・デッカー、インコーポレイテッド、ニューヨーク、51-63頁（1987）。

#### 【0113】

ハイブリドーマ細胞を培養する培養培地（上清）は、HPPに対して指向したモノクローナル抗体の存在について検定され得る。好ましくは、ハイブリドーマ上清に存在するモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降またはインビトロ結合検定法、例えばラジオイムノアッセイ（RIA）または酵素結合イムノソルベント検定法（ELISA）により測定される。適切な技術および検定法は当業界では公知である。モノクローナル抗体の結合親和力は、例えば、MunsonおよびPollard、Anal. Biochem. 107:220（1980）のスキッチャード分析により測定され得る。所望の抗体産生ハイブリドーマ細胞が同定された後、制限希釈手順により細胞をクローン化し、標準方法により成長させ得る（Goding、1986、前出）。この目的に適した培養培地には、例えばダルベッコ修飾イーグル培地およびRPMI-1640培地がある。別法として、ハイブリドーマ細胞を、哺乳類における腹水としてインビボで成長させ得る。選択されたクローンにより分泌されるモノクローナル抗体は、当業者により常用される免疫グロブリン精製手順、例えば、プロテインA-セファロース、ヒドロキシル-アパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、またはアフィニティークロマトグラフィーにより培養培地または腹水から単離または精製され得る。

#### 【0114】

モノクローナル抗体はまた、組換えDNA方法、例えば米国特許第4816567号に記載された方法により製造され得る。本発明モノクローナル抗体をコード化するDNAは、HPP特異的ハイブリドーマ細胞から単離され、例えば、マウス抗体の重鎖および軽鎖をコード化する遺伝子に特異的に結合し得るオリゴヌクレオチドプローブを用いることにより配列決定され得る。単離後、DNAは発現ベクターに挿入され得、次いでこれを、他の形では免疫グロブリンタンパク質を生産しない宿主細胞、例えばサルCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、または骨髄腫細胞へトランスフェクションすることにより、組換え宿主細胞におけるモノクローナル抗体の合成が達成される。DNAはまた、マウス重鎖および軽鎖定常ドメインについてのコーディング配列を相同性ヒト配列の代わりに用いることにより（Morrison et al.、Proc. Nat. Acad. Sci. 81:6851-6855（1984）；Neuberger et al.、Nature、312:604-608（1984））

84) ; Takeda et al., Nature, 314 : 452 - 454 ( 1985 ) )、または非免疫グロブリンポリペプチドについてのコーディング配列の全部または一部を免疫グロブリンコーディング配列に共有結合させることにより修飾され得る。非免疫グロブリンポリペプチドを、本発明抗体の定常ドメインの代わりに用いるか、または本発明抗体の一抗原結合部位の変域ドメインの代わりに用いることにより、キメラ二価抗体が製造され得る。抗体はまた一価抗体であり得る。一価抗体の製造方法は当業界ではよく知られている。例えば、インビトロ方法は、一価抗体の製造に適切である。抗体の消化によるそのフラグメント、特にFabフラグメントの製造は、当業界で公知の常用技術を用いて実施され得る。

#### 【0115】

本発明ハイブリドーマに特徴的な抗体および抗体フラグメントはまた、メッセンジャーRNAを抽出し、cDNAライブラリーを構築し、そして抗体分子のセグメントをコード化するクローンを選択することによる組換え技法により製造され得る。抗体産生についての遺伝子組換え技術を開示している参考文献の例を以下に挙げる：Wall et al., Nucleic Acids Research, 第5巻、3113 - 3128頁(1978) ; Zakut et al., Nucleic Acids Research, 第8巻、3591 - 3601頁(1980) ; Cabilly et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 第81巻、3273 - 3277頁(1984) ; Boss et al., Nucleic Acids Research, 第12巻、3791 - 3806頁(1984) ; Amster et al., Nucleic Acids Research, 第8巻、2055 - 2065頁(1980) ; Moore et al., 米国特許第4642334号 ; Skerra et al., Science, 第240巻、1038 - 1041頁(1988) ; Huse et al., Science, 第246巻、1275 - 1281頁(1989) ; および米国特許第6054297、5530101、4816567、5750105および5648237号、これらについては出典明示により援用する。特に、上記技術は、種間モノクローナル抗体の製造に使用され得、ある種の結合領域を別の種の抗体の非結合領域と組み合わせることにより、免疫原性を低下させる、例、Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 第84巻、3439 - 3443頁(1987)、および特許第6054297および5530101号。好ましくは、遺伝子組換えにより製造されたFabおよびFvフラグメントは、細菌宿主系で発現される。好ましくは、完全長抗体は、哺乳類細胞培養技術により製造される。さらに好ましくは、完全長抗体は、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞またはNSO細胞で発現される。

#### 【0116】

ポリクローナルおよびモノクローナルの両抗体はELISAによりスクリーニングされ得る。他の固相免疫検定法の場合と同様、この試験は、高分子がプラスチックへ非特異的に吸着される傾向に基づくものである。この反応は不可逆的であり、免疫学的活性の喪失を伴わないため、抗原-抗体複合体が形成され得、単に非結合物質から上記複合体を分離するだけでよい。抗ペプチド血清を滴定するため、免疫化で使ったのとは異なる担体にコンジュゲートしたペプチドを、96ウェルマイクロタイタープレートのウェルに吸着させる。次いで、吸着された抗原をウェルにおいて抗ペプチド血清の希釈液と反応させる。非結合抗体を洗浄し、残存する抗原-抗体複合体を、免疫化動物のIgGに特異的な抗体と反応させる。この二次抗体を、酵素、例えばアルカリ性ホスファターゼにコンジュゲートする。酵素基質を加えたときに生じる可視的着色反応は、どのウェルが結合抗ペプチド抗体を有するかを示している。分光計の示数を用いることにより、結合したペプチド特異的抗体の量がより正確に定量され得る。高力価抗血清により、 $10^{-3} \sim 10^{-5}$ 間の希釈率の直線滴定曲線が得られる。

#### 【0117】

##### HPPペプチド担体

本発明は、HPPから誘導された免疫原、および担体および本発明ペプチド間のコンジュゲートを含む免疫原を含む。本明細書で使用されている免疫原の語は、免疫応答を誘発し得る物質をいう。本明細書で使用されている担体の語は、本発明ペプチドへ化学的にコンジュゲートされたとき、生成されたコンジュゲートで免疫化された宿主生物体においてコンジュゲートペプチドに特異的な抗体を産生させ得る物質をいう。担体には、赤血球、

10

20

30

40

50

バクテリオファージ、タンパク質、または合成粒子、例えばアガロースビーズがある。好ましくは、担体は、タンパク質、例えば血清アルブミン、ガンマ-グロブリン、キーホールリンペットヘモシアニン(KLH)、チログロブリン、卵アルブミンまたはフィブリノーゲンである。

【0118】

担体に合成ペプチドを結合させる一般的技術は、幾つかの参考文献に記載されている：例、Walterおよび Doolittle、「Antibodies Against Synthetic Peptides」、Setlow et al.編、Genetic Engineering、第5巻、61 - 91頁(プレナム・プレス、ニューヨーク、1983)；Green et al. Cell、第28巻、477 - 487頁(1982)；Lerner et al.、Proc. Natl. Acad. Sci.、第78巻、3403 - 3407頁(1981)；Shimizu et al.、米国特許第4474754号および Ganfield et al.、米国特許第4311639号。従って、これらの参考文献は、出典明示により援用する。また、担体にハプテンを結合させるのに用いる技術は、上記参考文献による技術、例えばTijssen、Practical and Theory of Enzyme Immunoassays、20章(エルセビア、ニューヨーク、1985)と本質的に同じである。担体にペプチドを結合させるための4つの最も一般的に使用されるスキームは、(1)例えばKaganおよび Glick、Jaffeおよび Behrman編、Methods of Hormone Radioimmunoassay、328 - 329頁(アカデミック・プレス、ニューヨーク、1979)、および Walter et al.、Proc. Natl. Acad. Sci.、第77巻、5197 - 5200頁(1980)により開示された、アミノカップリングについてのグルタルアルデヒド；(2)例えば、Hoare et al.、J. Biol. Chem.、第242巻、2447 - 2453頁(1967)により開示された、カルボキシルについてアミノカップリングさせる水溶性カルボジイミド；(3)例えば、Bassiri et al.、46 - 47頁、Jaffeおよび Behrman編(前出)、および Walter et al.(前出)により開示された、チロシンについてチロシン側鎖カップリングさせるビス-ジアゾベンジジン(BDB)；および(4)例えば、Kitagawa et al.、J. Biochem.(東京)、第79巻、233 - 239頁(1976)、および Lerner et al.(前出)により開示された、アミノ基ヘシステイン(または他のスルフィドリル)をカップリングさせるマレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル(MBS)である。所定のペプチドをタンパク質担体へカップリングさせる適切な方法の選択に関する一般的規則は、以下の通りである。結合に関与する基は配列中に1回のみ、好ましくはセグメントの適切な端部に見出されるべきである。例えば、チロシン残基がその潜在的抗原特性について選択された配列の主要部分に存在する場合は、BDBを使用するべきではない。同様に、中心に位置するリシンの場合グルタルアルデヒド方法は除外され、アスパラギン酸およびグルタミン酸が見出される場合、カルボジイミド方法は除外されることが多い。他方、適切な残基は、それらが「天然」タンパク質配列から見出される場合も見出されない場合も、結合部位として選択された配列セグメントのいずれか一端に配置され得る。内部セグメントは、アミノおよびカルボキシ末端とは異なり、ポリペプチドバックボーンが連続している天然タンパク質で見出されるのと同じ配列とは「非結合末端」が著しく異なる。 - アミノ基をアセチル化し、次いでそのカルボキシ末端を介してペプチドを結合することにより、この問題はある程度まで改善され得る。担体タンパク質へのカップリング効率は、好都合には、合成の一段階に関して放射性アミノ酸を用いるかまたはチロシン残基のヨウ素化で完成したペプチドを標識することにより製造された、放射性標識ペプチドを用いることにより測定される。また、ペプチドにおけるチロシンの存在により、望ましい場合には高感度ラジオイムノアッセイの設定が可能となる。従って、チロシンは、それが天然ポリペプチドにより特定されたペプチド配列の一部ではない場合、末端残基として導入され得る。

【0119】

好ましい担体はタンパク質であり、好ましいタンパク質担体には、ウシ血清アルブミン、ミオグロブリン、オプアルブミン(OVA)、キーホールリンペットヘモシアニン(KLH)などがある。Liu et al.、Biochemistry、第18巻、690 - 697頁(1979)により開示されたところによると、ペプチドは、MBSによりシステインを通してKL

10

20

30

40

50

Hに結合され得る。ペプチドを、リン酸緩衝食塩水(pH 7.5)、0.1 Mのホウ酸ナトリウム緩衝液(pH 9.0)または1.0 Mの酢酸ナトリウム緩衝液(pH 4.0)に溶かす。ペプチドの溶解についてのpHは、ペプチドの溶解度を最適化するように選択される。可溶性ペプチドについての遊離システインの含有量は、Ellman、Arch. Biochem. Biophys.、第82巻、7077頁(1959)のEllman方法により測定される。各ペプチドについて、10 mMのリン酸ナトリウム緩衝液(pH 7.2) 0.25 ml中の4 mgのKLHを、0.7 mgのMBS(ジメチルホルムアミドに溶解)と反応させ、室温で30分間攪拌する。KLHは>30%ホルムアミドには不溶性であるため、MBSを滴下することにより、確実にホルムアミドの局所濃度が高くなり過ぎないようにする。反応生成物、KLH-MBSを、50 mMリン酸ナトリウム緩衝液(pH 6.0)で平衡させたセファデックスG-25に通すことにより、遊離MBSを除去し、カラム溶出液のピークフラクションからのKLH回収(OD 280によりモニター)を評価したところ約80%である。次いで、KLH-MBSを、選択された緩衝液1 mlに溶かした5 mgのペプチドと反応させる。pHを7~7.5に調節し、反応物を室温で3時間攪拌する。カップリング効率を、リン酸緩衝食塩水に対するコンジュゲート試料の透析により放射性ペプチドでモニターすると、8%~60%の範囲であり得る。ペプチド-担体コンジュゲートが利用可能になると、例えばCampbell、Monoclonal Antibody Technology(エルセビア、ニューヨーク、1984); Hurrell編、Monoclonal Hybridoma Antibodies: Techniques and Applications(CRCプレス、ボカレートン、フロリダ、1982); Schreier et al.、Hybridoma Techniques(コールドスプリングハーバー・ラボラトリー、ニューヨーク、1980); 米国特許第4562003号に開示された要領で、ポリクローナルまたはモノクローナル抗体を標準技術により産生させる。

10

20

30

40

#### 【0120】

##### ヒト化抗体

さらに本発明の抗HPP抗体は、ヒト化抗体またはヒト抗体を含み得る。「ヒト化抗体」の語は、非ヒト抗体から誘導された配列のある部分を含むキメラ抗体、免疫グロブリン鎖またはそのフラグメント(例えばFv、Fab、Fab'、F(ab'))、または抗体の他の抗原結合部分配列)である非ヒト(例、マウス)抗体のヒト化形態をいう。ヒト化抗体は、ヒト免疫グロブリンの相補性決定領域(CDR)からの残基が、所望の結合特異性、親和力および受容力を有するヒト以外の種、例えばマウス、ラットまたはウサギのCDRからの残基により置換されているヒト免疫グロブリンを含む。一般に、ヒト化抗体は、CDR領域の全部または実質的に全部が非ヒト免疫グロブリンの場合に対応しており、FR領域の全部または実質的に全部がヒト免疫グロブリン共通配列の同領域である少なくとも一つ、および一般的には二つの可変ドメインの実質的に全部を含む。ヒト化抗体はまた、最適には免疫グロブリン定常領域(Fc)の少なくとも一部分、典型的にはヒト免疫グロブリンのものを含む(Jones et al.、Nature 321: 522-525(1986)およびPresta、Curr. Op. Struct. Biol.、2: 593-596(1992))。非ヒト抗体のヒト化方法は、当業界では熟知されている。一般的に、ヒト化抗体は、抗体の当初の結合活性を保持しながらも、ヒト抗体とより密接に類似したものとなるように、ヒト以外である供給源からそれへ導入された1個またはそれ以上のアミノ酸を有する。抗体のヒト化方法は、さらにJones et al.、Nature 321: 522-525(1986); Riechmann et al.、Nature 332: 323-327(1988); およびVerhoeyen et al.、Science 239: 1534-1536(1988)で詳述されている。上記「ヒト化」抗体は、実質的に無傷のヒト可変ドメインには満たない部分がヒト以外の種からの対応する配列により置換されているという点でキメラ抗体である。

#### 【0121】

##### ヘテロコンジュゲート抗体

2種の共有結合により連結された抗体を含むヘテロコンジュゲート抗体もまた、本発明の範囲内に含まれる。ヘテロコンジュゲート抗体は、架橋剤を伴うものを含む、合成タンパク質化学における公知方法を用いてインビトロで製造され得る。例えば、免疫毒素は、

50

ジスルフィド交換反応を用いて、またはチオエーテル結合を形成することにより製造され得る。

#### 【0122】

##### 二重特異性抗体

二重特異性抗体は、少なくとも2種の異なる抗原についての結合特異性を有する。上記抗体はモノクローナルであり、好ましくはヒトまたはヒト化抗体である。本発明二重特異性抗体の結合特性の一方はHPPについてのものであり、他方は、好ましくは細胞表面タンパク質または受容体または受容体サブユニットについてのものである。二重特異性抗体の製造方法は当業界では公知であり、一般に、二重特異性抗体の組換え生産は、ハイブリドーマ細胞における2種の免疫グロブリン重鎖/軽鎖対の共発現に基づいており、2種の重鎖は異なる特異性を有する、例、MilsteinおよびCuello、Nature 305:537-539(1983)。免疫グロブリン重鎖および軽鎖をランダムに取合わせることにより、ハイブリドーマにより可能なものとして10種の異なる抗体分子が製造される場合、正確な分子の精製には通常ある種のアフィニティー精製、例えばアフィニティークロマトグラフィーが必要とされる。

10

#### 【0123】

##### HPP抗体の使用

HPP抗体は、好ましくは本発明のHPPに特異的であり、それ自体、他のタンパク質から誘導されたペプチドと高い親和力で結合することはない。本明細書で使用されている「重鎖可変域」の語は、(1)110~125アミノ酸長であり、そして(2)アミノ酸配列が、重鎖N-末端アミノ酸から始まる、本発明抗体の重鎖の配列に対応しているポリペプチドを意味する。同様に、「軽鎖可変域」の語は、(1)95~115アミノ酸長であり、そして(2)アミノ酸配列が、軽鎖N-末端アミノ酸から始まる、本発明抗体の軽鎖の配列に対応しているポリペプチドを意味する。本明細書で使用されている「モノクローナル抗体」の語は、HPPに特異的に結合し得る免疫グロブリンの異種集団をいう。

20

#### 【0124】

抗体フラグメントの使用もまた熟知されている、例えばFabフラグメント：Tijssen、Practice and Theory of Enzyme Immunoassays(エルセピア、アムステルダム、1985)；およびFvフラグメント：Hochman et al.、Biochemistry、第12巻、1130-1135頁(1973)、Sharon et al.、Biochemistry、第15巻、1591-1594頁(1976)およびEhrlich et al.、米国特許第4355023号、および抗体半分子：Auditore-Hargreaves、米国特許第4470925号。

30

#### 【0125】

好ましくは、モノクローナル抗体、Fvフラグメント、Fabフラグメント、または本発明モノクローナル抗体から誘導された他の結合組成物は、HPPに対して高い親和力を有する。HPPに対するモノクローナル抗体および関連分子の親和力は、プラスモン共鳴、ELISA、または平衡透析を含む慣用的技術により測定され得る。プラスモン共鳴技術による親和力測定は、例えばBIAコア2000装置(ピアコア、AB、ウプサラ、スウェーデン)を用いて製造業者の推奨するプロトコルに従って実施され得る。好ましくは、例えば米国特許第6235883号に記載された要領で、ELISAにより親和力を測定する。好ましくは、HPPおよび本発明モノクローナル抗体間の解離定数は $10^{-5}$ モル未満である。さらに好ましくは、上記解離定数は $10^{-8}$ モル未満であり、さらに好ましくは、上記解離定数は $10^{-9}$ モル未満であり、そして最も好ましくは、上記解離定数は $10^{-9}$ ~ $10^{-11}$ モルの範囲である。

40

#### 【0126】

本発明抗体は、HPPの検出に有用である。上記検出方法は、HPP関連疾患の診断に有利に適用される。本発明抗体は、抗原-抗体反応を含むほとんどの検定法で使用され得る。この検定法は、ホモジニアスまたはヘテロジニアスであり得る。ホモジニアス検定方法では、試料は、生物学的試料または流体、例えば血清、尿、全血、リンパ液、血漿、唾液、細胞、組織、およびインビトロで培養された細胞または組織により分泌される物質で

50

あり得る。必要ならば、試料を前処理することにより、望ましくない物質を除去し得る。免疫学的反応は、通常、特異的抗体、標識被分析試料、および抗原を含む疑いのある試料を必然的に含む。標識から生じるシグナルは、標識被分析試料へ抗体が結合したとき、直接的または間接的に修飾される。免疫学的反応およびその範囲の検出は両方とも、均一溶液で実施される。使用され得る免疫学的標識には、遊離基（ラジカル）、蛍光色素、酵素、バクテリオファージ、補酵素などがある。

【0127】

ヘテロジニアス検定方法において、試薬は、通常、試料、特異的抗体、および検出可能シグナル発生手段である。一般的には試料を支持体、例えばプレートまたはスライド上に置き、液相中の抗体と接触させる。次いで、支持体を液相から分離し、支持相または液相のいずれかを、上記シグナル発生手段またはシグナル発生系を用いることにより検出可能シグナルについて調べる。シグナルは、試料中における抗原の存在と関連している。検出可能シグナルの発生手段には、放射性標識、蛍光化合物、酵素などの使用がある。ヘテロジニアス免疫検定法の例としては、ラジオイムノアッセイ、免疫蛍光方法、酵素結合免疫検定法などがある。

10

【0128】

上記免疫検定技術のより詳細な検討については、Edward T. Maggioによる“Enzyme-Immunoassay”（CRCプレス、インコーポレイテッド、ボカレートン、フロリダ、1980）を参照。また、例えば米国特許第3690834、3791932、3817837、3850578、3853987、3867517、3901654、3935074、3984533、3966345および4098876号も参照（このリストで全部網羅しているわけではない）。抗体および抗体フラグメントに標識をコンジュゲートする方法は、当業界ではよく知られている。上記方法は、米国特許第4220450、4235869、3935974および3966345号に記載されている。本発明抗体が使用され得る技術の別の例は、イムノペルオキシダーゼ標識（Sternberger、Immunocytochemistry（1979）104-169頁）である。

20

【0129】

本発明抗体を使用する検定法の一態様は、本発明モノクローナル抗体が結合される表面の使用を含む。表面の基礎構造は、種々の形態をとり、異なる組成を有し得、組成物またはラミネートの混合物またはその組合わせであり得る。表面は、様々な形状および形態を呈し得、使用および測定方法によって異なる寸法を有し得る。表面の例としては、パッド、ビーズ、ディスク、または平坦、凹状または凸状であり得るストリップがあり得る。厚さは厳密なものではなく、一般的には約0.1~2mm厚さであり、好都合な直径または他の寸法を有する。典型的には、表面は、ロッド、チューブ、毛細管、繊維、ストリップ、ディスク、プレート、キュベット上で支えられており、典型的には、多孔質であり、抗体の共有結合を可能にし、そして検出可能シグナル発生手段の一部を形成する他の化合物の結合を可能にするように多官能性であるかまたは多官能性化され得る。天然および合成の両方を含む、広く多様な有機および無機ポリマーおよびその組合わせが、固体表面用の材料として使用され得る。ポリマーの例としては、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ（4-メチルブテン）、ポリスチレン、ポリメタクリレート、ポリ（エチレンテレフタレート）、レーヨン、ナイロン、ポリ（ビニルブチレート）、シリコーン、ポリホルムアルデヒド、セルロース、酢酸セルロース、ニトロセルロース、およびラテックスがある。他の表面には、紙、ガラス、セラミック、金属、メタロイド、半導体材料、セメント、シリケートなどがある。また、ゲル、ゼラチン、リポ多糖類、シリケート、アガロースおよびポリアクリルアミドを形成する基質または幾つかの水相、例えばデキストラン、ポリアルキレングリコール（2~3個の炭素原子のアルキレン）を形成するポリマーまたは界面活性剤、例えばリン脂質も含まれる。表面への抗体の結合は、文献で一般的に利用可能である公知技術により達成され得る（例えば、“Immobilized Enzymes”、Ichiro Chibata、プレス、ニューヨーク（1978）およびCuatrecasas、J. Bio. Chem.、245：3059（1970）参照）。本発明のこの面に従って検定法を実施する場合、試料を水性媒

30

40

50

質と混合し、抗体を結合させた表面と媒質を接触させる。標識は、同時にまたは後続的に加えられることにより、水性媒質に含まれ得、表面に随伴した検出可能シグナルが提供され得る。検出可能シグナルの発生手段は、標識被分析試料の組込みを伴い得るか、またはそれは標識をコンジュゲートさせた第二モノクローナル抗体の使用を含み得る。分離および洗浄段階は、必要に応じて実施される。検出されたシグナルは、試料中におけるHPPの存在と関連している。同一支持体に目盛を定めることは、本発明の範囲内である。本発明による検定法の一特定態様は、限定ではなく、説明を意図したものであるが、支持体、例えばスライドまたはペトリ皿のウェルの使用を含む。この技術では、分析すべき試料を、適切な固定材料で支持体に固定し、スライド上の試料をモノクローナル抗体とインキュベーションする。適切な緩衝液、例えばリン酸緩衝食塩水で洗浄後、抗体についての標識特異的結合パートナーと支持体を接触させる。所望に応じてインキュベーション後、スライドを水性緩衝液で再度洗浄し、抗原への標識モノクローナル抗体の結合から成る測定を実施する。標識が蛍光性である場合、スライドを、カバーガラス上の蛍光抗体封入液で覆い、次いで蛍光顕微鏡で検査することにより、結合の範囲が測定され得る。他方、標識は、モノクローナル抗体にコンジュゲートされた酵素であり得、結合の範囲は、沈澱の尾形成、着色などにより示され得る、酵素活性の存在についてスライドを調べることにより測定され得る。

10

#### 【0130】

本発明抗体を使用する検定法の具体例は、二重決定基ELISA検定法である。支持体、例えばガラスまたはビニルプレートは、慣用的技術によりHPPに特異的な抗体で被覆する。通常水性媒質中で、HPPを含有する疑いのある試料と支持体を接触させる。30秒から12時間のインキュベーション期間後、支持体を媒質から分離し、例えば水または水性緩衝媒質で洗浄することにより、非結合HPPを除去し、再び普通は水性媒質中でHPPに特異的な抗体と接触させる。抗体を、直接的または間接的に酵素、例えば西洋ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリ性ホスファターゼで標識する。インキュベーション後、支持体を媒質から分離し、上記と同様に洗浄する。支持体または水性媒質の酵素活性を測定する。この酵素活性は、試料中のHPPの量と関連している。

20

#### 【0131】

別の抗体利用検出方法には、本明細書に記載されている保持物質クロマトグラフィー方法がある。この場合、吸着剤は抗体である。好ましくは、本発明の複数のHPPについて特異的な複数の抗体を表面または基質に含ませる。

30

#### 【0132】

本発明はまた、上記で開示された方法を実施するためのキット、例えば診断検定キットを含む。一態様では、キットは、(a)上記でより具体的に特定したモノクローナル抗体および(b)上記モノクローナル抗体についての特異的結合パートナーおよび検出可能シグナルを発生し得る標識のコンジュゲートをパッケージ化した組合わせで含む。試薬はまた、助剤、例えば緩衝剤およびタンパク質安定剤、例えば多糖類などを含み得る。キットは、さらに必要な場合、標識が一員であるシグナル発生系の他の要員、試験においてバックグラウンド干渉を低減化する薬剤、対照試薬、試験実施用装置などを含み得る。別の態様において、診断キットは、本発明のモノクローナル抗体および検出可能シグナルを発生し得る標識のコンジュゲートを含む。上記助剤もまた存在し得る。

40

#### 【0133】

さらに、抗HPP抗体(例、モノクローナル抗体)は、標準技術、例えばアフィニティークロマトグラフィーまたは免疫沈降法によるHPPの単離に使用され得る。例えば、抗HPP抗体は、細胞からの天然HPPの精製および宿主細胞で発現される遺伝子組換えにより製造されたHPPの精製を簡便化し得る。さらに、抗HPP抗体を用いてHPPを単離することにより、低濃度のHPPの(例、血漿、細胞ライゼートまたは細胞上清における)検出を助けるかまたはHPPの存在量および発現パターンを評価し得る。抗HPP抗体を診断に使用することにより、臨床試験手順の一部として組織中のタンパク質レベルをモニターする、例えば与えられた治療法の効力を測定することができる。抗体を標識基に

50

カップリングする（すなわち、物理的に結合する）ことにより検出は容易になり得る。

【0134】

タンパク質アレイを用いた検出

本発明ポリペプチドの検出および精製は、米国特許第6225027号および米国特許出願第20010014461号に記載された要領で、保持物質クロマトグラフィー（好ましくは、タンパク質アレイまたはチップ）を用いて実施され得る。簡単に述べると、保持物質クロマトグラフィーは、ポリペプチド（および/または他の試料成分）を吸着剤（例、アレイまたはチップ）上に保持させ、それに続いて検出する方法をいう。上記方法では、（1）複数の異なる吸着剤/溶離剤の組み合わせ（「選択的条件」）のもとで試料からのポリペプチドを基質に選択的に吸着させ、そして（2）脱離分光測定法により（例、質量分析法により）吸着されたポリペプチドの保持を検出する。「脱離分光測定法」は、物質（例、ポリペプチド）を検出する方法であって、固定相から気相へ物質を脱離させるエネルギーに物質を曝露し、二次固定相での中間体捕捉を伴わずに、脱離された物質またはその識別可能な部分を、検出器により直接検出する方法をいう。慣用的クロマトグラフィー方法では、ポリペプチドは、検出前に吸着剤から溶出される。吸着クロマトグラフィーと、脱離分光測定法による検出の結合により、驚くべき感度、様々な異なる選択性条件により保持成分を迅速に分析する性能が得られ、また異なる溶離条件下におけるアレイ上の異なる部位（すなわち、「アフィニティー部位」または「スポット」）に吸着された成分の並行プロセッシングが達成される。

10

【0135】

好ましい態様は、特異的ポリペプチド、好ましくはHPPを検出するために開発された、化学的（例、イオン-アフィニティーまたは疎水性物質）または生物特異的（例、抗体またはその抗原結合フラグメント）のいずれかである吸着剤を提供する。ある種の態様では、基質は、例えば診断マーカーとして、ポリペプチドの組み合わせについて選択された吸着スポットのアレイを有する。僅か2および10、100、1000またはそれ以上もの吸着剤が、単一基質にカップリングされ得る。吸着部位のサイズは、実験設計および目的により変化し得る。しかしながら、それは、衝撃的エネルギー供給源の直径（例、レーザースポット直径）より大きい必要は無い。スポットは、同一または異なる吸着剤により構成され得る。場合によっては、複数の異なる溶離液に対する評価が行えるかまたは結合ポリペプチドが恐らくは二次プロセッシングにおける、将来的使用または対照標準用に保存され得るため、基質上の多数の場所に同じ吸着剤を配することが有利なこともある。基質に複数の異なる吸着剤を配することにより、単一试料（例、血漿試料）に関して異なる吸着剤の組み合わせにより提供される複数の結合特性を利用し、それによって広く多様な種々のポリペプチド（好ましくはHPP）を結合および検出することが可能である。単一试料評価のための基質に対する複数の異なる吸着剤の使用は、各々異なるクロマトグラフィーカラムによる、多数のクロマトグラフィー実験を同時に実施するのと本質的に同等であるが、本発明方法は単一系のみですむという利点を有する。

20

30

【0136】

基質が複数の吸着剤を含むとき、予め定められたアドレス可能な場所に吸着剤を配することは特に有用である。予め定められたアドレス可能な場所に吸着剤を配することにより、第一溶離液で第一の予め定められたアドレス可能な場所における吸着剤を洗浄し、第二溶離液で第二の予め定められたアドレス可能な場所における吸着剤を洗浄することが可能である。このようにして、単一吸着剤のその特定ポリペプチドに関する結合特性は、各々吸着剤-ポリペプチド結合特性の各セットを選択的に修飾する多くの溶離液の存在下で評価され得る。

40

【0137】

保持物質クロマトグラフィーは、多数のポリペプチドの並行した分離および検出を含む組み合わせ分離方法で使用され得る。この方法は、a) 試料（例、生物学的流体、例えば血漿）を、各々吸着剤および溶離液の組み合わせにより特定された選択条件である、少なくとも2つの異なる選択条件に曝露することにより、吸着剤によりポリペプチドを保持させ、

50

そしてb) 脱離分光測定法により異なる選択条件下で保持されたポリペプチドを検出する段階を含む。異なる各選択条件は、並行プロセッシングするために予め定められた、異なるアドレス可能な場所で特定される。この方法は、i) 試料を特定場所での第一選択条件に曝露することにより、吸着剤によりポリペプチドを保持させ、ii) 脱離分光測定法により第一選択条件下で保持されたポリペプチドを検出し、iii) 特定場所での第二の異なる選択条件下で吸着剤を洗浄することにより、その場所での吸着剤にポリペプチドを保持させ、そしてiv) 脱離分光測定法により第二選択条件下で保持されたポリペプチドを検出する段階を含む。

#### 【0138】

ポリペプチドは、本明細書で詳述されている気相イオン分光測定法、SELDIまたは質量分析技術により検出され得る。「気相イオン分光測定法」は、イオン化源の使用により表面に提示された物質から気相イオンを発生させ、気相イオン分光計で気相イオンを検出する方法をいう。「表面強化レーザー脱離/イオン化」または「SELDI」は、物質提示表面が、脱離およびイオン化プロセスにおいてある能動的な役割を演じる気相イオン分光測定法である。SELDI技術は、例えば米国特許第5719060および6225047号(HutchensおよびYip)に記載されている。

10

#### 【0139】

これらの方法は、HPPの組み合わせ(コンビナトリアル)の生化学的分離および精製、差次的遺伝子発現の試験、および試料間におけるタンパク質レベルの差異の検出(例、診断用)に有用である。国際公開第03/019193号(Ciphergen)は、流体試料における特異的腎臓病マーカーの上記検出方法の使用について報告している。YipおよびLomas(Technol Cancer Res Treat、2002、1:273-80)は、癌関連ポリペプチドを検出するのに類似方法を採用している。本発明のHPPまたはHPP結合物質は、好ましくは標識基に結合されるため、直接検出され、単一ユニット作動中に同じ「回路」(すなわち、アドレス可能な「チップ」場所)から2つまたはそれ以上のシグナルが同時に伝達され得る。本発明の好ましい態様は、試料、好ましくは血漿から少なくとも一つのHPPを同定するための保持物質クロマトグラフィーの使用を包含する。

20

#### 【0140】

Chen et al.(Anal Chem 2002;74:5146-53)により報告されたところによると、マイクロチップに基づく検出法の変形では電気泳動を利用する。この方法では、フロー-スルーサンプリングチップを、免疫分離、タンパク質精製、濃縮および検出目的に適用する。この装置は、動水圧を用いてサンプルフローを駆動し、そしてゲーティング電圧をマイクロチップ上の電気泳動チャンネルに適用する。この装置を用いると、洗浄/溶離段階が、マイクロチップにおける電気泳動分離および検出とオンラインで統合され得る。さらに、無電界床により、タンパク質-吸着剤相互作用が洗浄/溶離段階中に電界による影響を受けないことが確実にされる。

30

#### 【0141】

質量分析法によるHPPの検出

本発明によると、試料中におけるタンパク質の同一性および存在量を測定するのにいかなる器具、方法、プロセス等でも使用され得る。同一性を得る好ましい方法は質量分析法によるものであり、試料中のタンパク質分子をイオン化し、次いでその結果のタンパク質イオンの質量および電荷を検出および測定する。

40

#### 【0142】

質量分析法を用いてタンパク質を分析するため、タンパク質をガス-イオン相に変換するのが好ましい。様々なタンパク質イオン化方法が有用であり、例えば高速イオン衝撃(FAB)、プラズマ脱離、レーザー脱離、熱脱離、好ましくはエレクトロスプレーイオン化(ESI)およびマトリックス支援レーザー脱離/イオン化(MALDI)が挙げられる。多くの異なる質量分析装置がペプチドおよびタンパク質分析に利用可能であり、例えば、飛行時間型(TOF)、イオントラップ(ITMS)、フーリエ変換イオンサイクロトロン(FTMS)、四重極イオントラップ、およびセクター(電気および/または磁気

50

分光計があるが、これらに限定されるわけではない。例えば、イオントラップMSについては米国特許第5572025号参照。質量分析装置は、単独でも、またはタンデム質量分析計における他の質量分析装置と組合わせても使用され得る。後者の場合、第一質量分析装置は、タンパク質イオン（前駆イオン）を互いに分離し、試料中における様々なタンパク質成分の分子量を測定するのに使用され得る。第二の質量分析装置は、例えば、前駆イオンを、例えば不活性ガスを用いることにより生成イオンに断片化することにより、分離された各成分を分析するのに使用され得る。例えば三連四重極、タンデム飛行時間型、イオントラップ、および/またはその組合わせを含め、質量分析装置の如何なる所望の組合わせでも使用され得る。

**【0143】**

様々な種類の検出装置がタンパク質イオンの検出に使用され得る。例えば、破壊的検出装置、例えばイオン電子倍率器または極低温検出装置が使用され得る（例、米国特許第5640010号）。さらに、非破壊的検出装置、例えば四重極イオントラップ質量分析計またはFTMSにおけるイオン電流ピックアップ装置として使用されるイオントラップも使用され得る。

**【0144】**

MALDI-TOFについては、若干の試料製造方法が使用され得、乾燥飛沫（Karasa nd Hillenkamp、Anal. Chem.、60：2299-2301、1988）、真空乾燥（Winb erger et al.、Proceedings of the 41st ASMS Conference on Mass Spectrometry and A llied Topics、サンフランシスコ、1993年5月31日～6月4日、775a-b頁）、  
20 粉碎結晶（Xiang et al.、Rapid Comm. Mass Spectrom.、8：199-204、1994）、低速結晶成長（Xiang et al.、Org. Mass Spectrom.、28：1424-1429、1993）、活性フィルム（Mock et al.、Rapid Comm. Mass Spectrom.、6：233-238、1992、Bai et al.、Anal. Chem.、66：3423-3430、1994）、  
エアースプレー（Kochling et al.、Proceedings of the 43rd ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics、アトランタ、ジョージア、1995年5月21～26日、1225頁）、  
30 エレクトロスプレー（Hensel et al.、Proceedings of the 43rd ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics、アトランタ、ジョージア、1995年5月21～26日、947頁）、高速溶媒濃縮（Vorm et al.、Anal. Chem.、66：3281-3287、1994）、  
30 サンドイッチ（Li et al.、J. Am. Chem. Soc.、118：11662-11663、1996）、および2層方法（Dal et al.、Anal. Chem.、71：1087-1091、1999）が含まれる。また、例えばLiang e t al.、Rapid Commun. Mass Spectrom.、10：1219-1226（1996）；van A drichem et al.、Anal. Chem.、70：923-930（1998）も参照。

**【0145】**

MALDI分析については、液相において試料をエネルギー吸収性化合物またはコロイド（マトリックス）と混合し、最終的に不活性プローブの表面上で溶液を固体状に乾燥することにより、  
40 固態共結晶または薄膜として試料を調製する。場合によっては、エネルギー吸収性分子（EAM）が、試料提示表面の必須成分であることもある。EAM適用戦略とは関係無く、レーザー脱離/イオン化飛行時間型質量分析計（LDIMS）への導入前に、  
40 プローブ内容物を固体状態に乾燥させる。

**【0146】**

TOF質量分析法におけるイオン検出は、典型的には電子放出検出装置、例えば電子増倍管（EMP）またはマイクロチャンネルプレート（MCP）の使用により達成される。これらの装置は両方とも、一次入射荷電粒子を、二次、三次、四次等の電子のカスケードに変換することにより機能する。単一入射荷電粒子の衝撃により発生する二次電子の確率は、この荷電粒子のイオン対電子変換効率（または、より単純には変換効率）であるとみなされ得る。入射荷電粒子の総数と比較したときのカスケード事象についての電子収率は、典型的には検出装置利得として報告される。一般的にMCPの全体的応答時間はEMPの場合よりかなり優れているため、MCPは、質量/電荷分解能増強にとって好ましい電  
50

子放出検出装置である。しかしながら、迅速な応答時間および広い周波数帯域幅が必要ではない場合には、EMPでも運動エネルギーが分配されたイオン集団の検出については十分に機能する。

【0147】

消化されたタンパク質分析についての好ましい面では、液体クロマトグラフィータンデム質量分析計(LC-TMS)が使用される。このシステムは、液体クロマトグラフ、次いでタンデム質量分析法の使用により試料分離の追加段階を提供する。

【0148】

エレクトロスプレーイオン化(ESI)およびMALDIは、MSへキャピラリー電気泳動(CE)を連結する常用的イオン化技術である(Moini, M., Anal Bioanal Chem, 2002; 373: 466-80)。CEは、高い感度および分離効率という利点を有する。CEの高濃度検出限界については、試料濃縮および試料フォーカシング方法の開発により取組まれてきた。さらに、広く多様な技術、例えばキャピラリーゾーン電気泳動、キャピラリー等電点フォーカシング、およびオンカラム過渡的等速電気泳動は、現時点でMSに連結されている。Deterding et al. (Electrophoresis 2002; 23: 2296-305)は、血漿試料からのアポリポタンパク質種の同定に関するCE-MS技術の有効な適用について報告している。すなわち、これらの方法も、同様に特にヒト血漿試料におけるHPPの検出に適用されると考えられる。

10

【0149】

好ましい面では、実施例1に記載されたシステムによるカラムから溶出されたタンパク質を、MSおよびMS-MS分析の両方を用いて分析する。例えば、RP2から溶離する無傷タンパク質の小部分は、LC-ESI-MSを用いてオンライン検出に転換され得る。トリプシン消化またはトリプシンによらない消化、MALDI-MSおよびESI-MSについての調製、並びに異なるマトリックスによるMALDIプレートの調製を可能にする若干のプレートでタンパク質を等分する。すなわち、これらの方法により、無傷質量に関する情報に加えて、ペプチドマスフィンガープリンティングおよびMS-MS技術の両方により分析が実施され得る。

20

【0150】

本明細書に記載されているタンパク質の分離および分画方法により、個々のタンパク質または少数の異なるタンパク質を含むフラクションが提供される。これらのタンパク質は、タンパク質およびその断片化から生じるペプチドの分子質量のマスペクトル測定により同定され得る。タンパク質配列データベースにおいて入手可能な情報を利用することにより、インシリコで作成されたタンパク質加水分解ペプチド質量パターン、および実験的に観察されるペプチド質量パターン間の比較が行われ得る。理論的および実験的タンパク質加水分解フラグメント間のマッチ数に基づいて(他の基準の中でも)、データベースにおける候補タンパク質をランク付けしている「ヒット・リスト」がコンパイラーで作成され得る。ペプチドマッピングおよび配列データベース検索戦略に基づいた、オンラインタンパク質同定用ソフトウェアを提供する幾つかのウェブサイトがアクセス可能である(例、<http://www.expasy.ch>)。MSを用いるペプチドマッピングおよび配列決定方法は、国際公開第95/252819号、米国特許第5538897号、米国特許第5869240号、米国特許第5572259号、および米国特許第5696376号に記載されている。また、Yates, J. Mass Spec., 33: 1(1998)も参照。

30

40

【0151】

質量分析計から集められたデータは、典型的には検出された各事象についての強度および質量対電荷比を含む。スペクトルデータは、例えばグラフ、数値または電子フォーマットのデジタルまたはアナログ形態を含む、適切な形態で記録され得る。スペクトルは、好ましくは例えば磁氣的、例えばフロッピーディスク、テープ、またはハードディスク、光学的、例えばCD-ROMまたはレーザーディスク、またはROM-CHIPSを含む記憶媒体で記録される。

【0152】

50

与えられた試料のマスペクトルは、典型的にはタンパク質強度、質量対電荷比、および分子量に関する情報を提供する。本発明の好ましい態様では、試料中におけるタンパク質の分子量を、マッチング基準として使用することによりデータベースをクエリーする。慣用的に、例えば単電荷プロトン化分子イオンについてイオン化プロトンの質量を控除し、測定された質量/電荷比に多電荷イオンについての電荷数を乗じ、イオン化プロトンの数を控除することにより分子量を計算する。

**【0153】**

本発明によると、様々なデータベースが有用である。有用なデータベースには、ゲノム配列、発現された遺伝子の配列、および/または発現されたタンパク質の配列を含むデータベースがある。好ましいデータベースは、既知生物体、器官、組織または細胞型に存在するタンパク質のヌクレオチド配列誘導分子量を含む。読み枠(ORF)を同定し、ヌクレオチド配列をタンパク質配列および分子量情報に変換するための若干のアルゴリズムが存在する。SwissPROT/TrEMBLデータベース(<http://www.expasy.ch>)を含む、幾つかの公的にアクセス可能なデータベースが利用可能である。

10

**【0154】**

典型的には、質量分析計は、ある種の閾値レベルを超えるピークを同定し、検出されたイオンの質量、電荷および強度を計算する市販のソフトウェアを備えている。与えられたアウトプットピークと分子量との相関関係は、スペクトルデータから直接明らかにされ得、すなわち、イオンにおける電荷が一つであるため、分子量は、計算器の値 - イオン化プロトンの質量に等しい。しかしながら、タンパク質イオンは、様々な対イオンおよび付加物、例えばN、CおよびKと複合体を形成し得る。かかる場合には、所定のタンパク質イオンは、同一タンパク質の種々のイオン状態(または種)を表す、多重ピーク、例えばトリプレットを呈することが予後される。すなわち、スペクトルデータを分析および処理することにより、同一タンパク質から生じるピークの群を測定することが必要であり得る。この分析は、慣用的に、例えばMann et al., anal. Chem., 61: 1702 - 1708 (1989)による記載に従って実施され得る。

20

**【0155】**

質量分析計から計算された分子量を、データベース、例えばゲノムまたは発現された遺伝子のデータベースから予後される分子量とマッチングする際には、翻訳後プロセッシングを考慮に入れなければならない。タンパク質加水分解的プロセッシング、N-末端メチオニンの除去、アセチル化、メチル化、グリコシル化、リン酸化などを含む、タンパク質構造を修飾する様々なプロセッシング事象がある。

30

**【0156】**

データベースは、未知分子量とマッチする一連のタンパク質についてクエリーされ得る。レンジのウィンドウは、器具の精度、試料を調製した方法などにより決定され得る。スペクトルにおけるヒットの数(ヒットがマッチである場合)に基き、未知タンパク質またはペプチドを同定または分類する。

**【0157】**

質量分析法により一つまたはそれ以上のHPPを同定する方法は、診断および予後に有用である。好ましくは、上記方法を用いることにより、ヒト血漿に存在する一つまたはそれ以上のHPPが検出される。技術の例は、米国特許出願02/0060290、02/0137106、02/0138208、02/0142343、02/0155509に記載されている。

40

**【0158】****診断および予後判定用途**

本明細書に記載されている核酸分子、タンパク質、タンパク質相同体、および抗体は、以下の方法の一つまたはそれ以上で使用され得る：診断検定法、予後判定法、臨床試験のモニター、および本明細書で詳述されている薬理遺伝学的方法。

**【0159】**

本発明は、さらに記載されている通り、HPP核酸およびタンパク質を検出する診断お

50

よび予後判定法を提供する。また、H P PおよびH P P標的分子、特に天然アゴニストおよびアンタゴニスト間の相互作用を検出する診断および予後判定法が提供される。

【0160】

本発明は、2つまたはそれ以上の試料間で示差的に発現されるポリペプチドの同定方法を提供する。「示差的発現」とは、試料間におけるポリペプチドの量または質の差異についていう。上記差異は、転写から翻訳後修飾を通してタンパク質発現のどの段階でも起こり得る。例えば、タンパク質アレイ方法を用いると、吸着剤の異なるセット（例、チップ）におけるアフィニティスポットに2試料を結合させ、認識地図を比較することにより、2セットの吸着剤が示差的に保持しているポリペプチドを同定する。示差的保持は、ポリペプチドにおける量的保持および質的保持を含む。例えば、タンパク質の翻訳後修飾における差異は、結合特性の差異（例、グリコシル化タンパク質はレクチン吸着剤に示差的に結合する）または質量の差異（例、翻訳後開裂生成物）として検出され得る認識地図の差異をもたらし得る。ある種の態様において、吸着剤は、病気または症候群診断用マーカーの組み合わせについて選択されたアフィニティスポットのアレイを有し得る。

10

【0161】

試料間におけるポリペプチドレベルの差異（例、血漿試料における示差的発現H P P）は、試料を様々な分析条件に曝露することにより脱離分光測定法（例、質量分析法）により同定され得る。タンパク質は、物理化学特性（例、分子量）を検出することにより同定され得、この情報を用いて、類似プロファイルを有するタンパク質についてのデータベースを検索し得る。

20

【0162】

H P Pの好ましい検出方法は、質量分析技術を利用する。上記方法は、診断または予後判定にかけられた試料、例えば生物学的試料中に存在する特定H P Pイソ型のサイズおよび特徴についての情報を提供する。質量分析技術は、「質量分析法によるH P Pの検出」と題する項で詳述されている。実施例1は好ましい検出スキームを概説しており、ここでは生物学的試料を、質量分析法による特性確認前にクロマトグラフィーにより分離する。本発明は、生物学的試料におけるH P Pの検出方法であって、少なくとも一つのクロマトグラフィー段階により生物学的試料（例、血漿、血清、リンパ液、脳脊髄液、特定組織の細胞ライゼート）を分画し、フラクションを質量分析法にかけ、そして質量分析法で観察されたポリペプチド形質の特性をH P Pポリペプチドの既知特性と比較する段階を含む方法を提供する。

30

【0163】

特に好ましい方法は、例えば、タンパク質アレイまたはチップを含む、保持物質クロマトグラフィー方法を用いた少なくとも一つのH P Pの検出を含む。上記方法は、「タンパク質アレイを用いた検出」と題する項で記述されている。好ましくは、上記の複数のH P Pは、生物学的試料、好ましくは血漿から検出される。有利な態様は、ヒト血漿に存在するタンパク質を示すアドレス可能なアレイにおいてH P Pを検出し得るタンパク質チップを提供する。

【0164】

従って、本発明の一態様は、本発明分子（例、H P P、H P P核酸、または抗体）を用いることにより、H P P関連疾患または前述のH P P活性のいずれかが示される疾患を診断または予後判定する用法（例、診断検定法または予後判定法）を含む。別の態様において、本発明は、本発明分子を、例えば、前述の活性のいずれかが病理学的に摂動されている対象、好ましくはヒト対象の診断または予後判定に使用する用法を含む。

40

【0165】

例えば、本発明は、H P Pが生物学的試料内で発現されるか否かの測定方法であって、a) i) ストリンジェント条件下でH P P核酸とハイブリダイゼーションするポリヌクレオチド、またはii) H P Pと選択的に結合する検出可能なポリペプチド（例、抗体）と生物学的試料を接触させ、そしてb) 上記ポリヌクレオチドおよび上記試料内のRNA形質間におけるハイブリダイゼーションの存在または非存在、または検出可能なポリペプチド

50

と上記試料内のポリペプチドとの結合の存在または非存在を検出することを含む方法を含む。上記のハイブリダイゼーションまたは結合の検出は、HPPが試料内で発現され、または検出可能なポリペプチドは抗体である。

#### 【0166】

ある種の態様において、検出は、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)(例、米国特許第4683195および4683202号参照)、例えばアンカーPCRまたはRACE PCR、または別法としてライゲーション連鎖反応(LCR)(例、Landegren et al.(1988) Science 241:1077-1080; およびNakazawa et al.(1994) PNAS 91:360-364参照)におけるプローブ/プライマーの使用を伴い、後者の場合、特にHPPコード化遺伝子における点突然変異の検出に有用であり得る(Abravaya et al.(1995) Nucleic Acids Res. 23:675-682参照)。

10

#### 【0167】

また、哺乳類、好ましくはヒトがHPP発現レベルの上昇または低下を示すか否かの測定方法であって、a)哺乳類から生物学的試料を入手し、そしてb)上記生物学的試料内におけるHPPまたはHPPをコード化するHPP RNA形質の量を、対照試料で検出されるレベルと比較することを含む方法も考えられる。対照試料から検出または予測されるレベルと比べて生物学的試料内におけるHPPまたはHPP RNA形質の量が多いのは、哺乳類においてHPP発現レベルが増加したことを示し、対照試料から検出または予測されるレベルと比べて生物学的試料内におけるHPPまたはHPP RNA形質の量が少ないのは、哺乳類においてHPP発現レベルが低下したことを示す。

20

#### 【0168】

本発明はまた、診断検定法、予後判定法、および臨床試験のモニターを予後判定目的に使用する予測医学分野に関するものである。従って、本発明の一面は、生物学的試料(例、血液、血漿、細胞、組織)の状況において、HPPおよび/または核酸発現並びにHPP活性を測定することにより、個体が、有害なHPP発現または活性に随伴した病気または障害に罹患しているか否か、または発病する危険に瀕しているかを測定する診断検定法に関するものである。本発明はまた、個体が、HPP、核酸発現または活性に随伴した疾患を発症する危険に瀕しているか否かを測定する予後(または予測)検定法を提供する。例えば、HPPコード化遺伝子における突然変異は、生物学的試料において検定され得る。上記検定法を予後または予測目的に使用することにより、HPP発現または活性を特徴とするかまたはそれに随伴する疾患が始まる前に個体に予防処置を施すことができる。

30

#### 【0169】

「生物学的試料」の語は、個体から単離された組織、細胞および生物学的流体、並びに個体内に存在する組織、細胞および流体を包含するものとする。すなわち、本発明検出方法を用いることにより、インビトロおよびインビボでの生物学的試料からHPP mRNA、タンパク質またはゲノムDNAが検出され得る。好ましい生物学的試料は、生物学的流体、例えば細胞ライゼート、リンパ液、脳脊髄液、血液および特に血漿である。例えば、HPP mRNAのインビトロ検出技術には、ノーザンハイブリダイゼーションおよびin situ ハイブリダイゼーションがある。HPPのインビトロ検出技術には、質量分析法、酵素結合免疫ソルベント検定法(ELISA)、ウエスタンブロット、免疫沈降および免疫蛍光法がある。HPPコード化ゲノムDNAのインビトロ検出技術には、サザンハイブリダイゼーションがある。さらに、HPPのインビボ検出技術には、標識抗HPP抗体を個体へ導入する方法がある。

40

#### 【0170】

##### 医薬組成物

本発明の一面は、投与に適切な医薬組成物に関するものである。一態様において、医薬組成物は、医薬上許容される担体と共に、1種またはそれ以上のHPPポリペプチドを含む。別の態様では、医薬組成物は、本発明の小分子、ペプチド、HPP核酸分子および抗

50

H P P抗体を含む、H P PまたはH P P生物学的活性を検出またはモジュレーションし得る化合物を含む。上記組成物は、典型的には医薬上許容される担体を含む。本明細書で使用されている「医薬上許容される担体」の語は、医薬組成物と適合し得る、あらゆる溶媒、分散媒質、コーティング、抗菌および抗真菌剤、等張および吸収遅延剤などを全て包含するものとする。医薬活性物質に関する上記媒質および薬剤の使用は、当業界では熟知されている。慣用的媒質または薬剤が活性化合物と不適合性である場合以外は、組成物におけるその使用が考えられる。補足的活性化合物もまた、組成物に組込まれ得る。

#### 【0171】

本発明医薬組成物は、意図された投与経路と適合し得るように製剤化される。投与経路の例には、非経口、例えば静脈内、皮内、皮下、経口（例、吸入）、経皮（局所）、経粘膜および直腸投与がある。非経腸、皮内または皮下適用に使用される溶液または懸濁液は、以下の成分を含み得る：滅菌希釈剤、例えば注射用水、食塩水溶液、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒、抗菌剤、例えばベンジルアルコールまたはメチルパラベン、酸化防止剤、例えばアスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウム、キレート化剤、例えばエチレンジアミン四酢酸、緩衝液、例えば酢酸、クエン酸またはリン酸緩衝液、および張性調節剤、例えば塩化ナトリウムまたはデキストロース。pHは、酸または塩基、例えば塩酸または水酸化ナトリウムにより調節され得る。非経口製剤は、ガラスまたはプラスチックでできたアンプル、使い捨て注射器または多容量型バイアルに封入され得る。

10

#### 【0172】

注射可能用途に適した医薬組成物は、滅菌注射可能溶液または分散液を即座に製造するための滅菌水溶液（水溶性の場合）または分散液および滅菌粉末を含む。静脈内投与の場合、適切な担体には、生理食塩水、静菌水、クレモフォールE L（登録商標）（BASF、パーシッパニー、ニュージャージー）またはリン酸緩衝食塩水（PBS）がある。全ての場合において、組成物は無菌状態でなくてはならず、容易に注射器に使用できる程度まで流動性であるべきである。組成物は、製造および貯蔵条件下で安定していなくてはならず、微生物、例えば細菌および真菌の汚染作用に対して保護されなければならない。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセリン、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）、およびそれらの適切な混合物を含む溶媒または分散媒質であり得る。適正な流動性は、例えば、コーティング、例えばレシチンの使用により、分散液の場合に要求される粒子サイズの維持により、および界面活性剤の使用により維持され得る。微生物作用の阻止は、様々な抗菌および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどにより達成され得る。多くの場合、組成物中に等張剤、例えば糖類、ポリアルコール、例えばマニトール、ソルビトール、塩化ナトリウムを含ませるのが好ましい。注射可能組成物の長期吸収は、組成物中に吸収を遅らせる薬剤、例えばモノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを含ませることにより可能となる。

20

30

#### 【0173】

活性化合物がタンパク質、例えば抗H P P抗体である場合、滅菌注射可能溶液は、必要に応じて上記で列挙した成分の一つまたは組み合わせと共に適切な溶媒中に必要量の活性化合物を組込み、次いで濾過滅菌することにより製造され得る。一般的に、分散液は、基礎分散媒質および上記で列挙したもののからの他の必要成分を含む滅菌賦形剤中へ活性化合物を組込むことにより製造される。滅菌注射可能溶液製造用の滅菌粉末の場合、好ましい製造方法は、真空乾燥および凍結乾燥であり、有効成分に所望の追加成分を加えた粉末が先に滅菌濾過しておいたその溶液から生成される。

40

#### 【0174】

経口組成物は、一般的に不活性希釈剤または食用担体を含む。それらは、ゼラチンカプセルに封入されるかまたは錠剤に圧縮され得る。経口治療投与目的の場合、活性化合物は、賦形剤と共に組込まれ、錠剤、トローチまたはカプセル形態で使用され得る。吸入投与の場合、化合物は、適切な噴射剤、例えば二酸化炭素といった気体を含む加圧容器または

50

ディスペンサー、またはネブライザーからエアロゾルスプレー形態で送達される。全身投与はまた、経粘膜または経皮手段によるものであり得る。経粘膜または経皮投与の場合、透過すべきバリアーに適切な浸透剤が製剤に使用される。上記浸透剤は、一般的に当業界では公知であり、例えば、経粘膜投与については、デタージェント、胆汁酸塩、およびフシジン酸誘導体を含む。経粘膜投与は、鼻用スプレーまたは坐剤の使用を通じて達成され得る。経皮投与の場合、活性化合物は、当業界において公知の要領で、軟膏、膏薬、ゲルまたはクリームに製剤化される。最も好ましくは、活性化合物は、静脈内注射により対象に送達される。

#### 【0175】

一態様において、活性化合物は、例えば移植片およびマイクロカプセルデリバリーシステムを含む放出制御型製剤として、身体からの急速な排出に対して化合物を保護する担体を用いて製造される。生物分解性、生体適合性ポリマー、例えばエチレンビニルアセテート、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステルおよびポリ酪酸が使用され得る。上記処方物の製造方法は、当業者には容易に理解できるものである。材料はまた、アルザ・コーポレーションおよびノヴァ・ファーマシューティカルズ、インコーポレイテッドから購入され得る。また、リポソーム懸濁液（ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体により感染させた細胞にターゲティングされたりリポソームを含む）は、医薬上許容される担体として使用され得る。これらは、当業者に公知の方法に従って、例えば米国特許第4522811号（これについては出典明示により援用する）記載の要領で製造され得る。

10

20

#### 【0176】

さらなる態様では、活性化合物は、マイクロチップ薬剤送達装置においてコーティングされ得る。上記装置は、タンパク質組成物を消化にかけたり、個体に注射をすること無く、個体の血流、脳脊髄液、リンパまたは組織へ上記組成物を制御型送達するのに有用である。マイクロチップ薬剤送達装置の使用方法は、米国特許第6123861、5797898号および米国特許出願20020119176A1に記載されており、これらについては出典明示により援用する。

#### 【0177】

投与のし易さおよび投薬量の均一性にとっても投薬単位形態で経口または好ましくは非経腸組成物を処方することは、特に有利である。本明細書で使用されている投薬単位形態は、処置される対象にとって単位投薬量として適した物理的個別単位をいい、各単位は、必要とされる医薬用担体と共に所望の治療効果をもたらすように計算された予め定められた量の活性化合物を含有する。本発明の投薬単位形態についての特殊化は、活性化合物固有の特徴および達成されるべき特定治療効果、および個体治療用として上記活性化合物を調合する際の当技術分野固有の限界により直接的に規定される。

30

#### 【0178】

上記化合物の毒性および治療効力は、例えば、LD50（集団の50%に対する致死用量）およびED50（集団の50%における治療有効量）の測定についての細胞培養または実験動物における標準的医薬手順により測定され得る。毒性および治療効果間の用量比が治療指数であり、それはLD50/ED50比として表され得る。大きな治療指数を呈する化合物が好ましい。毒性副作用を呈する化合物が使用され得る場合、非感染細胞への潜在的損傷を最小限に抑えることにより副作用を低減化するために、上記化合物を罹患組織部位へターゲティングするデリバリーシステムの設計には注意すべきである。

40

#### 【0179】

細胞培養検定法および動物試験から得られたデータは、人体で使用される投薬量の範囲を処方するのに使用され得る。上記化合物の投薬量は、好ましくは毒性をほとんどまたは全く伴わず、ED50を含む循環濃度の範囲内に含まれる。投薬量は、使用される投薬形態および利用される投与経路によりこの範囲内で変動し得る。本発明方法で使用される化合物については、治療有効量は、最初に細胞培養検定法から評価され得る。用量を動物モデルで処方することにより、人体で有用な用量がより正確に決定され得る。血漿中のレベ

50

ルは、例えば高速液体クロマトグラフィーにより測定され得る。

【0180】

医薬組成物は、投与についての説明書と一緒に容器、パックまたはディスペンサーに封入され得る。

【0181】

病気の治療

本発明のHPPポリペプチド並びに本発明のHPPモジュレーターおよびHPP関連組成物は、HPP関連障害の処置または予防で使用され得る。上記疾病および障害には、下記の疾病および障害があるが、これらに限定されるわけではない。実施例4は、本発明のHPPポリペプチドが治療、予後および/または診断に使用され得る疾病および障害を決定するのに適した方法を提供する。しかしながら、この目的に使用され得る、当業界で公知の適切な方法も他に存在するものとする。

10

【0182】

細胞増殖および癌に関連した病気の治療

本発明の一面によると、HPP-38ポリペプチドは、癌疾患または過形成に関連する疾患または状態の処置用または上記疾患の予後または診断用に提供される。

【0183】

本発明に従ってヒト血漿から検出されたポリペプチドHPP-38は、食道癌関連遺伝子2 (ECRG2) Swiss-Prot P58062の一部であるアミノ酸配列を有することが見出された。本発明の明細書において、HPP-38ポリペプチドの語は、配列番号391および392に示された配列のポリペプチドを包含する。また、変異型および誘導体が、望ましくは少なくとも80%、さらに望ましくは少なくとも85%、好ましくは少なくとも90%、さらに好ましくは少なくとも95%、さらに好ましくは少なくとも99%の割合で配列番号391および392に示された配列と同一である配列を有する場合、それらの変異型および誘導体も包含される。変異型および誘導体は、配列番号391および392に示されたアミノ酸配列に対して1、2または3個のアミノ酸置換、欠失または挿入を有し得る。変異型および誘導体はまた、本明細書に記載されている要領で化学的に修飾され得る。HPP-38ポリペプチドは、ジーンプロット、インコーポレイテッド(ジュネーブ、スイス国)により合成されたもので、実施例4記載の方法で、ペプチドをマウスに注射し、多くの臓器において遺伝子発現プロファイリングを実施した。表4は、HPP-38ポリペプチドが、アポトーシスの正の調節に関与する遺伝子、乳癌の指標である遺伝子、ストレス応答遺伝子および腫瘍サプレッサー遺伝子の発現に影響を及ぼすことを示す。さらに、密着結合タンパク質をコード化する多くのRNAは、血液、心臓、腎臓、肝臓および脾臓において協調した形でダウンレギュレーションされていた。それらの遺伝子群は全て、細胞成長の調節に関連付けられ得る。我々の発見を確認するため、ECRG2を、MDSファーマ・サービスでの細胞成長検定法でその成長調節活性について試験した。ECRG2を、0.01~100マイクロモルの範囲の濃度で15癌細胞株の上清に加え、細胞成長を経時的に測定した。ECRG2は、MCF-7(胸部)、DLD-1(結腸)、A-498(腎臓)、HepG2(肝臓)、A549(肺)、SK-MEL-5(黒色腫)、SK-N-MC(神経上皮腫)、PANC-1(膵臓)、PC-3(前立腺)、A431(皮膚)、MES-SA(子宮)を含む、試験した15細胞株のうち11の成長を著しく阻害(細胞増殖の<50%)することができた。IC-50は、神経上皮腫、前立腺、皮膚および子宮細胞株については20マイクロモル未満であった。

20

30

40

【0184】

従って、本発明は、癌疾患または過形成に随伴する疾患または状態の処置に適切な治療法としてHPP-38ポリペプチドを提供するもので、その方法は、上記疾患に罹患しているヒトを含む哺乳類にHPP-38ポリペプチドの有効量を投与することを含む。好ましくは、癌疾患は、神経上皮腫、前立腺癌、基底細胞癌、扁平上皮癌、黒色腫および頸部上皮内癌から成る群から選択される。別の好ましい態様において、過形成に随伴する疾患または状態は、線維症、前立腺過形成、副腎過形成、子宮内膜過形成、乾癬、炎症に起因

50

する過形成から成る群から選択される疾患または状態である。好ましい一態様では、医薬におけるHPP-38ポリペプチドの使用が提供される。

【0185】

別の一面によると、本発明は、HPP-38ポリペプチドの血漿レベルを検出することを含む、癌疾患または過形成に随伴する疾患または状態の予後または診断方法を提供し、その方法において、レベル増加は癌疾患または過形成に随伴する疾患または状態を示すものである。本発明明細書の範囲内において、HPP-38ポリペプチド血漿レベルの増加とは、癌疾患または過形成に随伴する疾患または状態に罹患していない個体で見出されるHPP-38ポリペプチド血漿レベルに対するものである。増加は、好ましくは少なくとも1.2倍、さらに好ましくは少なくとも1.5倍、2倍、3倍、5倍または10倍である。

10

【0186】

別の面によると、本発明は、癌疾患または過形成に随伴する疾患または状態の予後または診断方法であって、i)対象から入手した適切な組織の試料において表4に示されている少なくとも一遺伝子の発現レベルを検出することにより、第一値が提供され、そしてii)無疾患対象からの上記遺伝子の発現レベルと第一値を比較することを含み、無疾患対象からの試料と比較した対象試料における発現レベルの大小が、癌疾患または過形成に随伴する疾患または状態に対象が罹患し易いかまたは罹患していることの指標である方法を提供する。遺伝子発現は、mRNAまたはタンパク質レベルで検出され得る。適切な組織には、皮膚、前立腺、膵臓、子宮、肺、肝臓、腸、腎臓があるが、これらに限定はされない。

20

【0187】

上記の面の好ましい態様において、遺伝子(複数も可)は、アップレギュレーションまたはダウンレギュレーションされている表4に示された遺伝子(複数も可)から選択される。好ましくは、遺伝子(複数も可)は、1.2倍またはそれ以上、1.3倍またはそれ以上、または1.5倍またはそれ以上アップレギュレーションされている表4に示された遺伝子(複数も可)から、または0.8倍またはそれ未満、0.7倍またはそれ未満ダウンレギュレーションされている表4に示された遺伝子から選択された遺伝子(複数も可)から選択される。上記の面のさらに別の好ましい態様では、少なくとも1、2、3、4または5遺伝子の発現が測定される。

30

【0188】

別の面によると、本発明は、癌疾患または過形成に随伴する疾患または状態のモジュレーターの同定方法であって、i)HPP-38生物学的活性に許容される試料条件下でHPP-38ポリペプチドと試験化合物を接触させ、ii)少なくとも一つのHPP-38生物学的活性のレベルを測定し、そしてiii)試験化合物を欠く対照試料のレベルと上記レベルとを比較することを含む方法を提供する。好ましい態様において、上記レベルの変化を誘発する試験化合物を、癌疾患または過形成に随伴する疾患または状態の予防および/または治療処置を目的とするHPP-38モジュレーターとしてさらなる試験用を選択する。好ましい態様では、表4に示された一つまたはそれ以上の遺伝子の発現レベルを検出することにより、HPP-38生物学的活性レベルを測定する。

40

【0189】

鉄輸送または鉄バランスの欠損に関連した病気の治療

本発明に従ってヒト血漿で検出されたポリペプチドHPP-13は、ヒトチモシンベータ4(Swiss-ProteinP01253)の一部であるアミノ酸配列を有することが見出された。本発明の明細書において、HPP-13ポリペプチドの語は、配列番号393(ヒト形態および短いマウス型)および配列番号394(長いマウス型)に示された配列のポリペプチドを包含する。また、変異型および誘導体が、望ましくは少なく

50

とも80%、さらに望ましくは少なくとも85%、好ましくは少なくとも90%、さらに好ましくは少なくとも95%、さらに好ましくは少なくとも99%の割合で配列番号393および394に示された配列と同一である配列を有する場合、それらの変異型および誘導体も包含される。変異型および誘導体は、配列番号393および394に示されたアミノ酸配列に対して1、2または3個のアミノ酸置換、欠失または挿入を有し得る。変異型および誘導体はまた、本明細書に記載されている要領で化学的に修飾され得る。HPP-13ポリペプチドは、ジーンプロット、インコーポレイテッド(ジュネーブ、スイス国)により合成されたもので、実施例4記載の方法で、ペプチドをマウスに注射し、多くの臓器において遺伝子発現プロファイリングを実施した。表6、7、8、9および/または10は、HPP-13ポリペプチドが、ヘム生合成および代謝、ポルフィリン生合成および代謝および赤血球生成に關与する遺伝子の発現に影響を及ぼすことを示している。さらに、食事の鉄バランス、鉄輸送に關与する遺伝子も示差的に調節される。

10

20

30

40

50

#### 【0190】

従って、本発明は、鉄過負荷疾患、貧血または赤血球生産不足に至る、体内の鉄バランスが改変されている疾患または状態に關連した病状の処置を目的とするHPP-13ポリペプチドを提供する。一態様において、HPP-13ポリペプチドは、鉄バランスまたは鉄輸送に關連した疾患または状態の処置に適切な治療法として提供され、有効量のHPP-13ポリペプチドが、上記疾患に罹患しているヒトを含む哺乳類に投与される。好ましくは、鉄バランスまたは鉄輸送に關連した疾患または状態は、ヘモクロマトーシス、遺伝性ヘモクロマトーシス、若年型ヘモクロマトーシス、サラセミア、鉄過剰負荷に關連した状態、貧血、鎌状赤血球貧血から成る群から選択される。好ましい一態様において、医薬におけるHPP-13の使用が提供される。

#### 【0191】

別の面によると、本発明は、HPP-13ポリペプチドの血漿レベルの検出を含む鉄バランスまたは鉄輸送に關連した疾患または病状の予後または診断方法であって、レベル増加が鉄バランスまたは鉄輸送に關連した疾患または病状を示すものである方法を提供する。本明細書の範囲内において、HPP-13ポリペプチド血漿レベルの増加とは、鉄バランスまたは鉄輸送に關連した疾患または状態に罹患していない個体で見出されるHPP-13ポリペプチド血漿レベルに対するものである。増加は、好ましくは少なくとも1.2倍、さらに好ましくは少なくとも1.5倍、2倍、3倍、5倍または10倍である。

#### 【0192】

別の面によると、本発明は、鉄バランスまたは鉄輸送に關連した疾患または病状の予後または診断方法であって、i)対象から入手した適切な組織の試料において表6、7、8、9および/または10で同定された少なくとも一遺伝子の発現レベルを検出することにより第一値を得、そしてii)無疾患対象からの遺伝子の発現レベルと第一値を比較することを含み、無疾患対象からの試料と比べた場合の対象試料における発現レベルの大小が、対象が鉄バランスまたは鉄輸送に關連した疾患または病状に罹患し易いかまたは罹患していることの指標である方法を提供する。遺伝子発現はmRNAまたはタンパク質レベルで検出され得る。適切な組織には、肝臓、心臓、腸、例えば十二指腸、脾臓、骨髄があるが、これらに限定はされない。mRNA発現レベルは、適切な技術、例えばマイクロアレイ解析、ノーザンプロット分析、逆転写PCRおよびリアルタイム定量的PCRにより検出され得る。同様に、タンパク質レベルは、例えばタンパク質に特異的な標識プローブを用いることによるウエスタン・ブロッティングを通じた適切な技術により検出され得る。

#### 【0193】

上記の面の好ましい態様において、遺伝子(複数も可)は、アップレギュレーションまたはダウンレギュレーションされている表6、7、8、9および/または10に示された遺伝子(複数も可)から選択される。好ましくは、遺伝子(複数も可)は、1.2倍またはそれ以上、1.3倍またはそれ以上、または1.5倍またはそれ以上アップレギュレーションされている表6、7、8、9および/または10に示された遺伝子(複数も可)から、または0.8倍またはそれ未満、0.7倍またはそれ未満、または0.6倍またはそれ未

満ダウンレギュレーションされている表6、7、8、9および/または10に示された遺伝子から選択された遺伝子(複数も可)から選択される。上記の面のさらに別の好ましい態様では、少なくとも1、2、3、4または5遺伝子の発現が測定される。

【0194】

別の面によると、本発明は、鉄バランスまたは鉄輸送に関連した疾患または病状のモジュレーターの同定方法であって、i) HPP-13生物学的活性に関して許容される試料条件下、HPP-13ポリペプチドと試験化合物とを接触させ、ii) 少なくとも1種のHPP-13生物学的活性のレベルを測定し、iii) 上記レベルを、試験化合物を欠く対照試料の場合と比較することを含む方法を提供する。好ましい態様では、鉄バランスまたは鉄輸送に関連した疾患または病状の予防および/または治療的処置についてのHPP-13モジュレーターとしてさらに試験することを目的として、上記レベルの変化を誘発する試験化合物を選択する。好ましい態様では、表6、7、8、9および/または10に示された1個またはそれ以上の遺伝子の発現レベルを検出することにより、HPP-13生物学的活性のレベルを測定する。

10

【0195】

神経変性に関連した病気の治療

表11は、HPP-13ポリペプチドでマウスを処置した結果、これらのポリペプチドが、神経変性および末梢神経障害、例えば多発性硬化症、脱髄性疾患、ギラン-バレー病、糖尿病性ニューロパシー、化学療法誘導ニューロパシー、自己免疫関連ニューロパシー、CNS関連ニューロパシー、例えばアルツハイマー病および例えば卒中に関連した神経損傷(神経系虚血)の病状の処置に有用であることを示す遺伝子発現プロファイルが得られたことを示す。

20

【0196】

さらに、上記病状の処置に有用であるGPA101ポリペプチドが本発明により提供される。GAP101は、HPP-13のランダム化配列を有するポリペプチドである。本発明の明細書において、GPA101ポリペプチドの語は、配列番号397に示された配列のポリペプチド並びに上記の変異型および誘導体を包含する。すなわち、一態様において、本発明は、配列番号397に示されたアミノ酸配列を含むポリペプチドを提供し、好ましい態様において、本発明は、配列番号397に示された配列から成るポリペプチドを提供する。

30

【0197】

従って、本発明は、神経変性に関連する疾患または病状を処置するための適切な治療法としてHPP-13およびGPA101ポリペプチドを提供し、その方法では、上記疾患に罹患しているヒトを含む哺乳類に、HPP-13またはGPA101ポリペプチドの有効量を投与する。好ましくは、神経変性に関連する疾患または状態は、脊椎損傷またはCNS損傷、アルツハイマー病、パーキンソン病、多発性硬化症、ALS(筋萎縮性側索硬化症)、末梢神経障害、ギラン-バレー病、糖尿病性ニューロパシー、脱髄ニューロパシーから成る群から選択される。好ましい一態様では、医薬におけるHPP-13またはGPA101ポリペプチドの使用が提供される。

40

【0198】

別の面によると、本発明は、HPP-13ポリペプチドの血漿レベルの検出を含む神経変性に関連する疾患または病状の予後または診断方法であって、レベル増加が神経変性に関連する疾患または病状を示すものである方法を提供する。本発明明細書の範囲内において、HPP-13ポリペプチド血漿レベルの増加とは、神経変性に関連する疾患または状態に罹患していない個体で見出されるHPP-13ポリペプチド血漿レベルに対するものである。増加は、好ましくは少なくとも1.2倍、さらに好ましくは少なくとも1.5倍、2倍、3倍、5倍または10倍である。

【0199】

別の面によると、本発明は、神経変性に関連する疾患または病状の予後または診断方法であって、i) 対象から入手した適切な組織の試料において表11で同定された少なくと

50

も一遺伝子の発現レベルを検出することにより第一値を得、そしてii) 無疾患対象からの遺伝子の発現レベルと第一値を比較することを含み、無疾患対象からの試料と比べた場合の対象試料における発現レベルの大小が、対象が神経変性に関連する疾患または病状に罹患し易いかまたは罹患していることの指標である方法を提供する。遺伝子発現は、mRNAまたはタンパク質レベルで検出され得る。適切な組織には、脳、脊髄、運動神経支配系組織、末梢神経、中枢および末梢神経組織があるが、これらに限定はされない。mRNA発現レベルは、適切な技術、例えばマイクロアレイ解析、ノーザンブロット分析、逆転写PCRおよびリアルタイム定量的PCRにより検出され得る。同様に、タンパク質レベルは、例えばタンパク質に特異的な標識プローブを用いることによるウエスタン・ブロッティングを通じた適切な技術により検出され得る。

10

**【0200】**

上記の面の好ましい態様において、遺伝子(複数も可)は、アップレギュレーションまたはダウンレギュレーションされている表11に示された遺伝子(複数も可)から選択される。好ましくは、遺伝子(複数も可)は、1.2倍またはそれ以上、1.3倍またはそれ以上、または1.5倍またはそれ以上アップレギュレーションされている表11に示された遺伝子(複数も可)から、または0.8倍またはそれ未満、0.7倍またはそれ未満、または0.6倍またはそれ未満ダウンレギュレーションされている表11に示された遺伝子から選択された遺伝子(複数も可)から選択される。上記の面のさらに別の好ましい態様では、少なくとも1、2、3、4または5遺伝子の発現が測定される。

**【0201】**

別の面によると、本発明は、神経変性に関連する疾患または病状のモジュレーターの同定方法であって、i) HPP-13またはGPA101生物学的活性に関して許容される試料条件下、HPP-13またはGPA101ポリペプチドと試験化合物とを接触させ、ii) 少なくとも1種のHPP-13またはGPA101生物学的活性のレベルを測定し、iii) 上記レベルを、試験化合物を欠く対照試料の場合と比較することを含む方法を提供する。好ましい態様では、神経変性に関連する疾患または病状の予防および/または治療的処置についてのHPP-13またはGPA101モジュレーターとしてさらに試験することを目的として、上記レベルの変化を誘発する試験化合物を選択する。好ましい態様では、HPP-13生物学的活性のレベルを測定し、表11に示された1個またはそれ以上の遺伝子の発現を検出する。

20

30

**【0202】**

グルコース代謝の欠損に関連した病気の治療

本発明に従ってヒト血漿で検出されたポリペプチドHPP-23は、パンクレアスタチン(Swiss-Prot P10645)の一部であるアミノ酸配列を有することが見出された。本発明の明細書において、HPP-23ポリペプチドの語は、配列番号395および配列番号396に示された配列のポリペプチドを包含する。特に好ましい態様では、ポリペプチドはアミド化されていない。また、変異型および誘導体が、望ましくは少なくとも80%、さらに望ましくは少なくとも85%、好ましくは少なくとも90%、さらに好ましくは少なくとも95%、さらに好ましくは少なくとも99%の割合で配列番号395および396に示された配列と同一である配列を有する場合、それらの変異型および誘導体も包含される。変異型および誘導体は、配列番号395および396に示されたアミノ酸配列に対して1、2または3個のアミノ酸置換、欠失または挿入を有し得る。変異型および誘導体はまた、本明細書に記載されている要領で化学的に修飾され得る。HPP-23ポリペプチドは、ジーンブロット、インコーポレイテッド(ジュネーブ、スイス国)により合成されたもので、実施例4記載の方法で、ペプチドをマウスに注射し、多くの臓器において遺伝子発現プロファイリングを実施した。脳および他の臓器において、HPP-23ポリペプチド注射は、グルコース代謝、他の炭水化物異化経路、脈管形成および炎症応答に關与する遺伝子のRNA発現レベルに対して強い効果を示した(表12)。さらに、パンクレアスタチンのシグナリング経路の主要段階は、再構成され得る。

40

**【0203】**

50

H P P - 2 3 を、M D S ファーマ・サービスでの 3 匹のマウスモデル：絶食 I C R マウス、グルコース負荷 I C R マウス、および 2 型糖尿病のモデルである、d b / d b ( N I D D M、非インスリン依存性真性糖尿病) マウスにおいてグルコースレベルに対するそのモジュレーター効果について試験した。1 0 m g / k g の用量で、非アミド化パンクレアスタチンは、賦形剤と比べて 2 0 % ほどグルコース負荷マウスにおいて血清グルコースレベルを著しく低下させた。これは、パンクレアスタチンの非アミド化形態の生物学的活性の第一記録である。生物学的活性は、血清グルコースレベルの調節である。

**【 0 2 0 4 】**

従って、本発明は、血清グルコース調節障害を伴う疾患を処置するための適切な治療法として H P P - 2 3 ポリペプチドを提供し、その方法では、上記疾患に罹患しているヒトを含む哺乳類に、H P P - 2 3 ポリペプチドの有効量を投与する。好ましくは、血清グルコース調節障害を伴う疾患は、糖尿病または他の高血糖状態である。特に好ましい態様において、H P P - 2 3 は、哺乳類、例えばヒトに投与されると、血中グルコースレベルを低下させる。好ましい態様では、医薬における H P P - 2 3 の使用が提供される。

10

**【 0 2 0 5 】**

別の面によると、本発明は、H P P - 2 3 ポリペプチドの血漿レベルの検出を含む血清グルコース調節障害を伴う疾患の予後または診断方法であって、レベル増加が血清グルコース調節障害を伴う疾患を示すものである方法を提供する。本発明明細書の範囲内において、H P P - 2 3 ポリペプチド血漿レベルの増加とは、血清グルコース調節障害を伴う疾患に罹患していない個体で見出される H P P - 2 3 ポリペプチド血漿レベルに対するものである。増加は、好ましくは少なくとも 1 . 2 倍、さらに好ましくは少なくとも 1 . 5 倍、2 倍、3 倍、5 倍または 1 0 倍である。

20

**【 0 2 0 6 】**

別の面によると、本発明は、血清グルコース調節障害を伴う疾患の予後または診断方法であって、i) 対象から入手した適切な組織の試料において表 1 2 で同定された少なくとも一遺伝子の発現レベルを検出することにより第一値を得、そして ii) 無疾患対象からの遺伝子の発現レベルと第一値を比較することを含み、無疾患対象からの試料と比べた場合の対象試料における発現レベルの大小が、対象が血清グルコース調節障害を伴う疾患に罹患し易いかまたは罹患していることの指標である方法を提供する。遺伝子発現は、m R N A またはタンパク質レベルで検出され得る。適切な組織には、脂肪(脂肪)組織、心臓、膵臓、筋肉、脳があるが、これらに限定はされない。m R N A 発現レベルは、適切な技術、例えばマイクロアレイ解析、ノーザンプロット分析、逆転写 P C R およびリアルタイム定量的 P C R により検出され得る。同様に、タンパク質レベルは、例えばタンパク質に特異的な標識プローブを用いることによるウエスタン・ブロッティングを通じた適切な技術により検出され得る。

30

**【 0 2 0 7 】**

上記の面の好ましい態様において、遺伝子(複数も可)は、アップレギュレーションまたはダウンレギュレーションされている表 1 2 に示された遺伝子(複数も可)から選択される。好ましくは、遺伝子(複数も可)は、1 . 2 倍またはそれ以上、1 . 3 倍またはそれ以上、または 1 . 5 倍またはそれ以上アップレギュレーションされている表 1 2 に示された遺伝子(複数も可)から、または 0 . 8 倍またはそれ未満、0 . 7 倍またはそれ未満、または 0 . 6 倍またはそれ未満ダウンレギュレーションされている表 1 2 に示された遺伝子から選択された遺伝子(複数も可)から選択される。上記の面のさらに別の好ましい態様では、少なくとも 1、2、3、4 または 5 遺伝子の発現が測定される。

40

**【 0 2 0 8 】**

別の面によると、本発明は、血清グルコース調節障害を伴う疾患のモジュレーターの同定方法であって、i) H P P - 2 3 生物学的活性に関して許容される試料条件下、H P P - 2 3 ポリペプチドと試験化合物とを接触させ、ii) 少なくとも 1 種の H P P - 2 3 生物学的活性のレベルを測定し、iii) 上記レベルを、試験化合物を欠く対照試料の場合と比較することを含む方法を提供する。好ましい態様では、血清グルコース調節障害を伴う疾

50

患の予防および/または治療的処置についてのHPP-23モジュレーターとしてさらに試験することを目的として、上記レベルの変化を誘発する試験化合物を選択する。好ましい態様では、表12に示された1個またはそれ以上の遺伝子の発現レベルを検出することによりHPP-23生物学的活性のレベルを測定する。

【0209】

代謝障害に関連した病気の治療

本発明のさらなる一面において、HPP-23ポリペプチドは、代謝障害、特にアミロイドーシスの処置に適切な治療法として提供されている。また、不整脈、特に徐脈、頻脈、洞不全症候群、および新脈管形成、特に卒中、黄斑再生、癌に適切な処置としてHPP-23ポリペプチドは、本発明の一部として提供されている。

10

【0210】

アミロイドーシスは、組織におけるタンパク質含有原線維(アミロイド)の沈積から生じる、完全に解明されたわけではない代謝障害の一群である。この病気は、局在しているかまたは広範に及ぶ臓器不全を誘発し得る。アミロイドは、心臓および血管、脳および末梢神経を含む多くの臓器に浸潤し得る。このため、アミロイドーシスの臨床的発現は非常に変化に富むことから、この病気は、ネフローゼ症候群から認知症またはうっ血性心不全の範囲に及ぶ他の状態を模倣し得る。酸化ストレスの経路は、アミロイド原線維の発生誘因であると思われる。酸化ストレスは、核DNA分解および神経および血管細胞における膜ホスファチジルセリン曝露の両方を早めることにより、細胞完全性の喪失、小グリア細胞食作用および血栓破壊を促進する。酸化ストレス中に細胞生存を助長する能力において重大なのは、代謝調節型グルタミン酸系のモジュレーション、有糸分裂後ニューロンにおける細胞周期調節、およびGSK-3ベータ活性の制御およびプレセニリン完全性である。これらの細胞経路は、最終的にはBcl-2ファミリー要員を通じたミトコンドリア膜透過性の維持、栄養因子、およびミトコンドリアエネルギー貯蔵を含むより中枢的な細胞機構に収束する。

20

【0211】

脳組織におけるパンクレアスタチン：HPP-23ポリペプチド処置マウスの脳において、HPP-23ポリペプチドは、アミロイドーシス疾患に影響を及ぼすことが本発明により見出された。HPP-23ポリペプチドは、プレセニリン1、大きな一団のペルオキシレドキシシン遺伝子、ミトコンドリアNADH-デヒドロゲナーゼ、内皮性一酸化窒素、シトクロムc-オキシダーゼをアップレギュレーションする(15プローブセット)。(それらの群は全て対照による影響は受けなかった)。それらの遺伝子は、レドックス系における大きな変化を示し、酸化ストレスを指す。さらに、多くの細胞周期遺伝子(サイクリンおよびサイクリン依存的キナーゼ)の発現が改変される。

30

【0212】

アミロイドーシスの発現におけるパンクレアスタチンおよびHPP-23ポリペプチドの関与の別の指標は、チューブリン遺伝子(チューブリンアルファ1,2,4ベータ、ガンマ、補因子アルファ)の強いアップレギュレーションである。チューブリン-アミロイド沈積は、家族性脳アミロイド血管障害で見出される(Baumann et al., Biochem Biophys Res Comm, 1996, 219: 238-242)。(また、それらの変化は対照脳からは見出されない)。

40

【0213】

Notch-およびアミロイド前駆タンパク質(APP)プロセッシングに関与するプレセニリンおよびアポリタンパク質E(アポE)の強い発現は、家族性アルツハイマー病の進行に関する機構の一部であることが示された(Tezapsidis et al., FASEB 2003, 17: 1322-1324)。プレセニリンおよびアポEは両方とも、HPP-23ポリペプチドによりアップレギュレーションされた。アミロイド前駆体遺伝子(APP)および様々なAPP結合タンパク質もまた、HPP-23によりアップレギュレーションされる。Schipper(Ann N Y Acad Sci 2004, 1012: 84-93)は、ヘムオキシゲナーゼ(HO-1)発現が、酸化促進刺激因子、例えばドーパミン、過酸化水素、ベ

50

ータ - アミロイドなどのもとで刺激されること、および H O - 1 が、アルツハイマー病、パーキンソン病、多発性硬化症および他の変性および非変性 C N S 疾患による罹患 C N S 組織においてアップレギュレーションされているのが見出されたことを報告している。H P P - 2 3 ポリペプチドは、脳における H O - 1 のアップレギュレーションをまねく。

#### 【 0 2 1 4 】

Ferreiro et al ( J Neurosci Res、 2 0 0 4、 7 6 : 8 7 2 - 8 8 0 ) は、アミロイド - ベータペプチドで処理したインビトロ培養ニューロンが、少なくとも一部は細胞内 C a ( 2 + ) ホメオスタシスの摂動に起因している、アポトーシスによるニューロン喪失を示すことを発表した。リアノジン受容体 ( R y r ) および I P ( 3 ) R により伝達される、小胞体からの C a ( 2 + ) 放出の阻害により、この神経傷害作用が排除された。R y r は、H P P - 2 3 ポリペプチド処理脳においては約 2 倍ダウンレギュレーションされている。

10

#### 【 0 2 1 5 】

心臓組織におけるパンクレアスタチン：リアノジン受容体それ自体は、パンクレアスタチン処理動物の心臓では影響されない。しかしながら、多くの r y r 結合タンパク質、例えば F K B P 1 2、カルモジュリン、ソルシン、トリアジン、およびホスファターゼ 1 はダウンレギュレーションされている。ソルシンは、同じく心臓でダウンレギュレーションされているプレセニン 1 に結合する。プレセニンは、特に、A D A M 1 7、n o t c h ( ノッチ )、および標的 s n a i l、h e s 1 およびホメオボックス遺伝子 m s x から成る N o t c h 経路の一部である。s n a i l および h e s 1 はアップレギュレーションされており、他の要員は全てダウンレギュレーションされていた。n o t c h の阻害剤、n u m b はアップレギュレーションされており、経路の一般的阻害を指していた。別のプレセニン結合タンパク質はレスチンである。この複合体の破壊は、内在性アミロイドベータペプチドの分泌減少および培養細胞培地からの外生アミロイドベータの取込減少の両方に関連する ( Tezapsidis et al、FASEB 2 0 0 3、 1 7 : 1 3 2 2 - 1 3 2 4 )。レスチンは、H P P - 2 3 ポリペプチド処理マウスの心臓においてアップレギュレーションされていた。

20

#### 【 0 2 1 6 】

N o t c h シグナリング経路は、心臓の発達に不可欠である ( 例、Timmerman et al、Genes Dev 2 0 0 4 1 8 : 9 9 - 1 1 5 )。さらに、それは V E G F ( 血管内皮増殖因子 ) とクロストークしており、例えば n o t c h 4 は V E G F シグナリングの阻害剤であり、V E G F および n o t c h 1 は発芽を調節する ( Liu et al、Mol Cell Biol 2 0 0 3、 2 3 : 1 4 - 2 5 )。心臓および脳の両方における V E G F 発現の変化に加えて、我々は、アンジオモチンおよびアンジオポイエチン並びに他の血管形成関連遺伝子における変化を検出している。Nakajima et al は、プレセニン - 1 を欠くマウスにおいて異常な血管が発生することを発表した ( Mech dev 2 0 0 3、 1 2 0 : 6 5 7 - 6 6 7 )。我々のデータから見ると、これは n o t c h 経路におけるプレセニンの参与に起因し得る。

30

#### 【 0 2 1 7 】

これらを考え合わせると、心臓におけるこれらの遺伝子発現変化は、例えば不整脈 ( 徐脈、頻脈、洞不全症候群 )、および新脈管形成 ( 例、卒中、黄斑再生、癌 ) といった状態における H P P - 2 3 ポリペプチドの参与を示している。従って、本発明は、これらの適応症について上述されている治療、予後および診断方法並びにスクリーニング方法 ( 例、モジュレーター同定方法 ) を目的とした H P P - 2 3 ポリペプチドを提供する。

40

#### 【 0 2 1 8 】

本明細書全体を通して引用されている参考文献の開示内容については、出典明示により援用する。この発明について総括的に記載したが、説明を目的とするに過ぎず、特記しない場合は制限を意図したものではない、本明細書に記載されている若干の態様を参照することによりさらに理解を深めることができるはずである。

#### 【 実施例 】

#### 【 0 2 1 9 】

50

## 実施例 1 : H P P レベルの特性確認

表現型の差異を希薄にし、大きなプール容量を提供するため、50名を越える健康な男性ボランティアからの血漿部分をプールした。医療センターでインフォームドコンセントを書面で得た後の設定で標準静脈穿刺手順を用いることにより血液(100~450ml)を入手した。試料にバーコードを付け、標準技術による遠心分離およびフィルターでの白血球の除去により血漿を調製した。回数、温度および遠心分離条件および後続の手順を厳しく制御することにより、確実に全試料に同様の処理を行った。製造業者の使用説明書に従ってプロテアーゼ阻害剤(コンプリート、ロシュ)を加え、穏やかに混合することにより確実に溶解させた。次いで、血漿試料を冷凍し、-80で貯蔵した。医療歴および臨床化学パラメーターを注意深く考慮に入れた後、少なくとも50試料の分量をプールした。マイクロプロットに従って、2.5L(全6Lのうち)の容量を多重クロマトグラフィー段階による分離にかけた。TMプロセスは以下の通りである：

10

## 【0220】

段階1 : H S A / I g G 枯濁

125mlの冷凍血漿を解凍し、滅菌フードにおいて0.45μm滅菌フィルターで濾過した。

## 【0221】

濾液を、それぞれ300mlのH S Aリガンドセファロース高速フローカラム(アマシャム、ウブサラ、スウェーデン)、5cm ID、15cm長、および100mlのプロテインGセファロース高速フローカラム(アマシャム、ウブサラ、スウェーデン)、5cm ID、5cm長の2本のインラインカラムに注入した。

20

## 【0222】

カラムを、50mMのP O 4緩衝液、p H 7.1、0.15MのN a C lで平衡状態にし、洗浄した。流速は5ml/分であった。

## 【0223】

非保持フラクション(53gの枯濁ポリペプチド)を第二段階まで冷凍しておいた。20回作業を実行した。

## 【0224】

段階2 : ゲル濾過 / 逆相捕捉段階

段階1からの試料を解凍し、滅菌フードにおいて0.45μm滅菌フィルターで濾過した。

30

## 【0225】

濾液を、2本のインラインゲル濾過カラムに注入した：2×9.5リットルのスーパーデックス75(アマシャム、英国)カラム、14cm ID、62cm長。50mMのP O 4緩衝液p H 7.4、0.1MのN a C l、8Mの尿素により、カラムを平衡状態にした。疎水性不純物は逆相プレカラム：150mlのP L R P S(ポリマー・ラブズ、英国)に保持された。プレカラムを試料インジェクション用に交換した。ゲル濾過を40ml/分の流速で実施した。

## 【0226】

低分子量タンパク質(<20kDa)を、インライン逆相捕捉カラム：50mlのP L R P S 100オングストローム(ポリマー・ラブズ、英国)へ指向させた。P L R P Sカラム上の3方向パルプ制御型インジェクションを、33mA U(280nm)のカットオフで切換えることにより、ゲル濾過溶離液を逆相捕捉カラムへ送った。このカットオフ値は、まずS D S - P A G Eを用いてO D値の推定範囲を与え、それに続いて3つのカットオフ値(O D範囲の高い値、中央値および低い値)を評価することにより確立された。少なくとも85%の低分子量タンパク質比率で、得られる低分子量タンパク質を最大にするように最終カットオフ値を選択した。低分子量タンパク質およびペプチドを、水中0.1% T F A、80% C H 3 C Nの一カラム容量勾配により逆相捕捉P L R P Sカラムから溶離させた。

40

## 【0227】

50

B S A 標準により 210 nm でモニターした分析的ゲル濾過 H P L C により測定したところ、約 1.5 g の小タンパク質が得られ、そのうち 1.3 g は < 20 k D a であった。溶離フラクション ( 50 m l ) を次の段階まで冷凍した。20回作業を実行した。この段階の最後に、全逆相溶離液を解凍し、プール ( 1リットル ) し、7個のポリペプチド容器 ( 143 m l ) に分けた。次の段階で使用するまで容器を - 20 に保った。

**【 0 2 2 8 】**

段階 3 : カチオン交換

段階 2 からの試料 ( 147 m l ) を解凍し、等量のカチオン交換緩衝液 A ( G l y / H C l 緩衝液 50 m M、p H 2.7、尿素 8 M ) と混合した。

**【 0 2 2 9 】**

試料を、100 m l ソース 15 S カラム ( アマシャム、ウブサラ、スウェーデン )、35 m m I D、100 m m 長に注入した。カラムを緩衝液 A により平衡状態にし、洗浄した。流速は 10 m l / 分であった。

10

**【 0 2 3 0 】**

100% 緩衝液 A から 100% 緩衝液 B までの段階勾配でタンパク質およびペプチドを溶離した ( 1 M の N a C l を含む緩衝液 A ) :

3 カラム容量 7.5% B ( 75 m M の N a C l )。

3 カラム容量 10% B ( 100 m M の N a C l )

3 カラム容量 17.5% B ( 175 m M の N a C l )

2 カラム容量 22.5% B ( 225 m M の N a C l )

2 カラム容量 27.5% B ( 275 m M の N a C l )

2 カラム容量 100% B ( 1 M の N a C l )。

20

**【 0 2 3 1 】**

45 ~ 60 フラクションをピークに基づいて集めた。7回作業を実施した。7回実施した後、フラクションを作業中および作業間にプールすることにより、18 フラクションを得た。フラクションを次の段階で使用するまで - 20 で保った。

**【 0 2 3 2 】**

段階 4 : 還元 / アルキル化および逆相 H P L C 分画 1

濃縮トリス - H C l で p H を 8.5 に調節した後、18 カチオン交換フラクションの各々をジチオエリスリトールにより還元し ( D T E、30 m M、37 で 3 時間 )、ヨードアセトアミド ( 120 m M、暗所で 1 時間 25 ) によりアルキル化した。D T E ( 30 m M ) を加え、次いで酸性化 ( T F A、0.1% ) することにより、後の反応を停止させた。次いで、フラクションを、U p t i s p h e r C 8、5 μ m、300 オングストロームカラム ( インターキム、フランス )、21 m m I D、150 m m 長において注入した。10 m l / 分の流速で注入を実施した。

30

**【 0 2 3 3 】**

C 8 カラムを水中 0.1% T F A ( 溶液 A ) により平衡状態にし、洗浄した。タンパク質およびペプチドを、60 分で 100% A から 100% B ( 0.1% T F A、80% C H 3 C N、水中 ) までの二相勾配で溶離した。流速は 20 m l / 分であった。40 m l の 30 フラクションを集めた。

40

**【 0 2 3 4 】**

そのフラクションでのタンパク質濃度を反映する、各フラクションの 280 nm で測定された光学密度 ( O D ) に基づいて、同様のタンパク質含有量のアリコートを各フラクションについて作製した。

**【 0 2 3 5 】**

過剰の乾燥を防ぐため、各フラクションにおいて 500 μ l の水中 10% グリセリンを加えた後、全アリコートを冷凍し、さらなる使用時まで保存したが、一フラクションについては、S p e e d V a c ( サヴァント、フィシャー、ジュネーブ ) により乾燥した。乾燥フラクションを次の段階での使用時まで - 20 で保存した。

**【 0 2 3 6 】**

50

## 段階5：逆相HPLC分画2

段階4からの乾燥試料を、1mlの溶液A（水中0.03% TFA）に再懸濁し、Vydac LCMS C4カラム、5マイクロメートル、300オングストローム（ヴァイダック、米国）、4.6mm ID、150mm長において注入した。流速は0.8ml/分であった。

## 【0237】

C4カラムを溶液Aにより平衡状態にして洗浄し、タンパク質およびペプチドを、逆相HPLC分画1における試料の溶離位置に適合させた二相勾配で溶離した。エレクトロスプレーイオントラップ質量分析法を用いて、そのままの質量データを得た。16の異なる勾配を、RP1フラクション対応溶媒濃度のCH<sub>3</sub>CN濃度範囲 - および+5% CH<sub>3</sub>CNにより用いた。30% CH<sub>3</sub>CNと等しいかまたはそれを越える溶媒濃度によりRP1で溶離したタンパク質については、RP2勾配についての出発溶離条件を、RP1溶離濃度 - 30%でのCH<sub>3</sub>CNパーセンテージで設定した。最適なSpeedVac濃縮およびさらなるロボット処理用に設計された最適化された異なる収集立体配置を採用している、深型ウェルプレートに、24の溶離フラクションを集めた。

10

## 【0238】

## 段階6：質量検出

96ウェル深型ウェルプレート（DWP）への逆相HPLC分画2の後、12960（18×30×24）のフラクションを集めた。小比率（2.5%）の容量については、LC-ESI-MS（ブルカー・エスクワイア）を用いるオンライン解析に切替えた。未消化タンパク質のアリコート、MALDIマトリックスと混合し、質量測定標準および感度標準と一緒にしたMALDIプレートにおいてスポットした。自動式スポット装置（ブルカーMALDIサンプル調製ロボット）を使用した。2種の異なるMALDIマトリックスを使用した：シナピン(sinapinic)酸としても知られている、シナピン(sinapic)酸(SA)、トランス-3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシ桂皮酸、およびアルファ-シアノ-4-ヒドロキシ桂皮酸(HCCA)。ブルカー・リフレックスIII MALDI MS装置を用いて、MALDIプレートを質量検出法にかけた。96ウェルプレートを+4で貯蔵した。

20

## 【0239】

96ウェルプレート（DWP）を回収し、2連続濃縮段階にかけた。SpeedVacで乾燥することにより、体積を1ウェル当たり0.8mlから約50マイクロリットルに濃縮し、次いで1ウェル当たり再溶解して約200マイクロリットルにし、そして約50マイクロリットルに再濃縮し、+4で貯蔵した。次いで、再緩衝し、ウェルにトリプシンを加え、密閉し、プレートを37で12時間インキュベーションした後、クエンチング（蟻酸を加えてpHを2.0に下げる）することにより、タンパク質を消化した。ウェルに加えらるトリプシンの濃度を、各特定フラクションについて記録された280nmでのODに基づいて調節した。これにより、確実にトリプシンが最適に使用され、そしてほとんどの濃縮フラクションが完全消化された。自動式スポット装置（ブルカーMALDIサンプル調製ロボット）を用いて、感度および質量測定標準と一緒にしたMALDIプレート上へHCCAマトリックスと前混合しておいた各ウェルからの一定量を沈積させた。ブルカー・リフレックスIII MALDI MS装置を用いてMALDIプレートを分析した。96ウェルプレートの各ウェルからの内容物を、LC-ESI-MS-MSブルカー・エスクワイアESIイオン-トラップMS装置により分析した。

30

40

## 【0240】

## 段階7：ヒト血漿における低存在量ペプチドの検出および同定

分離したフラクションを、さらに分離および検出のため質量分析法（MALDIおよびLC-ESI-MS-MSの両方）にかけた。

## 【0241】

150万を越えるMS/MSスペクトルを生成させ、手動的試験および自動式同定用に開発されたアルゴリズムの確認用に330000を使用した。そのままの質量データ、ペ

50

プチドマスフィンガープリントおよびペプチド配列データを、タンパク質同定および特性確認用に統合した。マスコットソフトウェア（マトリックス・サイエンス・リミテッド、ロンドン、英国）を用いてタンパク質を同定し、ペプチド同定から得られた結果をスペクトルの手動的分析によりチェックした。MS/MSスペクトルを、異なる6データベースのセット（SwissProt、公開ESTおよびゲノム配列データ、および特許データベース）にアクセスするカスタム同定エンジン（Olav）により翻訳処理した。統合段階により、異なるデータベース全体にわたる包括的同定結果の一貫性を確認した。確認された同定結果に対して注釈をつける（自動的および手動的）ことにより、観察されたポリペプチドの重要な特徴についてさらに特性確認した。

#### 【0242】

本発明によるタンパク質分離および同定方法は、非常に高感度である。Microprot.TMプロセスは、血漿濃度が50pMの範囲である非常に低存在量のタンパク質でも検出できる。本明細書記載の方法を実施しながら精度を確認した。特に、ヒト血漿において十分に特性確認された役割をもつタンパク質が検出された。

10

#### 【0243】

##### 実施例2：HPPの化学合成

この実施例では、本発明のHPPを合成する。まずペプチドフラグメント中間体を合成し、次いで所望のポリペプチドに組立てる。

#### 【0244】

HPPは、最初に、カップリングされるフラグメントのN-末端にCys残基を有するように選択された例えば5フラグメントにおいて製造され得る。フラグメント1を最初にフラグメント2にカップリングすることにより第一生成物を得、次いで分取HPLC精製後、第一生成物をフラグメント3にカップリングすることにより第二生成物を得る。分取HPLC精製後、第二生成物をフラグメント4にカップリングすることにより第三生成物を得る。最後に、分取HPLC精製後、第三生成物をフラグメント5にカップリングすることにより、所望のポリペプチドを得、これを精製し、再生する。

20

#### 【0245】

##### チオエステル形成

上記の要領で、チオエステル生成樹脂においてフラグメント2、3、4および5を合成する。この目的のため、以下の樹脂を製造する：S-アセチルチオグリコール酸ペンタフルオロフェニルエステルを、本質的にHackeng et al (1999)記載の条件下でLeu-PAM樹脂にカップリングする。第一の場合、生成した樹脂を、DMF中10%メルカプトエタノール、10%ピペリジンによる30分処理でアセチル保護基の除去後、0.2mmol規模でのペプチド連鎖伸長用の出発樹脂として使用する。フラグメント2から5のN-末端Cys残基のNを、慣用的NまたはS保護を有するCysの代わりにそれぞれの鎖の末端にBoc-チオプロリン(Boc-SPr、すなわちBoc-L-チオプロリン)をカップリングすることにより保護する、例、Brik et al., J. Org. Chem., 65:3829-3835 (2000)。

30

#### 【0246】

##### ペプチド合成

Schnolzer et al, Int. J. Peptide Protein Res., 40:180-193 (1992)による記載に従い、in situ 中和/2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロリン酸(HBTU)活性化プロトコルを用いて、アプライド・バイオシステムズ製の特注修正433Aペプチド合成装置において固相合成を実施する。各合成サイクルは、純TFAでの1~2分処理によるN-Boc-除去、1分DMFフロー洗浄、過剰DIEAの存在下における2.0mmolの前活性化Boc-アミノ酸との10分カップリング時間および2度目のDMFフロー洗浄により構成される。N-Boc-アミノ酸(2mmol)を、過剰のDIEA(6mmol)の存在下、1.8mmolのHBTU(DMF中0.5M)により3分間前活性化する。Gln残基のカップリング後、TFAを用いる脱保護の前後にジクロロメタン

40

50

フロー洗浄を使用することにより、起こり得る高温 ( T F A / D M F ) - 触媒ピロリドンカルボン酸形成を阻止する。側鎖保護アミノ酸は、B o c - A r g ( p - トルエンシルホニル ) - O H、B o c - A s n ( キサンチル ) - O H、B o c - A s p ( O - シクロヘキシル ) - O H、B o c - C y s ( 4 - メチルベンジル ) - O H、B o c - G l u ( O - シクロヘキシル ) - O H、B o c - H i s ( ジニトロフェニルベンジル ) - O H、B o c - L y s ( 2 - C l - Z ) - O H、B o c - S e r ( ベンジル ) - O H、B o c - T h r ( ベンジル ) - O H、B o c - T r p ( シクロヘキシルカルボニル ) - O HおよびB o c - T y r ( 2 - B r - Z ) - O Hである ( オルパーゲン・ファルマ、ハイデルベルク、ドイツ)。他のアミノ酸は側鎖保護を伴わずに使用される。C - 末端フラグメント1をB o c - L e u - O - C H <sub>2</sub> - P a m樹脂 ( ローディングした樹脂、0.71 mmol / g ) で合成し、フラグメント2については、5機械支援合成を通じてB o c - X a a - S - C H <sub>2</sub> - C O - L e u - P a m樹脂において開始する。この樹脂は、標準条件下におけるL e u - P A M樹脂へのS - アセチルチオグリコール酸ペンタフルオロフェニルエステルのカップリングにより得られる。D M F中の10%メルカプトエタノール、10%ピペリジンによる30分処理でアセチル保護基を除去した後、生成した樹脂を、0.2 mmol規模でのペプチド連鎖伸長の出発樹脂として使用する。

#### 【0247】

連鎖構築が完了した後、ペプチドフラグメントを脱保護し、スカベンジャーとして5% p - クレゾールを用いた1時間0 での無水フッ化水素処理により樹脂から開裂させる。フラグメント1以外の全ての場合において、D N P - 除去手順はC - 末端チオエステル基には適合し得ないため、イミダゾール側鎖2, 4 - ジニトロフェニル ( D N P ) 保護基は、H i s残基に残存している。しかしながら、連結反応中、D N Pがチオールにより徐々に除去されるため、非保護H i sが得られる。開裂後、ペプチドフラグメントを氷冷ジエチルエーテルにより沈澱させ、水性アセトニトリルに溶解し、凍結乾燥する。ペプチドフラグメントを、緩衝液A ( H <sub>2</sub> O / 0.1%トリフルオロ酢酸 ) 中における緩衝液B ( アセトニトリル / 0.1%トリフルオロ酢酸 ) の線形勾配を用いることによるウォーターズからのC18カラムでのR P - H P L Cにより精製し、214 nmでUV検出する。エスクワイア計器 ( ブルカー、プレーメン、ドイツ) または同様の計器を用いるエレクトロスプレー質量分析法 ( E S M S ) により、試料を分析する。

#### 【0248】

下記でさらに詳述されているように、非保護フラグメントの連結反応を以下の要領で実施する：乾燥ペプチドを、当モル量で6 Mグアニジン塩酸塩 ( G u H C l )、0.2 Mリン酸、p H 7.5に溶かすことにより、7前後のp Hで1 ~ 8 m Mの最終ペプチド濃度を達成し、そして1%ベンジルメルカプタン、1%チオフェノールを加える。通常、反応を一晚実施し、H P L Cおよびエレクトロスプレー質量分析法によりモニターする。それに続いて、連結反応生成物を処理することにより、依然として存在する保護基を除去する。N - 末端チアゾリジン環の開環は、さらに固体メトキサミンの添加によりp H 3.5で0.5 Mの最終濃度にし、37 度で2時間さらにインキュベーションすることを必要とする。分取H P L C精製前に、10倍過剰のトリス ( 2 - カルボキシエチル ) ホスフィンを加える。ポリペプチド鎖を含むフラクションをE S M Sにより同定し、プールし、凍結乾燥する。

#### 【0249】

フラグメント4および5の連結反応は、6 MのG u H C l中p H 7.0で実行される。各反応体の濃度は8 m Mであり、1%ベンジルメルカプタンおよび1%チオフェノールを加えて、還元的環境を作り出し、連結反応をし易くする。一晚37 度で攪拌後、ほぼ定量的な連結反応が観察される。反応におけるこの時点で、C H <sub>3</sub> - O - N H <sub>2</sub> . H C lを溶液に加えて0.5 Mの最終濃度を達成し、p Hを3.5に調節することにより、N - 末端チアゾリジン環を開環させる37 度で2時間インキュベーション後、E S M Sを用いて、反応の完了を確認する。それに続いて、反応混合物を、ペプチドフラグメントに対し10倍過剰のトリス ( 2 - カルボキシエチルホスフィン ) で処理し、15分後、分取H P L C (

例、C4、20～60%CH<sub>3</sub>CN、1分当たり0.5%)を用いて、連結反応生成物を精製し、凍結乾燥し、-20で貯蔵する。

【0250】

残りの連結反応についても僅かの修正を加えながら同じ手順を反復する。

【0251】

ペプチド折りたたみ

完全長ペプチドを、還元凍結乾燥タンパク質(約0.1mg/mL)を1MのGuHCl、100mMのトリス、10mMのメチオニン、pH8.6に溶解することにより、空気酸化により再生する。一晚穏やかに攪拌後、タンパク質溶液を上記と同様にしてRP-HPLCにより精製する。

10

【0252】

実施例3：HPP抗体組成物の製造

実質的に純粋なHPPまたはその一部分を得る。最終調製物におけるタンパク質の濃度は、例えばアミコンフィルター装置での濃縮により、1mlにつき数マイクログラムのレベルに調節される。次いで、タンパク質に対するモノクローナルまたはポリクローナル抗体を、「モノクローナル抗体」および「ポリクローナル抗体」と題する項に記載された要領で調製する。

【0253】

簡単に述べると、抗HPPモノクローナル抗体を産生させるため、マウスに数マイクログラムのHPPまたはその一部分を数週間の期間にわたって反復接種する。次いで、マウスを殺し、脾臓の抗体産生細胞を単離する。脾臓細胞を、ポリエチレングリコール手段によりマウス骨髄腫細胞と融合させ、アミノプテリンを含む選択培地(HAT培地)において系を成長させることにより、過剰の非融合細胞を破壊する。有効に融合した細胞を希釈し、希釈物のアリコートマイクロタイタープレートのウェルに入れ、そこで培養物の成長を続行させる。最初にEngvall, E., Meth. Enzymol. 70: 419 (1980)により記載された要領で、免疫検定手順、例えばELISAによるウェルの上清液からの抗体の検出により、抗体産生クローンが同定される。選択された陽性クローンを増大させ、それらのモノクローナル抗体産物を使用するために採取し得る。モノクローナル抗体製造についての詳細な手順は、Davis, L. et al., Basic Methods in Molecular Biology エルセピア、ニューヨーク、21～2項に記載されている。

20

30

【0254】

免疫化によるポリクローナル抗体製造については、非修飾または免疫原性を高めるために修飾され得る、HPPまたはその一部分でマウスを免疫化することにより、HPPまたはその一部分における異種エピトープに対する抗体を含むポリクローナル抗血清を調製する。適切なヒト以外の動物、好ましくはヒト以外の哺乳類、例えばラット、ウサギ、ヤギまたはウマが選択され得る。

【0255】

モノクローナルまたはポリクローナルプロトコルに従って調製された抗体調製物は、生物学的試料におけるHPPの濃度を測定する定量的免疫検定法において有用であるか、またはそれらはまた、生物学的試料における抗原の存在の同定に半定量的または定性的に使用される。抗体はまた、タンパク質を発現する細胞を殺すかまたは体内におけるタンパク質のレベルを低下させる治療組成物で使用され得る。

40

【0256】

実施例4：インビボでのHPPポリペプチドの特性確認

HPPポリペプチドのマウスホモログ/オーソログタンパク質を、300、600または1000マイクログラム/日の用量で7～14日間雄のC57BL/6マウスに皮下投与する。処置期間の最後に、全臓器からの試料を剖検時に急速冷凍し、GeneChip(登録商標)発現プロファイリングにより解析する。

【0257】

製造業者の使用説明書に従いトリゾール試薬(ライフ・テクノロジーズ)を用いて、全

50

RNAをこれらの冷凍組織から抽出する。 = 260nm (A260nm)での吸光度により全RNAを定量し、純度をA260nm/A280nm比により評価する。変性ゲル電気泳動により完全性をチェックする。RNAを分析時まで-80で貯蔵する。Superscript選択システム(ライフ・テクノロジーズ)を用いて二本鎖cDNAを合成するために、良い品質の全RNAを使用する。次いで、cDNAをインビトロ転写することにより(MEGAscript(登録商標)T7キット、アンピオン)、ビオチン標識cRNAを形成させる。次に、12~15mgの標識cRNAを、45で16時間アフメトリックス・マウスMOE430A発現プローブアレイとハイブリダイゼーションする。次いで、EukGE-WS2プロトコル(アフメトリックス)に従って、アレイを洗浄し、10mg/mlのストレプトアビジン-フィコエリスリンコンジュゲート(モレキュラー・プローブス)で染色する。2mg/mlアセチル化BSA(ライフ・テクノロジーズ)、100mMのMES、1M[Na<sup>+</sup>]、0.05%トウイーン20、0.05%アンチオフーム(シグマ)、0.1mg/mlのヤギIgGおよび0.5mg/mlビオチン抗体により、シグナルを抗体増幅させ、ストレプトアビジン溶液で再染色する。洗浄後、アレイをジーン・アレイ(登録商標)スキャナー(アフメトリックス)で2回走査する。

10

#### 【0258】

所定のプローブのオリゴヌクレオチド対により測定されたシグナル強度の差異を平均化することにより(AvgDiff値)、発現レベルを評価する。この試験に使用する画像取込および数値翻訳ソフトウェアは、アフメトリックス・マイクロアレイスイートバージョン5(MAS5)である。処置により影響される遺伝子を同定するため、データセットを最初にフィルターに通すことにより、実験ノイズが高い場合に値が系統的に低い発現範囲にある(実験点のレプリカの最小数に対応する若干の実験において少なくとも50のAvgDiff値)遺伝子を解析の第一波で排除する。選択の第2ラウンドでは、閾値t-試験p-値(0.05)により、2成分エラーモデル(グローバルエラーモデル)に基づいて、そして可能な場合、多仮説試験についての段階的減少補正(BenjaminiおよびHochberg偽発見率)により処置および未処置間において値が異なる遺伝子が同定される。

20

#### 【0259】

次いで、フィッシャー直接確率検定を用いて、経路および細胞成分について確立された遺伝子リストと、選択された遺伝子リストを比較する。ベン図を用いることにより、異なる臓器間で共通している遺伝子変化を同定する。関連性の高い遺伝子の発現プロファイルを用いることにより、幾つかの距離測定基準(標準、ピアソン)を用いた、個体実験点での変化が相関関係を示す遺伝子を見出す。

30

#### 【0260】

特定遺伝子が関連しているとみなす決定は、上記の調査的フィルタリングおよび統計的アルゴリズムおよび共通の生物学的テーマに指向する他のモジュレーションされた遺伝子との関係により確認された数値変化の連結に基づいている。表4および6~11は、RNAレベルでHPPポリペプチドが、アポトーシス経路、プロテオソーム、ユビキチン経路およびリボソームRNAおよびタンパク質に関連した遺伝子に影響を及ぼすことを示している。ほとんどの遺伝子は、少なくとも1.2倍を越える割合でアップレギュレーション

40

#### 【0261】

##### 4.1: インビボでのHPP-38ポリペプチドの特性確認

上記要領で、HPP-38ポリペプチドをマウスに投与し、発現レベルを評価し、遺伝子リストを選択した(表4)。

【表 1 1 1】

表 4

変化倍率	遺伝子名称	遺伝子記号
0.8	Bag3	Bcl2-関連アタノジーン (athanogene) 3
1.6	Cebpb	CCAAT/エンハンサー結合タンパク質 (C/EBP), ベータ
1.2	Prdx2	ペルオキシレドキシシン 2
1.5	Cfdp	脳顔面頭蓋発達タンパク質 1
1.2	Dsip1	デルタヒツジ誘導性ペプチド, 免疫反応体
1.2	Bnip3	BCL2/アデノウイルス E1B 19kDa-相互作用タンパク質 1, NIP3
1.3	Tial	細胞傷害性顆粒-関連 RNA 結合タンパク質 1
1.1	Card10	カスパーゼリクルートドメインファミリー, 要員10
1.5	Bcl2l1	Bcl2-様 1
1.5	Tegt	精巣強化遺伝子転写物
1.1	Dedd2	死エフェクタードメイン-含有 DNA 結合タンパク質 2
2.3	Dnase1	デオキシリボヌクレアーゼ I
2.4	Dnase2a	デオキシリボヌクレアーゼ II アルファ
1.4	Bag1	Bcl2-関連アタノジーン (athanogene) 1
0.7	Plagl1	多形的 (pleiomorphic) 腺腫遺伝子様 1
1.4	Ebag9	エストロゲン受容体-結合フラグメント-関連遺伝子9
1.2	Tnfrsf21	腫瘍壊死因子受容体サブファミリー, 要員 21
1.4	Dap3	死関連タンパク質 3
1.5	Sh3glb1	SH3-ドメイン GRB2-様 B1 (エンドフィリン)

10

20

30

## 【 0 2 6 2 】

15の腫瘍細胞株でインビトロ実験を行った。細胞増殖における変化の検出に使用した検定法は、生存可能な細胞がアラマーブルーをその酸化非蛍光青色形態から還元蛍光赤色形態へ変色させる能力に基づいていた。アラマーブルー反応から得られた結果により、細胞増殖は定量され、生存可能な細胞の代謝活性が評価され得る。試験化合物を滅菌蒸留水で溶解および希釈することにより、10000、1000、100、10および1マイクロモルの初回作業溶液を得た。さらに培養培地で100倍希釈を行うことにより、100、10、1、0.1および0.01マイクロモルの最終検定濃度にした。細胞懸濁液100マイクロリットルのアリコート(1ウェル当たり約1500~5000細胞)を、摂氏37度、5%二酸化炭素雰囲気中で96ウェルマイクロタイタープレートに入れた。24時間後、100マイクロリットルの成長培地および2マイクロリットルの試験溶液、マイトマイシン(陽性対照物質)または賦形剤(蒸留水)を、それぞれ1ウェルにつきデュプリケイトで加えて、さらに72時間インキュベーションした。細胞増殖に対する可能な阻害効果について、100、10、1、0.1および0.01マイクロモル濃度で試験物質を評価した。インキュベーションの最後に、20マイクロリットルの90%アラマーブルー試薬を各ウェルに加え、さらに6時間インキュベーションした後、蛍光強度により細胞生存能力を検出した。530nmでの吸光度および590nmでの放射によるSpectafluor Plusプレート読取装置を用いて蛍光強度を測定した。賦形剤処置対照培養物に対する蛍光強度の50%またはそれ以上の減少は、顕著な細胞成長阻害、静細胞性または細胞傷害性を示すもので、次いで、非線形回帰分析により半定量的IC50、TBIおよびLC50

40

50

を測定した。結果は、少なくとも腫瘍細胞株の中には、他の腫瘍細胞株よりも H P P - 38 誘導による細胞傷害性または細胞成長阻害に対して高い感受性を示すものもあることを示していた。従って、H P P - 38 はある程度の選択性を有する。これらの結果は、抗癌剤としての H P P - 38 の可能性を立証している。

【 0 2 6 3 】

【 表 1 1 2 】

表 5

検定法	<sup>a</sup> IC <sub>50</sub>	<sup>b</sup> TGI	<sup>c</sup> LC <sub>50</sub>
腫瘍, 胸部, MCF-7	76 μ M	> 100 μ M	> 100 μ M
腫瘍, 結腸, DLD-1	56 μ M	> 100 μ M	> 100 μ M
腫瘍, 腎臓, A-498	31 μ M	> 100 μ M	> 100 μ M
腫瘍, 白血病, K562	> 100 μ M	> 100 μ M	> 100 μ M
腫瘍, 肝臓, HepG2	45 μ M	> 100 μ M	> 100 μ M
腫瘍, 肺, A549	72 μ M	> 100 μ M	> 100 μ M
腫瘍, リンパ腫, H33HJ-JA1	> 100 μ M	> 100 μ M	> 100 μ M
腫瘍, 黒色腫, SK-MEL-5	85 μ M	> 100 μ M	> 100 μ M
腫瘍, 神経上皮腫, SK-N-MC	9.5 μ M	> 100 μ M	> 100 μ M
腫瘍, 卵巣, OVCAR-3	> 100 μ M	> 100 μ M	> 100 μ M
腫瘍, 膵臓, PANC-1	29 μ M	> 100 μ M	> 100 μ M
腫瘍, 前立腺, PC-3	10 μ M	> 100 μ M	> 100 μ M
腫瘍, 皮膚, A431	15 μ M	> 100 μ M	> 100 μ M
腫瘍, 胃, KATO III	> 100 μ M	> 100 μ M	> 100 μ M
腫瘍, 子宮, MES-SA	16 μ M	> 100 μ M	> 100 μ M

10

20

【 0 2 6 4 】

<sup>a</sup> I C<sub>50</sub> ( 50 % 阻害濃度 ) : 処置細胞の数または質量における時間 0 からの増加が、実験の最後において賦形剤対照での対応する増加の僅か 50 % であった試験化合物濃度。

<sup>b</sup> T G I ( 合計成長阻害 ) : 実験の最後における処置細胞の数または質量が、0 時点での値に等しかった試験化合物濃度。

<sup>c</sup> L C<sub>50</sub> ( 50 % 致死濃度 ) : 実験の最後における処置細胞の数または質量が、0 時点での値の半分であった試験化合物濃度。

I C<sub>50</sub>、T G I および L C<sub>50</sub> の半定量的測定を、Graph Pad Prism ( Graph Pad ソフトウェア、米国 ) を用いた非線形回帰分析により実施した。

【 0 2 6 5 】

#### 4.2 : インピボでの H P P - 13 ポリペプチドの特性確認

上記と同じ要領で、H P P - 13 ポリペプチドをマウスに投与し、発現レベルを評価し、遺伝子リストを選択した ( 表 6、7、8、9 および 10 )。影響された遺伝子は、鉄輸送、鉄代謝、ヘム合成、赤血球生成および免疫調節に関連しているか、または神経変性に関連している ( 表 11 )。変化倍率は 1.2 より大または小である。

40

【 0 2 6 6 】

## 【表 1 1 3】

表 6：赤血球生成遺伝子

変化倍率	遺伝子記号	遺伝子名称
2.7	Ermap	赤芽球膜関連タンパク質
1.5	Epb4.1	赤血球 タンパク質 バンド 4.1
1.0	Epb4.113	赤血球 タンパク質 バンド 4.1-like 3
3.6	Epb4.2	赤血球 タンパク質 バンド 4.2
3.3	Epb4.2	赤血球 タンパク質 バンド 4.2
2.2	Epb4.9	赤血球 タンパク質 バンド 4.9
2.0	Epb7.2	赤血球 タンパク質 バンド 7.2
1.6	Epb7.2	赤血球 タンパク質 バンド 7.2
1.6	Epb7.2	赤血球 タンパク質 バンド 7.2
1.6	Epb7.2	赤血球 タンパク質 バンド 7.2
1.6	Epb7.2	赤血球 タンパク質 バンド 7.2
2.1	Eraf	赤血球系関連因子
1.5	Epor	エリトロポイエチン受容体
3.0	Gypa	グリコフォリン A
2.5	Gypa	グリコフォリン A
2.2	Ank1	アンキリン 1, 赤血球系
1.8	Ank1	アンキリン 1, 赤血球系
3.0	Ank1	アンキリン 1, 赤血球系
2.2	Tal 1	T-細胞急性リンパ性白血病 1

10

20

## 【 0 2 6 7】

## 【表 1 1 4】

表 7：鉄輸送、ヘム合成および鉄代謝および赤血球生成遺伝子

変化倍率	遺伝子記号	遺伝子名称
3.5	Trfr	トランスフェリン受容体
1.1	Trfr2	トランスフェリン受容体 2
1.9	Fech	フェロケラターゼ
1.7	Lft	ラクトトランスフェリン
2.4	Urod	ウロポルフィリノーゲンデカルボキシラーゼ
1.3	Uros	ウロポルフィリノーゲン 111 シンターゼ
1.6	Ppox	プロトポルフィリノーゲンオキシダーゼ
2.8	Nfe2	核因子, 赤血球由来 2
2.4	Alad	アミノレブリネート, デルタ, デヒドラターゼ
1.6	Alas2	アミノレブリネート酸シンターゼ2, 赤血球系

30

40

## 【 0 2 6 8】

## 【表 1 1 5】

表 8：赤血球生成および免疫関連遺伝子

変化倍率	遺伝子記号	遺伝子名称
0.7	Tnfsf 13b	腫瘍壊死因子(リガンド)スーパーファミリー, 要員13b
0.8	Tnfsf 12a	腫瘍壊死因子(リガンド)スーパーファミリー, 要員12a
0.8	Tnfsf 13c	腫瘍壊死因子(リガンド)スーパーファミリー, 要員13c
0.9	Tnfsf 18	腫瘍壊死因子(リガンド)スーパーファミリー, 要員 18
0.7	Tnfsf 1b	腫瘍壊死因子(リガンド)スーパーファミリー, 要員 1b
1.0	Tnfsf 21	腫瘍壊死因子(リガンド)スーパーファミリー, 要員 21
0.9	Tnfsf 25	腫瘍壊死因子(リガンド)スーパーファミリー, 要員 25
0.7	Tnfsf 5	腫瘍壊死因子(リガンド) スーパーファミリー, 要員 5
0.7	Tnfsf 7	腫瘍壊死因子(リガンド) スーパーファミリー, 要員 7
0.8	Tnfaip 1	腫瘍壊死因子, アルファ-誘導タンパク質1 (内皮)
1.5	Tnfaip 2	腫瘍壊死 因子, アルファ-誘導タンパク質 2

10

20

## 【0 2 6 9】

## 【表 1 1 6】

表 9：免疫関連遺伝子：T細胞受容体関連遺伝子

変化倍率	遺伝子記号	遺伝子名称
2.2	Tal 1	T-細胞急性リンパ性白血病 1
1.0	Tlx 1	T-細胞白血病, ホメオボックス 1
0.7	Tera	T-細胞受容体アルファ鎖
0.7	Tcrb-J	T-細胞受容体ベータ, 結合領域
0.8	Tcrb-V13	T-細胞受容体ベータ, 可変 13
0.8	Tcrb-V8.2	T-細胞受容体ベータ, 可変 8.2
0.7	Tgtp	T-細胞特異的 GTPアーゼ
0.8	Tcirlg1	T-細胞, 免疫調節因子 1
0.7	Zap70	ゼータ-鎖 (TCR) 関連プロテインキナーゼ
0.8	Tccr	T-細胞サイトカイン受容体

30

40

## 【0 2 7 0】

## 【表 1 1 7】

表 1 0 : 免疫調節および造血に関与する (クラスター分化) - 関連遺伝子

倍率変化	遺伝子記号	遺伝子名称
0.7	Cd28	CD28 抗原
0.8	Cd3d	CD3 抗原, デルタ ポリペプチド
0.8	Cd3e	CD3 抗原, エプシロン ポリペプチド
0.7	Cd3g	CD3 抗原, ガンマ ポリペプチド
0.6	Cd3z	CD3 抗原, ゼータ ポリペプチド
0.6	Cd8a	CD8 抗原, アルファ ポリペプチド
0.8	Cd8b	CD8 抗原, ベータ ポリペプチド
0.7	Cd22	CD22 抗原
1.6	Cd24a	CD24a 抗原
1.4	Cd36	CD36 抗原
1.9	Cd59a	CD59a 抗原

10

## 【 0 2 7 1】

## 【表 1 1 8】

表 1 1 : 神経変性に関連する遺伝子

変化倍率	遺伝子名称	遺伝子記号
0.4	Ptpn11	プロテインチロシンホスファターゼ, 非受容体型11
0.5	Cited2	Cbp/p300-相互作用性トランスアクチベーター 2
0.5	Mef2c	ミオサイトエンハンサー因子 2C
0.5	Cdh5	カドヘリン 5
1.8	Sema4g	セマフォリン 4G
1.8	Hmgcr	3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル-補酵素 A レダクターゼ
2.0	Dtna	ジストロブレビン アルファ
2.0	S100b	S100 タンパク質, ベータポリペプチド, 神経1
2.0	Fbxo23	F-ボックスオンリータンパク質 23
2.0	Ank3	アンキリン 3, 上皮
2.1	Etv1	ets 変異型遺伝子 1
2.1	Sema5a	セマフォリン 5A
2.2	Hmgcs1	3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル-補酵素 A シンターゼ1
2.2	Cdh2	カドヘリン 2
2.3	Dmd	ジストロフィン, 筋ジストロフィー
2.4	Cdh1	カドヘリン 1
2.4	Mt3	メタロチオネイン 3
2.8	Plp	プロテオリピドタンパク質 (ミエリン)

20

30

40

## 【 0 2 7 2】

## 4.3 : インビボでの H P P - 2 3 ポリペプチドの特性確認

上記要領で、H P P - 2 3 をマウスに投与し、発現レベルを評価し、遺伝子リストを選択した (表 1 2 )。影響された遺伝子は、糖代謝 (例、グルコース)、血管形成、脈管形成、血圧に関連している。

## 【 0 2 7 3】

【表 1 1 9】

表 1 2

倍率変化	遺伝子記号	遺伝子名称
1.6	Fiz1	Flt3 相互作用性亜鉛フィンガータンパク質 1
1.3	Flt3	FMS-様チロシンキナーゼ 3
2.1	Aamp	血管関連遊走性タンパク質
1.9	Angptl4	アンギオポイエチン様 4
0.4	Atm	毛細血管拡張性運動失調突然変異相同体(ヒト)
1.6	Adra2a	アドレナリン作用性受容体, アルファ 2a
1.3	Ace	アンギオテンシン変換酵素
0.6	Epha4	Eph 受容体 A4
0.7	Epha6	Eph 受容体 A6
1.5	Efna3	エフィリン A3
0.5	Vegfa	血管内皮増殖因子 A
1.3	Vegfb	血管内皮増殖因子 B
2.0	Egfl7	血管内皮亜鉛フィンガー 1
0.7	Tbcd8	血管 Rab-GAP/TBC-含有
1.3	Vasp	血管拡張剤-刺激リンタンパク質
1.5	Adcyap1r1	アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド 1 受容体 1
1.9	Avp	アルギニンバソプレッシン
1.5	Evl	Ena-血管拡張剤刺激 リンタンパク質
1.3	Fibp	線維芽細胞増殖因子 (酸性) 細胞内結合タンパク質
1.5	Fgfl3	線維芽細胞増殖因子 13
0.6	Fgfr2	線維芽細胞増殖因子受容体 2
2.4	Fgfr11	線維芽細胞増殖因子受容体様 1

10

20

30

40

50

## 【 0 2 7 4 】

4.4 : インビボでの H P P - 1 3 および G P A 1 0 1 ポリペプチドの特性確認

4.4.1 : 緒論

ニューロン集団における進行性細胞喪失は、神経変性疾患の顕著な病理学的特徴である。神経栄養素、例えば N G F (神経成長因子)、B D N F (脳由来神経栄養因子)、N T - 3 (ニューロトロフィン 3)、N T - 4 / 5 (ニューロトロフィン 4 / 5) または G D N F (グリア細胞株由来神経栄養因子) の発見は、大きくて有望な研究分野の突破口となった。神経栄養因子は、幾つかの神経変性疾患の処置に既に使用されている。しかしながら、この用途は、それらが血液脳関門を通過できないこと、それらの短い半減期およびそれらの副作用により制限されている。そこで、それらの限界を伴わず、神経栄養効果 (ニューロン生存および神経突起生長を促進) を模倣し得る新規化合物の開発は、神経変性疾患における新たな治療法の開発にとって優れた戦略であると思われる。

## 【 0 2 7 5 】

本インビトロ試験の目的は、脊髄運動ニューロンからの神経突起生長に対する H P P - 1 3 および G P A 1 0 1 の推定的神経栄養効果を調べることである。試験化合物の神経栄養効果を、主要神経突起の長さの測定により処置の 3 日後に調べる。2 つの培養を行い、一条件当たり 2 枚のペトリ皿で実施する。

## 【 0 2 7 6 】

4.4.2 : 材料および方法

4.4.2.1 : 運動ニューロン培養

Martinou et al. (1992) Neurons、8、737 - 744 により記載された方法に

従って、ラット脊髄運動ニューロンを調製する。簡単に述べると、妊娠期間15日の(妊娠した)雌ラットを頸部脱臼(ラッツ・ウィスター; ジャンヴィア、ルジュヌ - サンアイル、フランス)により殺し、胎児を子宮から取出す。脊髄を除去し、Leibovitzの氷冷培地(L15、ギブコ、インビトロゲン、セルジュ - ポントワ、フランス)に入れる。髄膜を注意深く除去する。脊髄組織を、デオキシリボヌクレアーゼI(ロシュ・メイラン)の存在下、37で30分間トリプシン処理(トリプシン、ギブコ)により解離する。10%胎児ウシ血清(ギブコ)を含むDMEMを加えることにより、反応を停止させる。懸濁液を10mlピペットで磨砕し、次いで細胞を、注射器の21ゲージ針により数回通して機械的に解離させる。次いで、細胞を、室温で10分間、580×gでの遠心分離にかける。解離した細胞のペレットを、L15培地に再懸濁し、生成した懸濁液を、まずL15培地中のウシ血清アルブミン(BSA)の3.5%溶液の層において室温で10分間、180×gでの10分間遠心分離により運動ニューロンについて濃縮する。上清を廃棄し、ペレットを、デオキシリボヌクレアーゼIを補ったL15中でホモジネートし、懸濁液をオプティプレップ(Optiprep)(d: 1.06g/mL; アブシィ、パリ、フランス)のクッション上において層状に重ね、そして室温で15分間、335×gでの遠心分離にかける。精製された運動ニューロンを含む上方の相を集め、L15に再懸濁し、室温で10分間、800×gでの遠心分離にかける。細胞ペレットを、最後にB27サプリメント(2%、ギブコ)を補ったNeurobasal(ニューロベーサル、ギブコ)および0.5mMのL-グルタミン(ギブコ)から成る規定培養培地に再懸濁する。この培養培地は、血清を全く含まない。ニューロベーサルは、ニューロンを長期生存させる血清不含有培地であるが、処方機密事項である(公式データシートはインビトロゲンのウェブサイトで公開されている)。B27は、最適成長条件を与えるために加えられるサプリメントである(B27サプリメントは以下の成分を含む: d-ピオチン、BSA、脂肪酸遊離フラクションV、カタラーゼ、L-カルニチンHCl、コルチコステロン、エタノールアミンHCl、D-ガラクトシダーゼ(無水物)、グルタチオン(還元型)、インシュリン(ヒト、組換え体)、リノール酸、リノレン酸、プロゲステロン、ブトレシン・2HCl、亜セレン酸ナトリウム(1000X)、スーパーオキシドジスムターゼ、T-3/アルブミン複合体、DLアルファ-トコフェロール、DLアルファトコフェロールアセテート、トランスフェリン(ヒト、鉄不足)、ビタミンA酢酸塩)。トリパンプルー排除試験(シグマ)を用いるノイバウアー血球計で生存し得る細胞を計数する。次いで、細胞を1ペトリ皿(ヌンク、デュッチャー、ポリ-1-リシンでプレコーティング)につき30000細胞で培養し、加湿空気(95%) - CO<sub>2</sub>(5%)雰囲気中37で培養する。平板培養の2時間後(細胞接着に要求される時間)、試験化合物を培養に加える。

#### 【0277】

この試験は、以下の条件を使用した:

- ・ 対照
- ・ +BDNF、50ng/ml
- ・ +HPP-13(配列番号393)、1nM
- ・ +HPP-13(配列番号393)、10nM
- ・ +HPP-13(配列番号393)、30nM
- ・ +GPA101、1nM
- ・ +GPA101、10nM
- ・ +GPA101、30nM

#### 【0278】

##### 4.4.2.2 神経突起生長の評価

3日の処置後、培養物をリン酸緩衝食塩水(PBS、ギブコ)で洗浄し、PBS中2.5%のグルタルアルデヒドに固定する。一条件(各皿において約半分)につき、枝分かれの無い神経突起をもつ細胞の80~100枚の写真を、顕微鏡(ニコン、対物レンズ20倍)に固定したカメラ(クールピクス995、ニコン)で撮影し、ソフトウェア(イメージ・プロ・プラス、フランス)による写真の分析により、長さの測定を行う。

## 【 0 2 7 9 】

## 4 . 4 . 2 . 3 データ分析

一方向分散分析 (ANOVA) を用いて、データの分析を行う。適用し得る場合、フィッシャーPLSD検定を、多対比較法に用いる。有意性のレベルを  $p < 0.05$  に設定した。

## 【 0 2 8 0 】

## 4 . 4 . 3 結果

## 4 . 4 . 3 . 1 BDNF の効果

50 ng/ml で試験したBDNFは、脊髄運動ニューロンでの神経突起生長を誘導した。3日培養後の対照条件では、主たる神経突起長は約  $111.74 \mu\text{m} \pm 4.032$  であり、BDNFによると、主たる神経突起は、 $199.56 \mu\text{m} \pm 7.122$  に達した。77%の増加が観察された。

10

## 【 0 2 8 1 】

## 【表 1 2 0】

表 1 3 :

	神経突起生長 (対照の%)	s e m
対照 (n=96)	100.00	3.012
BDNF 50 ng/ml (n=82)	177.79	5.169
HPP-13 (配列番号 393) 1 nM (n=94)	160.41	4.795
HPP-13 (配列番号 393) 10 nM (n=91)	172.70	6.582
HPP-13 (配列番号 393) 30 nM (n=91)	156.79	5.919
GPA101 1 nM (n=102)	138.42	4.486
GPA101 10 nM (n=89)	161.07	6.553
GPA101 30 nM (n=96)	146.85	5.418

20

## 【 0 2 8 2 】

## 4 . 4 . 3 . 2 HPP - 13 および GPA 1 0 1 の効果

HPP - 13 および GPA 1 0 1 はまた、神経突起生長を著しく増加させており、神経突起生長はBDNFと類似している。各化合物について、最良の濃度は10 nMであることが見出された。この濃度の場合、平均神経突起長は、HPP - 13 については  $193.65 \mu\text{m} \pm 8.737$  および GPA 1 0 1 については  $179.74 \mu\text{m} \pm 7.545$  に達した。試験濃度全部について、平均神経突起長は対照条件の150%に達する。

30

## 【 0 2 8 3 】

## 4 . 4 . 4 検討

この試験では、HPP - 13 および GPA 1 0 1 の大きな神経栄養効果が観察された。

## 【 0 2 8 4 】

## 実施例 4 . 5 : インビボでの HPP - 2 3 ポリペプチドの特性確認

上記と同じ要領で、HPP - 2 3 をマウスに投与し、発現レベルを評価し、遺伝子リストを選択した (表 1 4 )。影響された遺伝子は、糖アミロイドーシス、不整脈または血管形成 (例、卒中、黄斑再生、癌) に関連している。

40

## 【 0 2 8 5 】

## 【表 1 2 1】

表 1 4 :

変化倍率	遺伝子名称	遺伝子記号
0.8	Notch2	Notch 遺伝子 相同体 2 (ドロソフィラ)
1.3	Notch3	Notch 遺伝子 相同体 3 (ドロソフィラ)
1.4	Notch4	Notch 遺伝子 相同体 4 (ドロソフィラ)
1.7	Numb1	numb-様
1.3	Snail	snail 相同体 1 (ドロソフィラ)
0.8	Adam17	---
1.3	Psen1	プレセニリン 1
1.5	Psen2	プレセニリン 2
0.5	Ryr2	リアノジン受容体 2, 心臓
0.8	Trdn	トリアジン
0.8	Calm2	カルモジュリン 2
0.8	Frap1	FK506 結合タンパク質12-ラパマイシン関連タンパク質 1
2.4	Ppp1ca	タンパク質ホスファターゼ 1, 触媒性サブユニット, アルファ イソ型
1.3	Ppp1cb	タンパク質ホスファターゼ 1, 触媒性サブユニット, ベータ イソ型
1.8	Ppp1r11	タンパク質ホスファターゼ 1, 調節(阻害剤)サブユニット 11
1.8	Ppp1r14a	タンパク質ホスファターゼ1, 調節(阻害剤)サブユニット 14A
1.7	Ppp1r1a	タンパク質ホスファターゼ1, 調節(阻害剤)サブユニット 1A
0.8	Ppp1r7	タンパク質ホスファターゼ1, 調節(阻害剤) サブユニット 7
1.3	Rsn	レスチン
0.8	2210417006Rik	RIKEN cDNA 2210417006 遺伝子 (ソルシン)
1.5	Hes1	スプリット1の毛状およびエンハンサー (ドロソフィラ)
0.8	Vegfa	血管内皮増殖因子 A
2.1	Aamp	血管関連遊走性タンパク質
1.4	Amot	アンギオモチン
1.3	Angpt12	アンギオポイエチン-様 2
2.0	Angpt14	アンギオポイエチン-様 4
1.3	Ace	アンギオテンシン変換酵素
1.8	ApoE	アポリポタンパク質 E
1.9	Tbca	チューブリン 補因子 a
1.4	Tuba1	チューブリン, アルファ 1
1.7	Tuba1	チューブリン, アルファ 1
1.6	Tuba4	チューブリン, アルファ 4
1.8	Tubb3	チューブリン, ベータ 3
1.5	Tubb4	チューブリン, ベータ 4
2.0	Tubb5	チューブリン, ベータ 5
1.5	Tbcd	チューブリン-特異的シャペロン d
1.2	Bbp	ベータ-アミロイド結合 タンパク質前駆体
1.2	D130054N24Rik	ベータ-部位 APP 開裂酵素
1.3	App	アミロイド ベータ (A4) 前駆タンパク質
1.2	Apba2	アミロイドベータ(A4)前駆タンパク質-結合, ファミリーA, 要員 2

10

20

30

40

【表 1 2 2】

2.3	Apba3	アミロイド ベータ (A4) 前駆 タンパク質-結合, ファミリー A, 要員 3
2.2	Apbb1	アミロイド ベータ (A4) 前駆 タンパク質-結合, ファミリー B, 要員 1
0.8	Apbb2	アミロイド ベータ (A4) 前駆 タンパク質-結合, ファミリー B, 要員 2
0.8	Apbb3	アミロイド ベータ (A4) 前駆 タンパク質-結合, ファミリー B, 要員 3
1.7	Ap1p1	アミロイド ベータ (A4) 前駆体-様 タンパク質 1
1.3	Ap1p2	アミロイド ベータ (A4) 前駆体-様タンパク質 2
1.8	Appbp2	アミロイド ベータ 前駆 タンパク質 (細胞質テイル)結合 タンパク質 2
1.3	Cox7a2l	シトクロムc オキシダーゼサブユニット VIIa ポリペプチド2-1様
1.9	Cox4i1	シトクロム c オキシダーゼ, サブユニット IVa
1.6	Cox6a1	シトクロム c オキシダーゼ, サブユニット VI a, ポリペプチド 1
0.6	Cox6c	シトクロム c オキシダーゼ, サブユニット VIc
1.7	Cox7a2	シトクロム c オキシダーゼ, サブユニット VIIa 2
1.5	Cox7c	シトクロム c オキシダーゼ, サブユニット VIIc
1.6	Cox8a	シトクロム c オキシダーゼ, サブユニット VIIIa
1.5	Cycs	シトクロム c, 体細胞
1.7	Cycl	シトクロム c-1
1.4	Ndufa1	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 アルファ サブコンプレックス, 1
1.2	Ndufa2	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 アルファ サブコンプレックス, 2
1.8	Ndufa3	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 アルファ サブコンプレックス, 3
1.2	Ndufa4	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 アルファ サブコンプレックス, 4
1.3	Ndufa5	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 アルファ サブコンプレックス, 5
1.8	Ndufa7	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 アルファ サブコンプレックス, 7 (B14 .5a)
1.5	Ndufa8	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 アルファ サブコンプレックス, 8
1.4	Ndufa9	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 アルファ サブコンプレックス, 9
1.7	Ndufb10	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 ベータ サブコンプレックス, 10
2.2	Ndufb7	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 ベータ サブコンプレックス, 7
1.9	Ndufb9	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1 ベータ サブコンプレックス, 9
1.8	Ndufc1	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) 1, サブコンプレックス 未知, 1
1.4	Ndufs2	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) Fe-S タンパク質 2
1.7	Ndufs4	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) Fe-S タンパク質 4
1.7	Ndufs5	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) Fe-S タンパク質 5

10

20

【表 1 2 3】

2.2	Ndufv1	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン)フラビントタンパク質 1
1.3	Ndufv2	NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン)フラビントタンパク質 2
1.4	Pxr1	ペルオキシシン 5
1.8	Prdx1	ペルオキシレドキシシン 1
1.6	Prdx2	ペルオキシレドキシシン 2
1.6	Prdx4	ペルオキシレドキシシン 4
1.6	Prdx5	ペルオキシレドキシシン 5
1.4	Prdx6	ペルオキシレドキシシン 6
1.7	Ptel	ペルオキシソーム アシル-CoA チオエステラーゼ 1
1.5	Pex11a	ペルオキシソーム 生合成因子 11a
1.7	Pex14	ペルオキシソーム生合成因子 14
4.6	Pex6	ペルオキシソーム生合成因子 6
1.9	Pxf	ペルオキシソーム ファルネシル化タンパク質
1.3	Pipox	ペルオキシソームサルコシンオキシダーゼ
2.3	Pex16	ペルオキシソーム生合成因子 16

30

40

## 【0 2 8 6】

実施例 5 : ヒトおよびマウスオーソログペプチドのアラインメント

実施例 4 記載の要領で、ヒト血漿中に存在することが本発明に従って検出されたタンパク質を、マウスへの注射に適切な相同性マウス配列について検索した。

## 【0 2 8 7】

50

下線は合成に使用されたペプチド配列を示す。

GPA056 (HPP-38)

ジーンプロット ID: GP\_1727089についてのアラインメント

種類: 食道癌関連遺伝子 2

遺伝子記号: ECG2

同一性: 26/74 = 35%

オーソロジー: セレラ合成オーソログ

【表 1 2 4】

```

hCP1774830      -----MKITGG-----LLLLCTVVY-----FCSSSEEAASLSPK----KVDC
mCP77316        GGIFRQHLRTSFHGNTKRKKKMVKYFQCSVLFSIMLHLVILAAPGARVWWPTHGLIKIKC
                  .: * .                : *:*:                : :. *   * .   *:*

```

10

```

hCP1774830      SIYKK---YPVVAIPCPITYLPVCGSDYITYGNECHLCTESLKSNGRVQFLHDGSC
mCP77316        PYKKVNLSWFNKTVDFPCDLKQPICGTNFVTYDNPCILCVESLKSGGRIRYYYNGRC
                  . *      : .. ***   *:*:*::*: * * **,***,**::: ::* *

```

【 0 2 8 8 】

GPA065 (HPP-13)

ジーンプロット ID: GP\_909415についてのアラインメント

種類: チモシンのパラログ, ベータ 4, X 染色体

遺伝子記号:

同一性: 43/43 = 100%

オーソロジー: ノバルティス相互最適マッチオーソログ, SwissProt オーソログ

【表 1 2 5】

```

hCP1740742      -----MSDKPDMAEIEKFDKSKLKKTTETQEKNPPLPSKETIEQEKQAGES
mCP44000         -----SDKPDMAEIEKFDKSKLKKTTETQEKNPPLPSKETIEQEKQAGES
                  *****

```

30

【 0 2 8 9 】

GPA066

ジーンプロット ID: GP\_909415についてのアラインメント

種類: チモシンのパラログ, ベータ 4, X 染色体

遺伝子記号:

同一性: 44/44 = 100%

オーソロジー: ノバルティス相互最適マッチオーソログ, SwissProt オーソログ

【表 1 2 6】

```

hCP1740742      -----MSDKPDMAEIEKFDKSKLKKTTETQEKNPPLPSKETIEQEKQAGES
mCP44000         MLLPATMSDKPDMAEIEKFDKSKLKKTTETQEKNPPLPSKETIEQEKQAGES
                  *****

```

40

【 0 2 9 0 】

GPA068 (HPP-23)

ジーンプロット ID: GP\_805366についてのアラインメント

種類: クロモグラニン A (上皮小体分泌タンパク質 1)

遺伝子記号: CHGA

同一性: 28/52 = 54%

50

オーソロジー： セレラ 合成オーソログ

【表 1 2 7】

hCP38826 MRSAAVLALLLCAGQVTALPVNSPMNKGDTSEVMKCI VEVISDTLSKPSMPVVSQECFETL  
mCP7064 MRSTAVLALLLCAGQVFALPVNSPMTKGDTKVMKCVLEVISDSLSKPSMPVVSPECLETL  
\*\*\*,\*\*\*\*\* \*\*\*\*\*.\*\*\*;\*\*\*\*;\*\*\*\*\*;\*\*\*\*\* \*\*;\*\*\*

hCP38826 RGDERILSILRHQNLKELQDLALQGAKEAHQ-----  
mCP7064 QGDERILSILRHQNLKELQDLALQGAKEAQQPLKQQQPPKOOOQQOQQOQQOQQOQQO  
:\*\*\*\*\*;\*

hCP38826 QKKHSGFEDELSEVLENQSSQAEKBAVEEPSSKDVMEKREDSKEAEKSG--EATDGARF  
mCP7064 EQQHSSFEDELSEVFENQSPDAKHRDAAAEVPSRDTMEKRKDSKGGQDGFATTEGPRP  
:;\*\*,\*\*\*\*\*;\*\*\*\*.;\* :;\* \* .;\*.\*.\*\*\*;\*\*.;:;.\* :;\*,\*\*

hCP38826 QALPEPMQESKAEGNNAQAGEEEEEEEATNTHPPASLPSQKYPGPQAEGDSEGLSQGLV  
mCP7064 QAFPEPNQESPMMGDSESPGED----TATNTQSPTSLPSQEHVDPQATGDSE--RGLS  
\*\*;\*\*\* \*\* \*.;:;\*\*\*: \*\*\*\*\*;.\*;\*\*\*\*\*;: .\*\*\* \*\* \*\* :\*\*

hCP38826 DREKGLSAEPGWQAKREBBBBBBBBEABAGEEAVPEEEGPTVVVLPNPHFSLGYKEIRKGESR  
mCP7064 AQQQARKAK----QEEKEEEEEBAVAREKAGPEE-VPTAASSHFHAGYKAIQKODGQ  
:;:;.\* :.\*;\*\*\*\*\* \* \*\* \*\* \* \*\* . . . \* \*\* \*\* \*;:;:;

hCP38826 SEALAVDGAGKPGAEEAQDPEGKGEQEHSSQKBE--EEMAVVPQGLFR--GGKSGELEQ--  
mCP7064 SDSQAVDGDGKTEASEALPSEGKGELEHSQOEEEDGEEAMVGTFOGLFPQGGKGRELEHKQ  
\*.; \*\*\*\*\* \*\* . \* \*\* . \*\*\*\*\* \*\*\*\*\*;.\* \*\* \* . \*\*\*\*\* \*\* . \*\* .

hCP38826 -----EEERLSKEWEDSKRWSKMDQLAKELTAEKRLEGQEEEDNRDSSMKLSFRARAYG  
mCP7064 EEEEEERLSREWED-KRWSRMDQLAKELTAEKRLEG----EDDPRSMKLSFRTRAYG  
\*\*\*\*\*;\*\*\* \*\*;\*;\*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*; \* \*\*\*\*\*;\*\*\*

hCP38826 FRGPGQLRRGWRPSSREDSLEAGLPLQVRGYPEEKKEEESANRRPEDQELESLSAIEA  
mCP7064 FRDPGQLRRGWRPSSREDSVEA-----RSDFEKKEEESANRRRAEDQELESLSAIEA  
\*\*;\*\*\*\*\*;\*\*\* \* . \*\*\*\*\* \*\*\*\*\*;\*\*\*\*\*

hCP38826 ELEKVAHQALRRG  
mCP7064 ELEKVAHQALRRG  
\*\*\*\*\*

10

20

30

40

【配列表】

2007502971000001.xml

【手続補正書】

【提出日】平成18年4月13日(2006.4.13)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2007502971000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2004/009323

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 G01N33/574 G01N33/68		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, EMBASE, Sequence Search		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2003/105011 A1 (PAN JAMES ET AL) 5 June 2003 (2003-06-05) claims 11,20; figure 240; sequence 240 paragraphs '0009!', '0028!', '0008!' - '0060!', '0065!' - '0069!', '0489!', '0544!' paragraphs '0700!' - '0710!', '0746!', '0759!', '0784!' - '0800!', '0837!' - '0860!'	1-11,13
Y	----- -/--	12
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
18 January 2005		20.06.2005
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3018		Authorized officer  Stricker, J-E

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2004/009323

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>CUI YONGPING ET AL: "ECRG2, a novel candidate of tumor suppressor gene in the esophageal carcinoma, interacts directly with metallothionein 2A and links to apoptosis." BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 302, no. 4, 21 March 2003 (2003-03-21), pages 904-915, XP002313779 ISSN: 0006-291X abstract</p>	12
X	<p>AOKI T ET AL: "EBAG9/RCAS1 expression in hepatocellular carcinoma - correlation with tumour dedifferentiation and proliferation" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, vol. 39, no. 11, July 2003 (2003-07), pages 1552-1561, XP004434955 ISSN: 0959-8049 abstract</p>	14
X	<p>LIAO Q ET AL: "The anti-apoptotic protein BAG-3 is overexpressed in pancreatic cancer and induced by heat stress in pancreatic cancer cell lines" FEBS LETTERS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 503, no. 2-3, 17 August 2001 (2001-08-17), pages 151-157, XP004300878 ISSN: 0014-5793 abstract</p>	14
P, Y	<p>CUI YONG-PING ET AL: "Using yeast two-hybrid system to identify ECRG2 associated proteins and their possible interactions with ECRG2 gene." WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY : WJG. SEP 2003, vol. 9, no. 9, September 2003 (2003-09), pages 1892-1896, XP001204289 ISSN: 1007-9327 the whole document</p>	12

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (January 2004)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2004/009323

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,A	<p>YUE CHUN-MEI ET AL: "Short tandem repeat polymorphism in a novel esophageal cancer-related gene (ECRG2) implicates susceptibility to esophageal cancer in Chinese population." INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER, vol. 108, no. 2, 10 January 2004 (2004-01-10), pages 232-236, XP002313781 ISSN: 0020-7136 abstract</p>	
P,A	<p>CLARK H F ET AL: "THE SECRETED PROTEIN DISCOVERY INITIATIVE (SPDI), A LARGE-SCALE EFFORT TO IDENTIFY NOVEL HUMAN SECRETED AND TRANSMEMBRANE PROTEINS: A BIOINFORMATICS ASSESSMENT" GENOME RESEARCH, COLD SPRING HARBOR LABORATORY PRESS, US, vol. 13, October 2003 (2003-10), pages 2265-2270, XP001189293 ISSN: 1088-9051 abstract</p>	
E	<p>WO 2004/097424 A (GENOVA LTD; NOVARTIS PHARMA GMBH ; BOUGUELERET LYDIE (CH); REFFAS SAMI) 11 November 2004 (2004-11-11) claims</p>	1-7

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (January 2004)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/EP2004/009323**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

1.  Claims Nos.: 7, 9 and 10 as regards industrial applicability, because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Although claims 9 and 10 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2.  Claims Nos.: because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

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

see additional sheet

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-14

**Remark on Protest**

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

International Application No. PCT/EP2004/009323

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

## 1. claims: 1-14

Method for detecting an HPP. Protein array. Methods for the detection and treatment of cancer or hyperlasia, screening methods and pharmaceutical composition related to HPP-38  
---

## 2. claims: 15, 17-23

Methods for the detection and treatment of neurodegeneration, screening methods, polypeptide and pharmaceutical composition related to HPP-13 or GPA101  
---

## 3. claims: 24-29

Methods for the detection and treatment of a disease associated with iron balance or iron transport, screening methods related to HPP-13  
---

## 4. claims: 16, 30-40

Methods for the detection and treatment of a disease with disregulated serum glucose, screening methods, polypeptide and pharmaceutical composition related to HPP-23  
---

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/009323

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
US 2003105011	A1	05-06-2003	US 2003175882 A1	18-09-2003
			US 2003186866 A1	02-10-2003
			US 2003191059 A1	09-10-2003
			US 2003119112 A1	26-06-2003
			US 2003100497 A1	29-05-2003
			US 2003109438 A1	12-06-2003
			US 2003105012 A1	05-06-2003
			US 2003125521 A1	03-07-2003
			US 2003105013 A1	05-06-2003
			AU 1661002 A	02-04-2002
			AU 7197301 A	05-02-2002
			AU 8678501 A	04-03-2002
			CA 2416538 A1	31-01-2002
			CA 2420193 A1	28-02-2002
			CA 2421056 A1	28-03-2002
			EP 1309685 A2	14-05-2003
			EP 1311668 A2	21-05-2003
			EP 1341814 A2	10-09-2003
			EP 1397383 A2	17-03-2004
			JP 2004516013 T	03-06-2004
			JP 2004520810 T	15-07-2004
			JP 2004526412 T	02-09-2004
			MX PA03001643 A	14-05-2004
			US 2002182673 A1	05-12-2002
			US 2002192209 A1	19-12-2002
			US 2003032057 A1	13-02-2003
			US 2003148373 A1	07-08-2003
			US 2003130490 A1	10-07-2003
			US 2003114652 A1	19-06-2003
			US 2003082626 A1	01-05-2003
			US 2003082627 A1	01-05-2003
			US 2003148375 A1	07-08-2003
			US 2003153000 A1	14-08-2003
			US 2003064062 A1	03-04-2003
			US 2003220471 A1	27-11-2003
			US 2003113793 A1	19-06-2003
			US 2003054406 A1	20-03-2003
			US 2003044841 A1	06-03-2003
			US 2002119130 A1	29-08-2002
			US 2003092061 A1	15-05-2003
			US 2003198993 A1	23-10-2003
			WO 0216602 A2	28-02-2002
			WO 0224888 A2	28-03-2002
			WO 03000729 A2	03-01-2003
			US 2003096954 A1	22-05-2003
			US 2003109672 A1	12-06-2003
			US 2004005626 A1	08-01-2004
			US 2003129650 A1	10-07-2003
			US 2003180836 A1	25-09-2003
WO 2004097424	A	11-11-2004	WO 2004097424 A1	11-11-2004

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 19/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 13/08 (2006.01)	A 6 1 P 19/04	
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 P 13/08	
A 6 1 P 17/06 (2006.01)	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 25/16 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/02 (2006.01)	A 6 1 P 25/16	
C 0 7 K 14/47 (2006.01)	A 6 1 P 25/02	
	C 0 7 K 14/47	

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. フロッピー
2. レーザーディスク

- (72) 発明者 ギレーヌ・アルゲー - ピュイ  
フランス 7 4 1 6 0 コロンジュ - スー - サレーヴ、アンパス・ドゥ・ラ・ドリズ 2 1 番
- (72) 発明者 ナッシマ・ベデーレ  
フランス 0 1 1 2 0 ディヴォンヌ - レ - バン、リュ・デュ・ジュラ 2 1 4 番、レジダンス・ラ・シャルメレー
- (72) 発明者 リディ・ブーゲルレ  
スイス 1 2 1 3 プティ - ランシー、ヴュー・シュマン・ドネ 2 2 番
- (72) 発明者 イザベル・キュサン  
フランス 7 4 1 4 0 ドゥーヴェーヌ、ルート・ドゥ・トノン 2 番
- (72) 発明者 イヴ・マエ  
フランス 7 4 1 6 0 ボーモン、ルート・デュ・サレーヴ 2 0 番、ドメーヌ・デュ・サレーヴ
- (72) 発明者 アンヌ・ニクネジャ  
スイス 1 2 9 3 ベルヴュー、シュマン・デ・チュイルリー 2 2 番
- (72) 発明者 サミア・ルファ  
スイス 1 2 2 7 カルージュ、リュ・デザロブロージュ 9 番
- (72) 発明者 キース・ローズ  
スイス 1 2 3 2 コンフィニョン、リュ・ドゥ・ベルネ 2 3 3 番
- (72) 発明者 セドリック・ソドレ  
フランス 0 1 2 1 0 フェルネー - ヴォルテール、アヴニユ・デュ・ジュラ 5 2 番
- (72) 発明者 アンドレアス・シェラー  
ドイツ連邦共和国デー - 7 9 1 1 7 フライブルク、アレマンネンシュトラーセ 7 3 番
- (72) 発明者 ルーベン・パポイアン  
アメリカ合衆国 4 5 2 0 2 オハイオ州シンシナティ、イースト・1 4 ストリート 2 1 4 番

(72)発明者 ウヴェ・ヨッヘン・デングラー

ドイツ連邦共和国デー - 7 9 5 4 0 レラハ、ベスタロツィシュトラッセ 5 5 番

(72)発明者 ローレンス・ジェイムズ・クロフト

スイス、ツェーハー - 4 0 5 8 パーゼル、リーエンリング 2 5 番

F ターム(参考) 2G041 CA01 DA01 DA04 DA05 DA16 EA04 FA13 GA03 GA05 GA06  
GA08 GA09 GA10 HA01 HA02 JA07 KA01 LA07  
4C084 AA02 AA07 BA01 BA08 BA19 BA23 CA18 CA36 MA01 NA14  
ZA02 ZA16 ZA20 ZA81 ZA89 ZA96 ZB11 ZB26  
4H045 AA10 BA10 CA42 EA21 EA24 EA27 EA50 FA71

专利名称(译)	分泌的多肽性状及其用途		
公开(公告)号	<a href="#">JP2007502971A</a>	公开(公告)日	2007-02-15
申请号	JP2006523609	申请日	2004-08-19
[标]申请(专利权)人(译)	GENOVA 瑞士商诺华公司		
申请(专利权)人(译)	热那亚有限公司 诺华股份公司		
[标]发明人	ギレーヌアルグーピュイ ナツシマベデー リディブーゲルレ イザベルキュサン イヴマエ アンヌニクネジャ サミアルファ キースローズ セドリックソドレ アンドレアスシェラー ルーベンパポイアン ウヴェヨッヘンデングラー ローレンスジェイムズクロフト		
发明人	ギレーヌ・アルグー・ピュイ ナツシマ・ベデー リディ・ブーゲルレ イザベル・キュサン イヴ・マエ アンヌ・ニクネジャ サミア・ルファ キース・ローズ セドリック・ソドレ アンドレアス・シェラー ルーベン・パポイアン ウヴェ・ヨッヘン・デングラー ローレンス・ジェイムズ・クロフト		
IPC分类号	G01N33/53 G01N37/00 G01N27/62 A61K38/00 A61P35/00 A61P19/04 A61P13/08 A61P15/00 A61P17/06 A61P29/00 A61P43/00 A61P25/28 A61P25/00 A61P25/16 A61P25/02 C07K14/47 G01N33/574 G01N33/68		
CPC分类号	A61P13/08 A61P15/00 A61P17/06 A61P19/04 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/16 A61P25/28 A61P29/00 A61P35/00 A61P43/00 G01N33/5008 G01N33/5011 G01N33/502 G01N33/5047 G01N33/505 G01N33/5058 G01N33/5091 G01N33/574 G01N33/68 G01N33/6842 G01N33/6848 G01N33/6851 G01N33/689 G01N33/6893 G01N33/6896 G01N2500/00		
FI分类号	G01N33/53.ZNA.D G01N33/53.M G01N37/00.102 G01N27/62.V A61K37/02 A61P35/00 A61P19/04 A61P13/08 A61P15/00 A61P17/06 A61P29/00 A61P43/00.121 A61P25/28 A61P25/00 A61P25/16 A61P25/02 C07K14/47		
F-TERM分类号	2G041/CA01 2G041/DA01 2G041/DA04 2G041/DA05 2G041/DA16 2G041/EA04 2G041/FA13 2G041/GA03 2G041/GA05 2G041/GA06 2G041/GA08 2G041/GA09 2G041/GA10 2G041/HA01 2G041/HA02 2G041/JA07 2G041/KA01 2G041/LA07 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084		

/BA19 4C084/BA23 4C084/CA18 4C084/CA36 4C084/MA01 4C084/NA14 4C084/ZA02 4C084/ZA16  
 4C084/ZA20 4C084/ZA81 4C084/ZA89 4C084/ZA96 4C084/ZB11 4C084/ZB26 4H045/AA10 4H045  
 /BA10 4H045/CA42 4H045/EA21 4H045/EA24 4H045/EA27 4H045/EA50 4H045/FA71

優先権 60/496966 2003-08-20 US

外部リンク [Espacenet](http://Espacenet)

摘要(译)

本发明涉及人血浆中分泌的多肽种类，编码此类多肽的分离的多核苷酸，其多态性变体，以及所述核酸和多肽或其组合物在检测测定和疾病诊断中的用途。

(P2007-502  
 (43) 公表日 平成19年2月15日 (2007.

(51) Int. Cl.	F I	テマコード (参考)
<b>GO1N 33/53 (2006.01)</b>	GO1N 33/53	ZNAD 2GO41
<b>GO1N 37/00 (2006.01)</b>	GO1N 33/53	M 4C084
<b>GO1N 27/62 (2006.01)</b>	GO1N 37/00	IO2 4H045
<b>A61K 33/00 (2006.01)</b>	GO1N 27/62	V
<b>A61P 35/00 (2006.01)</b>	A61K 37/02	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 185 頁) 最終頁!		
(21) 出願番号	特願2006-523609 (P2006-523609)	(71) 出願人
(86) (22) 出願日	平成18年8月19日 (2004. 8. 19)	ジェノバ・リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成18年4月13日 (2006. 4. 13)	GENOVA LTD.
(86) 国際出願番号	PCT/EP2004/009323	英国領バークマード、エイチエム12
(87) 国際公開番号	W02005/019825	ミルトン、ビクトリア・ストリート2
(87) 国際公開日	平成17年3月3日 (2005. 3. 3)	、キャンソズ・コート
(31) 優先権主張番号	60/496, 966	(71) 出願人
(32) 優先日	平成15年8月20日 (2003. 8. 20)	597011463
(33) 優先権主張国	米国 (US)	ノバルティス アクチエンゲゼルシャ
		スイス国、4056 バーゼル、リヒ
		ュトラーセ 35
		(74) 代理人
		100062144
		弁理士 青山 隆
		100067035
		(74) 代理人
		100067035
		弁理士 岩崎 光隆
最終頁に続		