

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4375960号
(P4375960)

(45) 発行日 平成21年12月2日(2009.12.2)

(24) 登録日 平成21年9月18日(2009.9.18)

(51) Int.Cl.	F I	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	Z N A A
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088	
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
請求項の数 29 (全 81 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2002-545160 (P2002-545160)
 (86) (22) 出願日 平成13年11月23日(2001.11.23)
 (65) 公表番号 特表2004-514435 (P2004-514435A)
 (43) 公表日 平成16年5月20日(2004.5.20)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2001/013663
 (87) 国際公開番号 W02002/042455
 (87) 国際公開日 平成14年5月30日(2002.5.30)
 審査請求日 平成16年7月30日(2004.7.30)
 (31) 優先権主張番号 00125693.2
 (32) 優先日 平成12年11月23日(2000.11.23)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 502250581
 デヴェロゲン アクチエンゲゼルシャフト
 フェア エントヴィックルングスビオロ
 ーギッシェ フォルシュング
 ドイツ連邦共和国 ゲットティンゲン ルド
 ルフーヴィッセルーシュトラーセ 28
 (74) 代理人 100061815
 弁理士 矢野 敏雄
 (74) 代理人 100094798
 弁理士 山崎 利臣
 (74) 代理人 100099483
 弁理士 久野 琢也
 (74) 代理人 100114890
 弁理士 アインゼル・フェリックス＝ライ
 ンハルト

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生体代謝の修飾

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の(i)～(v)：

(i) 細胞小器官の膜安定性または膜機能においてタンパク質 - タンパク質相互作用ならびにタンパク質 - 脂質相互作用によって作用するポリペプチドをコードする核酸分子、

(ii) 前記核酸によってコードされたポリペプチド、

(iii) 前記ポリペプチドを含む融合タンパク質、

(iv) 前記核酸、ポリペプチドもしくは融合タンパク質を特異的に認識する、抗体、そのフラグメントまたはRNA、一本鎖DNA、修飾RNA、修飾一本鎖DNAもしくはRNA、

(v) 前記核酸分子のアンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイム、ハイブリダイゼーションプローブまたは増幅プライマー

を、肥満、脂肪過多症、摂食障害(過食症、拒食症)、カヘキシー(衰弱)および臓器の機能不全から選択される代謝障害の検出もしくは確認または治療、緩和もしくは予防のための診断用組成物または医薬品組成物を製造するために用いる使用において、

前記核酸分子が、

(a) 0.2 x S S C および 0.1 % S D S を含有する溶液中、65 で、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 52 もしくは SEQ ID NO: 54 のアミノ酸配列をコードする核酸分子またはその相補鎖とハイブリダイズし、

(b) 0.2 × SSC および 0.1% SDS を含有する溶液中、65 で、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 51 もしくは SEQ ID NO: 53 の核酸分子またはその相補鎖とハイブリダイズし、

(d) SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12 または SEQ ID NO: 14 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列と少なくとも 90% 同一なポリペプチドをコードし、

(e) SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 11 または SEQ ID NO: 13 に記載される配列を有し、または

(f) SEQ ID NO: 15 ~ SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 61 または SEQ ID NO: 62 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする

ことを特徴とする使用。

【請求項 2】

前記核酸分子が、DNA であることを特徴とする、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 3】

前記ポリペプチドが、ミトコンドリアまたはペルオキシソーム中で発現されることを特徴とする、請求項 1 または 2 に記載の使用。

【請求項 4】

前記ポリペプチドが、前記膜の維持に関与していることを特徴とする、請求項 3 に記載の使用。

【請求項 5】

前記ポリペプチドが、輸送体分子または輸送体分子の制御因子であり、その際、前記制御因子が、イオン、代謝産物、ビタミンのような細胞膜を横切って輸送することができる担体または輸送分子を直接的にまたは間接的に制御することを特徴とする、請求項 1 から 4 までのいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 6】

前記ポリペプチドが、1 つ以上のタンパク質 / ポリペプチドの機能をコントロールすることを特徴とする、請求項 1 から 5 までのいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 7】

前記ポリペプチドが、ミトコンドリアタンパク質 UCP2 の機能をコントロールすることを特徴とする、請求項 6 に記載の使用。

【請求項 8】

前記核酸分子が、ベクター中に含まれていることを特徴とする、請求項 1 から 7 までのいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 9】

細胞小器官の膜安定性または膜機能においてタンパク質 - タンパク質相互作用ならびにタンパク質 - 脂質相互作用によって作用するポリペプチドをコードする核酸分子を含む非ヒト遺伝子組換え動物であって前記核酸分子が、

(a) 0.2 × SSC および 0.1% SDS を含有する溶液中、65 で、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 14 および / または SEQ ID NO: 52 のアミノ酸配列をコードする核酸分子またはその相補鎖とハイブリダイズし、

(b) 0.2 × SSC および 0.1% SDS を含有する溶液中、65 で、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7 もしくは SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 13 または SEQ ID NO: 51 の核酸分子またはその相補鎖とハイブリダイズし、

(d) SEQ ID NO: 8 と少なくとも 90% 同一なポリペプチドをコードし、

(e) SEQ ID NO: 54 と少なくとも 90% 同一なポリペプチドをコードし、

(f) SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 1

10

20

30

40

50

4 または SEQ ID NO : 52 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列と少なくとも 90 % 同一なポリペプチドをコードし、または
 (f) SEQ ID NO : 9、SEQ ID NO : 11、SEQ ID NO : 13
 または SEQ ID NO : 51 に記載される配列を有し、
 前記核酸分子によってコードされたポリペプチドもしくは前記ポリペプチドを含む融合タンパク質を発現し、または前記核酸分子を含むベクターで形質移入した動物を、
 肥満、脂肪過多症、摂食障害、衰弱または体重 / 体質量のその他の障害の研究モデルとして用いる使用。

【請求項 10】

請求項 1 から 7 までのいずれか 1 項に記載の核酸分子が、サイレント突然変異または突然変異されていることを特徴とする、肥満、脂肪過多症、摂食障害、衰弱または体重 / 体質量のその他の障害の研究モデルとしての請求項 9 に記載の使用。

10

【請求項 11】

動物が、マウス、ラット、ヒツジ、ハムスター、ブタ、イヌ、サル、ウサギ、子ウシ、ウマ、線形動物、ハエおよびサカナから成る群より選択されることを特徴とする、請求項 9 または 10 に記載の使用。

【請求項 12】

肥満、脂肪過多症、摂食障害（過食症、拒食症）、カヘキシー（衰弱）および膵臓の機能不全から選択される代謝障害に關与するポリペプチドまたは物質を同定する生体外方法において、前記方法が、以下のステップ：

20

(a) 収集されたポリペプチドまたは物質を、読み取り系として生化学的、免疫学的または分子生物学的な測定法を使用して、請求項 1 に記載のポリペプチドまたは融合タンパク質と相互作用するかどうかを試験するステップ、および

(b) ステップ (a) で相互作用が陽性であったポリペプチドまたは物質を同定するステップを含むことを特徴とする生体外方法。

【請求項 13】

さらなるステップ：

(c) 同定されたポリペプチドを用いて、ステップ (a) および (b) を 1 回以上反復するステップ

30

を含み、この際、新規に同定されたポリペプチドは、さらに相互作用するポリペプチドを同定するために、以前に同定されたポリペプチドをベイトとして置換することを特徴とする、請求項 12 に記載の生体外方法。

【請求項 14】

1 つ以上の相互作用するペプチドまたはポリペプチドをコードする核酸分子を同定するステップをさらに含むことを特徴とする、請求項 12 または 13 に記載の方法。

【請求項 15】

ほ乳動物のエネルギー代謝に關与するポリペプチドを同定する生体外方法において、前記方法が以下のステップ：

(a) 収集されたペプチドもしくはポリペプチドを、請求項 1 に記載のポリペプチドまたは融合タンパク質と、前記ペプチドもしくはポリペプチドの結合可能な条件で接触させるステップ、

40

(b) 請求項 1 に記載のポリペプチドまたは融合タンパク質とステップ (a) で結合しなかったペプチドもしくはポリペプチドを、収集されたペプチドもしくはポリペプチドから除くステップ、および

(c) 請求項 1 に記載のポリペプチドまたは融合タンパク質と結合するペプチドもしくはポリペプチドを同定するステップを含むことを特徴とする方法。

【請求項 16】

請求項 1 に記載の前記ポリペプチドまたは前記融合タンパク質が、固体支持体へ固定さ

50

れていることを特徴とする、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

前記固体支持体が、ゲル濾過クロマトグラフィーまたはアフィニティークロマトグラフィーの支持体であることを特徴とする、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

ステップ (c) での同定の前に、前記結合ペプチドもしくはポリペプチドを解離させることを特徴とする、請求項 15 から 17 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 19】

前記解離が、溶離により実施されることを特徴とする、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

1 種以上の結合ペプチドもしくはポリペプチドをコードする核酸分子を同定するステップをさらに含むことを特徴とする、請求項 15 から 19 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 21】

肥満、脂肪過多症、摂食障害（過食症、拒食症）、カヘキシー（衰弱）および膵臓の機能不全から選択される代謝障害の検出もしくは確認または治療、緩和もしくは予防のための化合物の同定する方法において、前記方法が、以下のステップ：

(a) 検出可能な標識へ動作可能に連結された、請求項 1 から 7 までのいずれか 1 項に記載の核酸分子または請求項 14 または 20 に記載の方法により同定された核酸分子を含む発現ベクターを有する宿主を、化合物または化合物混合物と接触させるステップ、

(b) 前記接触の結果が、前記検出可能な標識によって起こるシグナル強度を変化させるかどうかを分析するステップ、場合により

(c) ステップ (b) においてシグナルの変化を誘導する化合物を化合物混合物から同定するステップ（ここでは、前記シグナル強度の変化は、前記核酸分子の発現の変化に相关する）

を含むことを特徴とする方法。

【請求項 22】

肥満、脂肪過多症、摂食障害（過食症、拒食症）、カヘキシー（衰弱）および膵臓の機能不全から選択される代謝障害の検出もしくは確認または治療、緩和もしくは予防のための化合物の同定する方法において、前記方法が、以下のステップ：

(a) 検出可能な標識へ動作可能に連結された、請求項 1 から 7 までのいずれか 1 項に記載の核酸分子を含む発現ベクターを有するか、または検出可能な標識へ連結された、請求項 1 に記載のポリペプチドを有する宿主を、化合物または化合物混合物と接触させるステップ、

(b) 前記接触の結果が、前記検出可能な標識によって起こるシグナル強度を変化させるかどうかを分析するステップ、場合により

(c) ステップ (b) においてシグナルの変化を誘導する化合物を化合物混合物から同定するステップ（ここでは、前記シグナルの変化は、前記ポリペプチドの活性変化に相关する）

を含むことを特徴とする方法。

【請求項 23】

前記宿主が、真核宿主細胞であることを特徴とする、請求項 21 または 22 に記載の方法。

【請求項 24】

真核宿主細胞がほ乳動物宿主細胞であることを特徴とする、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記宿主がバクテリアまたは酵母であることを特徴とする、請求項 21 または 22 に記載の方法。

【請求項 26】

前記シグナル強度の変化がシグナル強度の上昇であることを特徴とする、請求項 22 か

10

20

30

40

50

ら 2 5 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記シグナル強度の変化が、シグナル強度の低下であることを特徴とする、請求項 2 2 から 2 5 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 8】

請求項 1 に記載の 1 種以上のポリペプチドまたは 1 種以上の融合タンパク質の非ヒト動物での機能を測定する方法において、前記方法が以下のステップ：

(a) 請求項 1 から 7 までのいずれか 1 項に記載の核酸分子または請求項 1 4 または 2 0 項に記載の方法で同定された核酸分子を前記動物で過剰発現または過少発現させるステップ、

(b) 前記動物の体重が増加するか減少するか、代謝変化が誘導されるか、または摂食挙動が変化するかどうかを測定するステップ

を含むことを特徴とする方法。

【請求項 2 9】

肥満、脂肪過多症、摂食障害（過食症、拒食症）、カヘキシー（衰弱）および脾臓の機能不全から選択される代謝障害の検出および/または確認または治療、緩和および/または予防のための、診断用組成物または医薬品組成物としてのキットにおいて、

(a) 請求項 1 から 7 までのいずれか 1 項に記載の核酸分子

(b) 請求項 8 に記載のベクター

(c) 請求項 8 に記載のベクターで形質転換されている宿主細胞または非ヒト宿主動物

(d) 請求項 1 に記載のポリペプチド

(e) 請求項 1 に記載の融合タンパク質

(f) 請求項 1 に記載の抗体もしくはそのフラグメントもしくは抗血清、またはアプタマー、および

(g) 請求項 1 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイム、ハイブリダイゼーションプローブまたは増幅プライマー

の少なくとも 1 つを含有することを特徴とするキット。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

本発明は、細胞小器官の膜安定性および/または機能に寄与するポリペプチドをコードする核酸分子に関し、前記核酸分子は、(a) 所定のストリンジェントな条件下で、ここに開示したアミノ酸配列をコードする核酸分子の相補鎖にハイブリタイズし；(b) 所定の条件下で、ここに開示した核酸分子の相補鎖にハイブリタイズし；(c) 核酸分子(a) と縮重し；(d) 推定膜貫通領域としてここに記載される、少なくとも 1 つ、有利には少なくとも 2 つ、より有利には少なくとも 3 つ、より有利には少なくとも 4 つ、より有利には少なくとも 5 つおよび最も有利には 6 つのアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードし；(e) 細胞小器官の膜安定性および/または機能に寄与するポリヌクレオチドにより示されるここに記載のアミノ酸と、少なくとも 8 5 %、有利には少なくとも 9 0 %、より有利には少なくとも 9 5 %、より有利には少なくとも 9 8 %、および 9 9 . 6 % まで同一であるポリペプチドをコードし；(f) 細胞小器官の膜安定性および/または機能に寄与するポリヌクレオチドにより示されるここに記載のアミノ酸配列と、少なくとも 9 0 %、有利には少なくとも 9 5 %、より有利には少なくとも 9 8 %、および 9 9 . 6 % まで同一であるポリペプチドをコードし；(g) ここに記載のアミノ酸配列と、少なくとも 3 5 %、有利には少なくとも 5 0 %、より有利には少なくとも 6 0 %、より有利には少なくとも 7 0 %、より有利には少なくとも 8 0 %、より有利には少なくとも 9 0 %、最も有利には少なくとも 9 5 % および最も有利には少なくとも 9 9 % が同一であるポリペプチドをコードし；(h) 突然変異により(a) ~ (g) の核酸分子と異なり(前記突然変異は、コードされたポリペプチド中に変化、欠失、重複または未熟終結を起こす)；または(i) ここに開示した配列を有する。さらに本発明は、前記核酸分子を含むベクターを提供する他に、前記ベクターを用いて形質転換させた宿主も提供する。本発明はまた、前記核酸分子

10

20

30

40

50

によりコードされるポリペプチドおよび抗体、そのフラグメントまたはその誘導体、またはアプタマー、または本発明の核酸分子またはポリペプチドを特異的に認識する他のレセプターに関する。本発明には、核酸分子、ベクター、宿主、ポリペプチド、融合タンパク質、抗体、そのフラグメントまたは誘導体、またはアプタマー、またはその他のレセプター、または本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む組成物も記載されている。有利にはこれらの組成物は、診断用組成物または医薬品組成物である。さらに本発明は動物または植物における細胞代謝に関するか、またはホメオスタシスを変化させることのできるポリペプチドまたは物質を同定する方法、および哺乳動物の体重調節に關与するポリペプチドを同定する方法を提供する。本発明はまた、本発明の核酸分子またはポリペプチドの発現に影響する化合物を同定する方法に関する。加えて、本発明の1つ以上の化合物の発現の影響を評価する方法を開示した。最終的に、本発明は本発明の(ポリ)ペプチドの阻害剤および/または刺激剤を含む組成物を提供し、本発明の化合物を含むキットを提供する。

10

【0002】

ミトコンドリアは動物細胞のエネルギー供給者である。炭水化物、脂肪等の代謝栄養素から得られるエネルギーの大部分は、ミトコンドリア内膜にプロトン勾配を生成するために用いられる。このプロトン勾配は、細胞の主要な燃料物質であるATPを産出する酵素ATPシンターゼを推進する(Mitchell P, Science 206, 1979, 1148-1159)。褐色脂肪組織のミトコンドリアには、ミトコンドリア内膜を通過させてプロトンを通わせるタンパク質(脱共役タンパク質1)が存在する(レビュー: Klingenberg M, Huang S G, Biochim Biophys Acta 1999, 1415(2): 271-96)。従って、プロトン勾配に貯蔵されたエネルギーは熱として放出され、ATP合成には使用されない。

20

【0003】

動物のエネルギー摂取が消費を超える場合、余分なエネルギーは脂肪組織に脂肪として貯蔵できる。脱共役タンパク質の活性化によってミトコンドリア内膜を通して放出されるプロトンの発生は、熱量効率を減少させ、動物の健康に悪影響を及ぼす過剰な体脂肪の蓄積(肥満症)を回避する。しかし、ヒトの場合、褐色脂肪組織は成人にほとんど見られない。以上の点から、UCP1がヒト肥満症の形成または予防において主要な因子であるとは考えられていなかった。近年、ヒト組織(例えば白色脂肪組織、筋肉)に広範に発現する類似の配列(UCP2-UCP5)を有するタンパク質が発見され、UCPファミリーのメンバーが医薬品研究の標的として重要であることが示された(レビュー: Adams S H, Nutr 2000, 130(4): 711~4)。意外にも、Ricquier, Biochem J. 345(2000), 161~179においてレビューされているように、特に、植物UCPであるStUCP(由来: Solanum tuberosum ジャガイモ)およびAtUCP(由来: Arabidopsis thaliana シロイヌナズナ)のような別のホモログが同様に同定されている。これらのタンパク質のin vivoにおける機能はまだ未知であるが、UCP活性に影響を及ぼす可能性は、肥満症および関連疾患の治療または予防のための治療法として想定できる。

30

【0004】

ミトコンドリアはエネルギー変換において非常に特殊な機能を有し、前記機能はその形態学的構造、すなわち固有の内膜によるものである。この内膜は電子輸送プロセスに対するフレームワークを実現するばかりでなく、高度に特殊な酵素を内包する各細胞小器官において大きな細胞内コンパートメントを作成する。以上の点から、ミトコンドリアのエネルギー代謝と細胞小器官生化学的/生物物理学的な性質とは密接に関連している。

40

【0005】

本発明の根底にある技術的問題は、ミトコンドリアの生物学的/生化学的活性を調節するための手段および方法を提供することであり、この方法では、ATPレベル、NAD+/NADH比、および/またはスーパーオキシド産生を調節するために、エネルギー消費、体温、産熱、過剰なまたは過少な基質の供給に対する細胞代謝に影響する、真核細胞の代

50

謝条件が調節される。

【0006】

この技術的問題は、請求項において特徴づけた態様により解決される。

【0007】

従って、本発明は、細胞小器官の膜安定性および/または機能に寄与する、ポリペプチドをコードする核酸分子に関し、前記核酸分子は、

(a) 65 にて0.2 x SSCおよび0.1% SDS (ドデシル硫酸ナトリウム) を含んでいる溶液中で、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 14および/またはSEQ ID NO: 52のアミノ酸配列をコードする核酸分子および/またはその相補鎖とハイブリタイズし;

(b) 65 にて0.2 x SSCおよび0.1% SDS (ドデシル硫酸ナトリウム) を含んでいる溶液中で、SEQ ID NO: 6、7または53、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 13および/またはSEQ ID NO: 51で示される核酸分子および/またはその相補鎖とハイブリダイズし;

(c) (a)または(b)の核酸分子と縮重し;

(d) SEQ ID NO: 15~50、61および62の任意の1つに示される、少なくとも1つ、有利には少なくとも2つ、より有利には少なくとも3つ、より有利には少なくとも4つ、より有利には少なくとも5つ、および最も有利には6つのアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードし;

(e) SEQ ID NO: 8と少なくとも85%、有利には少なくとも90%、より有利には少なくとも95%、より有利には少なくとも98%、および99、6%まで相同なポリペプチドをコードし;

(f) SEQ ID NO: 54と少なくとも90%、有利には少なくとも95%、より有利には少なくとも98%および99、6%まで相同なポリペプチドをコードし;

(g) SEQ ID NO: 10、12、14または52の任意の1つに示されるアミノ酸と、少なくとも35%、有利には少なくとも50%、より有利には少なくとも60%、より有利には少なくとも70%、より有利には少なくとも80%、より有利には少なくとも90%、最も有利には少なくとも95%および最も有利には少なくとも99%相同なポリペプチドをコードし;

(h) 突然変異のために(a)から(g)の核酸分子と異なり(前記突然変異は、コードされるポリペプチドに変化、欠失、重複または未熟終結を起こす);または

(i) SEQ ID NO: 9、11、13または51に記載の配列を有する。

【0008】

補足実施例に記載するように、本発明は、細胞小器官、特にミトコンドリアの膜安定性および/または機能に直接的または間接的に寄与する遺伝子および遺伝子産物を提供する。

【0009】

ここに使用する用語「膜安定性」は、小器官の膜の全体のみならず、局所的な安定性も意味し、例えば、内膜および外膜、特に内膜である。従って、用語「膜安定性」は、規定の膜組成を導くタンパク質-タンパク質相互作用ならびにタンパク質-脂質相互作用によって提供される膜の構造上の特徴に関連する。

【0010】

先に使用した「細胞小器官の膜機能への寄与」という表現は、特に、輸送機能(例えばイオン、代謝産物、ビタミン、などの能動および受動輸送)、その他の膜タンパク質の制御因子機能(例えば輸送体、キャリアー)またはその他(膜)のタンパク質の修飾機能(例えば増強/抑制機能)および/または以下に定義したその他の機能を含む、上記定義のポリペプチド機能に関するものである。

【0011】

ここに使用する「細胞小器官」という表現は、ミトコンドリアに関連するのみならず、ペルオキシソームまたは植物細胞小器官、例えば葉緑体のような細胞小器官にも関するもの

10

20

30

40

50

である。

【0012】

本発明で使用する「ハイブリタイズする」および「ハイブリダイジング」という用語は、有利には特に前記のストリンジェントな条件、例えば65にて0.2 x SSC、0.1% SDS (ドデシル硫酸ナトリウム)の条件に関するものである。前記条件にはハイブリダイゼーション条件、特に洗浄条件が含まれる。洗浄条件はハイブリダイゼーション条件よりもストリンジェントなほうが望ましい。ハイブリダイゼーション条件を設定することによって、当業者は厳密に相補的な配列または相同性の高いまたは低い配列が検出されるかどうかを決定することができる。条件の設定は当業者が熟知しており、例えば Sambrook、Molecular Cloning、A Laboratory Manual、2nd edition (1989)、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、NY、または Hames and Higgins、"Nucleic acid hybridization、a practical approach"、IRL Press、Oxford (1985) に記載されるプロトコールに従って決定される。ホモログや正確には相補的でない配列の検出に対しては、あまりストリンジェントでないハイブリダイゼーション条件を65にて6 x SSC、1% SDS (ドデシル硫酸ナトリウム) に設定することができる。

10

【0013】

本発明の核酸分子とハイブリダイズする分子はまた、肥満症を調節し、引き起こし、またはそれに寄与する(ポリ)ペプチドをコードする上述の核酸分子のフラグメント、誘導体および対立遺伝子変異体を含む。この点で、フラグメントは前記(ポリ)ペプチドをコードするために十分に長い核酸分子の部分として定義される。用語「誘導体」は、ハイブリダイズする分子の配列が上述の核酸分子の配列と1つ以上の位置で異なること、およびこれらの配列に対して高度な相同性を示すことを意味する。例えば、相同性とは、SEQ ID NO: 10、12、14 または52において同定された配列に対する配列同一性が少なくとも35%、具体的には少なくとも45%の同一性、有利には50%以上、より有利には60%以上、より有利には70%以上、より有利には80%以上およびまだより有利には90%以上の配列同一性であることを意味する。SEQ ID NO: 8として同定された配列を考慮する場合、前記相同性は少なくとも85%の配列同一性を意味する。SEQ ID NO: 54において描写した配列に関しては、少なくとも90%の配列同一性が「相同性」と考慮される。当業者は、相同性値を決定するためにコンピュータプログラムおよびパッケージを使用することができる。一般に、ヌクレオチドまたはアミノ酸配列の同一性/相同性は、2つのセグメント間で最も相同性の高いセグメントを見出すために、BLASTIN、BLASTP、NALIGN、PALIGNのような周知のコンピュータプログラム、または特定のアルゴリズムを使用するbl2seqを使用することによって従来通りに決定することができる。

20

30

【0014】

補足実施例に示すように、本発明に照らして同一性のパーセントのアミノ酸レベルでの比較分析は、有利には次のパラメータを使用するNCBIからの「bl2seq」プログラムを使用して得る：オープンギャップコスト：11およびギャップ伸長コスト：1。但し、プログラムは前記値に対して任意の正の整数を許容するものとする。

40

【0015】

さらには、本発明に照らして、異なる核酸配列のヌクレオチドレベルでの同一性のパーセントの比較分析は、これに反して、次のパラメータを使用する[エンボス]パッケージの「matcher」プログラムを使用して得ることができる：ギャップ罰則値：16およびギャップ長の数値：4、あるいはプログラムは任意の正の整数であってよい。これらのパラメータは、特に分析された異なる配列間の異なるレベルの相同性を考慮すると、参照ヌクレオチドまたはアミノ酸配列上の同一性パーセントを算出するために最高に適していることが見出された。上述の核酸分子と比較する場合に発生する任意の偏差は、欠失、

50

置換、挿入または組換えによって引き起こされる。

【0016】

さらに、相同性は、機能上および/または構造上の同等性がそれぞれの核酸分子間に、またはそのコードするタンパク質間に存在することを意味する。上述の分子に対して相同であり、これらの分子の誘導体を表す核酸分子は一般に、同一生物学的機能を発揮する修飾を形成するこれらの分子の誘導体である。これらの変異は天然の変異であり得る。変異は自然に発生する変異であってよく、例えば他の生物体、または突然変異体に由来する配列によって突然変異体が自然に出現してよく、または特定の変異誘発の手段によって導入されてもよい。さらに、変異が合成的に産生された配列であり得る。対立遺伝子変異体は天然に発生する可能性がある他、合成的に産生された変異体または組換えDNA技術によって産生される変異体である可能性もある。

10

【0017】

本発明記載の核酸分子の種々の変異体によってコードされたタンパク質は、特定の共通した特徴を示す。これらの特徴には、生物学的活性、分子量、免疫学的な反応性、高次構造などが含まれてよく、また、ゲル電気泳動における移動度、クロマトグラフィーの特徴、沈降係数、溶解度、分光学的な性質、安定性、最適pH、最適温度などのような物理的な性質等も含まれる。

【0018】

有利には、上記の核酸分子は、SEQ ID NO: 15 ~ 50、61および62の任意の1つに示される、少なくとも1つ、最も有利には少なくとも6つのアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする。前記SEQ ID NO: は予想された膜貫通領域/ドメインに関連し、また補足実施例および図に記載される。SEQ ID NO: 15 ~ 26、61および62に示す配列は、キロショウジョウバエから取得可能な本発明の核酸分子において演繹された膜貫通領域に関連し(対応アミノ酸配列も含む)、SEQ ID NO: 27 ~ 38は、ヒトから取得可能な核酸分子において演繹された膜貫通ドメインに関連し、およびSEQ ID NO: 39 ~ 50は、ここに定義したタンパク質の膜貫通ドメインに関連し、マウスから演繹可能である。また本発明の範囲内には、以上の点から、SEQ ID NO: 15 ~ 50、61および62の任意の1つに示される少なくとも1つの膜貫通ドメインを含む本発明の核酸分子によってコードされたポリペプチドも含まれている。本発明は、但し、異種からの膜貫通領域/ドメインが人工的に結合する構成物も含む。また、前記(d)の核酸分子は、SEQ ID NO: 27 ~ 50の任意の1つに描写した、少なくとも1つ、より有利には少なくとも6つの、マウスおよびヒトから演繹されたアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするのが最も望ましい。なお、望ましい組み合わせには、1つの種からの少なくとも1つ、そして有利には全ての膜貫通領域が含まれる。

20

30

【0019】

本発明の核酸分子は、細胞小器官の膜安定性および/または機能に寄与するポリペプチドをコードし、SEQ ID NO: 8に示すアミノ酸配列に対して少なくとも85%および99、6%まで同一であり、またはSEQ ID NO: 54に示すアミノ酸配列と少なくとも90%および99、6%までが同一であることが望ましい。SEQ ID NO: 8には特に、SEQ ID NO: 7でコードされたポリペプチドが示され、そして意外にも細胞小器官の膜機能および/または安定性に関与することが分かり、そして具体的には、UCPsを修飾できることが分かったショウジョウバエのタンパク質を表す; 補足実施例も参照のこと。SEQ ID NO: 54に示すアミノ酸配列(特に、SEQ ID NO: 53によってコード済)は、上記タンパク質のスプライス変異型を含む。補足実施例において実証されたように、記載のポリペプチド(核酸分子をコードする)は、キロショウジョウバエ遺伝子dUCPyの過剰発現が原因で生じたショウジョウバエにおける特定の眼表現型を修飾(例えば抑制)することができる。ショウジョウバエの複眼におけるdUCP(ヒトUCPsに対する相同性を有する)の過剰発現は、明らかに可視的な眼欠陥を引き起こした(補足実施例および図を参照)。これは遺伝的「修飾因子スクリ

40

50

ーニング」に対する「読み取り」として使用することができる。

【0020】

前記「修飾因子スクリーニング」において、その眼中発現を活性化するために、数千の異なる遺伝子を変異誘発させた。変異誘発させた遺伝子の1つがdUCPyと相互に影響し、その活性を修飾する場合、眼欠陥の増強または抑制が発生する。そのような八工は容易に同定できるので、相互作用遺伝子を単離するために選択することができる。

【0021】

補足実施例に示すように、dUCPy活性によって誘発された眼欠陥を抑制する遺伝子を演繹せしめた。この遺伝子を、[脱共役タンパク質1の抑制因子](SOUP1)と称す。

10

【0022】

本発明はまた、本発明の核酸分子によってコードされたSOUP1タンパク質に関連するものであり、SEQ ID NO: 10、12、14および52に示されている。コードされたポリペプチドは、SEQ ID NO: 10、12、14または52の任意の1つに示されるアミノ酸配列と少なくとも35%および最も有利には少なくとも99%アミノ酸配列に同一であることが望ましい。SEQ ID NO: 10はSOUP1のヒトホモログを示し、SEQ ID NO: 12および14はマウスSOUP1の2つの変異体を示し、SEQ ID NO: 52はゼブラフィッシュ(ゼブラダニオ)のSOUP1を示す。

【0023】

ここに記載されたSOUP1ポリペプチド(および遺伝子)における突然変異は、表現型および/または生理的な変化を引き起こすことが構想され、これには、ミトコンドリア活性の修飾および変異が含まれる。これは次々に、特にエネルギー代謝の変化、産熱および/または変異エネルギーホメオスタシスの変化を引き起こすことができる。

20

【0024】

望ましい態様において、上記の本発明の核酸分子はDNAである。これに関連して、用語「核酸分子」は、コーディングおよび、場合により、特に、5'および3'非コーディング配列のような非コーディング配列を含むことが理解される。前記5'および/または3'非コーディング領域は、転写および随意的にポリ-Aシグナルの開始を保証し、転写の終結および/または転写の安定化を保証する(特定の)調節配列を含むことができる。追加の5'および3'非コーディング領域は、プロモーターおよび/または転写のほかに翻訳エンハンサーも含むことができる。さらには、用語「核酸分子」は、場合により、イントロンおよびスプライス変異体を含むことができる。

30

【0025】

ここに使用した用語「DNA」には、特に一本鎖または二本鎖DNA、例えば合成DNA、cDNAおよびゲノムDNAなどが含まれる。さらには、本発明の核酸分子はmRNAのようなRNA分子でもあり得る。本発明に基づいて、用語「核酸分子」にはまた、核酸プローブがハイブリダイズできる核酸誘導体が含まれる。前記核酸プローブ自体が、前記核酸分子または前記誘導体に対してハイブリダイズ可能な核酸分子の誘導体であり得る。用語「核酸分子」にはさらに、アミド主鎖結合を有するDNA類似物を含んでいるペプチド核酸(PNAs)が含まれる(Nielsen, Science 254(1991)、1497-1500)。

40

【0026】

これに関連して、本発明の核酸分子は、特に当分野で周知であり市販されている、例えばABI394DNA-RAN-シンセサイザーのようなシンセサイザーを使用して化学的に合成され得ることもあることが強調されなくてはならない。

【0027】

本発明の核酸分子がポリペプチドをコードして、細胞小器官の膜安定性および/または機能に寄与し、細胞小器官において膜安定性および/または機能に寄与する前記ポリペプチドがミトコンドリアおよび/またはペルオキシソーム中に発現されることが望ましい。前

50

記ポリペプチドが前記膜の維持に関与することは特に望ましい。

【0028】

さらには、本発明の核酸分子がポリペプチドをコードし、細胞小器官における膜安定性および/または機能に寄与する前記ポリペプチドが、輸送体分子および/または輸送体分子の制御因子であることが構想される。例えば、本発明の核酸分子によってコードされたポリペプチドが、イオン、代謝産物またはビタミンのような分子を細胞膜を横切って輸送することができる担体および/または輸送分子を直接的にまたは間接的に制御すること、および/または前記ポリペプチドがそのような輸送体/担体分子であることが構想される。

【0029】

本発明の核酸分子が上記に定義したように、ポリペプチドをコードし、前記ポリペプチドは変性ポリペプチドであることは特に望ましい。特に望ましい変性ポリペプチドには、ミトコンドリアのタンパク質の修飾因子、例えばUCPファミリーメンバー修飾が含まれる。

【0030】

前記UCP(脱共役タンパク質)ファミリーのメンバーは分野で周知であり、UCP1、UCP2、UCP3、UCP4、UCP5、StUCPまたはAtUCPを含む。特に前掲のRicquier(2000)を参照。上記のミトコンドリアのタンパク質の修飾、具体的にはUCPsのタンパク質の修飾は、前記タンパク質との直接相互作用によって、または、前記ミトコンドリアのタンパク質の機能または活性に必要な、または前記ミトコンドリアのタンパク質の活性によって生成される、イオン、代謝産物またはビタミン、およびその他同種類のものを供給/移入/搬出することによっても(またはこれらのプロセス遮断によって)発生させることができる。以上の点から、前記「修飾」もまた、輸送現象および供給現象に関連するものである。さらには、前記「修飾」には、1つ以上のタンパク質/ポリペプチド、有利にはUCPファミリーのメンバーの機能のコントロールが含まれる。最も望ましいのは、細胞代謝、具体的にはエネルギー代謝に影響する事象を含む「修飾」である。

【0031】

本発明はまた、上記に指摘したように、ここに記載する核酸分子の「変異体」に関連する。

【0032】

用語「変異体」は、ここで、1つ以上のヌクレオチド位置において、細胞小器官の膜安定性および/または機能に寄与する上述の核酸分子および(ポリ)ペプチドの配列と異なり、同時に前記核酸分子に対して高度な相同性を持つヌクレオチドおよびそれがコードするアミノ酸配列を意味する。相同性とは上記の定義であると理解される。上記の核酸分子配列からの偏差は、例えば、ヌクレオチド置換、欠失、付加、挿入および/または組換えの結果であり得る。相同性は、それぞれの核酸分子またはコードするタンパク質が機能的および/または構造的に等価であることをさらに暗示することができる。上記の核酸分子に対して相同性を有し、前記核酸分子の誘導体である核酸分子は、例えば、同一生物学的機能を有し、具体的には同一または実質上同一の生物学的機能を有するタンパク質をコードする前記核酸分子の変化である。それらは、その他の哺乳類または突然変異体に由来する配列の天然の変化であり得る。用語「変異体」はこれに関連して、特に、上記のように対立遺伝子変動またはスプライス変異体をさらに含む。天然のSOUP1タンパク質またはsoup1遺伝子変異体は「対立遺伝子変異体」と称され、生物体の染色体上の所定の遺伝子座を占有するいくつかの遺伝子の交代形態1つである。(Genes II, Lewin, B., ed., John Wiley & Sons, New York (1985)および最新版)。これらの対立遺伝子変異体は、ポリヌクレオチドおよび/または(ポリ)ペプチドレベルのいずれかで変化し得る。あるいは、非自然発生の変異体は、変異誘発技術または直接合成によって産生することができる。タンパク質工学および組換えDNA技術の周知の方法を用いて変異体を生成して、ここに記載されたSOUP1タンパク質/soup1遺伝子の特徴を改善または変質することができる。以上の点から、用語「対立遺伝子

変異型」には、合成的に産生または遺伝子操作された変異体も含まれる。

【0033】

本発明の核酸分子は、天然に起源するもの、合成または半合成物、または誘導体のいずれでも差し支えない。

【0034】

上記の(ポリ)ペプチド、例えばSOUP1の野生型形態および変異形態、および/またはそのフラグメントをコードする本発明の核酸分子は、翻訳可能な転写物、ハイブリダイゼーションプローブ、PCR法プライマーとしての使用、または例えば適切に被覆されたチップのような核酸の発現プロフィールの作成、または診断用および/または医薬用の使用を含んだ、さまざまな適用例が見出されている。有用なPCR法プライマーは当業者によって本発明の核酸分子から演繹することができる。特に有用なプライマーは、特に補足実施例において使用されている。

10

【0035】

具体的には、それらのプライマーは、SOUP1の遺伝子および遺伝子転写物の存在の検出において、およびs o u p 1ホモログまたは構造上の類似体をコードする核酸の検出および/または増幅において、それぞれ使用することができる。ここに開示するプローブ、材料および方法、特にcDNAおよびゲノムライブラリの探索を前提とし、当業者は対応するホモログを回復することができる。下記のように、本発明の核酸分子は、特異的発現ベクターの一部であり得、発現およびスクリーニングのために組換え細胞へ導入されてよく、機能的な研究(例えばSOUP1の発現に関連する疾病のための候補薬物の有効性)のために遺伝子組換え動物に導入されてもよい。

20

【0036】

さらには、診断において、ここに記載されたs o u p 1遺伝子およびs o u p 1対立遺伝子に存在する単一ヌクレオチド多型に関連する、特異的ハイブリダイゼーションプローブは、臨床実験および研究実験用サンプル中の野生型の同定、および変異体s o u p 1対立遺伝子の同定に使用することができる。変異体対立遺伝子は特に、対立遺伝子-特異的オリゴヌクレオチド(ASO)プローブ(例えば、高処理量の臨床診断用)を生成するために使用される。治療学的なアプローチのため、上記および下記の本発明の核酸分子を用いて、本発明の細胞発現または細胞内の濃度または活性(ポリ)ペプチドの利用能を調節することができる。これらの核酸分子は、アンチセンス鎖であってよく、すなわち本発明の開示する核酸の相補鎖を含む一本鎖配列であってよい。

30

【0037】

本発明の核酸分子は、前記の核酸分子の単独または組み合わせのいずれかを含んでいる、組換えにより産生されたキメラ核酸分子であり得る。有利には、前記核酸分子はベクターの一部である。

【0038】

本発明は以上の点から、本発明核酸分子を含んでいる、ベクターにも関連するものである。本発明のベクターは例えば、従来遺伝工学に使用されているプラスミド、コスミド、ウイルス、バクテリオファージまたは他のベクターであり得、望ましい宿主細胞中および望ましい条件下において前記ベクターの選択を許容する、マーカー遺伝子のような遺伝子をさら含むことができる。さらには、本発明のベクターは、本発明の核酸配列に加えて、望ましい宿主においてコード領域を適切に発現させることのできる、発現制御因子を含むことができる。そのような制御因子は当事者に周知であり、プロモーター、スプライスカセット、翻訳開始コドン、ベクターに挿入するための挿入部位を含むことができる。有利には、本発明の核酸分子は、動作可能なように前記発現コントロール配列に連結し、原核または真核細胞における発現を許容する。

40

【0039】

原核および真核細胞発現を保証する調節要素は、当業者に公知である。上記のように、調節要素には普通、転写の開始を保証する調節配列、および場合により、転写の終結および転写の安定化を保証するポリAシグナルが含まれる。付加的な調節要素は、転写エンハン

50

ーのほか翻訳エンハンサー、および/または自然付随したプロモーターまたは異種プロモーター領域も含むことができる。例えば哺乳動物の宿主細胞などにおいて発現を容認する、ありうる調節要素には、CMV-HSVチミジンキナーゼプロモーター、SV40、RSV-プロモーター(ラウス筋節ウイルス)、ヒト伸長因子、プロモーター、aPM-Iプロモーター(Schaffner, Biochem. Biophys. Res. Commun. 260(1999)、416-425)、または誘導型プロモーター、例えばメタロチオネインまたはテトラサイクリン、またはエンハンサー、例えばCMVエンハンサーまたはSV40エンハンサーが含まれる。真核細胞における発現に関しては、例えば、tac-lacプロモーターまたはtrpプロモーターを含んだ、多数のプロモーターが記載されている。転写の開始を担う要素に加えて、そのような調節要素は、転写終結シグナル、例えばSV40ポリA部位またはtkポリA部位、ポリヌクレオチドの下流も含むことができる。これに関連して、Okayama-Berg DNA発現ベクターpcDV1(ファルマシア社)、pRc/CMV、pcDNA1、pcDNA3(インビトロゲン社)、pSPORT1(ギブコ社)、Casper、Casper-HS43、pUAST、またはラムダgt11のような真核発現ベクターのような、望ましい発現ベクターが当分野で周知されている。本発明の核酸分子に加えて、ベクターはさらに、分泌シグナルをコードする核酸配列を含むことができる。そのような配列は当業者に公知である。さらには、(ポリ)ペプチドを細胞コンパートメントに配向する能力を持つリーダー配列を使用した発現システムは、本発明の核酸分子のコード配列に追加されることができ、当分野で周知されている。リーダー配列は、翻訳、開始および終結配列と共に適当な部位に構築され、有利には、リーダー配列は、翻訳済タンパク質の分泌、またはそのタンパク質を周辺質のスペースまたは細胞外の培地に配向する能力を有する。随意的に、異種配列は、所望の特徴、例えば、発現された組換え生成物の安定化または単純精製を付与する、C末端同定またはN末端同定ペプチドを含む融合タンパク質をコードすることができる。ベクターが一旦適切な宿主に取り込まれると、宿主はヌクレオチド配列の高レベル発現に望ましい条件下で維持され、所望に応じて、本発明(ポリ)ペプチドまたはそのフラグメントの収集および精製を次に行う。

【0040】

さらには、本発明のベクターは、遺伝子伝達または遺伝子標的ベクターでもあり得る。治療学的な遺伝子を体外技術または生体内技術によって細胞生に導入することに基づく遺伝子療法は、最も重要な遺伝子伝達の適用例の1つである。試験管内または生体内の遺伝子療法に対する望ましいベクター、方法または遺伝子配達システムは、文献に記載されており、当業者には周知である；例えば、Giordano, Nature Medicine 2(1996)、534-539；Schaper, Circ. Res. 79(1996)、911-919；Anderson, Science 256(1992)、808-813、Isner, Lancet 348(1996)、370-374；Muhlhauser, Circ. Res. 77(1995)、1077-1086；Onodua, Blood 91(1998)、30-36；Verzeletti, Hum. Gene Ther. 9(1998)、2243-2251；Verma, Nature 389(1997)、239-242；Anderson, Nature 392(Supp. 1998)、25-30；Wang, Gene Therapy 4(1997)、393-400；Wang, Nature Medicine 2(1996)、714-716；WO94/29469；WO97/00957；US5,580,859；US5,589,466；US4,394,448 or Schaper, Current Opinion in Biotechnology 7(1996)、635-640、引用参照を参照。具体的には、前記ベクターおよび/または遺伝子送達系はまた、脂肪細胞における(特に、US5,869,037またはZhou, PNAS USA 96(1999)、2391-2395を参照)または視床下部における(特に、Geddes, Front Neuroendocrinol. (1999)、296-316またはGeddes, Nat. Med. 3(1997)、1402-1404を参照)遺伝子療法アプローチについても記載さ

10

20

30

40

50

れている。本発明の核酸分子およびベクターは、細胞へ直接導入できるように、またはリポソーム、ウィルスベクター（例えばアデノウイルスベクター、レトロウイルス性ベクター）、電気穿孔法、弾道的な送達法（例えば遺伝子銃）またはその他の送達系を介して細胞へ導入できるようにデザインされていてよい。そのうえ、バキュロウイルスシステムを原核発現システムとして本発明の核酸分子に対して使用することができる。

【0041】

下記に記載されているように、本発明の核酸分子および/または本発明の上記ベクター/宿主は、特に医薬品組成物として有用であり得る。前記医薬品組成物は、例えば遺伝子療法アプローチのような診断および/または治療学的なアプローチにおいて使用することができる。これに関連して、本発明の核酸分子および/またはベクターを用いて、本発明の細胞発現および/または（ポリ）ペプチドの細胞内濃度またはそのフラグメントを調節、変性および/または修飾できることが構想される。前記調節、変性および/または修飾は、ここに記載されたSOUP1遺伝子のSOUP1（ポリ）ペプチドおよび/または遺伝子産物の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を導くことができる。さらには、前記治療学的なアプローチは、活性SOUP1（ポリ）ペプチド/タンパク質/遺伝子産物の利用能の改変および/または調節を導くことができる。これに関連して、用語「活性」は、生物体で（正常な）細胞機能を実践できる能力を意味する。

10

【0042】

遺伝子療法適用例に関して、本発明の（ポリ）ペプチドをコードする核酸またはそのフラグメントは、遺伝子伝達システム、例えばウィルス、ならびに感染した細胞または生物体において感染および疾病の寛解または治療効果を授与するために使用されるウィルスヘクローン化することができる。

20

【0043】

上記のように、核酸分子および/またはベクターを用いてSOUP1タンパク質/（ポリ）ペプチドの遺伝子発現または細胞内の濃度を調節/変性することができる。前記調節/変性はアンチセンス・アプローチによって達成することができる。

【0044】

SOUP1発現のアンチセンス調節は、動作可能なように遺伝子調節配列に連結したアンチセンス核酸を使用することができる。例えば、遺伝子転写により、mRNAをコードする内在性soup1に結合する能力を持つアンチセンス転写が成されるように配向されたプロモーター配列を有するsoup1配列を含むベクターで、細胞は形質移入される。アンチセンス核酸の転写は構成型または誘導型であり得、ベクターは安定した染色体外の維持および統合を提供することができる。あるいは、ゲノムDNAまたは本発明の（ポリ）ペプチドまたはそのフラグメントをコードするmRNAに結合する一本鎖アンチセンス核酸を、前記（ポリ）ペプチドの発現にかなりの減少をもたらす濃度で、宿主の中または宿主から一時的に単離された標的細胞に投与することができる。さらには、本発明の（ポリ）ペプチドの発現は、アンチセンスアプローチ以外の手段によって影響され、抑制され得ることが構想される。以上の点から、本発明の（ポリ）ペプチドの発現の減少は、アンチセンス核酸のあるいは二本鎖RNAを適用するRNA媒介遺伝子干渉によって達成することができる（Sharp, Genes Dev. 13 (1999), 139-141を参照）。二本鎖RNAまたはRNAiアプローチによる遺伝子抑制は、Hunter, Curr. Biol. 10 (2000)、R137-R140にも記載されている。

30

40

【0045】

本発明の核酸分子は以上の点から、本発明のSOUP1（ポリ）ペプチドの野生型または変異体バージョンのいずれかをコードする核酸分子の機能を抑制することができる適切なアンチセンスオリゴヌクレオチドの作成のために使用され得る。前記アンチセンスヌクレオチドは、有利には少なくとも15ヌクレオチド、より有利には少なくとも20ヌクレオチド、さらにより有利には30ヌクレオチドおよび最も有利には少なくとも40ヌクレオチドを含む。

【0046】

50

加えて、リボザイムアプローチもまた、本発明において構想されている。リボザイムは本発明の核酸分子を特異的に切断することができる。

【0047】

本発明に照らしてリボザイムは、特にハンマーヘッド型リボザイム、変異コア配列またはデオキシリボザイムを有するハンマーヘッド型リボザイム（例えば、Santoro, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94 (1997), 4262を参照）を含み、天然および生体外選択および/または合成リボザイムを含むことができる。肥満症を調節、誘発するかまたは肥満症に寄与し、および/または体重調節に關与する哺乳動物の（ポリ）ペプチドをコードするタンパク質/（ポリ）ペプチド（下記を参照）をコードする核酸分子に相補的な本発明記載の核酸分子は、本発明の核酸分子を特異的に切断する適切なリボザイム（例えば、EP-B10291533、EP-A10321201、EP-A20360257を参照）の作成に使用し得る。適切な標的部位および対応リボザイムの選択は、Steinecke, Ribozymes, Methods in Cell Biology 50, Galbraith, eds. Academic Press, Inc. (1995), 449-460に記載された参考例の通りに行うことができる。

10

【0048】

本発明はまた、本発明のベクターまたは本発明のベクターを保有する非ヒト宿主で形質移入または形質転換された宿主細胞、すなわち、本発明記載の核酸分子またはそのような核酸分子を含むベクターで遺伝的に修飾された宿主細胞または宿主に關連するものである。用語「遺伝的に修飾された」とは、宿主細胞または宿主がその天然ゲノムに加えて、細胞または宿主またはその前任/親の1つに導入された核酸分子または本発明記載のベクターを含むことを意味する。核酸分子またはベクターは、遺伝的に修飾された宿主細胞または宿主中に、ゲノム外の非依存性の分子として、有利には複製可能な分子として、または宿主細胞または宿主のゲノムに安定して統合された状態のいずれかで存在することができる。

20

【0049】

本発明の宿主細胞は、任意の真核または原核細胞であり得る。望ましい真核細胞は、一般に大腸菌または枯草菌のようなクローン化に使用されるものである。さらには、原核細胞は、例えば真菌細胞または動物細胞を含む。望ましい真菌細胞の例としては、酵母菌細胞、有利にはサッカロミセス属の真菌細胞および最も有利にはサッカロミセスセレビジエ種の真菌細胞があげられる。望ましい動物細胞は例えば、昆虫細胞、脊椎動物細胞、有利には、例えばCHO、HeLa、NIH3T3、MOLT-4、Jurkat、K562、HepG2、3T3-442A、3T3-L1（およびその誘導体）、HIB-1B（Viliena, Biochem J. 331 (1998), 121-127を参照）、HEK293、PAZ6（Strobel, Diabetologia 42 (1999), 527-533を参照）のような哺乳動物の細胞である。当分野で周知の、さらに望ましい細胞株は、American Type Culture Collection (ATCC) のような細胞株寄託機関から入手可能である。

30

【0050】

より望ましい実施例において、本発明のベクターで形質転換させた宿主細胞は、哺乳動物の細胞、特にそれから得た脂肪細胞、脳細胞、苔類細胞、上皮性細胞、血球または細胞（株）である。

40

【0051】

非ヒト宿主は、有利には非ヒト哺乳類、最も有利にはマウス；ラット、ヒツジ、子ウシ、イヌ、サルまたは類人猿であり、またサンドラット（Psammomys obesus）を含んでもよい。前記哺乳類は、治療法、有利には肥満症、脂肪過多症、摂食障害および/または病理学的な体重問題を引き起こす障害に対する治療法を開発する上で不可欠であり得る。さらには本発明の宿主は、本発明の（ポリ）ペプチド（またはそのフラグメント）の産出において部分的に有用であり得る。前記（ポリ）ペプチド（またはそのフラグメント）が前記宿主から単離されることが構想される。

50

【0052】

本発明の非ヒト宿主は、下記のように非ヒト遺伝子組換え動物（実施例10を参照）であり得る。特に、本発明は、本発明の核酸分子の変異形態を含む非ヒト遺伝子組換え動物、または本発明の核酸分子が欠失および/または不活化された非ヒト遺伝子組換え動物を構想する。前記欠失は部分的欠失であり得る。特に望ましい非ヒト遺伝子組換え動物は、ショウジョウバエ、線形動物（例えば線虫）、マウス、ラット、ヒツジその他同種類のもの

【0053】

さらには、本発明は、前記（ポリ）ペプチドの合成を許容し、培養により産生される（ポリ）ペプチドを回収および/または単離する望ましい条件下で、本発明の宿主細胞を培養することを

10

【0054】

形質転換された宿主細胞を当分野で周知の技術に従って発酵槽において増殖および培養して、至適な細胞増殖を達成することができる。本発明の（ポリ）ペプチドを、次に、増殖培地、細胞可溶化液、細胞膜画分または包含体から単離することができる。発現されると、本発明のタンパク質を、硫酸アンモニウム沈殿、親和性カラム（アフィニティークラム）、カラムクロマトグラフィー、ゲル電気泳動法その他同種類のものを含む、当分野の標準製法に従って精製することができる；Scopes, "Protein Purification", Springer-Verlag, N. Y. (1982)を参照。例えば、"Current Protocols in Molecular Biology" (2000, John Wiley and Sons)は精製プロトコルを提供する。さらなる精製スキームは当分野で周知であり、膜タンパク質の精製も提供する。例えば、酵母菌/酵母菌発現系中での発現から精製を行うことは、Murdza-Inglics (1991)、JBC 266、11871-11875に記載されており、細菌における精製/発現は、Kaplan (1996)、J. Bioenerg. Biomembr. 28、41-47に、または原核細胞における精製/発現は、(Castella (1990)、PNAS 87、5124-5128)において開示されている。少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%または少なくとも約90~97%の同質性を有する実質上純粋なタンパク質が望ましく、98~99%以上の同質性が医薬品用として最も望ましい。部分的に、または所望の同質性で精製された後、タンパク質を、治療（体外を含む）またはアッセイの開発および実施に使用することができる。

20

30

【0055】

加えて、本発明は、本発明の核酸分子によってコードされるか、または上述の方法によって産生または取得可能な（ポリ）ペプチドに関連するものである。ここに使用された用語「（ポリ）ペプチド」は、ペプチド、完全長タンパク質またはそのフラグメントのいずれかを意味する。ペプチドは、有利には本発明の（ポリ）ペプチドのフラグメントである。用語「（ポリ）ペプチド」は、アミノ酸残基が共有結合のペプチド結合によって連鎖されている、任意の長さのアミノ酸鎖を含むペプチドまたは（ポリ）ペプチドを含む。有利には、「ペプチド」の前記アミノ酸鎖は、少なくとも10アミノ酸、より有利には少なくとも20、より有利には少なくとも30、より有利には少なくとも40、さらにより有利には少なくとも50および、最も有利には少なくとも60アミノ酸を含む。本発明の（ポリ）ペプチドが少なくとも100、より望ましい少なくとも200、より望ましい少なくとも300、より望ましい少なくとも400、より望ましい少なくとも500、さらにはより望ましい少なくとも600アミノ酸を含んでいることがより望ましい。

40

【0056】

本発明において本発明の（ポリ）ペプチドに照らして使用されている用語「またはそのフラグメント」は、特定のペプチド、本明細書で開示されている（ポリ）ペプチドのアミノ酸伸長を含む。前記「そのフラグメント」は機能的フラグメントであることが望ましい。用語「機能的フラグメント」は、少なくとも部分的に、本発明の（ポリ）ペプチドの生理

50

的および/または構造上の活性を満たす、上記で同定された本発明の(ポリ)ペプチドの部分を意味する。但し、前記フラグメントが、本発明の(ポリ)ペプチドに対して介在性および/または抑制性の分子として機能することも構想される。例えば、本発明の(ポリ)ペプチドのフラグメントは、構造的および/または生理的に本発明の(ポリ)ペプチドと相互に影響し、それによって前記(ポリ)ペプチドの機能を抑制することが構想される。

【0057】

本発明の(ポリ)ペプチドは、細菌、酵母菌、またはその他の原核細胞のような、哺乳動物細胞または昆虫細胞のような、宿主細胞において発現された組換え(ポリ)ペプチドであり得る。あるいは、それらはウイルス製剤から単離することができる。

10

【0058】

本発明における他の実施例では、合成(ポリ)ペプチドを使用することができる。以上の点から、そのような(ポリ)ペプチドは、本発明の核酸分子によってコードされた、天然アミノ酸残基のみを含む(ポリ)ペプチドであり得るが、修飾を含んでいる(ポリ)ペプチドでもあり得る。これらには、共有結合性誘導体、例えばカルボキシル基の脂肪族エステルまたはアミノ、ヒドロキシル基を含む残基のO-アセチル誘導体、アミノ基を含む残基のN-アシル誘導体が含まれる。そのような誘導体は、アミノ酸残基の側鎖およびタンパク質のN-末端およびC-末端に存在する反応可能基を連結することによって製造することができる。さらには、(ポリ)ペプチドは、放射標識または、共有結合希土類キレートのような検出可能基を用いて標識すること、または蛍光部分に抱合させることができる。

本発明の(ポリ)ペプチドは、例えば、そのような(ポリ)ペプチド、化学的修飾の生成物をコードするヌクレオチド配列の発現の生成物であり得るし、またはウイルス製剤(調合)のような天然源から精製することができる。さらには、(ポリ)ペプチドのドメインの共有結合連鎖の生成物であり得る。

20

【0059】

ペプチド/(ポリ)ペプチドはまた、生化学的技術または合成技術産生によっても産出することができる。それらの方法は当分野では周知である(例えばMerrifield, J. Am. Chem. Soc. 85 (1963), 2149-2146; Stewart, "Solid Phase Peptide Synthesis", WH Freeman Co, San Francisco (1969); Scopes, "Protein Purification", Springer Verlag, New York, Heidelberg, Berlin (1987); Janson, "Protein Purification, Principles, High Resolution Methods and Applications", VCH Publishers, New York, Weinheim, Cambridge (1989); Wrede, "Concepts in Protein Engineering and Design", Walter de Gruyter, Berlin, New York (1994)を参照)。

30

【0060】

そのうえ、本発明の範囲内には、前述のアミノ酸および/またはペプチド結合が機能的類似物、特に疑ペプチド(peptidomimetic)によって置換されている、ペプチド/(ポリ)ペプチドがある。疑ペプチド(peptidomimetic)は当分野で公知であり、この方法を記載する対応技術は以下に記載されている。以上の点から、本発明はまた、特定のSOUP I由来ペプチドを含む、機能的誘導体および/または前記ペプチドの類似体を包含する。ペプチド/(ポリ)ペプチドの調製に対する方法は、Sambrook et al., loc. cit., or in Oxender and Fox (1987) "Protein Engineering", Alan Liss Inc. New Yorkにおいて記載されている。化学的誘導体および/または類似体のタンパク質調製(調合は、例えば、Beilstein "Handbook of Organic Chemistry", Springer Edition New York, or in "Organic Synthesis", Wiley, New York.において記載されている。

40

50

【0061】

本発明はまた、本発明の(ポリ)ペプチドまたはそのフラグメントを含む、融合タンパク質に関連するものである。以上の点から、本発明の(ポリ)ペプチドに加えて、前記融合タンパク質は少なくとも1つのドメインを含み、前記ドメインは共有結合または非共有結合によって結合されている。結合は、当分野で周知の方法に従った遺伝的融合に基づくものであってよく(Sambrookら、前掲のAusubel, "Current Protocols in Molecular Biology", Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1989))または

例えば、WO94/04686において記載されたように、例えば化学的架橋結合によって実施することができ、本発明の(ポリ)ペプチドを含んだ融合タンパク質に存在する追加ドメインは、有利には可動性のリンカーによって連鎖することができ、有利に前記(ポリ)ペプチドリinkerは、前記ドメインのC末端と、ペプチド、(ポリ)ペプチドまたは抗体のN末端間との距離にまたがる、あるいはその逆の、十分な長さの、複数、親水性の、ペプチド結合されたアミノ酸を含んでいる(ポリ)ペプチドリinkerである。上記の融合タンパク質は、切断可能なリンカーまたは例えば、タンパク質分解酵素または化学薬品によって特異的に認識および切断される切断部位を含むことができる。そのうえ、前記の少なくとも1つのドメインは、所定の特異性または機能を有したドメインであり得る。これに関連して、本発明の(ポリ)ペプチドは、当分野で周知の従来の方法によって修飾されることが理解される。これは、本発明の(ポリ)ペプチドおよびその他の機能的アミノ酸配列、例えば、細胞小器官の局在性シグナル、転写促進ドメイン、DNA結合ドメイン、ホルモン結合ドメイン、タンパク質タグ(例えばGST、GFP、h-mycペプチド、フラグ、HAペプチド、連鎖球菌)、膜貫通ドメインまたは異種タンパク質から得られる脂肪酸添付モチーフを含んだ、融合タンパク質の作成を許容する。

【0062】

本発明の融合タンパク質は、モザイク(ポリ)ペプチドでもあり得る。本発明の(ポリ)ペプチドの少なくとも2つのエピトープを含んでいる前記モザイク(ポリ)ペプチドであってよく、前記モザイク(ポリ)ペプチドは、通常、未変性のSOUP1タンパク質のエピトープ間に介在するアミノ酸が欠失している。

【0063】

特に、そのようなモザイク(ポリ)ペプチドは、単一ペプチドまたは(ポリ)ペプチド内に直線的、またはリジンの場合において多抗原ペプチドシステムとして存在している可能性がある多数の関連エピトープを含み得るので、ここに記載する適用例および方法において有用である。関連エピトープはスペーサー領域によって分離することができる。

【0064】

前記ポリペプチドまたはそのフラグメントを含んでいる本発明の融合タンパク質が、SEQ ID NO: 15~50、61または62に示す任意のアミノ酸配列を、少なくとも1つ、有利には少なくとも2つ、より有利には少なくとも3つ、より有利には少なくとも4つ、より有利には少なくとも5つ、および最も有利には6つ含むことが特に望ましい。上記に開示したように、前記配列は、ここに記載したようにSOUP1タンパク質の特異的に演繹された膜貫通領域に関連する。本発明の融合タンパク質が、SEQ ID NO: 27~50に示す任意のアミノ酸配列を、少なくとも1つのおよび最も有利には少なくとも6つ含むことは特に望ましい。前記融合タンパク質が、異なる種、例えばヒト、マウスまたはゼブラフィッシュから得られる膜貫通領域を含むことも構想される。なお、最も望ましいのは、1つの種からの膜貫通領域を含む融合タンパク質である。

【0065】

本発明の核酸分子、(ポリ)ペプチド(そのほかにここに記載したように抗体またはそのフラグメントまたは誘導體、アプタマーまたはその他のレセプター)、融合タンパク質、モザイク(ポリ)ペプチドまたはアンチセンスオリゴヌクレオチドは、検出可能な程度に標識化することができる。生体分子を標識化用の入手可能な種々の技術は、当業者に公知

10

20

30

40

50

であり、本発明の範囲内に含まれているものとする。そのような技術は、例えば、Tijssen, "Practice and theory of enzyme immunoassays", Burden, RH and von Knippenburg (Eds), Volume 15 (1985), "Basic methods in molecular biology"; Davis LG, Dimer MD; Battely Elsevier (1990), Mayer et al., (Eds) "Immunochemical methods in cell and molecular biology" Academic Press, London (1987), or in the series "Methods in Enzymology", Academic Press, Inc. のシリーズに記載されている。

10

【0066】

多くの異なる標識および標識化の方法が当分野では周知である。本発明において使用することができる標識タイプの例には、酵素、放射性同位元素（例： ^{32}P または ^{125}I ）、コロイド性金属、蛍光性化合物/蛍光色素（例：フルオレッセインローダミン、テキサスレッドなど）、化学発光化合物、および化学または生物発光の化合物（例：ジオキセタン、ルミノールまたはアクリジニウム）が含まれる。

【0067】

一般に使用される標識には、特に酵素（例：西洋わさび過酸化酵素、ベータガラクトシダーゼ、アルカリ性の脱リン酸酵素）、ビオチンまたはジゴキシゲニンが含まれる。酵素またはビオチン化基の共有結合カップリング、ヨウ素化、リン酸化、ビオチン化、ランダムな初回抗原刺激、ニックトランスレーション、テーリング（末端トランスフェラーゼ（転移酵素）を使用）のような標識化製法は当分野で周知である。

20

【0068】

検出方法には、オートラジオグラフィー蛍光顕微鏡、直接および間接酵素的な反応などが含まれるがそれに限定されるものではない。

【0069】

本発明は、さらにはそのうえ抗体またはそのフラグメントまたは誘導体または抗血清またはアプタマーまたは核酸上のエピトープ（抗原決定基）を特異的に認識する他のレセプター、または本発明の（ポリ）ペプチドに関連するものである。抗体を産出するための一般的な方法論は、公知であり、モノクローナル抗体に対して、例えば、Kohler and Milstein, Nature 256 (1975), 494 and reviewed in J. G. R. Hurrell, ed., "Monoclonal Hybridoma Antibodies: Techniques and Applications", CRC Press Inc., Boca Raton, FL (1982) に記載されている。本発明に記載の用語「抗体」は、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体に関連するものである。ポリクローナル抗体（抗血清）は、従来のプロトコルに従って取得することができる。抗体フラグメントまたは誘導体は、F(ab')₂、Fab、FvまたはscFvフラグメントを含む；実施例を参照。Harlow and Lane, "Antibodies, A Laboratory Manual", CSH Press 1988. Cold Spring Harbor, NY. 有利には本発明の抗体はモノクローナル抗体である。さらには、本発明に基づいて、本発明の誘導体は、疑ペプチド（peptidomimetic）によって産生することができる。本発明に照らした用語「アプタマー」は、RNA、ssDNA（ss = 一本鎖）、修飾RNA、修飾ssDNAまたは、高特異性および親和性を有し、複数の標的配列を結合するPNAsのような核酸を含む。アプタマーは当分野で周知であり、特に、Famulok, Curr. Op. Chem. Biol. 2 (1998), 320-327 に記載されている。アプタマーの調製は当分野で公知であり、結合部位を同定するため、特に組み合わせRNAライブラリの使用を含む場合がある（Gold, Ann. Rev. Biochem. 64 (1995), 763-797）。前記の他レセプターは、例えば疑ペプチド（peptidomimetic）によって前記抗体などから得ることができる。認識の特異性は、その他の周知

30

40

50

のタンパク質、分子が結合していないことを暗示する上記の復唱された化合物に接触する特異性を評価する望ましい宿主は、核酸分子のエピトープ（抗原決定基）または本発明の（ポリ）ペプチドのほかに、当分野で周知の、例えばタンパク質または核酸分子からの、例えばイムノソルベントアッセイ（E L I S A）形態における対応化合物を含み、本発明の化合物のみに結合するが、前記対応化合物とは有意な範囲でほとんど交差反応しないそれらの抗体などを同定することをも暗示する。

【 0 0 7 0 】

本発明はまた、本発明の核酸分子のアンチセンスオリゴヌクレオチドに関連するものである。前記アンチセンスオリゴヌクレオチドは、科学的な目的におけるほかに、診断目的または治療学的な目的においてもまた使用することができる。

10

【 0 0 7 1 】

さらに本発明は、本発明のポリペプチドまたは本発明の融合タンパク質または、本発明の核酸分子を含んだ本発明のベクターで形質移入した融合タンパク質を発現する非ヒト動物を提供する。

【 0 0 7 2 】

例えば、非ヒト動物が本発明のポリペプチドを過剰発現または過小発現することが構想される。さらには、本発明は、本発明の核酸分子またはそのホモログ、パラログまたはオルソログがサイレント突然変異および/または変異されるような、非ヒト動物に関連するものであり。

【 0 0 7 3 】

上記の非ヒト動物は、有利にはマウス、ラット、ヒツジ、ハムスター、ブタ、イヌ、サル、ウサギ、子ウシ、ウマ、線形動物、ハエおよびサカナから成るグループから選択される。

20

【 0 0 7 4 】

本発明はまた、遺伝子組換えマウス、ラット、ハムスター、イヌ、サル、ウサギ、ブタ、線虫、ショウジョウバエ、サカナ（例：ゼブラフィッシュまたはシビレエイ）のような遺伝子組換え非ヒト動物に関連するものである。核酸分子または本発明のベクターを含んでいる前記動物は、本発明の（ポリ）ペプチドの単一またはいくつかの形態をコードし、肥満症を調節、誘発またはそれに寄与、または体重調節に関与する、単一またはいくつか同一または異なる核酸分子のコピーを有することができる。これらの動物は、ここに記載したように、肥満症、脂肪過多、摂食障害、体重/体質量の喪失および/またはその他の障害の研究モデルとして、部分的に有用である。さらには、前記遺伝子組換え非ヒト動物は、上記のS O U P 1タンパク質の変異体形態に関連して、例えば薬物の薬理学的な研究に良く適している。

30

【 0 0 7 5 】

他の実施例において、本発明は、ここに定義されたようにポリペプチド、例えばS O U P 1によって影響および/または修飾される、遺伝子および/または、遺伝子産物の機能をコントロールする、核酸分子、ベクター、宿主、ポリペプチド、融合タンパク質、抗体、フラグメントまたはその誘導體またはアプタマーまたは他のレセプターまたは本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの使用に関連するものである。前記の影響/修飾は、タンパク質/タンパク質フラグメント間の直接相互作用によって、および/または前記遺伝子および/または遺伝子産物の機能、活性および/または発現に必要な、代謝化合物、またはイオンを供給することによって発生させることができる。前記遺伝子および/または遺伝子産物が、細胞小器官に発現する遺伝子および/または遺伝子産物であることは特に望ましい。前記細胞小器官は、特にミトコンドリアまたはペルオキシソームであり得る。

40

【 0 0 7 6 】

前記遺伝子および/または遺伝子産物が、UCPファミリーのメンバーでありことは特に望ましい。UCPファミリーのメンバーは公知であり、上記に記載されている。

【 0 0 7 7 】

本発明はさらに、核酸分子、ベクター、宿主、ポリペプチド、融合タンパク質、抗体、フ

50

ラグメントまたはその誘導体またはアプタマーまたは他のレセプターまたは本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む成分を提供する。前記成分は、特に診断用組成物または、例えばヒトまたは動物薬用などの治療学的な成分医薬品であり得る。さらに、その成分には、望ましい担体、希釈剤および/または補助剤を含むことができる。

【0078】

加えて、本発明は、細胞障害、細胞塊、器官および/または被験者および/または治療、細胞障害の軽減および/または予防、細胞塊、器官および/または被験者を検出および/または検証するためにここに定義した成分の使用法を提供する。前記障害は、聴覚障害、網膜症、進行性の脳障害(enzeleopathies)、運動失調、痙性対麻痺、代謝性アシドーシスおよびその他のような障害を含むミトコンドリアの障害、代謝障害またはミトコンドリアの障害であり得る。

10

【0079】

前記代謝障害には、肥満症、脂肪過多、摂食障害(過食症、拒食症)、カヘキシー(衰弱)、膵臓の機能障害(例:糖尿病、具体的には2型の糖尿病)および/またはROS(活性酸素種)産生(具体的には老化および発癌における感染に対する反応)に関連する障害を含むことができる。

【0080】

例えば、UCPsは、例えば糖尿病のような膵臓の障害に関与することが示されている。脱共役タンパク質の糖尿病における役割は、げっ歯類のストレプトゾトシン糖尿病におけるUCP3の誘発によって実証されている(特に、Hidaka, Proc Soc Exp Biol Med 224:172-177(2000)、Hidaka, Diabetes 48:430-435(1999)を参照)。

20

【0081】

さらにはUCP2膵臓のベータ-細胞における発現は、ベータ-細胞機能およびインシュリン分泌に影響することが示されている(Wang, Diabetes 48:1020-1025(1999); Chan, Diabetes 48:1482-1486(1999))。

【0082】

活性酸素種(ROS)cを引き起こす膜機能障害、DNA損傷および不活性化タンパク質の病理学的な結果には、癌、関節炎および神経変性の疾病が含まれる。ROS制限代謝は、細胞損傷から保護するための主要な機構である。具体的には肥満症は、増加された酸化ストレスを誘発することができる(Hayes, Free Radic Res 31:273-300(1999); Yang, Arch Biochem Biophys 378:259-268(2000))。

30

【0083】

対照的に、マクロファージにおける増加されたROS産出は、免疫の反応を改善することができる。同様にUCP2も、感染に対してより高耐性マウスを特定の病原体を用いてノックアウトすることができる。

【0084】

以上の点から、修飾能力を有する本発明の化合物、特にUCPsは、上記に同定された目的に良く適している。

40

【0085】

さらなる実施例において、本発明は、ここで定義したとおり、ポリペプチドと相互作用可能な物質を同定するために、核酸分子、ベクター、宿主、ポリペプチド、融合タンパク質、抗体、フラグメントまたはその誘導体またはアプタマーまたは他のレセプターまたはアンチセンスオリゴヌクレオチドの使用法に関連するものである。前記ポリペプチドと相互作用可能な前記物質は、拮抗薬または作用薬であり得る。

【0086】

なお、さらなる実施例においては、本発明は、ポリペプチドまたは、動物の細胞代謝に関与する物質または恒常性を修飾する能力のある物質を同定する方法を提供し、そのステッ

50

ブは下記の通りである：

(a) 本発明のポリペプチド、そのフラグメントまたは本発明の融合タンパク質またはそのフラグメントとの相互作用に関する、ポリペプチドまたは物質の収集を読み取り系を使用して検査するステップ；および

(b) ステップ (a) において正の相互作用を示したポリペプチドまたは物質を同定するステップ。

【 0 0 8 7 】

上記の用語「細胞代謝」は、細胞小器官の細胞膜を横切ったイオン輸送、ビタミン輸送または代謝産物輸送の調節に参与する代謝イベントを含むことができる。これらの輸送イベントまたはその調節は、エネルギー恒常性、貯蔵化合物の累積および/または根治的生成/除去に影響することができる。

10

【 0 0 8 8 】

ポリペプチドまたは上記の開示方法によって同定された物質は、特にポリペプチドまたは直接的または直接的に本発明のポリペプチド、すなわち S O U P 1 タンパク質および/またはそのフラグメントと相互作用する物質 (例えばリンカータンパク質経路または生理的パラメータ経路) であり得る。ここに広義に使用された用語「物質」は、生理的および非生理的な物質、例えば合成物質に関連するものである。

【 0 0 8 9 】

明細書において使用されている用語「フラグメント」とは、少なくとも 5、有利には少なくとも 10、より有利には少なくとも 15 およびさらにより有利には少なくとも 25 アミノ酸を含む、および/またはさらに少なくとも 1 つ、有利には少なくとも 2、より有利には少なくとも 3、より有利には少なくとも 4、より有利には少なくとも 5 および最も有利には少なくとも 6 つの膜貫通領域を含んだ S O U P 1 タンパク質のフラグメントに関連するものである。なお、ここに使用されたフラグメントは、S O U P 1 タンパク質の N-または C-末端を表すことも構想される。

20

【 0 0 9 0 】

上記ステップ (a) の相互作用に関する前記検査は、当事者に周知の方法によって行うことができ、その方法をここに記載した。具体的には、これらの測定法は、生化学的、免疫学的および/または分子生物学的な測定法を含む。

【 0 0 9 1 】

読み取り系を使用する前記相互作用測定法は、当分野で周知であり、特に 2 つのハイブリッドスクリーニング (特に、E P - 0 9 6 3 3 7 6、W O 9 8 / 2 5 9 4 7、W O 0 0 / 0 2 9 1 1 に記載されている)、G S T プルダウンカラム、記載された通りの細胞抽出物からの共沈殿測定法、特に K a s u s - J a c o b i, O n c o g e n e 1 9 (2 0 0 0)、2 0 5 2 - 2 0 5 9, " i n t e r a c t i o n - t r a p " s y s t e m s、(記載された通りの、特に、U S 6、0 0 4、7 4 6 における) 発現クローン化 (例えば l a m d a g t 1 1)、ファージディスプレイ (記載されたとおりの、特に U S 5、5 4 1、1 0 9 における)、生体外結合測定法、その他同種類のものを含む。さらなる相互作用測定法の方法および対応する読み取り系は、特に、U S 5、5 2 5、4 9 0、W O 9 9 / 5 1 7 4 1、W O 0 0 / 1 7 2 2 1、W O 0 0 / 1 4 2 7 1 または W O 0 0 / 0 5 4 1 0 に記載されている。

30

40

【 0 0 9 2 】

同様に、相互作用する分子 / (ポリ) ペプチドは、当分野で公知の細胞基調技術によって演繹することができる。これらの測定法には、特にレポーター遺伝子構成物の発現、または記載されたように、例えば遺伝子発現に影響する薬物 / 小化合物の同定に関する「ノックイン」測定法が含まれている。前記「ノックイン」測定法は、組織培養細胞における「ノックイン」のほか、(遺伝子組換え) 動物におけるノックイン測定法を含むことができる。成功した「ノックイン」の実施例は、当分野で周知である (特に、T a n a k a、J . N e u r o b i o l . 4 1 (1 9 9 9)、5 2 4 - 5 3 9 または M o n r o e、I m m u n i t y 1 1 (1 9 9 9)、2 0 1 - 2 1 2 を参照)。さらには、生化学的測定法

50

を用いことができる。本発明の（ポリ）ペプチド（またはそのフラグメント）のその他の分子／（ポリ）ペプチド、ペプチドに対する結合、または本発明の（ポリ）ペプチド（またはそのフラグメント）のそれ自体に対する結合（二量体化、オリゴマー形成、多量体化）および、前記相互作用の特にシンチレーション近接測定法による測定が含まれるがそれに限定されるものではない。（SPA）または同種時間分解蛍光測定法（HTRFA）。

【0093】

さらに使用できる方法には、FRET（蛍光共鳴エネルギー伝達；特に、Ng, Science 283 (1999)、2085-2089で記載されたとおり）、または蛍光極性化測定法が含まれる。これらの方法は当分野で周知であり、特にFernandez, Curr. Opin. Chem. Biol. 2 (1998)、547-603において記載

10

【0094】

前記「相互作用の検査」はまた、複合体形成の測定も含むことができる。複合体形成の測定は、当分野で公知であり、特に異種系および均一系による測定を含む。均一系による測定は、結合パートナーが溶液中に残存する測定法を含み、凝集測定法のような測定法を含む。異種性の測定法は、特にイムノアッセイ、例えばELISAs、RIAs、IRMAs、FIAs、CLLAsまたはECLsのような測定法を含む。

【0095】

相互作用および／または本発明の（ポリ）ペプチドの結合パートナーを同定する、またはこの（特定の）細胞内結合パートナー／標的を有する、本発明の（ポリ）ペプチドの結合を妨害可能な薬剤／化合物の同定に関する、さらなる方法および測定法を、以下に開示する。前記追加のおよび／またはさらなる方法および測定法は、体重調節に関与し、および／または本発明のS O U P 1（ポリ）ペプチドと相互作用可能な、上記の（ポリ）ペプチドを同定する方法において使用できる。

20

【0096】

本発明の方法の任意の測定または検出のステップは、コンピュータ技術によって補助することができる。例えば、本発明に基づいて、前記検出および／または測定ステップは、イメージ分析、分光法または流動細胞計測法を含んだ種々の手段によって自動化することができる。

【0097】

なお別の実施例において、本発明は、1つ以上の相互作用する（ポリ）ペプチドをコードする核酸分子同定するステップをさらに含む、上記の方法に関連するものである。

30

【0098】

そのような核酸分子の同定は当分野で公知であり、特に特定プライマーおよび／または変性プライマーの使用法を含む。さらには、組換え技術はSambrook, loc. cit. or in Glick (1994), "Molecular Biotechnology", ASM Press, Washingtonにおいて記載されたとおりに使用することができる。

【0099】

なお、さらなる実施例においては、本発明は、ポリペプチドまたは、動物の細胞代謝に関与する物質または恒常性を修飾する能力のある物質を同定する方法に関連し、そのステップは下記の通りである：

40

(a) 本発明のポリペプチドとの相互作用のため、または上記の方法によって同定されたのポリペプチドまたは物質の収集を検査するステップ；および

(b) ステップ(a)において正の相互作用を示したポリペプチドを同定するステップ；および随意的に

(c) 同定されたポリペプチドを用いてステップ(a)および(b)を1回以上繰返すステップ。このステップでは、新規に同定されたポリペプチドは、さらに相互作用するポリペプチドを同定するために、以前に同定されたポリペプチドをベイトとして置換する。

【0100】

50

上記の方法はさらに、1つ以上の相互作用する(ポリ)ペプチドコードする核酸分子を同定するステップを含むことができる。

【0101】

本発明はまた、ここに記載したように、核酸分子の使用法、またはここに記載されたように、ポリペプチド検出および/または遺伝子および/または遺伝子産物の単離、細胞代謝の機能的カスケード、具体的にはエネルギー代謝の機能的カスケードに関する使用法を提供する。

【0102】

そのうえ、本発明は、哺乳動物における体重調節に関するポリペプチドを同定する方法に関連するものであり、そのステップは下記の通りである：

(a) 本発明のポリペプチド、そのフラグメントまたは本発明の融合タンパク質またはそのフラグメントを有するポリペプチドの収集物に、前記(ポリ)ペプチドの結合を許容する条件下で接触させるステップ；および

(b) ステップ(a)で本発明の前記ポリペプチドまたは本発明の融合タンパク質に対して結合しなかった(ポリ)ペプチドの前記収集から(ポリ)ペプチドを除去するステップ。および

(c) 本発明の前記ポリペプチドまたは本発明の融合タンパク質に結合する(ポリ)ペプチドを同定するステップ。

【0103】

上記の方法は、当業者によって実行されることができる。ステップ(a)の前記「接触」は、本発明の(ポリ)ペプチドおよび/またはそのフラグメントと共役する(磁石)ビーズを使用して、特に溶液中で行うことができる。例えば、磁力分離、重力、親和性カラム系および対応洗浄、その他同種類のものを含む、非結合(ポリ)ペプチドは、当分野で周知の方法によって容易に除去することができる。

【0104】

結合(ポリ)ペプチドを同定する方法は、当分野で周知であり、特にSDS(ドデシル硫酸ナトリウム)、PAGE(ポリアクリルアミドゲル電気泳動)分析、およびウエスタンブロット法を含む。さらには、2Dゲル電気泳動、ゲル内温浸、マイクロシーケンシング、N末端シーケンシング、MALDI-MS、質量分析におけるペプチドの分析、ペプチド質量フィンガープリント法、PSD-MALDI-MSおよび/または(マイクロ)HPLCのような技術がある。同定される分離ポリペプチドは、特にエドマン分解法、MALDI-MS法、ラダーシーケンシング法(Thiede、FEBS 357(1995)、65)によって、さらに分析することができる。

【0105】

上記の(およびその他の当分野で周知の)方法を使用することによって、同定される(ポリ)ペプチドのアミノ酸配列は演繹および配列される。これらの配列されたアミノ酸のフラグメントから、変性オリゴヌクレオチドは、演繹および合成することができ、これらを用いて、例えばゲノムまたはcDNAライブラリをスクリーニングし、対応遺伝子/cDNAを同定およびクローン化することができる。

【0106】

さらには、ファージディスプレイアプローチを本発明の方法に使用することができる。ファージディスプレイは、所定の分子と相互に影響するタンパク質の同定を許容する。それぞれ異なるペプチドエピトープ(抗原決定基)を示すファージのライブラリは、所定の分子に対する結合に関してテストされる。結合ファージは精製することができ、ペプチドエピトープ(抗原決定基)をコードする挿入フラグメントを配列することができる。ファージディスプレイキットは当分野で周知であり、市販の例としてはDisplay Systems Biotech Cat. No. 300-110があげられる。

【0107】

本発明は、さらに別の実施例において、前記本発明の(ポリ)ペプチドが固形担体に固定されている、ここに記載の方法に関連するものである。

10

20

30

40

50

【0108】

固形担体は当分野で周知であり、特に市販のカラム材料、ポリスチレンビーズ、ラテックスビーズ、磁力ビーズ、膠質金属粒子、ガラスおよび/またはシリコン素子およびシリコン面、ニトロセルロース条片、膜、シート、d u r a c y t e s、反応トレーのウェルおよび壁、プラスチックチューブなどを含む。本発明の前記(ポリ)ペプチドを固定化/不動化するのに望ましい方法は公知であり、イオン性相互作用、疎水性相互作用、共有結合相互作用およびその他同種類が含まれるがそれに限定されるものではない。

【0109】

特定の望ましい実施例において、前記固形担体はゲルろ過または親和性クロマトグラフィー材料である。

10

【0110】

上記の本発明の方法のより望ましい実施例において、前記結合(ポリ)ペプチドは、ステップ(c)における前記同定に先行して解離される。

【0111】

前記解離は、溶出によって発効することができる。そのような溶出方法は当分野で周知であり、特に異なるイオン強度または異なるpHの溶液を用いた溶出、または薬剤/分子/ペプチドのインターカレートまたは競合を利用した溶出を含む。

【0112】

さらには、より望ましい実施例において、本発明は、前記方法に1つ以上の結合(ポリ)ペプチドをコードする核酸分子を同定するステップが含まれている本発明の上記の方法に関連するものである。

20

【0113】

上記に指摘したように、前記核酸分子を、特に変性プライマー/オリゴヌクレオチドまたは発現クローン化を用いて演繹して、対応遺伝子および/またはcDNAを検出することができる。

【0114】

本発明の核酸分子の発現に影響する化合物を同定する方法は下記のステップから成る。

【0115】

(a) 請求項1から9までのいずれか1項に記載の核酸分子または請求項36または42に記載の方法により同定され、動作可能に読み取り系へ連結された核酸分子を含む発現ベクターを有する宿主を、化合物または化合物混合物と接触させるステップ、

30

(b) 前記接触の結果が、前記読み取り系によって起こるシグナル強度を変化させるかどうかを分析するステップ、場合により

(c) ステップ(b)においてシグナルの変化を誘導する化合物を化合物混合物から同定するステップ(ここでは、シグナル強度の前記変化は、前記核酸分子の発現の変化に相關する)。

【0116】

さらに本発明は、上記の定義のとおり(ポリ)ペプチドの活性に影響する化合物を同定する方法を提供し、その方法は下記のステップから成る。

【0117】

40

(a) 効果的に読み取り系と連結する、請求項1から9までのいずれか1項に記載の核酸分子を含みかつ/または読み取り系と連結する本発明の(ポリ)ペプチドを有する発現ベクターを有する宿主を、化合物または化合物混合物と接触させるステップ、

(b) 前記接触の結果、読み取り系によって起こるシグナル強度の変化があるかどうかを分析するステップ; 場合により

(c) ステップ(b)でシグナル変化を誘導する化合物を化合物混合物から同定するステップ(ここでは、前記シグナル変化が前記(ポリ)ペプチドの活性変化に相關することを特徴とする)。

【0118】

本発明の方法に照らして上記に使用された用語「活性」には、本発明の(ポリ)ペプチド

50

の「機能」も含まれる。前記機能は上記のように、酵素活性またはその他の機能、特にシグナル伝達経路における介入などを含むことができる。そのような活性およびそのような活性の修飾因子は、ここに記載したように好都合な生体外または生体内測定法によって、またはその変動によって決定および/または同定することができる。根底にある技術は、広範かつ一般的に当業者に周知されている。

【0119】

本発明の核酸分子に動作可能なように連鎖した、または本発明の(ポリ)ペプチドに連鎖した読み取り系はここに開示され、放射性の標識に基づく測定法、発光、蛍光などが含まれるがそれに限定されるものではなく、特に、前記読み取り系は、蛍光共鳴エネルギー伝達(FRET)を含むことができる。上記の方法は、特に(自動化)高処理量スクリーニングにおいて有用である。本発明に照らして、上記の「動作可能なように本発明の核酸分子に連鎖した読み取り系」はまた、例えば核酸分子、特にその他のプラスミド、ベクターなどのような、異なる分子上に位置する読み取り系をも含む。

10

【0120】

上記方法のステップ(a)の前記宿主は、原核宿主細胞であり得る。前記宿主細胞は、酵母菌細胞または植物細胞であり得る。前記真核生物の宿主細胞が哺乳動物の宿主細胞であることは特に望ましい。但し、前記宿主細胞は、例えば細菌のような真核細胞でもあり得る。特に望ましいのは、真核(宿主)細胞が上記の場合である。

【0121】

本発明の方法における用語「化合物」には、単一物質または同一または同一でない複数物質が含まれる。前記化合物は、例えば試料、例えば植物、動物または微生物などからの抽出細胞に含まれることができる。さらには、前記化合物は当分野で周知であるが、本発明の(ポリ)ペプチドの活性に影響可能なこと、または本発明の核酸分子の発現に影響可能であることは、それぞれ周知されていない。複数個の化合物は、例えば生体外試料に添加すると培地を培養または細胞に注入することができる。

20

【0122】

試料(化合物の収集)が、本発明の方法において同定された化合物を含んでいる場合、化合物を該当の化合物を含んでいると同定された本来の試料から単離すること、または本来の試料をさらに細区画すること、例えば、資料に複数の異なる化合物が含まれている場合、試料ごとに含まれている異なる物質の数を減少させるため、本来の試料の細区画をさらに細区画する作業を繰返すことはいずれも可能である。前記試料または化合物が所望の特性を示すかどうかはここに記載した当分野で周知の方法によって決定することができる。試料の複雑さにより、上記のステップを何回か繰返すことができるので、試料が本発明の方法によって限定された数、または1つのみの物質を含むと同定されるまで、ステップを繰返すことが望ましい。前記試料が類似の化学的および/または物理的な性質の物質を含みことが望ましく、前記物質が全て同一であることが最も望ましい。本発明の方法は、当業者によって、例えば従来技術に記載されているその他の細胞基調測定法に従って容易に実施およびデザインすることができる(例えば、EP-A-0403506を参照)。さらには、当業者は、どの化合物および/または細胞が本発明の方法を実施するために使用することができるかを容易に認識できる。例えば、上記の宿主細胞または酵素は、必要に応じて、例えば前駆物質化合物を、次々に本発明の核酸分子の発現に影響および/または本発明の(ポリ)ペプチドの活性に影響する、活性化化合物に転換する。

30

40

【0123】

そのような本発明方法の順応は、当業者の能力範囲で行なうものとし、必要以上の実験を行わずに実施され得る。

【0124】

本発明に記載の方法に従って使用できる化合物には、特にペプチド、タンパク質、およびcDNA発現ライブラリ、抗体、小有機の化合物、結合基、PNAsその他同種類のものを含んだ核酸が含まれる。前記化合物はまた、機能的誘導体または周知の活性化剤または阻害剤の類似体であり得る。化学的誘導体および類似体の調製(調合)のための方法は、

50

当業者に公知であり、例えばBeilstein(前掲)に記載されている。さらには、前記誘導体および類似体の効果は、当分野で周知の方法および/またはここに記載した方法に従ってテストすることができる。さらには、疑ペプチド(peptidomimetic)および/または本発明の核酸分子の発現の適切な活性化剤または阻害剤のコンピュータ支援設計、または本発明の(ポリ)ペプチドの活性のコンピュータ支援設計を、例えば、ここに記載した方法に従って用いることができる。例えば、タンパク質およびペプチドのコンピュータ支援設計のための適切なコンピュータ装置は、従来の技術、例えばBerry, Biochem. Soc. Trans. 22(1994), 1033-1036; Wodak, Ann. N.Y. Acad. Sci. 501(1987), 1-13; Pabo, Biochemistry 25(1986), 5987-5991に記載されている。上述のコンピュータ分析から得た成果は、本発明の方法、例えば、「周知の化合物、物質または分子の最適化」と共に使用することができる。適切な化合物はまた、連続的な化学的修飾および結果として生じる化合物の検査、例えば、ここに記載の方法を通して、疑ペプチド(peptidomimetic)組み合わせライブラリの合成によって同定することができる。生成および疑ペプチド(peptidomimetic)組み合わせライブラリの使用方法に関する方法は、従来の技術、例えばOstresh, Methods in Enzymology 267(1996), 220-234 and Dorrner, Bioorg. Med. Chem. 4(1996), 709-715において記載されている。さらには、三次元および/またはSOUP1タンパク質またはsoup1核酸分子の阻害剤または活性化剤の結晶学的な構造は、本発明の方法においてテストされる、本発明の(ポリ)ペプチドの疑ペプチド(peptidomimetic)阻害剤または活性化剤のために使用することができる(Rose, Biochemistry 35(1996), 12933-12944; Rutenber, Bioorg. Med. Chem. 4(1996), 1545-1558)。

【0125】

特に望ましい実施例において、上記の本発明の方法では、シグナル強度の前記変化はシグナル強度の上昇またはシグナル強度の減少を意味する。本発明の核酸分子の発現および/または本発明の(ポリ)ペプチドの活性に影響する、化合物を同定するための本発明の上記方法は、前記化合物のスクリーニングにも使用することができる。

【0126】

なお、さらなる実施例において、本発明は、動物における本発明の1つ以上のポリペプチドまたは1つ以上の融合タンパク質の発現の影響を評価する方法を提供し、その方法は下記のステップから成る。

【0127】

- (a) 核酸分子コーディングを前記動物における本発明のポリペプチドまたは融合タンパク質に対して過剰発現するステップ; および
- (b) 前記動物の重量が増加したか減少したか、代謝変化が誘発されたかどうか、および/または摂食行為が修飾されかたどうかを、それぞれ判定するステップ。

【0128】

同様に、本発明はまた、動物における本発明の1つ以上の(ポリ)ペプチドまたは1つ以上の融合タンパク質の発現の影響を評価する方法に関連し、その方法は下記のステップから成る。

【0129】

- (a) 核酸分子コーディングを前記動物における本発明のポリペプチドまたは融合タンパク質に対して低発現するステップ; および
- (b) 前記動物の重量が増加または減少したか、代謝変化が誘発されたかどうか、および/または摂食行為が修飾されかたどうかを、それぞれ判定するステップ。

【0130】

上記の遺伝子組換え動物は、上記の1つ以上の本発明の(ポリ)ペプチドの発現の影響を評価する方法にとって特に有用であり得る。上記の本発明の核酸分子の「低発現」には、

10

20

30

40

50

特に、両対立遺伝子の全欠損、または任意単一の対立遺伝子の除去が含まれる。さらに、前記用語には、試験動物における低機能的タンパク質 / (ポリ)ペプチドの発現を引き起こす突然変異の生成が含まれる。

【0131】

上述のポリペプチドの結合標的および薬剤との相互作用を調整する薬剤をスクリーニングする方法は下記のステップから成る。

【0132】

(a)

(aa) 請求項13に記載のポリペプチド、またはそのフラグメントまたは請求項14または15に記載の融合タンパク質またはそのフラグメント

(ab) 前記(ポリ)ペプチドまたは融合タンパク質またはそのフラグメントの結合標的 / 薬剤、

(ac) 候補薬剤

を含有する混合物を、前記(ポリ)ペプチド、融合タンパク質またはそのフラグメントが基準親和性で前記結合標的 / 薬剤と特異的に結合する条件でインキュベートし、

(b) 前記(ポリ)ペプチド、融合タンパク質またはそのフラグメントと前記結合標的との結合親和性を検出し、(候補)薬剤の偏向親和性を測定し、

(c) (候補)薬剤偏向親和性と基準親和性との差を決定する。

【0133】

上記に指摘したように、本発明の(ポリ)ペプチドの特定の結合標的および薬剤は、シグナル伝達経路および / または特定のレセプターの本発明の(ポリ)ペプチドとの接触に参与する分子を含むことができる。但し、本発明の(ポリ)ペプチドの前記結合標的および薬剤は、前記(ポリ)ペプチド自体であり、特に二量体化または多量体化を引き起こすことも構想される。さらなる(天然および人工)結合標的および薬剤は、当分野で周知な方法および本明細書で開示する方法によって同定され得る。

【0134】

本発明の(ポリ)ペプチドの相互作用の「リファランス親和性」およびその結合標的および薬剤は、当分野で周知の方法によって確立および / または演繹され得る。前記方法には、生体外および生体内方法が含まれるがそれに限定されるものではなく、ここに記載したように結合アッセイを含み得る。具体的には、前記結合アッセイは、本発明の(ポリ)ペプチドの結合標的および薬剤との分子相互作用が評価されるような任意の測定法を含む。前記結合標的および薬剤は、天然(例えば細胞内の)結合標的および薬剤、例えば、S O U P 1基質、S O U P 1(ポリ)ペプチド自体、S O U P 1(ポリ)ペプチド制御因子および / またはシグナル伝達カスケードの分子を含むことができる。本発明の範囲内では但し、本発明の(ポリ)ペプチドの非天然の結合パートナーは、例えば、抗体または誘導体および / またはそのフラグメント、アプタマーのほかに、非天然のレセプター分子をも含むことができる。前記結合標的および薬剤はまた、アンタゴニストのほかに本発明の(ポリ)ペプチドのアゴニストもまた含む。

【0135】

本発明の(ポリ)ペプチドの特定の親和性、活性および / または機能は、好都合な生体外、細胞基調または生体内測定法、例えば動物における生体外結合アッセイ、細胞培養測定法(例えば遺伝子療法、遺伝子組換え)、などによって決定することができる。結合アッセイは、本発明の(ポリ)ペプチドの分子の結合標的との相互作用が評価される任意の測定法を含む。結合標的は、前記本発明の(ポリ)ペプチド自体のオリゴマー形成(二量体化、多量体化)、基質または前記本発明の(ポリ)ペプチドの調節タンパク質または、本発明の(ポリ)ペプチドの活性または(細胞)局在性を直接的に調整する他の制御因子のような、天然細胞内結合標的であり得る。さらなる結合標的および薬剤は、抗体のような特定の免疫のタンパク質のような非天然結合標的、または以下に記載されたようにスクリーニング測定法において同定されたようなS O U P 1(ポリ)ペプチド特定の薬剤を含む。

。

10

20

30

40

50

【0136】

特定のスクリーニング測定法は、特にUS 5, 854, 003またはUS 5, 639, 858において開示されている。本発明の(ポリ)ペプチドの特定の結合薬剤は、ヘptaペリカルレセプターのファミリーのレセプターのようなSOUP1特異性のレセプターを含むことができる。その他の天然SOUP1結合標的は、開示された材料および方法およびその他の当分野で周知の方法を用いて、細胞、細胞膜および細胞抽出物および画分をスクリーニングすることによって、容易に同定される。例えば、本発明の(ポリ)ペプチドの天然細胞内結合の標的は、1-ハイブリッド、2-ハイブリッド、および3-ハイブリッドスクリーンのような測定法を用いて同定され得る。加えて、生化学的精製製法、細胞抽出物からの共沈殿測定法、相互作用捕集装置、発現クローン化(例えば、ラムダgt11を使用する細菌中、またはプラスミド発現ベクターを使用する原核細胞系中)、ファージディスプレイ、その他同種類の方法が、天然のso up 1結合薬剤を同定するために利用し得る。非天然の細胞内結合薬剤は、以下に記載されたように、化学的ライブラリのスクリーンにおいて取得し得る。

10

【0137】

本発明は、SOUP1の調節可能な細胞機能のレベルで、薬理的な薬剤、化合物または主要化合物薬剤活性を同定する効果的な方法を提供する。一般に、これらのスクリーニング方法は、天然のSOUP1結合標的を用いて本発明の(ポリ)ペプチド相互作用調節する化合物の測定法に関与する。標識化生体外タンパク質-タンパク質結合アッセイ、免疫測定法、細胞基調測定法などを含んだ薬剤結合のためのさまざまな測定法が提供されている。これらの方法は自動化、主要化合物のための化学的ライブラリのコスト効果の高い高処理量スクリーニングができるように修正可能であり、直ちに使用できるアプリケーションが国内および国際向けの医薬品およびバイオテクノロジー薬物開発プログラム用に広範に用意されている。同定された試薬は、医薬品工業において動物およびヒト試行用にその用途を見出すであろう。例えば、医薬品開発のために、試薬を誘導体化し、生体外および生体内測定法で再スクリーンを行なうと、活性を最適化し、毒性を最小にすることができる。

20

【0138】

生体外結合アッセイは、例えばタグ検出または固着などのような他のペプチドまたは(ポリ)ペプチドを用いた融合生成物の一部であり得る本発明の(ポリ)ペプチド含む成分の混合体を使用する。これらの方法において使用される本発明の(ポリ)ペプチドまたはそのフラグメントは、普通単離された部分的に純粋または純粋形態において加えられ、典型的に組換え型に産生される。アッセイ混合物はまた、候補薬理的な薬剤を異なる濃度で含む。候補薬剤は、多くの化学クラスを含み、典型的には有機の化合物だが;有利には小有機の化合物である。小有機化合物は、50Da以上だが約2、500Da以下、有利には約1、000Da以下、より有利には、約500Da以下の分子量を有する。候補薬剤は、タンパク質および/またはDNA、および典型的には少なくともアミン、カルボニル、ヒドロキシルまたはカルボキシル基、有利には少なくとも2つの機能的化学的基、より有利には少なくとも3つの機能的化学的基との構造上の相互作用に必要な機能的化学的基を含む。候補薬剤はしばしば、周期性の炭素または複素環式構造および/または芳香族または1つ以上の前記機能的基と置換されたポリ芳香族構造を含む。候補薬剤はまた、ペプチド、糖類、脂肪酸、ステロイド、プリン、プリミジン(pyrimidines)、誘導体、構造上の類似体またはその組み合わせ、その他同種類のものを含んだ生体分子間に見出される。薬剤が存在するところ、または形質移入された核酸によコードされるところでは、前記核酸は典型的にDNAまたはRNAである。

30

40

【0139】

候補薬剤は、合成または天然化合物のライブラリを含んだ、さまざまな源から取得する。例えば、さまざまな有機化合物および生体分子のランダムおよび直接合成のための多くの手段が入手可能である。あるいは、細菌、真菌、植物、および動物抽出物の形態での天然化合物のライブラリは入手可能であり、容易に産生される。そのうえ、従来の化学的、物

50

理的、および生化学的な手段を通して、天然および合成的に産生されたライブラリおよび化合物は、容易に修飾される。加えて、アシル化、アルキル化、エステル化、アミジン化 (amidification) などのような周知の薬理的薬剤は、構造上の類似体を産出するために、有向またはランダムな化学的修飾の対象であり得る。

【0140】

種々の他の試薬も、混合物に含まれ得る。これらには、生化学的エネルギー源として必要な試薬、例えばATPまたはATP類似体、例えば核酸結合アッセイにおける核酸、塩類、緩衝剤、中性のタンパク質、例えばアルブミン、至適なタンパク質-タンパク質および/またはタンパク質-核酸結合を促進するために、および/または非特異性またはバックグラウンド相互作用を減少させるために使用することができる洗浄剤などが含まれる。また、プロテアーゼ阻害剤、核酸分解酵素阻害剤、抗菌の薬剤などのような測定法の効率を改善する試薬を使用することができる。

10

【0141】

結果として生じる混合物は、候補薬理的薬剤の存在のため、S O U P 1 ポリペプチドが特異的に細胞結合標的、部分または参照結合親和性を有する類似物を結合する条件下でインキュベートされる。混合成分は、必要な結合およびインキュベーションを提供するような任意の順序で加えることができ、任意の温度で実施することができ、至適な結合を促進する。インキュベーション期間も同様に至適結合のために選択するが、同時に急速な、高処理量スクリーニングを促進するために最小化も行なう。一般に複数の測定法配合は、種々の濃度に対して異なる反応を得るために異なる薬剤濃度と並行して実施される。典型的に、これらの濃度の1つは、ネガティブコントロール(すなわちゼロ濃度または測定法の検出限界以下の濃度)として役に立つ。

20

【0142】

インキュベーション後、薬剤バイアス結合および/または本発明の(ポリ)ペプチドおよび1つ以上の結合標的間の親和性は、任意の好都合な方法によって検出される。無細胞結合型測定法に関して、分離ステップが、結合成分から未結合成分を分離するためにしばしば用いられる。分離ステップは種々の方法で達成できる。好都合にも、少なくとも1つの成分が固形基質上に固定化される。その固形基質は任意の固形で良く、未結合成分は好都合に分離される。固形基質は、例えばマイクロタイターのプレート、マイクロビーズ、尿試験紙、樹脂粒子などのさまざまな材料からさまざまな形状で作成することができる。基質は、信号雑音比を最大にするように選択され、主にバックグラウンド結合を最小にして、洗浄およびコストを容易/緩和する。

30

【0143】

分離は、例えば、ビーズまたは尿試験紙を貯蔵槽から除去することによって、等マイクロタイタープレートウェルのような貯蔵槽を空にまたは希釈することによって、ビーズ(例えば鉄コア付きのビーズは、磁石を用いて容易に単離および洗浄することができる)、粒子、クロマトグラフィーのカラムまたは洗浄溶液または溶剤を有するフィルタをリンス(洗浄処理)することによって発効できる。典型的に、分離ステップには、拡張リンスまたは洗浄または複数のリンスおよび洗浄が含まれる。例えば、固形基質がマイクロタイターのプレートである場合、典型的に、塩類、緩衝剤、洗剤、非特異性のタンパク質などのような特定の物質との結合するに参与しない、インキュベーション混合体の成分が含まれている、ウェルを洗浄溶液を用いて数回にわたって洗浄する。

40

【0144】

あるいは、無細胞の結合型測定法は、例えばシンチレーション近接測定法(S P A)や同種の時間分解蛍光測定法(H T R F A)のような分離ステップを必要としない、均一形態において実施することができる。さらに使用できる方法は、蛍光極性化(F P)および蛍光共鳴エネルギー伝達(F R E T)含む方法である。

【0145】

検出は任意の好都合な方法で発効し得る。1つ、2つ、および3つのハイブリッドスクリーンのような細胞基調測定法に対しては、S O U P 1 標的結合から生じた転写は普通、直

50

接的または直接的に検出可能な生成物をコードする（例えばガラクトシダーゼ活性、ルシフェラーゼ活性など）。無細胞の結合アッセイに対しては、普通、成分の1つが標識を含むか、または標識に共役される。さまざまな標識が使用されるが、本質的には結合タンパク質の検出を提供する標識に限られる。標識は、放射能、発光、光の分極化、光学的または電子濃度などの直接検出を提供することができ、またはエピトープタグ、酵素などのような間接検出も提供できる。標識は、タンパク質、例えば亜リン酸の放射性同位元素を含んでいるリン酸塩基に付属することができ、またはタンパク質構造、例えば硫黄の放射性同位元素を含んでいるメチオニン残基に取り込まれることもできる。

【0146】

種々の方法を用いて、標識の性質およびその他の測定法成分によるが、特定の標識を検出することができる。例えば、標識を含んだ固形基質または結合複合体の一部に結合した標識は、その固形基質から分離された後に検出することができる。標識は、光学または電子濃度、照射性の放出、非照射性エネルギー伝達、分極光放出などを通して直接的に検出することができ、または抗体抱合体などを用いて直接的に検出することができる。例えば、放射性標識における場合、例えば粒子カウンタを用いると、放出を直接的に検出することができ、または例えばシンチレーション反応混液およびカウンタを用いると間接的に検出することができる。

10

【0147】

薬剤の欠如における標的に対する本発明の（ポリ）ペプチドの結合親和性における差異は、薬剤の存在下で結合親和性と比較すると、薬剤が、SOUP1ポリペプチドのSOUP1結合標的に対する結合を調整するを示す。ここに使用される差異は、統計的に有意であり、有利には少なくとも50%、より有利には少なくとも90%の差異を表す。

20

【0148】

類似して、細胞基調測定法において、薬剤が存在するする場合と欠如している場合のSOUP1依存的活性の差異は、薬剤がSOUP1細胞機能またはSOUP1発現を調整することを示す。そのような細胞基調アプローチには、一過性または安定発現アッセイが関与する。この方法において、細胞は、つまり一部の発明の（ポリ）ペプチドおよびso up 1反応性のプロモーターの転写コントロール下にあるレポーターを含むポリペプチドをコードする1つ以上の構成物によって形質移入される。細胞はまた、SOUP1活性化剤、例えばレセプター刺激可能なSOUP1活性などをコードする構成物によって有利に形質移入されることができる。あるいは、脂肪プロモーター自体が、望ましいレポーター遺伝子、例えばルシフェラーゼに連鎖することができ、および細胞-30基調測定法で用いられると、上方制御または下方制御を経由して脂肪発現の調節可能な化合物用にスクリーニングすることができる。

30

【0149】

ここに記載された方法は、特にロボット液体予製のワークステーションを使用する自動化高処理量薬物スクリーニングに適している。類似のロボット自動化は、高処理量細胞メッキおよび種々の測定法読み取りの検出のために利用できる。

【0150】

結合パートナーを用いて、本発明の核酸分子の発現または本発明の（ポリ）ペプチドの関連を調節するために示された候補薬剤は、動物およびヒト試行用に役立つ試薬を医薬品工業に提供する。標的治療学的指標は、標的so up 1細胞機能（例えば、結合パートナーを用いる遺伝子発現または関連）が調節の対象となる場合のみに限定されている。特に、候補薬剤から取得した薬物スクリーニング測定法および被験者組成物、例えばso up 1に由来する核酸または治療学的なポリペプチドは、肥満症の治療、癌のような喪失に関連した障害、感染性の疾病およびHIV感染、または過食症を含んだ体重調節およびエネルギー恒常性に関連した疾病における治療学的な治療の用例を提供する。下記に記載されているように、治療学的な用途に対しては、組成物および薬剤は、任意の好都合な方法、有利には非経口的に、好都合なことには生理的に受容可能な担体、例えばリン酸塩緩衝生理食塩水で、生理食塩水、脱イオンされた水、またはその他同種類のものによって投与す

40

50

ることができる安定剤、殺菌剤などのような、その他の添加物も含むことができる。典型的には組成物は、血液のような保持された生理的液体または滑液の液体に加えらる。一般に、投与量は経験的に決定され、例えば治療学的な目的、投与経路、患者および条件によって決まる。典型的に、臨床家は、投与量が必要とされる生物学的効果を提供する量に達するまで本発明の分子を投与する。この療法の進歩状況は、従来の測定法によって容易にモニターされる。

【0151】

化合物を精製する方法または本発明の方法によって同定された薬剤は下記から成る。

【0152】

(a) 前記化合物によって疑ペプチド (peptidomimetic) のモデリング；
および

(b) モデル化合物の化学的合成

疑ペプチド (peptidomimetic) は当分野で公知であり、特に Beeley, Trends Biotech 12 (1994), 213-216, Wiley, Med. Res. Rev. 13 (1993), 327-384, Hruby, Biopolymers 43 (1997), 219-266、において開示され、または参照に引用または上記参照に引用されている。

【0153】

生成の方法および疑ペプチド (peptidomimetic) 組み合わせライブラリの使用法は、従来の技術において記載されている、例えば Ostresh, Methods in Enzymology 267 (1996), 220-234 and Dornier, Bioorg. Med. Chem. 4 (1996), 709-715 において。化学的誘導体および類似体の化学的合成および/または調製 (調合) のための方法は、当業者に公知であり、例えば Beilstein (前掲) および "Organic Synthesis", Wiley, New York, U.S.A (前出) に記載されている。

【0154】

上記の疑ペプチド (peptidomimetic) 方法および/または化学的合成、修飾または精製に関する方法はまた、本発明の化合物上、例えば (ポリ) ペプチド上または本発明の融合タンパク質上に直接的に使用することができることが本発明において構想されている。

【0155】

本発明は、本発明の化合物を含み処方する成分を産出する方法、ここに記載した方法によって同定された化合物または薬剤、または、医薬用に受容可能な担体および/または希釈剤を用いて上記の方法によって精製された化合物に関連するものである。

【0156】

望ましい医薬品担体の実施例、賦形剤および/または希釈剤は当分野で周知であり、リン酸塩緩衝生理食塩水溶液、水、乳濁液、油/水のような乳濁液、種々のタイプの湿潤剤、消毒した溶液などが含まれる。そのような担体を含む組成物は、従来の公知の方法によって調剤することができる。これらの医薬品組成物は、被験者に望ましい投与量で投与されることができる。望ましい組成物の投与は、幾つかの異なる方法、例えば、静脈内投与、腹腔内投与、皮下投与、筋肉内投与、局所的投与、皮内投与、鼻腔内投与または気管支内投与によって発効することができる。投与量の投与計画は、主治医および臨床の要因によって決定されることができる。医術分野において公知のように、任意の患者に対する投与量は、患者のサイズ、体表面積、年齢、投与される特定の化合物、性別、投与の時間および経路、一般的な健康、およびその他の同時に投与される薬物を含んだ多くの要因に依存する。タンパク性の医薬用活性物質は、1投与当たり 1 ng ~ 10 mg の量処方してよい。但し、特に前記の要因を考慮すると、この模範的範囲の以下または以上も想定される。投与計画が継続的な注入の場合、投与範囲は体重 1 キロ当たり毎分 1 μg ~ 10 mg 単位とする。進歩状況は定期的なアセスメントによってモニターされ得る。本発明の組成物は、局所的または全身的に投与することができる。本発明の組成物はまた、直接的に標

10

20

30

40

50

的部位、例えば遺伝子銃送達によって、内部または外部の標的部位に投与、またはカテーテルによって動脈内の部位に送達することもできる。非経口的な投与の製剤（調合）には、消毒水溶性または非水溶性溶液、検査液、および乳濁液が含まれる。非水溶性溶剤の例には、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような野菜油、および注射用のオレイン酸エチルのような有機のエステルがあげられる。水溶性担体には、乳濁液または検査液、生理食塩水および緩衝培地を含んだ水、アルコール性／水溶性の溶液、が含まれる。非経口的な媒介物には、塩化ナトリウム溶液、ブドウ糖リンゲル液、ブドウ糖および塩化ナトリウム、乳酸リンゲル液、または不揮発性油が含まれる。静脈内の媒介物には、液体および栄養素補充薬、電解質補充薬（ブドウ糖リンゲル液上の基調のような）、その他同種類のものが含まれる防腐剤およびその他の添加物、例えば、抗菌剤、抗酸化剤、キレート化剤、および不活性ガス、その他同種類のものも存在する。さらには、本発明の医薬品組成物は、医薬品組成物の使用目的によって、さらなる薬剤を含むことができる。

10

【 0 1 5 7 】

そのうえ、本発明は、本発明の化合物または化合物または本発明の方法によって同定された薬剤を含む成分を産出する方法を提供し、その方法は下記のステップから成る。

【 0 1 5 8 】

(a) 本発明の化合物または本発明の方法によって同定された化合物または薬剤を出発化合物として変性し、

20

(i) カルボキシル基のエステル化、または

(i i) ヒドロキシル基のカルボン酸によるエステル化、または

(i i i) ヒドロキシル基をエステル化して、例えばホスフェート、ピロホスフェートまたはスルフェートまたはヘミサクシネートとする、または

(i v) 製薬学的に使用可能な塩の形成、または

(v) 製薬学的に使用可能な錯体の形成、または

(v i) 製薬学的に活性なポリマーの合成、または

(v i i) 親水性部の導入、または

(v i i i) 芳香族または側鎖上の置換基の導入／変換、置換パターンの変更、または

(i x) 等配電子または生物等比体積部の導入による変性、または

30

(x) 類似化合物の合成、または

(x i) 分枝側鎖の導入、または

(x i i) アルキル置換基の環状類似体への変換、または

(x i i i) ヒドロキシル基のケタール、アセタールへの誘導、または

(x i v) アミド、フェニルカルボメートへの N - アセチル化

(x v) マンニヒ塩基、イミンの合成、または

(x v i) ケトンまたはアルデヒドのシッフの塩基、オキシム、アセタール、ケタール、エノレスター、オキサゾリジン、チアゾリジンへの変性、

またはそれらの組合せによる、

(i) 作用部位、活性スペクトル、器官特異性の変性、および／または

40

(i i) 力価の改善、および／または

(i i i) 毒性の低下（治療係数の増加）、および／または

(i v) 副作用の減少、および／または

(v) 治療作用の開始、有効期間の変性

(v i) 薬物動態パラメーター（再吸収、分布、代謝および分泌）の変性、および／または

(v i i) 物理化学パラメーター（溶解度、吸湿性、色、味、臭い、安定性、状態）の変性、および／または

(v i i i) 一般的特性、器官／組織特異性の改善、および／または

(i x) 適用形および適用経路の最適化

を実施するステップ；および

50

(b) 前記のように変性した生成物を製薬学的に使用可能なキャリアーと配合するステップ。

【0159】

上記のように、医薬品受容可能担体は当分野で周知である。また、本発明の化合物、すなわち本発明の融合タンパク質の(ポリ)ペプチドまたは、本発明の核酸分子が、成分を産出する上記の方法において使用されることが構想される。有利には、前記成分は、ここに記載したように医薬品組成物である。

【0160】

以上の点から、より望ましい実施例において、本発明は、本発明の化合物または本発明の方法によって同定された化合物または薬剤を含んでいる成分を産出する方法に関連するものである。ここで、前記成分は、特に、以下に記載されたように、肥満症、脂肪過多症、摂食障害、過食症、衰弱および/または体重/体質量の増加または減少を引き起こす障害を防止または治療する医薬品組成物である。

10

【0161】

本発明は、本発明の化合物または本発明の方法によって同定された化合物または薬剤を含んでいる成分を産出する方法に関連するものである。ここで、前記成分は、特に、以下に記載されたように、肥満症、脂肪過多症、摂食障害(例:神経性過食症、神経性食欲不振症)、消耗性症候群(例:カヘキシー)、ミトコンドリアの障害、膵臓の機能障害(例:糖尿病)、インシュリン抵抗性の予防、ROS産出に関連する障害(例:感染、癌、老化に対する反応)を防止、軽減または治療する医薬品組成物であることは特に望ましい。

20

【0162】

なお他の実施例において、本発明は、下記の成分からなる化合物を提供する。

【0163】

(a) 本発明の方法によって同定または精製された本発明の(ポリ)ペプチドの阻害(抑制)薬;

(b) ここに記載した方法または本発明の核酸分子によって同定された遺伝子の発現の阻害(抑制)薬;および/または

(c) 本発明の方法によって同定された化合物。

【0164】

本発明の(ポリ)ペプチド前記阻害(抑制)薬は、野生型の本発明の(ポリ)ペプチド、S O U P 1タンパク質の阻害(抑制)薬として機能する化合物であり得る。体重減少の誘発を引き起こすことができる前記阻害(抑制)薬は、調節細胞(膵臓のベータ-細胞)に影響し、それによってベータ-細胞機能を改善し、またはインシュリン抵抗性を防止し、ROS(活性酸素種)産出を変更し、減少したROS濃度(老化において減少された分子損傷、発癌および増加された虚血耐性を誘発)を引き起こすことができる。但し逆の効果も、組織特定の反応および代謝状況のために発生し得る。前記阻害(抑制)薬はまた、本発明の(ポリ)ペプチド変異形態と特異的に相互作用する阻害(抑制)薬でもあるため、体重の減少を引き起こしたり、または現在の体重を維持を維持することができる。

30

【0165】

本発明の方法によって同定された用語(ポリ)ペプチドの「阻害(抑制)薬」はまた、本発明の方法によって同定されるにつれて相互作用する(ポリ)ペプチドの活性および/または機能に影響する阻害(抑制)薬に関連するものであることが理解されている。前記相互作用は直接または間接のいずれでもあり得る。前記「阻害(抑制)薬」はまた、ここに定義されたようにその結合標的および薬剤を用いて、本発明の(ポリ)ペプチドの相互作用を妨害および/またはを修飾することができる。上記は、用語「本発明の核酸分子の発現の阻害(抑制)薬または本発明の方法によって同定された遺伝子の阻害(抑制)薬」に準用する。前記阻害(抑制)薬は、転写および/または翻訳プロセスを妨害する場合がある。

40

【0166】

同様に、本発明は下記の成分からなる組成物に関連する。

50

【0167】

- (a) 上記の方法によって同定または精製された本発明の(ポリ)ペプチドまたは(ポリ)ペプチドの刺激剤；
(b) 本発明の核酸分子の発現の刺激剤または本発明の方法によって同定された遺伝子の刺激剤；
(c) 本発明の方法によって同定された化合物；および/または
(d) 本発明のベクター。

【0168】

本発明の用語「(ポリ)ペプチドの刺激作用」は、本発明の(ポリ)ペプチドの刺激剤(活性化剤)として機能する化合物に関連するものである。前記刺激剤/活性化剤は、重量増加の誘発を引き起こすことができ、および喪失治療に有用である。前記刺激剤/活性化剤はまた、免疫の反応における有効性の増加を引き起こすROS産出を変化することができる。なお、組織特定の反応および代謝状況のために、逆の効果もまた構想される。ここに記載された「刺激剤」は、特に本発明の(ポリ)ペプチドのその結合標的との相互作用の増加を引き起こすことができる。この用語はまた、本発明の(ポリ)ペプチドの変異形態の刺激剤/活性化剤に関連するものである。変異形態の前記刺激剤は、体重の増加または現体重の維持をもたらすことができる。

10

【0169】

「阻害剤」のほかに「本発明の(ポリ)ペプチドの刺激剤」もまた、当分野で周知であり、本明細書で開示された方法によって、演繹および/または評価することができる。

20

【0170】

用語「本発明の方法によって同定または精製された(ポリ)ペプチドの刺激剤」はまた、本発明の方法によって同定されたように(相互作用する)(ポリ)ペプチドの活性/機能に影響する刺激剤にも関連するものである。それらは、前記(ポリ)ペプチドとにおける直接様式または間接様式のいずれかで相互に影響することができる。既述のように、用語「阻害(抑制)薬」は、上記に定義したように、用語「本発明の核酸分子の発現の刺激剤または本発明の方法によって同定された遺伝子」に対して準用する。

【0171】

上記の「阻害剤」および「刺激剤」は、(ポリ)ペプチドに関連するばかりでなく、(ポリ)ペプチドおよび/または本発明の核酸分子または本発明の方法によって同定された(ポリ)ペプチドおよび/または遺伝子に結合し、妨害し、および/または相互に影響する小分子も含むことができる。そのような小分子の実施例には、小ペプチド、有機のおよび/または有機の物質またはペプチド同様の分子、例えばDアミノ酸偽ペプチドをが含まれるがそれに限定されるものではない。抗体、誘導体および/またはそのフラグメント、アダプターまたは特定の(オリゴ)ヌクレオチドを含む前記「阻害剤」および「刺激剤」をさらに含むことができる。「阻害剤」および「刺激剤」は、本明細書で開示されているように、医薬品および/または診断組成物の一部である。

30

【0172】

上記に指摘したように、前記「阻害剤」または「刺激剤」はまた、上記の定義のとおり小有機の化合物も含むこともできる。

40

【0173】

加えて、本発明は、本発明の核酸分子、本発明の(ポリ)ペプチド、本発明の融合タンパク質、抗体またはフラグメントまたはその誘導体または本発明のアダプターまたは本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む成分に関連するものである。さらには、前記成分は、本発明の方法によって同定されたように、(ポリ)ペプチド、核酸分子、遺伝子および/または化合物または薬剤を含むことができる。

【0174】

本発明の望ましい実施例において、前記成分は、医薬品、例えば治療学的成分である。随意的に、医薬用に受容可能な担体をを含む医薬品組成物は上記に記載されている。本発明の医薬品組成物は、治療および/または食欲調節および/またはエネルギー代謝の複雑な

50

障害の予防に特に有用である。

【0175】

前記医薬品組成物が、肥満症、脂肪過多、摂食障害、過食症、体重/体質量の障害の治療および/または防止において使用されることは特に望ましい。但し、前記医薬品組成物が障害様、特に、衰弱(カヘキシー)、癌または感染性の疾患が原因の体重減少または免疫不全の患者、例えばHIV患者における体重減少において使用されることも構想される。

【0176】

さらには、本発明の医薬品組成物は、体重/質量障害の治療において使用されたその他の薬剤と共に使用できることが構想される。前記薬剤には、食物摂取を減少/促進する薬剤、栄養素吸収を遮断/活性化する薬剤、熱産生を増加/減少する薬剤、脂肪および/またはタンパク質代謝または保管を調節する薬剤、体重を調節する中枢制御機構を調節する薬剤が含まれるがそれに限定されるものではない。

【0177】

前記薬剤は、特に、シブトラミン、オーリスタット、エフェドリンまたはカフェイン、ジエチルプロピオン、フェンテルミン、フルオキセチン、セルトラリン、またはフェニルプロパノールアミンのような薬剤を含む。

【0178】

さらに、本発明は、本発明の核酸分子、本発明の(ポリ)ペプチド、本発明の融合タンパク質、抗体または誘導體またはそのフラグメントまたは本発明のアプタマー、ここに定義された少なくともプライマーまたはプライマーのセットまたは本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む成分に関連するものである。特に望ましいプライマーは、補足実施例において使用されるプライマーおよび/またはSEQ ID NO: 55~60に描写されているプライマーである。

【0179】

例えば、本発明の核酸分子から演繹されたプライマーは、診断または科学的な目的に使用されることが構想される。前記プライマーを用いて、特に個体における突然変異体S O U P 1の遺伝子を見出すことおよび/または検証することができる。有利には、前記個体はヒトである。さらには、本明細書で開示する核酸配列から演繹されたプライマーは、具体的にはSEQ ID NO: 9、11、13および51に示すような配列からのプライマーは、さらなる種において相同性配列を検出および/または単離するために使用することができる。

【0180】

特定の望ましい実施例において、前記成分は診断用組成物である。前記診断用組成物は、上記の成分を含むことができ、前記成分は、上記の定義のとおり固形担体結合に付着および/または連鎖する。前記診断用組成物が(マイクロ)チップ上に本発明の化合物を含むことがさらに構想される。以上の点から、前記診断用組成物は、特に本発明の核酸分子を、いわゆる「遺伝子チップ」上または本発明の(ポリ)ペプチドを、いわゆる「タンパク質チップ」上に含む。診断遺伝子チップは、例えば、動物の(具体的にはヒトの診断組成物および具体的には上記の診断遺伝子チップ)S O U P 1遺伝子における突然変異体の特異的に検出する、本発明の核酸分子の収集を含み、肥満症、脂肪過多症(adipositas)、体重/体質量の障害、または摂食障害の根底にあるような患者の(遺伝的な)欠陥をスクリーニングに特に有用であり得る。

【0181】

診断用組成物において使用される本発明の前記化合物は、検出可能な程度に標識化されることが望ましい。生体分子を標識化用の入手可能な種々の技術は、当業者に公知であり、本発明の範囲内に含まれているものとする。そのような技術は、例えば、Tijssen, "Practice and theory of enzyme immunoassays", Burden, R Hand von Knippenburg (Eds), Volume 15 (1985), "Basic methods in molecular biology"; Davis LG, Dibmer MD; Battey Elsevi

10

20

30

40

50

er (1990), Mayerら、(Eds) "Immunochemical methods in cell and molecular biology" Academic Press, London (1987), または "Methods in Enzymology", Academic Press, Inc. のシリーズに記載されている。

【0182】

多くの異なる標識および標識化の方法が当分野では周知である。本発明において使用することができる標識タイプの例には、酵素、放射性同位元素、コロイド性金属、蛍光性化合物、化学発光化合物、および生物発光の化合物が含まれる。

【0183】

さらには、本発明は下記の使用方法に関連する。

【0184】

(a) 本発明の方法によって同定または精製された(ポリ)ペプチドの阻害(抑制)薬；
(b) 本発明の方法によって同定された遺伝子の発現の阻害(抑制)薬；および/または
(c) 本発明の方法によって同定された化合物；
肥満症、脂肪過多、摂食障害、消耗性症候群(例えばカヘキシー)、ミトコンドリアの障害、膵臓の機能障害、ROS産出に関連する障害のための医薬品組成物治療の調製(調合)用。

【0185】

同様に、本発明は下記の使用方法も提供する。

【0186】

(a) 本発明の方法によって同定または精製された(ポリ)ペプチドの刺激剤；
(b) 本発明の方法によって同定された遺伝子の発現の刺激剤；および/または
(c) 本発明の方法によって同定された化合物；
肥満症、脂肪過多、摂食障害、消耗性症候群(カヘキシー)、ミトコンドリアの障害、膵臓の機能障害、ROS産出に関連する障害のための医薬品組成物治療の調製(調合)用。

【0187】

さらには、本発明は、肥満症、脂肪過多、摂食障害、消耗性症候群(カヘキシー、また癌、HIV-感染においても)、ここに記載したミトコンドリアの障害、膵臓の機能障害(例：糖尿病)、障害に関連するROS産出(例：癌、老化、感染)に対する治療、軽減および/または予防の対する医薬品組成物の調製(調合)用に本発明の方法によって同定された薬剤の使用法に関連するものである。

【0188】

加えて、本発明は、SEQ ID NO: 3または4またはそのフラグメントによってコードされた遺伝子産物を過剰表現または低発現する、非ヒト動物の調製(調合)に対するSEQ ID NO: 3または4(dUCP)またはそのフラグメントに描写した核酸分子の使用法に関連するものである。前記非ヒト動物は有利にはショウジョウバエである。上記の使用法は補足実施例に図解する。

【0189】

特定の望ましい実施例において、本発明は、細胞小器官における膜安定性および/または機能に寄与可能な、ミトコンドリアのタンパク質を修飾可能な、および/または細胞代謝に影響可能な上記に定義したポリペプチドの検出用のショウジョウバエの使用法に関連するものである。

【0190】

さらには、本発明は、核酸分子、ベクター、宿主、ポリペプチド、融合タンパク質、抗体またはフラグメントまたはその誘導體または抗血清、アプタマーまたは他のレセプターおよび本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドのうち、少なくとも1つを含むキットを提供する。

【0191】

有利に、本発明のキットは、随意的に反応緩衝剤、貯蔵溶液および/または残存試薬また

10

20

30

40

50

は科学的または診断測定法を行なう上に必要とされる材料または他同種類をさらに含む。さらには、本発明のキットの部品は、バイアルまたはビンまたはその組み合わせ容器または多容器単位で個別にパッケージすることができる。

【0192】

本発明のキットは、特に本発明の(ポリ)ペプチド産出の方法を実行するため有利に使用することができる、ここに参照する種々の適用例、例えば、診断キット、研究用具または予防接種用具に使用することができる。そのうえ、本発明のキットは、科学的な医療および/または診断目的に望ましい検出の手段を包含することができる。キットの製造は、有利には当業者に周知の標準製法に従う。

【0193】

この実施例は本発明を図解するものである。

【0194】

実施例1：ヒト脱共役タンパク質(UCP_s)に対して相同性を有するキイロショウジョウバエ遺伝子のクローン化

[ブラスト] 相同性検索を公共データベース(NCBI/NIH)において実施し、ヒトUCP₂およびUCP₃遺伝子に対して配列相同性を有するショウジョウバエ遺伝子を探した。検索は、UCP相同性を有するショウジョウバエ遺伝子ファミリーの配列フラグメントを産出した。それらは明らかに、隣接する関連ミトコンドリアのタンパク質(オキシグルタミン酸担体)と異なる。

【0195】

この遺伝子の1つの配列フラグメントを使用して(dUCP_yと称する)、PCR法プライマーペアを生成した(上位5'-CTAAACAACAATTCCAAACATAG(SEQ ID NO:1)、下位5'-AAAAGACATAGAAAATACGATAGT(SEQ ID NO:2))。そして標準PCR法条件を使用して、PCR法反応をショウジョウバエcDNA上に実施した。増幅生成物を放射的に標識化し、成体のショウジョウバエハエ(ストラタジーン社)から作成したcDNAライブラリをスクリーニングするために使用した。完全長cDNAクローン化を単離し、配列し(図1)、さらに先の実験に使用した。

【0196】

実施例2：dUCP_ycDNAのショウジョウバエ発現ベクターへのクローン化
ショウジョウバエ細胞におけるdUCP_yの発現効果をテストするために、制限部位NotIおよびKpnIを使用して、dUCP_ycDNAを発現ベクターpUASTにクローン化した。(参照：Brand & Perrimon, Development 1993, 118:401-415)得られた発現構成物を、ショウジョウバエ胚の生殖細胞系列およびショウジョウバエの菌株に注入して、安定した構成物の統合が生成された。発現ベクターpUASTは、ショウジョウバエのcellsには正常に非存在の酵母菌転写因子Gal4によって活性化されるので、これらの遺伝子組換え動物にはdUCP_yがまだ発現されていない。pUAST-dUCP_yハエが、Gal4を組織特定の様式で発現する第2のショウジョウバエ菌株と交雑する場合、この交配によるの子孫ハエは、組織を発現するGal4においてdUCP_yを発現する。

【0197】

その本体の全細胞においてGal4を発現する菌株とのpUAST-dUCP_yハエの交雑種は(アクチンプロモーターの制御下で)生存可能な子孫を示さなかった。これは、全体細胞におけるdUCP_yの過剰発現は致死的であることを意味する。この発見は、dUCP_yの過剰発現は細胞エネルギーの産出の崩壊を引き起こすという仮定と一致している。

【0198】

眼のような(「無眼」遺伝子の眼特異性のプロモーターの制御下にあるGal4)、非重要器官におけるdUCP_yの発現は、可視に損傷された眼を持つハエという結果を招く(図2)。この容易に可視の眼表現型が、UCP活性を修飾できる遺伝子産物に対する遺伝

10

20

30

40

50

的なスクリーニングの根拠である。

【0199】

実施例3：dUCPy修飾因子のスクリーニング

眼におけるGal4発現を有する菌株のゲノム部分およびpUAST-dUCPy構成物を保有する菌株を、ゲノム組換えを用いて1つの染色体上に混合した。得られた八工菌株は、dUCPy発現によって永久に損傷された眼を有する。この菌株の八工を変異誘発された八工菌株の大きな収集の八工と交雑種せしめた。この変異体収集において、特別発現システム(EP-element, 参照: Rorth P, Proc Natl Acad Sci USA 1996, 93(22): 12418-22)を異なるゲノム遺伝子座においてランダムに統合した。酵母菌転写因子Gal4はEPエレメントに結合することができず、EPエレメントの統合部位を閉じる内在性遺伝子の転写を活性化する。遺伝子の活性化は以上の点から、dUCPyを過剰発現する同一細胞(眼)において発生する。変異体収集には、EPエレメントの異なる統合部位を有する数千の菌株を含まれるので、その発現がdUCPy活性と相互作用する、多数の遺伝子をテストすることが可能である。遺伝子がUCP活性エンハンサーとして振る舞う場合には、眼欠陥は悪化する；抑制因子は欠陥を回復させる。

10

【0200】

このスクリーニングを使用して、抑制活性を有する新規遺伝子を発見した。この遺伝子をここに[脱共役タンパク質(SOUP1)の抑制因子]と称する。ショウジョウバエ眼におけるdUCPyと共のSOUP1の発現は、dUCPy誘発欠陥の救出を引き起こす(図2)。

20

【0201】

実施例4：ショウジョウバエ(dSOUP1)からのSOUP1のクローン化

EPエレメントを救出する眼欠陥に近接するゲノムDNAを、クローン化および配列せしめた。この配列を、公共ショウジョウバエ遺伝子データベースにおいて[ブラスト]検索に用いた。同一の配列を有するcDNAクローンGH22139(ショウジョウバエのゲノムプロジェクト)からの短い配列フラグメント(EST)を、データベース検索において発見した。この公的に利用できるcDNAクローンを要求し、完全に配列化せしめた(図3a)。

【0202】

実施例5：ショウジョウバエ眼におけるGH22139の過剰発現

GH22139が遺伝的に同定されたdUCPy抑制因子SOUP1に対してコードすることを確実にするために、GH22139cDNAを発現ベクターpUASTにクローン化した(制限部位BglIIおよびXhoIを使用)。生殖系注入により、遺伝子組換え動物を生成せしめた。pUAST-GH22139遺伝子組換え八工を眼にdUCPyを発現する八工と交雑せしめた。この交雑種の子孫(dUCPyおよびGH22139を発現する八工)において、眼欠陥を救出せしめた。これはGH22139cDNAがSOUP1をコードすることを証明した。

30

【0203】

実施例6：dSOUP1の配列分析

生物情報学用具を用いたSOUP1cDNAの演繹アミノ酸配列の分析(参照: J. Glasgowら, Proc. Sixth Int. Conf. on Intelligent Systems for Molecular Biology, 175-182, AAAIPress, 1998)は、SOUP1タンパク質が、6膜貫通ドメインを有するミトコンドリアの担体タンパク質の特有の型を持つ(図4a)ことを示した。

40

【0204】

実施例7：dSOUP1のありうるスプライス変異体および公共データベースにおける予想遺伝子との比較

配列アライメント、膜貫通ドメイン予測およびスプライス予測は、ショウジョウバエSOUP1遺伝子が異なるスプライス変異体に存在する(図3b、c、および図5a)ことを

50

示唆している。cDNAクローンGH22139は、異なる第6TMドメインを有する2つのスプライス変異体(dSOUP1およびdSOUP1-sp1)を形成することができる。公共データベースにおける完全に配列されたショウジョウバエゲノムの探索は、7つのTMドメインを有するスプライス変異型を示唆する遺伝子予測(dSOUP1-CG8026、参照Adams、M.D.ら、2000Science287:2185)を明らかにした。変異型間の相同性は：

アミノ酸相同性%	(同一性/類似性)
dSOUP1-dSOUP1-CG8026	(82/82)
dSOUP1sp1-dSOUP1-CG8026	(89/89)
dSOUP1-dSOUP1sp1	(93/94)

10

異なるスプライス変異型の予想TMドメインのアミノ酸は図5b~fに描写されている。

【0205】

実施例8：ヒト(hSOUP1)、マウス(mSOUP1)、およびゼブラフィッシュ(zSOUP1)からのSOUP1ホモログのクローン化

公共データベースにおいて、ショウジョウバエSOUP1の完全なcDNA配列を使用して、[ブラスト]検索を実施した。異なる種(ゼブラフィッシュ、ヒヨコ、マウス、マカク、ヒト)からのいくつかの短い、未完成の配列フラグメントが発見された。データベースの配列のいずれもが完全なヒト配列でなかったため、フラグメントを使用してPCRプライマーを合成した。PCR法によって増幅された生成物を放射的に標識化し、ヒト脂肪細胞cDNAライブラリおよびヒト海馬cDNAライブラリをスクリーニングするためのプローブとして使用した。両方のライブラリから、cDNAクローンを単離することができた。ヒトSOUP1の配列を図6に示す。これには、特有の6膜貫通ドメイン型も示されている(図4c)。次のPCR法プライマーを用いて、ヒトSOUP1遺伝子のORFを増幅することができる：上位5'-ATGGACTACGGGGACTTTTATCAA(SEQ ID NO:55)、下位5'-ACCGACGCGCTTCTTTCCAACT(SEQ ID NO:56)。

20

【0206】

マウスSOUP1の遺伝子の同定は、等価なアプローチで行なった。mSOUP1の配列を図7に示す。これには、特有の6膜貫通ドメイン型も示されている(図4d)。次のPCR法プライマーを用いて、マウスSOUP1遺伝子のORFを増幅することができる：上位5'-GGCGGCCACTACATCACG(SEQ ID NO:57)、下位5'-TGCCCTCAAGAACATAGACTG(SEQ ID NO:58)。

30

【0207】

マウスSOUP1cDNAクローンの単離中、代替配列を持つクローン6iを単離した。オープン・リーディングフレームの配列を図8に示す。演繹アミノ酸配列は、その他のマウスSOUP1クローンと3つの位置で異なる。

【0208】

ゼブラフィッシュSou p 1遺伝子の同定を等価なアプローチで行なった。zSOUP1の配列を図9に示す。これには、特有の6膜貫通ドメイン型も示されている(図4e)。次のPCR法プライマーを用いて、ゼブラフィッシュSOUP1遺伝子のORFを増幅することができる：上位5'-ATGACCGCTACCATTTCCAGGCAGAGGCAC(SEQ ID NO:59)、下位5'-TTAGTGATACTCGCCCAAAGCAAAGCGTGA(SEQ ID NO:60)。

40

【0209】

実施例9：フラグ-タグ付きmSOUP導入遺伝子の生成

カルボキシ末端にフラグ-タグ付きmSOUP導入遺伝子(ここではmSOUPフラグと称する)を、mSOUP遺伝子特異性プライマー(mSOUPフォワードプライマー：5'GGCGGCCACTACATCACG3'(SEQ ID NO:63)、フラグ-タグ付きmSOUP逆プライマー：5'CTACTTGTCATCATCGTCTCTTAGTTCGCTCACTTTCTTTTCTCT3'(SEQ ID NO:64)

50

)を使用して、RT-PCRをマウス膵臓RNAから得たcDNA上で実施することによって生成した。

【0210】

実施例10：ベータアクチン-mSOUPフラグ遺伝子組換えマウスの生成

mSOUPフラグ(実施例9を参照)を、当業者であれば周知の技術(例えば、Gunnigら(1987)、Proc.Nat/Acad.Sci.USA84、4831-4835を参照)を使用して、遍在性のヒトベータアクチンプロモーターの制御下のマウスにおいて発現させた。遺伝子組換え構成物DNAを、標準技術(例えば、Brinsterら(1985)、Proc.Natl.Acad.SciUSA82、4438-4442を参照)を使用して、C57/BL6マウス胚(HarlWinkelmann、Borchon、Germany)に注入した。この技術を使用して、8つの非依存性マウス創始ライン(founderline)を生成した。

10

【0211】

実施例11：TaqMan分析を経由したmSOUP発現分析

mSOUPフラグ導入遺伝子の発現をTaqMan分析によってモニターした。この分析に対して、異なるマウス組織(例えば、大腸、心臓、肝臓、肺、胃、腸、白色脂肪組織(WAT)、胸腺、脾臓、筋肉、腎臓)に由来する、1-100ng、有利には50ngcDNA、およびmSOUP特定プライマー/プローブペア(mSOUPフォワードプライマー(SEQ ID NO:65))を使用した:5'-CTCTGTCTCGCAGCGCTATCC-3'、mSOUP逆プライマー(SEQ ID NO:66):5'-GAGAAGCGGGCTCTCACAAAC-3'、mSOUPプローブ(SEQ ID NO:67):5'-AATATTTGCCGタグCAGCAACATACCCGT-3')。

20

【0212】

TaqMan分析を、当業者であれば周知の標準技術を使用して実施した。

【0213】

分析した8つの非依存性マウス創始ライン(founderline)において、野生型マウスを基準として使用する異所性のmSOUP発現は、褐色脂肪組織(BAT)からの全組織部から検出された。最も高い導入遺伝子発現レベルを示す2つの創始ライン(founderline)を、さらなる分析に用いた。

【0214】

実施例12：ノーザンプロット分析を経由したmUCP2発現分析

遍在性の効果を研究するため、遺伝子組換えマウスモデル生体内における異所性のmSOUPフラグ発現、アクチン-mSOUPフラグ遺伝子組換えマウスにおける(およびにコントロール同腹仔における)mUCP2発現を、完全なUCP2オープン・リーディングフレームをプローブとして含む20gの全RNAおよび1.0kbのmUCP2cDNAを使用して、ノーザンプロット分析によってモニターした。平等な取り込みを確実にするために、1.4kbのヒト-アクチンcDNAをプローブとしてノーザンプロットをプレハイブリダイズした(rehybridized)。ノーザンプロット分析を標準技術を用いて実行した(例えばSambrookらの(1989)(1989)Molecular Cloning, a laboratory manual. Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press)を参照。

30

40

【0215】

マウスUCP2の発現がテストした全ての組織において検出された(図10を参照)。遺伝子組換えマウスにおけるmUCP2発現レベルのコントロール同腹仔に対する比較は、分析したいいくつかの異なる組織において、増加したmUCP2発現を明らかにした。

【0216】

インスタントイメージャーおよびに対応分析ソフトウェアを使用した定量化分析は、野生型コントロール同腹仔(図10Bを参照)に対して、1.5-4.1倍の増加されたmUCP2発現を、アクチン-mSOUPフラグ遺伝子組換えマウスの肺、小腸、胸腺、WA

50

T、脾臓および腎臓に示した。

【0217】

実施例13：NIH3T3細胞における、マウスSoup局在性蛍光顕微鏡分析
NIH3T3細胞は、マウスSoupに対して抗血清を用いて固定および免疫染色された、マウスSoupの発現ベクターを用いて一過性に形質移入された。免疫蛍光を、630x拡大率およびCy3標識化済み二次抗体に対して適切なフィルタを用いて検討した。NIH3T3細胞(図11を参照)のミトコンドリアにおいてSoupが明瞭で局在的であることが示された。

【0218】

NIH3T3細胞に、ポリドリジン被覆のカバーガラス(BDBiosciences、Erembodegem、Belgium)の付きの24個のウェルプレートに、ウェル当たり25,000細胞を播種した。播種の翌日、細胞は、製造者の指示に従って、CMVプロモーターリポフェクトアミン(Lipofectamin)プラス(Invitrogen、Karlsruheドイツ国)の制御下でSoup発現構成物によって一過性に形質移入させた。形質移入の48時間後、細胞を4%パラホルムアルデヒドに固定し、Dornerら(1998)JBiolChem.273:20267-75に従って免疫染色せしめた。つまり、細胞を、PBSにおいて0.75%トリトンX-100を用いて10分間透過処理した。10分間PBSにおいて0.1NaBH4を用いて、細胞の治療によって遮断された内在性自動蛍光。短いPBS洗浄後、細胞を、遮断緩衝剤(PBS、0.5%BSA、5%ヤギ血清、0.045%サカナゼラチン)において、1時間インキュベートせしめた。主要抗血清(1:25、一晚)および二次抗体(抗ウサギCy3、1:200、1時間)を遮断緩衝剤において適用し、その後遮断緩衝剤において洗浄した。カバーガラスをガラスのスライド上に取り付け、Cy3用に設定した適切なフィルタを用いて蛍光マイクロスコープにおいて、免疫染色せしめた細胞を検査した。

【0219】

実施例14：抗mSOUP抗体

抗マウスSOUP抗体を、マウスSOUPタンパク質(SEQ ID NO:14からのC-a.a.300-316)のC末端に対応する合成ペプチドSEQ ID NO:68:CYENVSHHIEDLREKKVSを用いて免疫化によってウサギにおいて産生せしめた。抗体を、製造者のプロトコルに従って合成ペプチドSEQ ID NO:68:(CYENVSHFLYDLREKKVS)を有するスルホリンクカラム(注文番号ピアス社44895)を使用して親和性精製した。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明によるショウジョウバエUCPyヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す図。ここに図示されたのは、全長鎖cDNA(SEQ ID NO:3)、オープン・リーディングフレーム(SEQ ID NO:4)、および演繹されたアミノ酸配列(SEQ ID NO:5)である。

【図2】 本発明によるショウジョウバエUCPyの眼における過剰発現を示す図。この写真の左部に示されているハエにおいては、dUCPy発現は正常であり、眼は正常に発達している。この写真の右部に示されているハエにおいては、dUCPy発現は正常であり、眼は正常に発達している。過剰発現されており、観察される表現型はハエ眼の低下を示す。SOUP1がこの表現型において同時発現する場合、眼欠陥は救出(治療)することができる。そのような救出ハエ(図示されていない)の眼は、ほとんど左ハエの正常眼と同一である。

【図3a】 本発明によるキイロショウジョウバエアクセッション番号GH22139のcDNA配列およびアミノ酸配列を示す図。全長cDNA nt 1-2953(SEQ ID NO:6)、オープン・リーディングフレーム(SEQ ID NO:7)、および演繹されたアミノ酸配列(SEQ ID NO:8)を示す。

【図3b】 本発明によるスプライス変異型のキイロショウジョウバエアクセッション番号GH22139のcDNA配列およびアミノ酸配列を示す図。dSOUP-sp1オー

10

20

30

40

50

ブン・リーディングフレーム (SEQ ID NO: 6 の nt 688-1497 および 2482-2641)、および SOUP スプライス変異型 dSOUP-sp1 の演繹されたアミノ酸配列を示す。

【図3c】 公共データベースにおける SOUP 1 遺伝子座からの遺伝子予測を示す図。公共データベースから予想された、スプライス変異型 dSOUP-CG8026 (nt 688-1569、2280-2320 および SEQ ID NO: 6 の 2482-2641) のオープン・リーディングフレーム、およびスプライス変異型 dSOUP-CG8026 の演繹されたアミノ酸配列を示す。

【図4a】 本発明によるショウジョウバエ SOUP 1 の膜貫通ドメインプロットを示す図。

10

【図4b】 本発明によるヒト SOUP 1-CG8026 の膜貫通ドメインプロットを示す図。

【図4c】 本発明によるヒト SOUP 1 の膜貫通ドメインプロットを示す図。

【図4d】 本発明によるマウス SOUP 1 の膜貫通ドメインプロットを示す図。

【図4e】 本発明によるゼブラフィッシュ SOUP 1 の膜貫通ドメインプロットを示す図。

【図5a】 本発明による膜貫通ドメイン SOUP 1 の変異体において、異なるショウジョウバエ SOUP 1 変異体の比較を示す図。ヌクレオチド番号付けは、SEQ ID NO: 6 における配列に関連するものである。スプライス変異型 (variants) dSOUP 1 および dSOUP 1-sp1 の膜貫通ドメインは異なる。スプライス変異型 dSOUP 1-CG8026 は、7つの膜貫通ドメインを有するタンパク質を生成する。

20

【図5b】 本発明による dSOUP 1 における膜貫通ドメインを示す図。

【図5c】 本発明による変異型 dSOUP 1-sp1 における膜貫通ドメインを示す図。

【図5d】 本発明による変異型 dSOUP 1-CG8026 における膜貫通ドメインを示す図。

【図5e】 本発明によるヒト SOUP 1 (hSOUP 1) における膜貫通ドメインを示す図。

【図5f】 本発明によるマウス (mSOUP 1) における膜貫通ドメインを示す図。

【図6】 本発明によるヒト SOUP 1 を示す図。オープン・リーディングフレーム (SEQ ID NO: 9)、および演繹されたアミノ酸配列ヒト SOUP (SEQ ID NO: 10) を示す。

30

【図7】 本発明によるマウス SOUP 1 を示す図。オープン・リーディングフレーム (SEQ ID NO: 11)、および演繹されたアミノ酸配列マウス SOUP (SEQ ID NO: 12) を示す。

【図8】 本発明による代替マウス gen6i を示す図。オープン・リーディングフレーム (SEQ ID NO: 13)、および演繹されたアミノ酸配列マウス 6i (SEQ ID NO: 14) を示す。

【図9】 本発明によるダニオレオ (Daniorerio) SOUP 1 を示す図。オープン・リーディングフレーム (SEQ ID NO: 51)、および演繹されたアミノ酸配列マウス SOUP (SEQ ID NO: 52) を示す。

40

【図10a】 本発明によるベータアクチン-mSOUP-flg 遺伝子組換えマウスモデル生体内における UCP 2 の発現をノーザンプロットで示す図。

【図10b】 本発明によるベータアクチン-mSOUP-flg 遺伝子組換えマウスモデル生体内における UCP 2 の発現をノーザンプロット分析の結果をデータ定量化した図。

【図11】 本発明による NIH3T3 細胞のミトコンドリアにおける SOUP 1 の局在性を示す図。NIH3T3 細胞は、マウス Soup に対して抗血清を用いて固定および免疫染色された、マウス Soup の発現ベクターを用いて一過性に形質移入された (実施例 13 を参照)。

【配列表】

50

SEQUENCE LISTING

<110> DeveloGen AG

<120> Modifier of organelle metabolism

<130> 26407PWO

<140>

<141>

<150> 00 125 693.2

<151> 2000-11-23

<160> 68 10

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: synthetic DNA

<400> 1

ctaaacaaac aattccaaac atag 24

<210> 2 20

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: synthetic DNA

<400> 2

aaaagacata gaaaatacga tagt 24

<210> 3

<211> 1248

<212> DNA

<213> Drosophila melanogaster 30

<400> 3

aagtgttact atctaaacac atttcaaaca atttctaaca aacaattoca aacatacaat 60

tccacttacc acttaccgac caaattaacga gtttacaatg gacaaagctg aacgcgacta 120

ctggcatcct cgateccttg aaatcgaaga ggagccgca tttccgcca caaacgtcgc 180

tgatccacta acgcacgcga atctgttcca gctctacgtc aacaccttca ttggagccaa 240

tctggccgag tcgtgtgttt tccattgga cgtggccaag acccggatgc aggtagatgg 300

cgagcaggcc aagaagacgg gtaaagcgat gccaaacttc cgtgcaactc ttaccaacat 360

gatccgagtg gagggattca agtcgctcta cgccggcttc tcggcaatgg tgaccgaaa 420

ctttatcttc aactogttac gtgtgtttct ctacgaogtt ttccggcgcc cttttctcta 480

ccagaacgaa cggaacgagg aagtgtctaa gatctacatg gcgctgggat gcagcttcac 540

cgcaggctgc attgcccagg cactggccaa tccctttgac atcgtcaagg tgcgaatgca 600

gacggaagga cgcgcgccgc agctgggcta tgatgtgctg gtgaacagca tggcgcaggc 660

cttcgtggac atctaccgcc gtggcggact gccagtatg tgggaagggg tagggcccag 720

ctgcatgcgt gcctgcctga tgacgaccgg cgatgtgggc agttacgata tcagtaagcg 780

cacctcaag cgcctgctgg acttgaggga aggcctgcc ctgctgttcg tgtcttccat 840

gtgcgcgga ctaacggcat ccgtgctcag cagccggcg aacgtgatca agtcgcggat 900 40

```

gatgaaccag ccggtgaacg agagcggcaa gaatctgtac tacaagaact ccctogactg 960
cattaggaag ctgtgcaggg aggagggtgt cctcacgttg tataagggcc tcatgcccac 1020
ttggtttcgc ctgggaccgt tctcagtgtc cttttggctg tccgtcgagc agctgcgtca 1080
gtgaaaaggc cagagtggat tttaggagca aactatcaat cttactatcg tattttgtat 1140
gtcttttaac acgcaataaa aagggtgcaa gtcaaaccat ctattataca tattataaat 1200
ataactttaa tccccaaaaa aaaaaaaaaa actcgtgccc aattcgat 1248

```

```

<210> 4
<211> 1008
<212> DNA
<213> Drosophila melanogaster

```

```

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1005)

```

10

```

<400> 4
atg gac aaa gct gaa cgc gac tac tgg cat ctt cga tcc ttg gaa atc 48
Met Asp Lys Ala Glu Arg Asp Tyr Trp His Leu Arg Ser Leu Glu Ile
1 5 10 15

gaa gag gag ccg cga ttt ccg cca aca aac gtc gct gat cca cta acc 96
Glu Glu Glu Pro Arg Phe Pro Pro Thr Asn Val Ala Asp Pro Leu Thr
20 25 30

gca cgc aat ctg ttc cag ctc tac gtc aac acc ttc att gga gcc aat 144
Ala Arg Asn Leu Phe Gln Leu Tyr Val Asn Thr Phe Ile Gly Ala Asn
35 40 45

ctg gcc gag tcg tgt gtt ttc cca ttg gac gtg gcc aag acc cgg atg 192
Leu Ala Glu Ser Cys Val Phe Pro Leu Asp Val Ala Lys Thr Arg Met
50 55 60

cag gta gat ggc gag cag gcc aag aag acg ggt aaa gcg atg cca act 240
Gln Val Asp Gly Glu Gln Ala Lys Lys Thr Gly Lys Ala Met Pro Thr
65 70 75 80

ttc cgt gca act ctt acc aac atg atc cga gtg gag gga ttc aag tcg 288
Phe Arg Ala Thr Leu Thr Asn Met Ile Arg Val Glu Gly Phe Lys Ser
85 90 95

ctc tac gcc ggc ttc tcg gca atg gtg acc cga aac ttt atc ttc aac 336
Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Ala Met Val Thr Arg Asn Phe Ile Phe Asn
100 105 110

tcg tta cgt gtt gtt ctc tac gac gtt ttc cgg cgc cct ttt ctc tac 384
Ser Leu Arg Val Val Leu Tyr Asp Val Phe Arg Arg Pro Phe Leu Tyr
115 120 125

cag aac gaa cgg aac gag gaa gtg ctc aag atc tac atg gcg ctg gga 432
Gln Asn Glu Arg Asn Glu Glu Val Leu Lys Ile Tyr Met Ala Leu Gly
130 135 140

tgc agc ttc acc gca ggc tgc att gcc cag gca ctg gcc aat ccc ttt 480
Cys Ser Phe Thr Ala Gly Cys Ile Ala Gln Ala Leu Ala Asn Pro Phe
145 150 155 160

gac atc gtc aag gtg cga atg cag acg gaa gga cgc cgc cgc cag ctg 528
Asp Ile Val Lys Val Arg Met Gln Thr Glu Gly Arg Arg Arg Gln Leu
165 170 175

ggc tat gat gtg cgg gtg aac agc atg gtg cag gcc ttc gtg gac atc 576

```

20

30

40

Gly Tyr Asp Val Arg Val Asn Ser Met Val Gln Ala Phe Val Asp Ile		
180	185	190
tac cgc cgt ggc gga ctg ccc agt atg tgg aag ggt gta ggg ccc agc	624	
Tyr Arg Arg Gly Gly Leu Pro Ser Met Trp Lys Gly Val Gly Pro Ser		
195	200	205
tgc atg cgt gcc tgc ctg atg acg acc ggc gat gtg ggc agt tac gat	672	
Cys Met Arg Ala Cys Leu Met Thr Thr Gly Asp Val Gly Ser Tyr Asp		
210	215	220
atc agt aag cgc acc ttc aag cgc ctg ctg gac ttg gag gaa ggc ctg	720	
Ile Ser Lys Arg Thr Phe Lys Arg Leu Leu Asp Leu Glu Glu Gly Leu		
225	230	235
cca ctg cgt ttc gtg tct tcc atg tgc gcc gga cta acg gca tcc gtg	768	10
Pro Leu Arg Phe Val Ser Ser Met Cys Ala Gly Leu Thr Ala Ser Val		
245	250	255
ctc agc acg ccg gcg aac gtg atc aag tgc cgg atg atg aac cag ccg	816	
Leu Ser Thr Pro Ala Asn Val Ile Lys Ser Arg Met Met Asn Gln Pro		
260	265	270
gtg aac gag agc ggc aag aat ctg tac tac aag aac tcc ctc gac tgc	864	
Val Asn Glu Ser Gly Lys Asn Leu Tyr Tyr Lys Asn Ser Leu Asp Cys		
275	280	285
att agg aag ctg gtc agg gag gag ggt gtc ctc acg ttg tat aag ggc	912	
Ile Arg Lys Leu Val Arg Glu Glu Gly Val Leu Thr Leu Tyr Lys Gly		
290	295	300
ctc atg ccc act tgg ttt cgc ctg gga ccg ttc tca gtg ctc ttt tgg	960	20
Leu Met Pro Thr Trp Phe Arg Leu Gly Pro Phe Ser Val Leu Phe Trp		
305	310	315
ctg tcc gtc gag cag ctg cgt cag tgg aaa ggc cag agt gga ttt tag	1008	
Leu Ser Val Glu Gln Leu Arg Gln Trp Lys Gly Gln Ser Gly Phe		
325	330	335
<210> 5		
<211> 335		
<212> PRT		
<213> Drosophila melanogaster		
<400> 5		30
Met Asp Lys Ala Glu Arg Asp Tyr Trp His Leu Arg Ser Leu Glu Ile		
1	5	10
Glu Glu Glu Pro Arg Phe Pro Pro Thr Asn Val Ala Asp Pro Leu Thr		
20	25	30
Ala Arg Asn Leu Phe Gln Leu Tyr Val Asn Thr Phe Ile Gly Ala Asn		
35	40	45
Leu Ala Glu Ser Cys Val Phe Pro Leu Asp Val Ala Lys Thr Arg Met		
50	55	60
Gln Val Asp Gly Glu Gln Ala Lys Lys Thr Gly Lys Ala Met Pro Thr		
65	70	75
Phe Arg Ala Thr Leu Thr Asn Met Ile Arg Val Glu Gly Phe Lys Ser		40
85	90	95

Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Ala Met Val Thr Arg Asn Phe Ile Phe Asn
100 105 110

Ser Leu Arg Val Val Leu Tyr Asp Val Phe Arg Arg Pro Phe Leu Tyr
115 120 125

Gln Asn Glu Arg Asn Glu Glu Val Leu Lys Ile Tyr Met Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Ser Phe Thr Ala Gly Cys Ile Ala Gln Ala Leu Ala Asn Pro Phe
145 150 155 160

Asp Ile Val Lys Val Arg Met Gln Thr Glu Gly Arg Arg Arg Gln Leu
165 170 175

Gly Tyr Asp Val Arg Val Asn Ser Met Val Gln Ala Phe Val Asp Ile
180 185 190

Tyr Arg Arg Gly Gly Leu Pro Ser Met Trp Lys Gly Val Gly Pro Ser
195 200 205

Cys Met Arg Ala Cys Leu Met Thr Thr Gly Asp Val Gly Ser Tyr Asp
210 215 220

Ile Ser Lys Arg Thr Phe Lys Arg Leu Leu Asp Leu Glu Glu Gly Leu
225 230 235 240

Pro Leu Arg Phe Val Ser Ser Met Cys Ala Gly Leu Thr Ala Ser Val
245 250 255

Leu Ser Thr Pro Ala Asn Val Ile Lys Ser Arg Met Met Asn Gln Pro
260 265 270

Val Asn Glu Ser Gly Lys Asn Leu Tyr Tyr Lys Asn Ser Leu Asp Cys
275 280 285

Ile Arg Lys Leu Val Arg Glu Glu Gly Val Leu Thr Leu Tyr Lys Gly
290 295 300

Leu Met Pro Thr Trp Phe Arg Leu Gly Pro Phe Ser Val Leu Phe Trp
305 310 315 320

Leu Ser Val Glu Gln Leu Arg Gln Trp Lys Gly Gln Ser Gly Phe
325 330 335

10

20

30

<210> 6
<211> 2953
<212> DNA
<213> Drosophila melanogaster

<400> 6
ctgctgggaa ttccggcagc gaagtcgatt agtcgttttt cgttgagag cttgctgttc 60
gcatttatcc gctgctcgc gcgtagaaaa gttgttactt aatgttcatt gctgccacac 120
gtgcttgatt attaattgca gtgcgctaata cagtcgcttg tcagctgagc agaccacaaa 180
aaacgaaggc aattatttag gctgcccttt cagtcggca ttacataaga aacgaatggc 240
caaacgaaaa taattttgaa acaatttcgg agttaatatt gcatcagcaa ttotgaacag 300
cagatacaca aaaagggcag caatttggcc aacaaagtct tcataaacga caacaaacga 360
gtgaaaatat gagctgggca acaacaaagc aaaggcacia atgtttcaac tgtagcagcg 420
gcagcaacaa aaacaaccgg agcagcggca gcagcagcaa caacaacaac tgtgccccta 480
gcaacaagat aatttcgacg agcgatttcc tttgatttgc gccatctgt gtcgaaagca 540

40

```

gccgaaaagc caaagagtgt aaatagcagc tagttttagt acaattcact gtagcaaaaag 600
tgagtttcaa ccgggggcagc caataagcct gcgatagcaa caataatata gaacgagcgc 660
aaaagaaatc accagagatt gcacaatatg aatccgatca aggcacagtc aacgggcagt 720
cccaagaaat tcaacgtatt cgcacacgtc aagtacgagc atttggttgc cggagtatcc 780
ggcggagtgg tgtccacact cattctacat cccctggatt tgatcaagat tcgattcgca 840
gttaacgatg gccggacagc tacggtgccg caataccggg gactgagcag cgccttcacc 900
acgattttcc ggcaagaggg cttccgcgga ctctacaaag gcgtcaccce caatgtctgg 960
ggatcgggct cctcttgggg cctgtacttc atgttctaca acaccattaa gacatttatc 1020
caaggaggaa acacgacatc gccattgggc ccacaatga acatgcttgc agctgctgag 1080
tcgggaatlc tcacctgct gctgaccaac cccatctggg tggagaagac gcgtctctgc 1140
ctgcagtgcg atgcccgcag tagtgccgag tacaggggca tgatccacgc cttgggcccag 1200
atatacaagg aggagggaaat cctgtggcctg taccgcccgt ttgtcccgg catgttgggc 1260
gtctcccacg gagccatcca gttcatgacc tacgaggagc tgaagaacgc ctacaacgaa 1320
tatcgcaaac tgcccatcga cacgaagctg gccaccaccg agtacttggc cttcggcgct 1380
gtctccaagc tgatcgcagc ggccggccacc taccctgacc aggtgggtccg ggcacggctg 1440
caggaccacc atcacgcgata caacggcacc tgggactgca tcaaacagac ttggagggtac 1500
gagcgcagtc gaggtttcta taagggcctg gtgccctacc tgggtccagt cagcccaac 1560
atctgcagtg tcatgctgat ctgggagaag ctgaccagct agatggagta ttagtactag 1620
atcatcgaat ctggaatctg acagagaatt taagctaagc acctagaata cacgaatctt 1680
tctcgtttcc tccgatgtgc agctaacagc agaaaatgac aaacttattc tgtattattg 1740
ttgtaactcg atttcggttt agccctagca ccttacttta gccttaagtg tattccatat 1800
ctagtttatt gtcatcctt cactcccac ttcgaaagta actgatgtga tcggggcgct 1860
gtcaaaaatag cccctgocca tgaatgtaa tttcaaaaac gcatttcttg cactcttcat 1920
caaaaacaac acataattag ttcttagttt agttaaatta tttattctat aacggcttgg 1980
aattgtgtaa gcacaaagaa aaaccagtta ctgtttagtt gatcaaaaat ttcgttttgg 2040
caaaaagatt cttcatagtt ttgaaaatg gtttataatt ttaaggataa accttgacat 2100
ttatgtaaat aagcataaac gcattgtgaa accaacttag tcctacagtg gaacaatctt 2160
attgaaatca aagaaaagat aagaaatgag aaattactta cccatattaa aaggccacga 2220
tggcagacct aaatgaaaac caagaaacaa actaaagcaa aactgtcag cgcgtccagc 2280
ctcgtctctt tcatttgtcc aagggctcat ggcagcttga gtaagtagtc cttgtctcct 2340
ccgctcccta agtctcogat caccocctta atgtgcaga atctctttgc taatctgaaa 2400
cagcccaatgc gcccttactg taagtagatg tagctttcag ttctcagctc ctaaccgcat 2460
tgtgtttggt tctctttgca ggtttgaggg ctacagaggc ttctacaagg ggctgaaggc 2520
gagtttaacc cgagtagtgc ctgcctgcat ggtcaccttt ctggtgtacg agaacgtctc 2580
gcatttccctg ctccgccaggc ggaagcgaat tgagactaaa gaggatgctg cggacgtgtg 2640
attttccctt gggttgatcc cttttaggct tctaagatac atatatcccc tcacgcacatt 2700
tccatagtgc tctatagtca gggggcagtt gcaatcgtgc tgagcatgcg cagctgcttt 2760
tagtttaagt ttagttagtt gttgcgaaga cttatttggc ctttctgtag taagtaaagt 2820
gattgttgtt cctaagtgtg gatcagaatg gatttgtgat tgaattcaga cgaagtggt 2880
acaatatacc tgtgaaatat aagtccatag cctcactctt gcaataaac caaatctttg 2940
tgagcccaaa aaa 2953

```

10

20

```

<210> 7
<211> 915
<212> DNA
<213> Drosophila melanogaster

```

30

```

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(912)

```

```

<400> 7
atg aat ccg atc aag gca cag tca acg ggc agt ccc aag aaa ttc aac 48
Met Asn Pro Ile Lys Ala Gln Ser Thr Gly Ser Pro Lys Lys Phe Asn
1 5 10 15

```

```

gta ttc gca cac gtc aag tac gag cat ttg gtt gcc gga gta tcc ggc 96
Val Phe Ala His Val Lys Tyr Glu His Leu Val Ala Gly Val Ser Gly
20 25 30

```

```

gga gtg gtg tcc aca ctc att cta cat ccc ctg gat ttg atc aag att 144
Gly Val Val Ser Thr Leu Ile Leu His Pro Leu Asp Leu Ile Lys Ile

```

40

35	40	45		
cga ttc gca gtt aac gat ggc cgg aca gct acg gtg ccg caa tac cgg Arg Phe Ala Val Asn Asp Gly Arg Thr Ala Thr Val Pro Gln Tyr Arg 50 55 60			192	
gga ctg agc agc gcc ttc acc acg att ttc cgg caa gag ggc ttc cgc Gly Leu Ser Ser Ala Phe Thr Thr Ile Phe Arg Gln Glu Gly Phe Arg 65 70 75 80			240	
gga ctc tac aaa ggc gtc acc ccc aat gtc tgg gga tcg ggc tcc tct Gly Leu Tyr Lys Gly Val Thr Pro Asn Val Trp Gly Ser Gly Ser Ser 85 90 95			288	
tgg ggc ctg tac ttc atg ttc tac aac acc att aag aca ttt atc caa Trp Gly Leu Tyr Phe Met Phe Tyr Asn Thr Ile Lys Thr Phe Ile Gln 100 105 110			336	10
gga gga aac acg acc atg cca ttg ggc ccc aca atg aac atg ctt gca Gly Gly Asn Thr Thr Met Pro Leu Gly Pro Thr Met Asn Met Leu Ala 115 120 125			384	
gct gct gag tcg gga att ctc acc ctg ctg ctg acc aac ccc atc tgg Ala Ala Glu Ser Gly Ile Leu Thr Leu Leu Leu Thr Asn Pro Ile Trp 130 135 140			432	
gtg gtg aag acg cgt ctc tgc ctg cag tgc gat gcc gcg agt agt gcc Val Val Lys Thr Arg Leu Cys Leu Gln Cys Asp Ala Ala Ser Ser Ala 145 150 155 160			480	
gag tac agg ggc atg atc cac gcc ttg ggc cag ata tac aag gag gag Glu Tyr Arg Gly Met Ile His Ala Leu Gly Gln Ile Tyr Lys Glu Glu 165 170 175			528	20
gga atc cgt ggc ctg tac cgc ggc ttt gtt ccc ggc atg ttg ggc gtc Gly Ile Arg Gly Leu Tyr Arg Gly Phe Val Pro Gly Met Leu Gly Val 180 185 190			576	
tcc cac gga gcc atc cag ttc atg acc tac gag gag ctg aag aac gcc Ser His Gly Ala Ile Gln Phe Met Thr Tyr Glu Glu Leu Lys Asn Ala 195 200 205			624	
tac aac gaa tat cgc aaa ctg ccc atc gac acg aag ctg gcc acc acc Tyr Asn Glu Tyr Arg Lys Leu Pro Ile Asp Thr Lys Leu Ala Thr Thr 210 215 220			672	
gag tac ttg gcc ttc gcg gct gtc tcc aag ctg atc gca gcg gcg gcc Glu Tyr Leu Ala Phe Ala Ala Val Ser Lys Leu Ile Ala Ala Ala Ala 225 230 235 240			720	30
acc tac ccg tac cag gtg gtc cgg gca cgg ctg cag gac cac cat cac Thr Tyr Pro Tyr Gln Val Val Arg Ala Arg Leu Gln Asp His His His 245 250 255			768	
cga tac aac ggc acc tgg gac tgc atc aaa cag act tgg agg tac gag Arg Tyr Asn Gly Thr Trp Asp Cys Ile Lys Gln Thr Trp Arg Tyr Glu 260 265 270			816	
cgc atg cga ggt ttc tat aag ggc ctg gtg ccc tac ctg gtc cac gtc Arg Met Arg Gly Phe Tyr Lys Gly Leu Val Pro Tyr Leu Val His Val 275 280 285			864	40
acg ccc aac atc tgc atg gtc atg ctg atc tgg gag aag ctg acc agc			912	

Thr Pro Asn Ile Cys Met Val Met Leu Ile Trp Glu Lys Leu Thr Ser
290 295 300

tag

915

<210> 8
<211> 304
<212> PRT
<213> Drosophila melanogaster

<400> 8
Met Asn Pro Ile Lys Ala Gln Ser Thr Gly Ser Pro Lys Lys Phe Asn
1 5 10 15

10

Val Phe Ala His Val Lys Tyr Glu His Leu Val Ala Gly Val Ser Gly
20 25 30

Gly Val Val Ser Thr Leu Ile Leu His Pro Leu Asp Leu Ile Lys Ile
35 40 45

Arg Phe Ala Val Asn Asp Gly Arg Thr Ala Thr Val Pro Gln Tyr Arg
50 55 60

Gly Leu Ser Ser Ala Phe Thr Thr Ile Phe Arg Gln Glu Gly Phe Arg
65 70 75 80

Gly Leu Tyr Lys Gly Val Thr Pro Asn Val Trp Gly Ser Gly Ser Ser
85 90 95

20

Trp Gly Leu Tyr Phe Met Phe Tyr Asn Thr Ile Lys Thr Phe Ile Gln
100 105 110

Gly Gly Asn Thr Thr Met Pro Leu Gly Pro Thr Met Asn Met Leu Ala
115 120 125

Ala Ala Glu Ser Gly Ile Leu Thr Leu Leu Leu Thr Asn Pro Ile Trp
130 135 140

Val Val Lys Thr Arg Leu Cys Leu Gln Cys Asp Ala Ala Ser Ser Ala
145 150 155 160

Glu Tyr Arg Gly Met Ile His Ala Leu Gly Gln Ile Tyr Lys Glu Glu
165 170 175

Gly Ile Arg Gly Leu Tyr Arg Gly Phe Val Pro Gly Met Leu Gly Val
180 185 190

30

Ser His Gly Ala Ile Gln Phe Met Thr Tyr Glu Glu Leu Lys Asn Ala
195 200 205

Tyr Asn Glu Tyr Arg Lys Leu Pro Ile Asp Thr Lys Leu Ala Thr Thr
210 215 220

Glu Tyr Leu Ala Phe Ala Ala Val Ser Lys Leu Ile Ala Ala Ala Ala
225 230 235 240

Thr Tyr Pro Tyr Gln Val Val Arg Ala Arg Leu Gln Asp His His His
245 250 255

Arg Tyr Asn Gly Thr Trp Asp Cys Ile Lys Gln Thr Trp Arg Tyr Glu
260 265 270

40

Arg Met Arg Gly Phe Tyr Lys Gly Leu Val Pro Tyr Leu Val His Val
 275 280 285

Thr Pro Asn Ile Cys Met Val Met Leu Ile Trp Glu Lys Leu Thr Ser
 290 295 300

<210> 9
 <211> 948
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(945)

10

<400> 9
 atg acg ggc cag ggc cag tcg gcg tcc ggg tcg tcg gcg tgg agc acg 48
 Met Thr Gly Gln Gly Gln Ser Ala Ser Gly Ser Ser Ala Trp Ser Thr
 1 5 10 15

gta ttc cgc cac gtc cgg tat gag aac ctg ata gcg ggc gtg agc ggc 96
 Val Phe Arg His Val Arg Tyr Glu Asn Leu Ile Ala Gly Val Ser Gly
 20 25 30

ggc gtc tta tcc aac ctt gcg ctg cat cgg ctc gac ctc gtg aag atc 144
 Gly Val Leu Ser Asn Leu Ala Leu His Pro Leu Asp Leu Val Lys Ile
 35 40 45

20

cgc ttc gcc gtg agt gat gga ttg gaa ctg aga ccg aaa tat aat gga 192
 Arg Phe Ala Val Ser Asp Gly Leu Glu Leu Arg Pro Lys Tyr Asn Gly
 50 55 60

att tta cat tgc ttg act acc att tgg aaa ctt gat gga cta cgg gga 240
 Ile Leu His Cys Leu Thr Thr Ile Trp Lys Leu Asp Gly Leu Arg Gly
 65 70 75 80

ctt tat caa gga gta acc cca aat ata tgg ggt gca ggt tta tcc tgg 288
 Leu Tyr Gln Gly Val Thr Pro Asn Ile Trp Gly Ala Gly Leu Ser Trp
 85 90 95

gga ctc tac ttt ttc ttt tac aat gcc atc aag tca tat aaa aca gaa 336
 Gly Leu Tyr Phe Phe Phe Tyr Asn Ala Ile Lys Ser Tyr Lys Thr Glu
 100 105 110

30

gga aga gct gaa cgt tta gag gca aca gaa tac ctt gtc tca gct gct 384
 Gly Arg Ala Glu Arg Leu Glu Ala Thr Glu Tyr Leu Val Ser Ala Ala
 115 120 125

gaa gct gga gcc atg acc ctc tgc att aca aac cca tta tgg gta aca 432
 Glu Ala Gly Ala Met Thr Leu Cys Ile Thr Asn Pro Leu Trp Val Thr
 130 135 140

aaa act cgc ctt atg tta cag tat gat gct gtt gtt aac tcc cca cac 480
 Lys Thr Arg Leu Met Leu Gln Tyr Asp Ala Val Val Asn Ser Pro His
 145 150 155 160

ccg caa tat aaa gga atg ttt gat aca ctt gtg aaa ata tat aag tat 528
 Pro Gln Tyr Lys Gly Met Phe Asp Thr Leu Val Lys Ile Tyr Lys Tyr
 165 170 175

40

gaa ggt gtg cgt gga tta tat aag gga ttt gtt cct ggg ctg ttt gga 576

Glu Gly Val Arg Gly Leu Tyr Lys Gly Phe Val Pro Gly Leu Phe Gly	
180	185
190	
aca tcg cac ggt gcc ctt cag ttt atg gca tat gaa ttg ctg aag ttg	624
Thr Ser His Gly Ala Leu Gln Phe Met Ala Tyr Glu Leu Leu Lys Leu	
195	200
205	
aag tac aac cag cat atc aat aga tta cca gaa gcc cag ttg agc aca	672
Lys Tyr Asn Gln His Ile Asn Arg Leu Pro Glu Ala Gln Leu Ser Thr	
210	215
220	
gta gaa tat ata tct gtt gca gca cta tcc aaa ata ttt gct gtc gca	720
Val Glu Tyr Ile Ser Val Ala Ala Leu Ser Lys Ile Phe Ala Val Ala	
225	230
235	240
gca aca tac cca tat caa gtc gta aga gct cgt ctt cag gat caa cac	768
Ala Thr Tyr Pro Tyr Gln Val Val Arg Ala Arg Leu Gln Asp Gln His	
245	250
255	
atg ttt tac agt ggt gta ata gat gta atc aca aag aca tgg agg aaa	816
Met Phe Tyr Ser Gly Val Ile Asp Val Ile Thr Lys Thr Trp Arg Lys	
260	265
270	
gaa ggc gtc ggt gga ttt tac aag gga att gct cct aat ttg att aga	864
Glu Gly Val Gly Gly Phe Tyr Lys Gly Ile Ala Pro Asn Leu Ile Arg	
275	280
285	
gtg act cca gcc tgc tgt att acc ttt gtg gta tat gaa aac gtc tca	912
Val Thr Pro Ala Cys Cys Ile Thr Phe Val Val Tyr Glu Asn Val Ser	
290	295
300	
cat ttt tta ctt gac ctt aga gaa aag aga aag taa	948
His Phe Leu Leu Asp Leu Arg Glu Lys Arg Lys	
305	310
315	
<210> 10	
<211> 315	
<212> PRT	
<213> Homo sapiens	
<400> 10	
Met Thr Gly Gln Gly Gln Ser Ala Ser Gly Ser Ser Ala Trp Ser Thr	
1	5
10	15
Val Phe Arg His Val Arg Tyr Glu Asn Leu Ile Ala Gly Val Ser Gly	30
20	25
30	
Gly Val Leu Ser Asn Leu Ala Leu His Pro Leu Asp Leu Val Lys Ile	
35	40
45	
Arg Phe Ala Val Ser Asp Gly Leu Glu Leu Arg Pro Lys Tyr Asn Gly	
50	55
60	
Ile Leu His Cys Leu Thr Thr Ile Trp Lys Leu Asp Gly Leu Arg Gly	
65	70
75	80
Leu Tyr Gln Gly Val Thr Pro Asn Ile Trp Gly Ala Gly Leu Ser Trp	
85	90
95	
Gly Leu Tyr Phe Phe Phe Tyr Asn Ala Ile Lys Ser Tyr Lys Thr Glu	40
100	105
110	

Gly Arg Ala Glu Arg Leu Glu Ala Thr Glu Tyr Leu Val Ser Ala Ala
 115 120 125

Glu Ala Gly Ala Met Thr Leu Cys Ile Thr Asn Pro Leu Trp Val Thr
 130 135 140

Lys Thr Arg Leu Met Leu Gln Tyr Asp Ala Val Val Asn Ser Pro His
 145 150 155 160

Pro Gln Tyr Lys Gly Met Phe Asp Thr Leu Val Lys Ile Tyr Lys Tyr
 165 170 175

Glu Gly Val Arg Gly Leu Tyr Lys Gly Phe Val Pro Gly Leu Phe Gly
 180 185 190

Thr Ser His Gly Ala Leu Gln Phe Met Ala Tyr Glu Leu Leu Lys Leu
 195 200 205

Lys Tyr Asn Gln His Ile Asn Arg Leu Pro Glu Ala Gln Leu Ser Thr
 210 215 220

Val Glu Tyr Ile Ser Val Ala Ala Leu Ser Lys Ile Phe Ala Val Ala
 225 230 235 240

Ala Thr Tyr Pro Tyr Gln Val Val Arg Ala Arg Leu Gln Asp Gln His
 245 250 255

Met Phe Tyr Ser Gly Val Ile Asp Val Ile Thr Lys Thr Trp Arg Lys
 260 265 270

Glu Gly Val Gly Gly Phe Tyr Lys Gly Ile Ala Pro Asn Leu Ile Arg
 275 280 285

Val Thr Pro Ala Cys Cys Ile Thr Phe Val Val Tyr Glu Asn Val Ser
 290 295 300

His Phe Leu Leu Asp Leu Arg Glu Lys Arg Lys
 305 310 315

10

20

<210> 11
 <211> 951
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

30

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(948)

<400> 11
 atg aca ggc cag ggc cag tcg gct gcc ggg tcg gcg gcg tgg agc gtg 48
 Met Thr Gly Gln Gly Gln Ser Ala Ala Gly Ser Ala Ala Trp Ser Val
 1 5 10 15

gtg ttc cgc cac gtc cgg tac gag aac ctg gtg gct ggc gtg agt ggc 96
 Val Phe Arg His Val Arg Tyr Glu Asn Leu Val Ala Gly Val Ser Gly
 20 25 30

ggg gtc ttg tcc aac ctg gcg ctg cac ccg ctc gac ctc gtg aag atc 144
 Gly Val Leu Ser Asn Leu Ala Leu His Pro Leu Asp Leu Val Lys Ile
 35 40 45

40

cgc ttc gct gtg agt gat gga ctg gaa gta aga cca aaa tat aaa gga	192
Arg Phe Ala Val Ser Asp Gly Leu Glu Val Arg Pro Lys Tyr Lys Gly	
50 55 60	
att ttg cat tgc ttg gct acc att tgg aaa gtt gat gga cta cga gga	240
Ile Leu His Cys Leu Ala Thr Ile Trp Lys Val Asp Gly Leu Arg Gly	
65 70 75 80	
ctt tat caa gga gta acc ccg aat gtg tgg ggt gcc ggt tta tcc tgg	288
Leu Tyr Gln Gly Val Thr Pro Asn Val Trp Gly Ala Gly Leu Ser Trp	
85 90 95	
gga ctc tac ttt ttc ttt tac aat gcc atc aaa tcg tat aag aca gag	336
Gly Leu Tyr Phe Phe Phe Tyr Asn Ala Ile Lys Ser Tyr Lys Thr Glu	
100 105 110	10
gga aga gct gaa cag tta gag cca tta gag tac ctc gtc tca gct gct	384
Gly Arg Ala Glu Gln Leu Glu Pro Leu Glu Tyr Leu Val Ser Ala Ala	
115 120 125	
gaa gct gga gcc atg act ctg tgc att aca aac cca tta tgg gtg acg	432
Glu Ala Gly Ala Met Thr Leu Cys Ile Thr Asn Pro Leu Trp Val Thr	
130 135 140	
aaa act cgc ctt atg tta caa tat ggt ggt gtt gct agc cct tca cag	480
Lys Thr Arg Leu Met Leu Gln Tyr Gly Gly Val Ala Ser Pro Ser Gln	
145 150 155 160	
aga cag tat aaa gga atg ttt gat gca ctt gtg aaa ata tat aaa tat	528
Arg Gln Tyr Lys Gly Met Phe Asp Ala Leu Val Lys Ile Tyr Lys Tyr	
165 170 175	20
gaa ggt gtg cgt gga tta tac aag gga ttt gtc cct ggg ctg ttt gga	576
Glu Gly Val Arg Gly Leu Tyr Lys Gly Phe Val Pro Gly Leu Phe Gly	
180 185 190	
aca tca cat ggt gcc ctt cag ttt atg gca tat gag ttg cta aag ttg	624
Thr Ser His Gly Ala Leu Gln Phe Met Ala Tyr Glu Leu Leu Lys Leu	
195 200 205	
aag tac aac aaa cac atc aat aga tta ccg gaa gcc cag ctg agt aca	672
Lys Tyr Asn Lys His Ile Asn Arg Leu Pro Glu Ala Gln Leu Ser Thr	
210 215 220	
gca gaa tac atc tct gtc gca gcg cta tcc aaa ata ttt gcc gta gca	720
Ala Glu Tyr Ile Ser Val Ala Ala Leu Ser Lys Ile Phe Ala Val Ala	
225 230 235 240	30
gca aca tac ccg tat cag gtt gtg aga gcc cgc ctt cag gat cag cat	768
Ala Thr Tyr Pro Tyr Gln Val Val Arg Ala Arg Leu Gln Asp Gln His	
245 250 255	
gtg tct tat ggt ggt gta aca gat gtg atc aca aag acg tgg agg aaa	816
Val Ser Tyr Gly Gly Val Thr Asp Val Ile Thr Lys Thr Trp Arg Lys	
260 265 270	
gaa ggc atc ggt gga ttt tac aaa gga att gcc ccc aat ctg att aga	864
Glu Gly Ile Gly Gly Phe Tyr Lys Gly Ile Ala Pro Asn Leu Ile Arg	
275 280 285	
gtg act cca gcc tgc tgc atc acc ttt gtg gtt tat gaa aat gtc tct	912
Val Thr Pro Ala Cys Cys Ile Thr Phe Val Val Tyr Glu Asn Val Ser	
290 295 300	40

cac ttt tta tat gac ctt aga gaa aag aaa gtg ggc taa 951
 His Phe Leu Tyr Asp Leu Arg Glu Lys Lys Val Gly
 305 310 315

<210> 12
 <211> 316
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 12
 Met Thr Gly Gln Gly Gln Ser Ala Ala Gly Ser Ala Ala Trp Ser Val
 1 5 10 15
 Val Phe Arg His Val Arg Tyr Glu Asn Leu Val Ala Gly Val Ser Gly 10
 20 25 30
 Gly Val Leu Ser Asn Leu Ala Leu His Pro Leu Asp Leu Val Lys Ile
 35 40 45
 Arg Phe Ala Val Ser Asp Gly Leu Glu Val Arg Pro Lys Tyr Lys Gly
 50 55 60
 Ile Leu His Cys Leu Ala Thr Ile Trp Lys Val Asp Gly Leu Arg Gly
 65 70 75 80
 Leu Tyr Gln Gly Val Thr Pro Asn Val Trp Gly Ala Gly Leu Ser Trp
 85 90 95
 Gly Leu Tyr Phe Phe Phe Tyr Asn Ala Ile Lys Ser Tyr Lys Thr Glu 20
 100 105 110
 Gly Arg Ala Glu Gln Leu Glu Pro Leu Glu Tyr Leu Val Ser Ala Ala
 115 120 125
 Glu Ala Gly Ala Met Thr Leu Cys Ile Thr Asn Pro Leu Trp Val Thr
 130 135 140
 Lys Thr Arg Leu Met Leu Gln Tyr Gly Gly Val Ala Ser Pro Ser Gln
 145 150 155 160
 Arg Gln Tyr Lys Gly Met Phe Asp Ala Leu Val Lys Ile Tyr Lys Tyr
 165 170 175
 Glu Gly Val Arg Gly Leu Tyr Lys Gly Phe Val Pro Gly Leu Phe Gly 30
 180 185 190
 Thr Ser His Gly Ala Leu Gln Phe Met Ala Tyr Glu Leu Leu Lys Leu
 195 200 205
 Lys Tyr Asn Lys His Ile Asn Arg Leu Pro Glu Ala Gln Leu Ser Thr
 210 215 220
 Ala Glu Tyr Ile Ser Val Ala Ala Leu Ser Lys Ile Phe Ala Val Ala
 225 230 235 240
 Ala Thr Tyr Pro Tyr Gln Val Val Arg Ala Arg Leu Gln Asp Gln His
 245 250 255
 Val Ser Tyr Gly Gly Val Thr Asp Val Ile Thr Lys Thr Trp Arg Lys 40
 260 265 270

Glu Gly Ile Gly Gly Phe Tyr Lys Gly Ile Ala Pro Asn Leu Ile Arg
 275 280 285

Val Thr Pro Ala Cys Cys Ile Thr Phe Val Val Tyr Glu Asn Val Ser
 290 295 300

His Phe Leu Tyr Asp Leu Arg Glu Lys Lys Val Gly
 305 310 315

<210> 13
 <211> 951
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

10

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(948)

<400> 13
 atg aca ggc cag ggc cag tcg gct gcc ggg tcg gcg gcg tgg agc gcg 48
 Met Thr Gly Gln Gly Gln Ser Ala Ala Gly Ser Ala Ala Trp Ser Ala
 1 5 10 15

gtg ttc cgc cac gtc cgg tac gag aac ctg gtg gct ggc gtg agt ggc 96
 Val Phe Arg His Val Arg Tyr Glu Asn Leu Val Ala Gly Val Ser Gly
 20 25 30

ggg gtc ttg tcc aac ctg gcg ctg cac ccg ctc gac ctc gtg aag atc 144
 Gly Val Leu Ser Asn Leu Ala Leu His Pro Leu Asp Leu Val Lys Ile
 35 40 45

20

cgc ttc gct gtg agt gat gga ctg gaa gta aga cca aaa tat aaa gga 192
 Arg Phe Ala Val Ser Asp Gly Leu Glu Val Arg Pro Lys Tyr Lys Gly
 50 55 60

att ttg cat tgc ttg gct acc att tgg aaa gtt gat gga cta cga gga 240
 Ile Leu His Cys Leu Ala Thr Ile Trp Lys Val Asp Gly Leu Arg Gly
 65 70 75 80

ctt tat caa gga gta acc ccg aat gtg tgg ggt gcc ggt tta tcc tgg 288
 Leu Tyr Gln Gly Val Thr Pro Asn Val Trp Gly Ala Gly Leu Ser Trp
 85 90 95

gga ctc tac ttt ttc ttt tac aat gcc atc aaa tcg tat aag aca gag 336
 Gly Leu Tyr Phe Phe Phe Tyr Asn Ala Ile Lys Ser Tyr Lys Thr Glu
 100 105 110

30

gga aga gct gaa cag tta gag cca tta gag tac ctc gtc tca gct gct 384
 Gly Arg Ala Glu Gln Leu Glu Pro Leu Glu Tyr Leu Val Ser Ala Ala
 115 120 125

gaa gct gga gcc atg act ctg tgc att aca aac cca tta tgg gtg acg 432
 Glu Ala Gly Ala Met Thr Leu Cys Ile Thr Asn Pro Leu Trp Val Thr
 130 135 140

aaa act cgc ctt atg tta caa tat ggt ggt gtt gct agc cct tca cag 480
 Lys Thr Arg Leu Met Leu Gln Tyr Gly Gly Val Ala Ser Pro Ser Gln
 145 150 155 160

aga cag tat aaa gga atg ttt gat gca ctt gtg aat ata tat aaa tat 528
 Arg Gln Tyr Lys Gly Met Phe Asp Ala Leu Val Asn Ile Tyr Lys Tyr

40

165				170				175						
gaa ggt gtg cgt gga tta tac aag gga ttt gtc cct ggg ctg ttt gga													576	
Glu Gly Val Arg Gly Leu Tyr Lys Gly Phe Val Pro Gly Leu Phe Gly														
	180					185				190				
aca tca cat ggt gcc ctt cag ttt atg gca tat gag ttg cta aag ttg													624	
Thr Ser His Gly Ala Leu Gln Phe Met Ala Tyr Glu Leu Leu Lys Leu						200				205				
	195													
aag tac aac aaa cac atc aat aga tta ccg gaa gcc cag ctg agt aca													672	
Lys Tyr Asn Lys His Ile Asn Arg Leu Pro Glu Ala Gln Leu Ser Thr						215				220				
	210													
gca gaa tac atc tct gtc gca gcg cta tcc aaa ata ttt gcc gta gca													720	10
Ala Glu Tyr Ile Ser Val Ala Ala Leu Ser Lys Ile Phe Ala Val Ala						230				235			240	
	225													
gca aca tac ccg tat cag gtt gtg aga gcc cgc ctt cag gat cag cat													768	
Ala Thr Tyr Pro Tyr Gln Val Val Arg Ala Arg Leu Gln Asp Gln His						245				250			255	
gtg tct tat ggt ggt gta aca gat gtg atc aca aag acg tgg agg aaa													816	
Val Ser Tyr Gly Gly Val Thr Asp Val Ile Thr Lys Thr Trp Arg Lys						260				265			270	
gaa ggc atc ggt gga ttt tac aaa gga att gcc ccc aat ctg att agg													864	
Glu Gly Ile Gly Gly Phe Tyr Lys Gly Ile Ala Pro Asn Leu Ile Arg						275				280			285	
gtg act cca gcc tgc tgc atc acc ttt gtg gtt tat gaa aat gtc tct													912	20
Val Thr Pro Ala Cys Cys Ile Thr Phe Val Val Tyr Glu Asn Val Ser						290				295			300	
cac ttt tta tat gac ctt aga gaa aag aaa gtg agc taa													951	
His Phe Leu Tyr Asp Leu Arg Glu Lys Lys Val Ser						305				310			315	
<210> 14														
<211> 316														
<212> PRT														
<213> Mus musculus														
<400> 14														
Met Thr Gly Gln Gly Gln Ser Ala Ala Gly Ser Ala Ala Trp Ser Ala														30
1 5 10 15														
Val Phe Arg His Val Arg Tyr Glu Asn Leu Val Ala Gly Val Ser Gly														
	20					25						30		
Gly Val Leu Ser Asn Leu Ala Leu His Pro Leu Asp Leu Val Lys Ile														
	35					40						45		
Arg Phe Ala Val Ser Asp Gly Leu Glu Val Arg Pro Lys Tyr Lys Gly														
	50					55						60		
Ile Leu His Cys Leu Ala Thr Ile Trp Lys Val Asp Gly Leu Arg Gly														
	65					70						75		80
Leu Tyr Gln Gly Val Thr Pro Asn Val Trp Gly Ala Gly Leu Ser Trp														40
						85						90		95

Gly Leu Tyr Phe Phe Phe Tyr Asn Ala Ile Lys Ser Tyr Lys Thr Glu
100 105 110

Gly Arg Ala Glu Gln Leu Glu Pro Leu Glu Tyr Leu Val Ser Ala Ala
115 120 125

Glu Ala Gly Ala Met Thr Leu Cys Ile Thr Asn Pro Leu Trp Val Thr
130 135 140

Lys Thr Arg Leu Met Leu Gln Tyr Gly Gly Val Ala Ser Pro Ser Gln
145 150 155 160

Arg Gln Tyr Lys Gly Met Phe Asp Ala Leu Val Asn Ile Tyr Lys Tyr
165 170 175

Glu Gly Val Arg Gly Leu Tyr Lys Gly Phe Val Pro Gly Leu Phe Gly
180 185 190

Thr Ser His Gly Ala Leu Gln Phe Met Ala Tyr Glu Leu Leu Lys Leu
195 200 205

Lys Tyr Asn Lys His Ile Asn Arg Leu Pro Glu Ala Gln Leu Ser Thr
210 215 220

Ala Glu Tyr Ile Ser Val Ala Ala Leu Ser Lys Ile Phe Ala Val Ala
225 230 235 240

Ala Thr Tyr Pro Tyr Gln Val Val Arg Ala Arg Leu Gln Asp Gln His
245 250 255

Val Ser Tyr Gly Gly Val Thr Asp Val Ile Thr Lys Thr Trp Arg Lys
260 265 270

Glu Gly Ile Gly Gly Phe Tyr Lys Gly Ile Ala Pro Asn Leu Ile Arg
275 280 285

Val Thr Pro Ala Cys Cys Ile Thr Phe Val Val Tyr Glu Asn Val Ser
290 295 300

His Phe Leu Tyr Asp Leu Arg Glu Lys Lys Val Ser
305 310 315

10

20

<210> 15
<211> 16
<212> PRT
<213> Drosophila melanogaster

30

<400> 15
Leu Val Ala Gly Val Ser Gly Gly Val Val Ser Thr Leu Ile Leu His
1 5 10 15

<210> 16
<211> 28
<212> PRT
<213> Drosophila melanogaster

<400> 16
Val Lys Tyr Glu His Leu Val Ala Gly Val Ser Gly Gly Val Val Ser
1 5 10 15

40

Thr Leu Ile Leu His Pro Leu Asp Leu Ile Lys Ile
20 25

<210> 17
<211> 23
<212> PRT
<213> Drosophila melanogaster

<400> 17
Gly Val Thr Pro Asn Val Trp Gly Ser Gly Ser Ser Trp Gly Leu Tyr
1 5 10 15

Phe Met Phe Tyr Asn Thr Ile
20

10

<210> 18
<211> 31
<212> PRT
<213> Drosophila melanogaster

<400> 18
Gly Leu Tyr Lys Gly Val Thr Pro Asn Val Trp Gly Ser Gly Ser Ser
1 5 10 15

Trp Gly Leu Tyr Phe Met Phe Tyr Asn Thr Ile Lys Thr Phe Ile
20 25 30

20

<210> 19
<211> 23
<212> PRT
<213> Drosophila melanogaster

<400> 19
Met Asn Met Leu Ala Ala Ala Glu Ser Gly Ile Leu Thr Leu Leu Leu
1 5 10 15

Thr Asn Pro Ile Trp Val Val
20

30

<210> 20
<211> 27
<212> PRT
<213> Drosophila melanogaster

<400> 20
Gly Pro Thr Met Asn Met Leu Ala Ala Ala Glu Ser Gly Ile Leu Thr
1 5 10 15

Leu Leu Leu Thr Asn Pro Ile Trp Val Val Lys
20 25

40

<210> 21
<211> 23
<212> PRT
<213> Drosophila melanogaster

<400> 21
Gly Leu Tyr Arg Gly Phe Val Pro Gly Met Leu Gly Val Ser His Gly

Ala Ile Gln Phe Met Thr Tyr
20

<210> 22

<211> 25

<212> PRT

<213> *Drosophila melanogaster*

<400> 22

Arg Gly Leu Tyr Arg Gly Phe Val Pro Gly Met Leu Gly Val Ser His
1 5 10 15

Gly Ala Ile Gln Phe Met Thr Tyr Glu
20 25

10

<210> 23

<211> 21

<212> PRT

<213> *Drosophila melanogaster*

<400> 23

Glu Tyr Leu Ala Phe Ala Ala Val Ser Lys Leu Ile Ala Ala Ala Ala
1 5 10 15

Thr Tyr Pro Tyr Gln
20

20

<210> 24

<211> 28

<212> PRT

<213> *Drosophila melanogaster*

<400> 24

Leu Ala Thr Thr Glu Tyr Leu Ala Phe Ala Ala Val Ser Lys Leu Ile
1 5 10 15

Ala Ala Ala Ala Thr Tyr Pro Tyr Gln Val Val Arg
20 25

<210> 25

<211> 22

<212> PRT

<213> *Drosophila melanogaster*

30

<400> 25

Phe Tyr Lys Gly Leu Val Pro Tyr Leu Val His Val Thr Pro Asn Ile
1 5 10 15

Cys Met Val Met Leu Ile
20

<210> 26

<211> 24

<212> PRT

<213> *Drosophila melanogaster*

Ala Ile Gln Phe Met Thr Tyr
20

<210> 22

<211> 25

<212> PRT

<213> *Drosophila melanogaster*

<400> 22

Arg Gly Leu Tyr Arg Gly Phe Val Pro Gly Met Leu Gly Val Ser His
1 5 10 15

Gly Ala Ile Gln Phe Met Thr Tyr Glu
20 25

10

<210> 23

<211> 21

<212> PRT

<213> *Drosophila melanogaster*

<400> 23

Glu Tyr Leu Ala Phe Ala Ala Val Ser Lys Leu Ile Ala Ala Ala Ala
1 5 10 15

Thr Tyr Pro Tyr Gln
20

<210> 24

<211> 28

<212> PRT

<213> *Drosophila melanogaster*

<400> 24

Leu Ala Thr Thr Glu Tyr Leu Ala Phe Ala Ala Val Ser Lys Leu Ile
1 5 10 15

Ala Ala Ala Ala Thr Tyr Pro Tyr Gln Val Val Arg
20 25

<210> 25

<211> 22

<212> PRT

<213> *Drosophila melanogaster*

<400> 25

Phe Tyr Lys Gly Leu Val Pro Tyr Leu Val His Val Thr Pro Asn Ile
1 5 10 15

Cys Met Val Met Leu Ile
20

<210> 26

<211> 24

<212> PRT

<213> *Drosophila melanogaster*

20

30

<400> 26

Gly Phe Tyr Lys Gly Leu Val Pro Tyr Leu Val His Val Thr Pro Asn
 1 5 10 15

Ile Cys Met Val Met Leu Ile Trp
 20

<210> 27

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Leu Ile Ala Gly Val Ser Gly Gly Val Leu Ser Asn Leu Ala Leu His
 1 5 10 15

10

<210> 28

<211> 26

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Tyr Glu Asn Leu Ile Ala Gly Val Ser Gly Gly Val Leu Ser Asn Leu
 1 5 10 15

Ala Leu His Pro Leu Asp Leu Val Lys Ile
 20 25

20

<210> 29

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Leu Tyr Gln Gly Val Thr Pro Asn Ile Trp Gly Ala Gly Leu Ser Trp
 1 5 10 15

Gly Leu Tyr Phe Phe Phe Tyr Asn
 20

<210> 30

<211> 27

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Gly Leu Tyr Gln Gly Val Thr Pro Asn Ile Trp Gly Ala Gly Leu Ser
 1 5 10 15

Trp Gly Leu Tyr Phe Phe Phe Tyr Asn Ala Ile
 20 25

30

<210> 31

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

40

Tyr Leu Val Ser Ala Ala Glu Ala Gly Ala Met Thr Leu Cys Ile Thr
 1 5 10 15

Asn Pro Leu Trp Val
 20

<210> 32
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 32
 Glu Tyr Leu Val Ser Ala Ala Glu Ala Gly Ala Met Thr Leu Cys Ile
 1 5 10 15

10

Thr Asn Pro Leu Trp Val Thr
 20

<210> 33
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 33
 Gly Leu Tyr Lys Gly Phe Val Pro Gly Leu Phe Gly Thr Ser His Gly
 1 5 10 15

Ala Leu Gln Phe Met Ala Tyr
 20

20

<210> 34
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 34
 Arg Gly Leu Tyr Lys Gly Phe Val Pro Gly Leu Phe Gly Thr Ser His
 1 5 10 15

Gly Ala Leu Gln Phe Met Ala Tyr Glu Leu Leu
 20 25

30

<210> 35
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 35
 Val Glu Tyr Ile Ser Val Ala Ala Leu Ser Lys Ile Phe Ala Val Ala
 1 5 10 15

Ala Thr Tyr Pro Tyr Gln
 20

<210> 36
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

40

<400> 36

Gln Leu Ser Thr Val Glu Tyr Ile Ser Val Ala Ala Leu Ser Lys Ile
 1 5 10 15

Phe Ala Val Ala Ala Thr Tyr Pro Tyr Gln Val Val Arg
 20 25

<210> 37

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Gly Ile Ala Pro Asn Leu Ile Arg Val Thr Pro Ala Cys Cys Ile Thr
 1 5 10 15

10

Phe Val Val

<210> 38

<211> 27

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Gly Phe Tyr Lys Gly Ile Ala Pro Asn Leu Ile Arg Val Thr Pro Ala
 1 5 10 15

Cys Cys Ile Thr Phe Val Val Tyr Glu Asn Val
 20 25

20

<210> 39

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 39

Leu Val Ala Gly Val Ser Gly Gly Val Leu Ser Asn Leu Ala Leu His
 1 5 10 15

<210> 40

<211> 26

<212> PRT

<213> Mus musculus

30

<400> 40

Tyr Glu Asn Leu Val Ala Gly Val Ser Gly Gly Val Leu Ser Asn Leu
 1 5 10 15

Ala Leu His Pro Leu Asp Leu Val Lys Ile
 20 25

<210> 41

<211> 24

<212> PRT

<213> Mus musculus

40

<400> 41

Leu Tyr Gln Gly Val Thr Pro Asn Val Trp Gly Ala Gly Leu Ser Trp
 1 5 10 15

Gly Leu Tyr Phe Phe Phe Tyr Asn
 20

<210> 42

<211> 27

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 42

Gly Leu Tyr Gln Gly Val Thr Pro Asn Val Trp Gly Ala Gly Leu Ser
 1 5 10 15

10

Trp Gly Leu Tyr Phe Phe Phe Tyr Asn Ala Ile
 20 25

<210> 43

<211> 21

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 43

Tyr Leu Val Ser Ala Ala Glu Ala Gly Ala Met Thr Leu Cys Ile Thr
 1 5 10 15

Asn Pro Leu Trp Val
 20

20

<210> 44

<211> 23

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 44

Glu Tyr Leu Val Ser Ala Ala Glu Ala Gly Ala Met Thr Leu Cys Ile
 1 5 10 15

Thr Asn Pro Leu Trp Val Thr
 20

30

<210> 45

<211> 23

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 45

Gly Leu Tyr Lys Gly Phe Val Pro Gly Leu Phe Gly Thr Ser His Gly
 1 5 10 15

Ala Leu Gln Phe Met Ala Tyr
 20

<210> 46

<211> 27

<212> PRT

40

<213> Mus musculus

<400> 46

Arg Gly Leu Tyr Lys Gly Phe Val Pro Gly Leu Phe Gly Thr Ser His
1 5 10 15

Gly Ala Leu Gln Phe Met Ala Tyr Glu Leu Leu
20 25

<210> 47

<211> 22

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 47

Ala Glu Tyr Ile Ser Val Ala Ala Leu Ser Lys Ile Phe Ala Val Ala
1 5 10 15

Ala Thr Tyr Pro Tyr Gln
20

10

<210> 48

<211> 29

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 48

Gln Leu Ser Thr Ala Glu Tyr Ile Ser Val Ala Ala Leu Ser Lys Ile
1 5 10 15

Phe Ala Val Ala Ala Thr Tyr Pro Tyr Gln Val Val Arg
20 25

20

<210> 49

<211> 19

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 49

Gly Ile Ala Pro Asn Leu Ile Arg Val Thr Pro Ala Cys Cys Ile Thr
1 5 10 15

Phe Val Val

30

<210> 50

<211> 27

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 50

Gly Phe Tyr Lys Gly Ile Ala Pro Asn Leu Ile Arg Val Thr Pro Ala
1 5 10 15

Cys Cys Ile Thr Phe Val Val Tyr Glu Asn Val
20 25

40

<210> 51

<211> 975
 <212> DNA
 <213> Danio rerio

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(972)

<400> 51

atg acc gct acc att tcc agg cag agg cac gcc gca gtc gct gca gac	48	
Met Thr Ala Thr Ile Ser Arg Gln Arg His Ala Ala Val Ala Ala Asp		
1 5 10 15		
tct tct ggc tct tct ttt tcc att aca gca aac ctc ctg caa ctt tca	96	10
Ser Ser Gly Ser Ser Phe Ser Ile Thr Ala Asn Leu Leu Gln Leu Ser		
20 25 30		
aaa cac atc aaa tat gag aat ctt gca gcc gga ctc gct ggt ggt gtt	144	
Lys His Ile Lys Tyr Glu Asn Leu Ala Ala Gly Leu Ala Gly Gly Val		
35 40 45		
att tcc aca atg gtg cta cat cca ttg gat ttg atc aaa atc agg ttt	192	
Ile Ser Thr Met Val Leu His Pro Leu Asp Leu Ile Lys Ile Arg Phe		
50 55 60		
gca gta agt gat ggt ctg aaa atg agg ccc caa tac gat ggc atg tta	240	
Ala Val Ser Asp Gly Leu Lys Met Arg Pro Gln Tyr Asp Gly Met Leu		
65 70 75 80		
gac tgc atg aag acc atc tgg aag ctg gaa ggc att aga ggt ctc tat	288	20
Asp Cys Met Lys Thr Ile Trp Lys Leu Glu Gly Ile Arg Gly Leu Tyr		
85 90 95		
cag gga gtg acg ccc aac atc tgg ggg gcc gga tca tca tgg ggc ctc	336	
Gln Gly Val Thr Pro Asn Ile Trp Gly Ala Gly Ser Ser Trp Gly Leu		
100 105 110		
tac ttc ctc ttt tat aat gct att aaa gca tac aca cag gag gga cgg	384	
Tyr Phe Leu Phe Tyr Asn Ala Ile Lys Ala Tyr Thr Gln Glu Gly Arg		
115 120 125		
caa aca gag ctg agt gca tgt gaa cac ctg gtg tcc gca gcg gag gca	432	
Gln Thr Glu Leu Ser Ala Cys Glu His Leu Val Ser Ala Ala Glu Ala		
130 135 140		
ggc att ctg acg ctt tgc ctc acc aat cca gtc tgg gtg aca aag acc	480	30
Gly Ile Leu Thr Leu Cys Leu Thr Asn Pro Val Trp Val Thr Lys Thr		
145 150 155 160		
cgg ctg gtg ctg cag tac aat gca gac cct tca cgg aag cag tac aag	528	
Arg Leu Val Leu Gln Tyr Asn Ala Asp Pro Ser Arg Lys Gln Tyr Lys		
165 170 175		
gga atg atg gac gcc ctc gtg aaa ata tac cgt cac gag ggt atc cca	576	
Gly Met Met Asp Ala Leu Val Lys Ile Tyr Arg His Glu Gly Ile Pro		
180 185 190		
gga cta tac agg ggt ttt gtg cct ggg ctg gtc ggg act tcc cat gct	624	
Gly Leu Tyr Arg Gly Phe Val Pro Gly Leu Val Gly Thr Ser His Ala		
195 200 205		
gca ctg cag ttc atg acc tat gaa ggg cta aaa aga gag cag aac aaa	672	40
Ala Leu Gln Phe Met Thr Tyr Glu Gly Leu Lys Arg Glu Gln Asn Lys		

210	215	220	
tgc aag aag atg ccc tct gaa tcc ctg ctg tcc cca ttg gaa tac atc			720
Cys Lys Lys Met Pro Ser Glu Ser Leu Leu Ser Pro Leu Glu Tyr Ile			
225	230	235	240
gcc ata gca gcc ata tcc aaa ata ttc gct gta gca gta aca tac ccc			768
Ala Ile Ala Ala Ile Ser Lys Ile Phe Ala Val Ala Val Thr Tyr Pro			
	245	250	255
tat cag gtg gtc cgc gct cgc ctg cag gac cag cac aac aac tac agt			816
Tyr Gln Val Val Arg Ala Arg Leu Gln Asp Gln His Asn Asn Tyr Ser			
	260	265	270
gga ata gtg gat gtc atg aga agg acc tgg agc aac gaa ggg gtg gag			864
Gly Ile Val Asp Val Met Arg Arg Thr Trp Ser Asn Glu Gly Val Glu			
	275	280	285
ggc ttt tac aaa ggg atg gtg cca aac ctg gtc cga gtc att cct gcg			912
Gly Phe Tyr Lys Gly Met Val Pro Asn Leu Val Arg Val Ile Pro Ala			
	290	295	300
tgc tgc atc acc ttc ctg gtg ttc gaa aat gtg tca cgc ttg ctt ttg			960
Cys Cys Ile Thr Phe Leu Val Phe Glu Asn Val Ser Arg Leu Leu Leu			
305	310	315	320
ggc gag tat cac taa			975
Gly Glu Tyr His			
<210> 52			20
<211> 324			
<212> PRT			
<213> Danio rerio			
<400> 52			
Met Thr Ala Thr Ile Ser Arg Gln Arg His Ala Ala Val Ala Ala Asp			
1	5	10	15
Ser Ser Gly Ser Ser Phe Ser Ile Thr Ala Asn Leu Leu Gln Leu Ser			
	20	25	30
Lys His Ile Lys Tyr Glu Asn Leu Ala Ala Gly Leu Ala Gly Gly Val			
	35	40	45
Ile Ser Thr Met Val Leu His Pro Leu Asp Leu Ile Lys Ile Arg Phe			30
	50	55	60
Ala Val Ser Asp Gly Leu Lys Met Arg Pro Gln Tyr Asp Gly Met Leu			
	65	70	75
Asp Cys Met Lys Thr Ile Trp Lys Leu Glu Gly Ile Arg Gly Leu Tyr			
	85	90	95
Gln Gly Val Thr Pro Asn Ile Trp Gly Ala Gly Ser Ser Trp Gly Leu			
	100	105	110
Tyr Phe Leu Phe Tyr Asn Ala Ile Lys Ala Tyr Thr Gln Glu Gly Arg			
	115	120	125
Gln Thr Glu Leu Ser Ala Cys Glu His Leu Val Ser Ala Ala Glu Ala			40
	130	135	140

Gly Ile Leu Thr Leu Cys Leu Thr Asn Pro Val Trp Val Thr Lys Thr
 145 150 155 160

Arg Leu Val Leu Gln Tyr Asn Ala Asp Pro Ser Arg Lys Gln Tyr Lys
 165 170 175

Gly Met Met Asp Ala Leu Val Lys Ile Tyr Arg His Glu Gly Ile Pro
 180 185 190

Gly Leu Tyr Arg Gly Phe Val Pro Gly Leu Val Gly Thr Ser His Ala
 195 200 205

Ala Leu Gln Phe Met Thr Tyr Glu Gly Leu Lys Arg Glu Gln Asn Lys
 210 215 220

Cys Lys Lys Met Pro Ser Glu Ser Leu Leu Ser Pro Leu Glu Tyr Ile
 225 230 235 240

Ala Ile Ala Ala Ile Ser Lys Ile Phe Ala Val Ala Val Thr Tyr Pro
 245 250 255

Tyr Gln Val Val Arg Ala Arg Leu Gln Asp Gln His Asn Asn Tyr Ser
 260 265 270

Gly Ile Val Asp Val Met Arg Arg Thr Trp Ser Asn Glu Gly Val Glu
 275 280 285

Gly Phe Tyr Lys Gly Met Val Pro Asn Leu Val Arg Val Ile Pro Ala
 290 295 300

Cys Cys Ile Thr Phe Leu Val Phe Glu Asn Val Ser Arg Leu Leu Leu
 305 310 315 320

Gly Glu Tyr His

10

20

<210> 53
 <211> 969
 <212> DNA
 <213> Drosophila melanogaster

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(969)

30

<400> 53
 atg aat ccg atc aag gca cag tca acg ggc agt ccc aag aaa ttc aac 48
 Met Asn Pro Ile Lys Ala Gln Ser Thr Gly Ser Pro Lys Lys Phe Asn
 1 5 10 15

gta ttc gca cac gtc aag tac gag cat ttg gtt gcc gga gta tcc ggc 96
 Val Phe Ala His Val Lys Tyr Glu His Leu Val Ala Gly Val Ser Gly
 20 25 30

gga gtg gtg tcc aca ctc att cta cat ccc ctg gat ttg atc aag att 144
 Gly Val Val Ser Thr Leu Ile Leu His Pro Leu Asp Leu Ile Lys Ile
 35 40 45

cga ttc gca gtt aac gat ggc cgg aca gct acg gtg ccg caa tac cgg 192
 Arg Phe Ala Val Asn Asp Gly Arg Thr Ala Thr Val Pro Gln Tyr Arg
 50 55 60

40

gga ctg agc agc gcc ttc acc acg att ttc cgg caa gag ggc ttc cgc	240
Gly Leu Ser Ser Ala Phe Thr Thr Ile Phe Arg Gln Glu Gly Phe Arg	
65 70 75 80	
gga ctc tac aaa ggc gtc acc ccc aat gtc tgg gga tgc ggc tcc tct	288
Gly Leu Tyr Lys Gly Val Thr Pro Asn Val Trp Gly Ser Gly Ser Ser	
85 90 95	
tgg ggc ctg tac ttc atg ttc tac aac acc att aag aca ttt atc caa	336
Trp Gly Leu Tyr Phe Met Phe Tyr Asn Thr Ile Lys Thr Phe Ile Gln	
100 105 110	
gga gga aac acg acc atg cca ttg ggc ccc aca atg aac atg ctt gca	384
Gly Gly Asn Thr Thr Met Pro Leu Gly Pro Thr Met Asn Met Leu Ala	
115 120 125	10
gct gct gag tgc gga att ctc acc ctg ctg ctg acc aac ccc atc tgg	432
Ala Ala Glu Ser Gly Ile Leu Thr Leu Leu Leu Thr Asn Pro Ile Trp	
130 135 140	
gtg gtg aag acg cgt ctc tgc ctg cag tgc gat gcc gcg agt agt gcc	480
Val Val Lys Thr Arg Leu Cys Leu Gln Cys Asp Ala Ala Ser Ser Ala	
145 150 155 160	
gag tac agg ggc atg atc cac gcc ttg ggc cag ata tac aag gag gag	528
Glu Tyr Arg Gly Met Ile His Ala Leu Gly Gln Ile Tyr Lys Glu Glu	
165 170 175	
gga atc cgt ggc ctg tac cgc gcc ttt gtt ccc gcc atg ttg ggc gtc	576
Gly Ile Arg Gly Leu Tyr Arg Gly Phe Val Pro Gly Met Leu Gly Val	
180 185 190	20
tcc cac gga gcc atc cag ttc atg acc tac gag gag ctg aag aac gcc	624
Ser His Gly Ala Ile Gln Phe Met Thr Tyr Glu Glu Leu Lys Asn Ala	
195 200 205	
tac aac gaa tat cgc aaa ctg ccc atc gac acg aag ctg gcc acc acc	672
Tyr Asn Glu Tyr Arg Lys Leu Pro Ile Asp Thr Lys Leu Ala Thr Thr	
210 215 220	
gag tac ttg gcc ttc gcg gct gtc tcc aag ctg atc gca gcg gcg gcc	720
Glu Tyr Leu Ala Phe Ala Ala Val Ser Lys Leu Ile Ala Ala Ala Ala	
225 230 235 240	
acc tac ccg tac cag gtg gtc cgg gca cgg ctg cag gac cac cat cac	768
Thr Tyr Pro Tyr Gln Val Val Arg Ala Arg Leu Gln Asp His His His	
245 250 255	30
cga tac aac ggc acc tgg gac tgc atc aaa cag act tgg agg ttt gag	816
Arg Tyr Asn Gly Thr Trp Asp Cys Ile Lys Gln Thr Trp Arg Phe Glu	
260 265 270	
ggc tac aga ggc ttc tac aag ggg ctg aag gcg agt tta acc cga gta	864
Gly Tyr Arg Gly Phe Tyr Lys Gly Leu Lys Ala Ser Leu Thr Arg Val	
275 280 285	
gtg cct gcc tgc atg gtc acc ttt ctg gtg tac gag aac gtc tgc cat	912
Val Pro Ala Cys Met Val Thr Phe Leu Val Tyr Glu Asn Val Ser His	
290 295 300	
ttc ctg ctc gcc agg cgg aag cga att gag act aaa gag gat gcg tgc	960
Phe Leu Leu Ala Arg Arg Lys Arg Ile Glu Thr Lys Glu Asp Ala Ser	
	40

305 310 315 320

gac gtg tga
Asp Val

969

<210> 54
<211> 322
<212> PRT
<213> Drosophila melanogaster

<400> 54
Met Asn Pro Ile Lys Ala Gln Ser Thr Gly Ser Pro Lys Lys Phe Asn
1 5 10 15
Val Phe Ala His Val Lys Tyr Glu His Leu Val Ala Gly Val Ser Gly
20 25 30
Gly Val Val Ser Thr Leu Ile Leu His Pro Leu Asp Leu Ile Lys Ile
35 40 45
Arg Phe Ala Val Asn Asp Gly Arg Thr Ala Thr Val Pro Gln Tyr Arg
50 55 60
Gly Leu Ser Ser Ala Phe Thr Thr Ile Phe Arg Gln Glu Gly Phe Arg
65 70 75 80
Gly Leu Tyr Lys Gly Val Thr Pro Asn Val Trp Gly Ser Gly Ser Ser
85 90 95
Trp Gly Leu Tyr Phe Met Phe Tyr Asn Thr Ile Lys Thr Phe Ile Gln
100 105 110
Gly Gly Asn Thr Thr Met Pro Leu Gly Pro Thr Met Asn Met Leu Ala
115 120 125
Ala Ala Glu Ser Gly Ile Leu Thr Leu Leu Leu Thr Asn Pro Ile Trp
130 135 140
Val Val Lys Thr Arg Leu Cys Leu Gln Cys Asp Ala Ala Ser Ser Ala
145 150 155 160
Glu Tyr Arg Gly Met Ile His Ala Leu Gly Gln Ile Tyr Lys Glu Glu
165 170 175
Gly Ile Arg Gly Leu Tyr Arg Gly Phe Val Pro Gly Met Leu Gly Val
180 185 190
Ser His Gly Ala Ile Gln Phe Met Thr Tyr Glu Glu Leu Lys Asn Ala
195 200 205
Tyr Asn Glu Tyr Arg Lys Leu Pro Ile Asp Thr Lys Leu Ala Thr Thr
210 215 220
Glu Tyr Leu Ala Phe Ala Ala Val Ser Lys Leu Ile Ala Ala Ala Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Pro Tyr Gln Val Val Arg Ala Arg Leu Gln Asp His His His
245 250 255
Arg Tyr Asn Gly Thr Trp Asp Cys Ile Lys Gln Thr Trp Arg Phe Glu
260 265 270
Gly Tyr Arg Gly Phe Tyr Lys Gly Leu Lys Ala Ser Leu Thr Arg Val
275 280 285
Val Pro Ala Cys Met Val Thr Phe Leu Val Tyr Glu Asn Val Ser His
290 295 300
Phe Leu Leu Ala Arg Arg Lys Arg Ile Glu Thr Lys Glu Asp Ala Ser
305 310 315 320
Asp Val

10

20

30

<210> 55
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

40

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: PCR primers

<400> 55 atggactacg gggactttat caa	23	
<210> 56 <211> 21 <212> DNA <213> Artificial Sequence		
<220> <223> Description of Artificial Sequence: PCR primers		
<400> 56 accgacgcct tctttccaac t	21	10
<210> 57 <211> 18 <212> DNA <213> Artificial Sequence		
<220> <223> Description of Artificial Sequence: PCR primers		
<400> 57 ggcggccact acatcacg	18	
<210> 58 <211> 20 <212> DNA <213> Artificial Sequence		20
<220> <223> Description of Artificial Sequence: PCR primers		
<400> 58 tgctcaaga acatagactg	20	
<210> 59 <211> 30 <212> DNA <213> Artificial Sequence		
<220> <223> Description of Artificial Sequence: PCR primers		30
<400> 59 atgaccgcta ccatttccag gcagaggcac	30	
<210> 60 <211> 30 <212> DNA <213> Artificial Sequence		
<220> <223> Description of Artificial Sequence: PCR primers		
<400> 60 ttagtgatac tcgccccaaa gcaagcgtga	30	40

<210> 61
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Drosophila melanogaster

<400> 61
 Phe Tyr Lys Gly Leu Lys Ala Ser Leu Thr Arg Val Val Pro Ala Cys
 1 5 10 15
 Met Val Thr Phe Leu Val
 20

<210> 62
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Drosophila melanogaster

10

<400> 62
 Gly Phe Tyr Lys Gly Leu Lys Ala Ser Leu Thr Arg Val Val Pro Ala
 1 5 10 15
 Cys Met Val Thr Phe Leu Val Tyr
 20

<210> 63
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: mSOUP gene
 specific primer

<400> 63
 ggcggccact acatcacg 18

<210> 64
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: mSOUP gene
 specific primer

30

<400> 64
 ctacttgcca tcacgtcct thtagtcgct cactttcttt tctct 45

<210> 65
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: mSOUP gene
 specific primer

<400> 65
ctctgtcgca gcgctatcc

19

<210> 66
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: mSOUP gene
specific primer

<400> 66
gaaggcgggc tctcacaac

19

10

<210> 67
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: mSOUP gene
specific primer

<400> 67
aatatttgcc gtagcagcaa cataccgt

29

<210> 68
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

20

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: synthetic
peptide

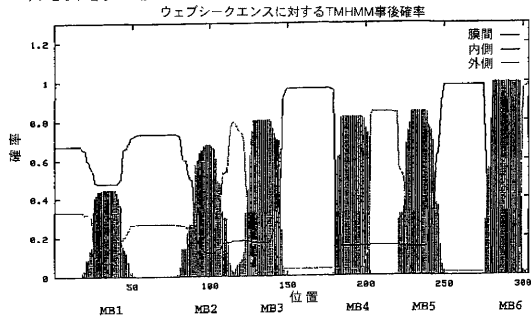
<400> 68
Cys Tyr Glu Asn Val Ser His Phe Leu Tyr Asp Leu Arg Glu Lys Lys
1 5 10 15

Val Ser

【図4a】

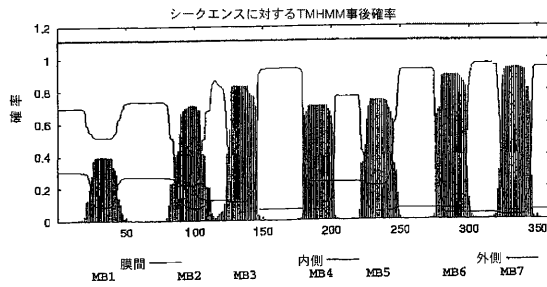
SOUP1タンパク質の膜貫通ドメインプロット: J.Glasgowら、Proc.Sixth Int. Conf. on Intelligent Systems for Molecular Biology. 175-182, AAAI Press, 1998に従って算定した。

4a) ショウジョウバエSOUP1



【図4b】

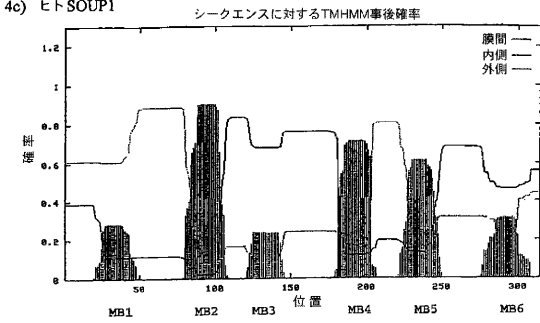
4b) ショウジョウバエ SOUP1-CG8026



【図4c】

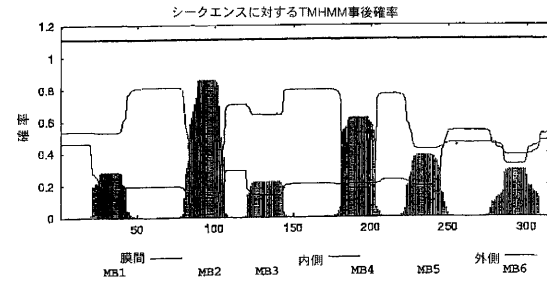
【図4c】

4c) ヒトSOUP1

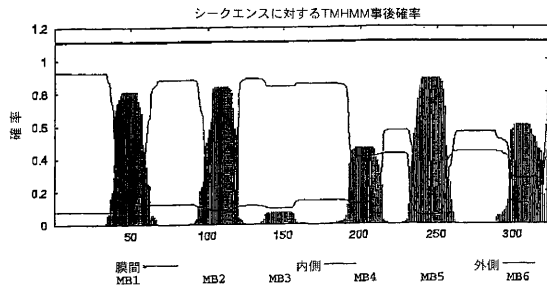


【図4d】

4d) マウスSOUP1



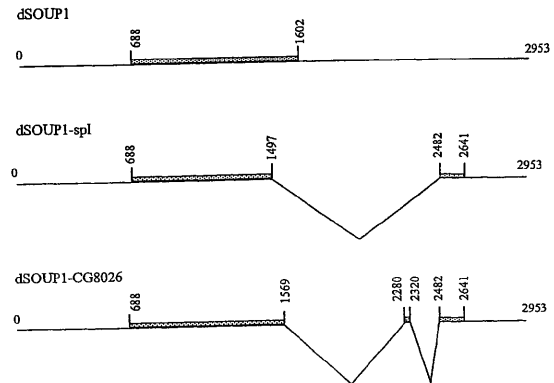
4e) ゼブラフィッシュ SOUP1



【図5a】

種々のショウジョウバエ SOUP1 変異体の比較

dSOUP スプライス変異体



asoup1のスプライシング。ヌクレオチドの番号付けはSEQ ID No:6の配列に関する。スプライス変異型 dSOUP1 および asoup1-spl において、第6膜貫通ドメインが異なっている。スプライス変異型 dSOUP1-CG8026 は7つの膜貫通ドメインを有するタンパク質を生成する。

【 図 5 b 】

dsOUP1 中の膜貫通ドメイン

dsOUP 中 MB-1		
最少	26-41	LVAGVSGGVVSTLILH
最大	21-48	VKYEHLVAGVSGGVVSTLILHPLDLIKI
dsOUP 中 MB-2		
最少	85-107	GVTPNVWGSWGLYFMFYNTI
最大	81-111	GLYKGVTPNVWGSWGLYFMFYNTIKTFI
dsOUP 中 MB-3		
最少	124-146	MNMLAAESGILTLTLLTNPIWVV
最大	121-147	GPTMNMMLAAESGILTLTLLTNPIWVVK
dsOUP 中 MB-4		
最少	180-202	GLYRGFVPGMLGVSHGAIQFMTY
最大	179-203	RGLYRGFVPGMLGVSHGAIQFMTYE
dsOUP 中 MB-5		
最少	225-245	EYLAFAAVSKLIAAAATYPYQ
最大	221-248	LATTEYLAFAAVSKLIAAAATYPYQVVR
dsOUP 中 MB-6		
最少	277-298	FYKGLVPYLVHVTPNICMVMLI
最大	276-299	GFYKGLVPYLVHVTPNICMVMLIIV

【 図 5 c 】

dsOUP1-spl 中の膜貫通ドメイン

dsOUP-spl 中 MB-1		
最少	26-41	LVAGVSGGVVSTLILH
最大	21-48	VKYEHLVAGVSGGVVSTLILHPLDLIKI
dsOUP-spl 中 MB-2		
最少	85-107	GVTPNVWGSWGLYFMFYNTI
最大	81-111	GLYKGVTPNVWGSWGLYFMFYNTIKTFI
dsOUP-spl 中 MB-3		
最少	124-146	MNMLAAESGILTLTLLTNPIWVV
最大	121-147	GPTMNMMLAAESGILTLTLLTNPIWVVK
dsOUP-spl 中 MB-4		
最少	180-202	GLYRGFVPGMLGVSHGAIQFMTY
最大	179-203	RGLYRGFVPGMLGVSHGAIQFMTYE
dsOUP-spl 中 MB-5		
最少	225-245	EYLAFAAVSKLIAAAATYPYQ
最大	221-248	LATTEYLAFAAVSKLIAAAATYPYQVVR
dsOUP-spl 中 MB-6		
最少	277-298	FYKGLKASLTRVVPACMVTFVLV
最大	276-299	GFYKGLKASLTRVVPACMVTFLVY

【 図 5 d 】

dsOUP1-CG8026 中の膜貫通ドメイン

CG8026 中 MB-1		
最少	26-41	LVAGVSGGVVSTLILH
最大	21-48	VKYEHLVAGVSGGVVSTLILHPLDLIKI
CG8026 中 MB-2		
最少	85-107	GVTPNVWGSWGLYFMFYNTI
最大	81-111	GLYKGVTPNVWGSWGLYFMFYNTIKTFI
CG8026 中 MB-3		
最少	124-146	MNMLAAESGILTLTLLTNPIWVV
最大	121-147	GPTMNMMLAAESGILTLTLLTNPIWVVK
CG8026 中 MB-4		
最少	180-202	GLYRGFVPGMLGVSHGAIQFMTY
最大	179-203	RGLYRGFVPGMLGVSHGAIQFMTYE
CG8026 中 MB-5		
最少	225-245	EYLAFAAVSKLIAAAATYPYQ
最大	221-248	LATTEYLAFAAVSKLIAAAATYPYQVVR
CG8026 中 MB-6		
最少	277-299	FYKGLVPYLVHVTPNICMPASFH
最大	276-300	GFYKGLVPYLVHVTPNICMPASFHL
CG8026 中 MB-7		
最少	323-345	LTRVVPACMVTFVYENVSHFLL
最大	321-346	ASLTRVVPACMVTFVYENVSHFLLA

【 図 5 e 】

hSOUP1 中の膜貫通ドメイン

MB-1		
最少	26-41	LIAGVSGGVLSNLALH
最大	23-48	YENLIAGVSGGVLSNLALHPLDLVKI
MB-2		
最少	81-104	LYQGVTPNIWGAGLSWGLYFFFYN
最大	80-106	GLYQGVTPNIWGAGLSWGLYFFFYNAI
MB-3		
最少	123-143	YLVSAAEAGAMTLCITNPLWV
最大	122-144	EYLVSAAEAGAMTLCITNPLWVT
MB-4		
最少	181-203	GLYKGFVPGFGLTSHGALQFMAY
最大	180-206	RGLYKGFVPGFGLTSHGALQFMAYELL
MB-5		
最少	225-246	VEYISVAALSKIFAVAATYPYQ
最大	221-249	QLSTVEYISVAALSKIFAVAATYPYQVVR
MB-6		
最少	281-299	GIAPNLRVTPACCTIFVV
最大	277-303	GFYKGIAPNLRVTPACCTIFVVYENV

【 図 5 f 】

mSOUP1 中の膜貫通ドメイン

MB-1	26-41	LVAGVSGGVLNLALH
最少	23-48	YENLVAGVSGGVLNLALHPLDLVKI
MB-2	81-104	LYQGVTNPVWVWAGLSWGLYFFFYN
最少	80-106	GLYQVGTNPVWVWAGLSWGLYFFFYNAI
MB-3	123-143	YLVSAEEAGAMTLCITNPLWV
最少	122-144	EYLVSAEEAGAMTLCITNPLWVT
MB-4	181-203	GLYKGFVPLFGTSHGALQFMAY
最少	180-206	RGLYKGFVPLFGTSHGALQFMAYELL
MB-5	225-246	AEYISVAALSKIFAVAATYPYQ
最少	221-249	QLSTA EYISVAALSKIFAVAATYPYQVVR
MB-6	281-299	GIAPNLRVTPACCTIFVV
最少	277-303	GFYKGIAPNLRVTPACCTIFVVYENV

【 図 6 】

ヒト SOUP1

オープンリーディングフレーム (SEQ ID No. 9)

```
ATGACGGCCAGGCGCAGTCCGGGTCGCGGAGCAGCGGTTATCCGCGAGTCCGGTATGAGCAACC
TGATAGCGGCGTGAACCGCGGCTTTATCACTATCCGCTGCAACCGCTCGACTCGGAGATGCTCCGCTCC
CGTGAAGATGCGATTCGACCTGAGCGCAATAATATGATGATTTACATTCGCTGACTACCATTTGGAACCTGAT
GGACTAGCGGACTTATACAGGAGTAAACCAAAATATGGGGTCCGAGGTTTATCCTGGGACTCTACTTTTCT
TTTACATGCCCAAGTATATAAACAAGAGGAGAGCGAAGCTTTAGAGCAACAGATATCTTCTGCTCAGC
TGCTGAAGCTGGAGCATGACCTCTGCATTAACAACCACTATGAGTACAAAACCTGCTTATGTTACAGTAT
GATGCTGTTGTTAATCCCAACCCGAAATATAAGAAAGATTTATCACTGTAAGAAATATAGTATGAG
GTGTGCTGATATATAAGGATTTCTCCGCGGCTTTPGGAACATCCGACCGGCGCTTCACTTATGAGCAT
TGAATCTCGATGAGTGAAGTCAACCGCAATATCATAGATACAGAAAGCCAGTTGAGCAGATGATATATA
TCGTGTCCAGCATATCCAAATATTTGCTGCGAGCAACATACCCATATCAAGTGTAGAGCTGCTCTCAGG
ATCACACATGTTTTACAGTGGTAAATAGATATATCAAAAGACATGGAGAAAGAGGCGCTCGTGGATTTTA
CAAGGAAATGCTCTAATTTGATGAGAGTACCTCCGCGCTGATATACCTTTGCGTATGAAAGGCTCTCA
CATTTTTACTTGACCTTAGAAAAGAGAGTAA
```

演繹アミノ酸配列 (SEQ ID No. 10)

```
MTGCGSAGSSNSTVFRVRYENLVAGVSGGVLNLALHPLDLVKIRFAVSDGLELRPKYNGLLHCLATTWKLDL
GLRKYGVTFNINWAGLSWGLYFFFYNAISKYEYRERAELELYLVSAEEAGAMTLCITNPLWVTRMLQY
DAVNSPHRQYKGFMDLVKIKYKSVRGLYKGFVPLFGTSHGALQFMAYELLKLYNHINRLEPAQLSTVEYI
SVAALSKIFAVAATYPYQVVRARLQDQHFVSGVLDVITKTRKEGIGGPFYKGIAPNLRVTPACCTIFVVYENV
HLLDLREKRR.
```

【 図 9 】

ダニオレオ SOUP1

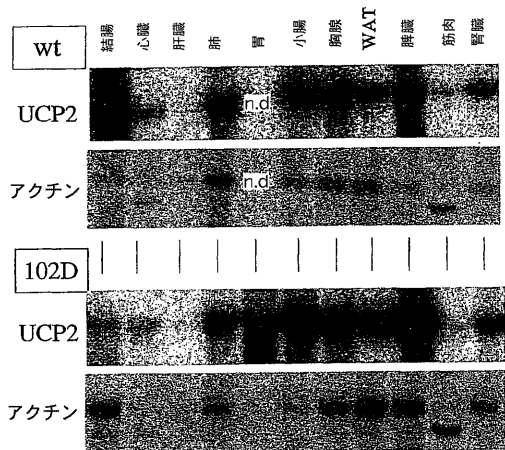
オープンリーディングフレーム (SEQ ID 51)

```
ATGACCCCTACCAATTTCCAGCAGGCGAGCGCGAGTCCGCTGAGACTCTCTGGCTCTCTTTTCCCATACAGCAA
ACCTCTCTCAACTTTCAAAACCAATATGAGAATCTTGCAGCCGCACTGCTGGTGTZATTTCACAAATGGT
GCTACATCTATGATTTGATCAAAACCGTGTTCAGATGATGCTTGAATAAGGCGCCAAAGAGCGGCAAG
TTAGACTCCATGAGAGACATCTGGAAGCTGAAGGCAATGAGGCTCTTAACAGGAGTACAGCCCAACAGTGGGGG
CCGGATCATATGAGGCGCTCTACTCTCTCTTATTAAGTATTAAGCATAACACAGAGGAGGAGCCAGCAAGGACT
GAGTGCATGTAAACACCTGGTTCGCGAGCGAGCGGCACTTCTGCGCTTTCCTCACCATCCAGTCTGGGAGCA
AAGACCCGCGTGTGCTGCTGATCAATCCAGCCCTTCCAGGACTATACAGGGGTTTTGTGCTGGCGTCTCCCAATGCTGCA
FAECCCTCACAGGAGTATCCAGGACTATACAGGGGTTTTGTGCTGGCGTCTCCCAATGCTGCACTGCA
FTCTATGACTATGAAAGGCTATGAAAGAGAGAGAAACAAATGCGAAGAGAGAGGCTCTGAAATCCCTGCTGCTGCTG
GATACATCCCATAGCAGCCATCCAAATATTCGCTGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG
TCCAGAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG
TTTACAAAGGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG
CGCTGCTTGGCGAGTATCACTAA
```

演繹アミノ酸配列 (SEQ ID 52)

```
MTATISRQRHANVAADSSGSSFSITANLLQLSKHKYENLVAGVSGGVLNLALHPLDLVKIRFAVSDGLELRPKYDGM
LDCMFTWLDLGLRGLYQVTPNINWAGSSWGLYFFFYNAISKYEYRERAELELYLVSAEEAGAMTLCITNPLWVTRMLQY
KTRVLVQNDIFSRKQYKGFMDLVKIKYKSVRGLYKGFVPLFGTSHGALQFMAYELLKLYNHINRLEPAQLSTVEYI
ETIAIAISKIFAVAATYPYQVVRARLQDQHFVSGVLDVITKTRKEGIGGPFYKGIAPNLRVTPACCTIFVVYENV
RLLLGEH.
```

【 図 10 a 】



【 図 7 】

マウス SOUP1

オープンリーディングフレーム (SEQ ID No 11)

```
ATGACAGCCAGGCGCAGTCCGGGTCGCGGAGCAGCGGTTATCCGCGAGTCCGGTATGAGCAACC
GGCTGGCTGAGTGGCGGGGCTTGTCCAACTGGGCGCTGACCCCGCTGACCTCTGTAAGATCCGCTTGGCGAGTG
ATGACATGGAAGTAAAGACAAAATATAGAGAAATTTGCAATGCTTGGCTACATTTGGAATTTGAGAGTAAAGGA
CTTTATCAAGAGTAAACCGAAATGTTGGGGTCCGTTATCTGGGAGCTCACTCTTTCTTTTACAGCCATCAA
ATCTGTAAGACAGGAGGAGAGGCTGAAAGCTTAGAGCCATGAGAGCCCTGCTCTGCTGAGTGAAGCCATGAA
CTCTGTCATTAACAACCCATATGGGTGACAAAACCTGCTTATGTTACAAATAGTGTGTTGCTAGCCCTCACAG
AGACAGATAAAGAAATGTTGATGCACTTTGTAATAATATGAAAGTGTGAGTGTGATTAACAGGGATTTGTT
CCCTGGGCGTFFGGAACAPACATGTTGCTTCAATTTTGGCAATGAGTGTGCTTAACTGAGTGAAGTAAAGAA
TCAATGAPTTACCGGAGCCCGCTGCTGACAGGAACTATCTGTCGACCCCTATCCAAATATTTGCGGTAGCA
CGAACAATCCCTGATCAGTGTGAGAGCCCGCTTCCAGGATCCGATCTTATGATGAGTAAACAGAGATGATCAC
AAAGCCTGGGAAAGAGGCAATGAGTGGATTTTACAAAGAAATGCCCCAATCTGATGAGAGTACCCAGGCTGCT
GCATCACTTTGCTGTTATGAAATGCTCTCACTTTTATGATGACTTATGAGAAAAGAGTGGGCTAA
```

演繹アミノ酸配列 (SEQ ID No. 12)

```
MTGCGSAGSAAANSVFRVRYENLVAGVSGGVLNLALHPLDLVKIRFAVSDGLELRPKYKGLLHCLATTWKVDLGG
LYQVTFNINWAGLSWGLYFFFYNAISKYEYRERAELELYLVSAEEAGAMTLCITNPLWVTRMLQYGVVAFSPQ
RQYKMFMDLVKIKYKSVRGLYKGFVPLFGTSHGALQFMAYELLKLYNHINRLEPAQLSTVEYISVAALSKIFA
VAATYPYQVVRARLQDQHFVSGVLDVITKTRKEGIGGPFYKGIAPNLRVTPACCTIFVVYENVHSHFLDLREKRV.
```

【 図 8 】

代替マウス gene 6i

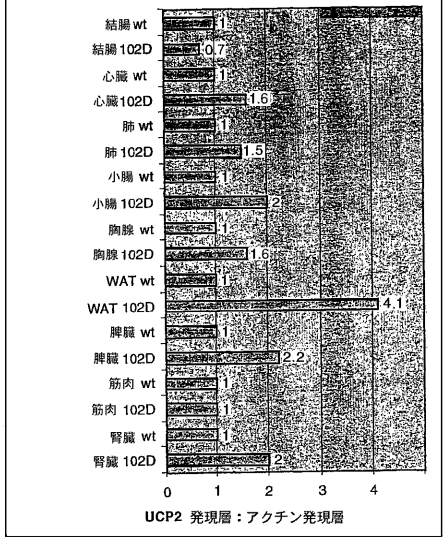
オープンリーディングフレーム (SEQ ID 13)

```
ATGACAGCCAGGCGCAGTCCGGGTCGCGGAGCAGCGGTTATCCGCGAGTCCGGTATGAGCAACC
GGCTGGCTGAGTGGCGGGGCTTGTCCAACTGGGCGCTGACCCCGCTGACCTCTGTAAGATCCGCTTGGCGAGTG
ATGACATGGAAGTAAAGACAAAATATAGAGAAATTTGCAATGCTTGGCTACATTTGGAAGTGAAGCCATGAA
CTTTATCAAGAGTAAACCGAAATGTTGGGGTCCGCTTATCCCTGGGACTCTACTTTTCTTTTACATGCAACA
ATGCTATAAGCAGAGGAGAGGCTGAAAGCTTAGAGCCATTAAGTACCTTCTGCTGCGCTGAGAGCTGAGCGAGCA
CTCTGTGCAATTAACAACCCATATGAGTGAAGAACTGCGCTTATGTTACAGTAT
AGACAGTATAAAGAAATGTTGATGCACTTTGTAATAATATGAAAGTGTGAGTGTGATTAACAGGGATTTGTT
CCCTGGGCGTFFGGAACAPACATGTTGCTTCAATTTTGGCAATGAGTGTGCTTAACTGAGTGAAGTAAAGAA
TCAATGAPTTACCGGAGCCCGCTGCTGACAGGAACTATCTGTCGACCCCTATCCAAATATTTGCGGTAGCA
CGAACAATCCCTGATCAGTGTGAGAGCCCGCTTCCAGGATCCGATCTTATGATGAGTAAACAGAGATGATCAC
AAAGCCTGGGAAAGAGGCAATGAGTGGATTTTACAAAGAAATGCCCCAATCTGATGAGAGTACCCAGGCTGCT
GCATCACTTTGCTGTTATGAAATGCTCTCACTTTTATGATGACTTATGAGAAAAGAGTGGGCTAA
```

演繹アミノ酸配列 (SEQ ID 14)

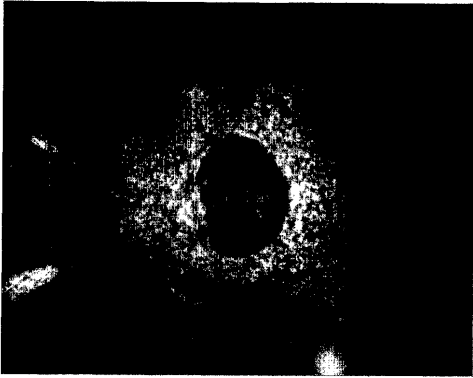
```
MTGCGSAGSAAANSVFRVRYENLVAGVSGGVLNLALHPLDLVKIRFAVSDGLELRPKYKGLLHCLATTWKVDLGG
LYQVTFNINWAGLSWGLYFFFYNAISKYEYRERAELELYLVSAEEAGAMTLCITNPLWVTRMLQYGVVAFSPQ
RQYKMFMDLVKIKYKSVRGLYKGFVPLFGTSHGALQFMAYELLKLYNHINRLEPAQLSTVEYISVAALSKIFA
VAATYPYQVVRARLQDQHFVSGVLDVITKTRKEGIGGPFYKGIAPNLRVTPACCTIFVVYENVHSHFLDLREKRV.
```

【 図 10 b 】



【 1 1】

Figure 11



フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		
A 6 1 P 1/18	(2006.01)	A 6 1 K	48/00	
A 6 1 P 3/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/18	
A 6 1 P 3/06	(2006.01)	A 6 1 P	3/04	
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 P	3/06	
C 0 7 K 14/435	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
C 0 7 K 14/47	(2006.01)	C 0 7 K	14/435	
C 0 7 K 16/18	(2006.01)	C 0 7 K	14/47	
C 0 7 K 19/00	(2006.01)	C 0 7 K	16/18	
C 1 2 N 1/15	(2006.01)	C 0 7 K	19/00	
C 1 2 N 1/19	(2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N 1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N 5/10	(2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N 5/06	(2006.01)	C 1 2 N	5/00	A
A 0 1 K 67/027	(2006.01)	C 1 2 N	5/00	B
A 0 1 K 67/033	(2006.01)	C 1 2 N	5/00	E
C 1 2 P 21/02	(2006.01)	A 0 1 K	67/027	
C 1 2 Q 1/02	(2006.01)	A 0 1 K	67/033	5 0 1
C 1 2 Q 1/68	(2006.01)	C 1 2 P	21/02	C
G 0 1 N 33/15	(2006.01)	C 1 2 Q	1/02	
G 0 1 N 33/50	(2006.01)	C 1 2 Q	1/68	A
G 0 1 N 33/53	(2006.01)	G 0 1 N	33/15	Z
G 0 1 N 33/566	(2006.01)	G 0 1 N	33/50	Z
		G 0 1 N	33/53	D
		G 0 1 N	33/566	

(74)代理人 230100044

弁護士 ラインハルト・アインゼル

(72)発明者 アルント シュトイヤーナーゲル

ドイツ連邦共和国 ゲットィンゲン アム キルシュベルゲ 4

(72)発明者 ギュンター プレンナー

ドイツ連邦共和国 ゲットィンゲン シュプリングシュトラッセ 5 4

(72)発明者 コルト ドールマン

ドイツ連邦共和国 ゲットィンゲン アム メンツェルベルク 8

(72)発明者 トーマス チオゼック

ドイツ連邦共和国 ゲットィンゲン キースゼーシュトラッセ 4 9 アー

(72)発明者 ローラント ヴェーア

ドイツ連邦共和国 ゲットィンゲン ルートヴィヒ - ベック - シュトラッセ 1 7

(72)発明者 ベッティーナ ルドルフ

ドイツ連邦共和国 ハノーファー ベデッカーシュトラッセ 2 9

(72)発明者 ドロテア ルドルフ

ドイツ連邦共和国 ゲットィンゲン シラーシュトラッセ 4 0

審査官 六笠 紀子

(56)参考文献 J.Biol.Chem., (in press, Sep. 2000) 275, 47, p.36811-36817

(58)調査した分野(Int.Cl., D B名)

C12N 15/00-15/90

PubMed

BIOSIS/WPI (DIALOG)

JSTPlus(JDreamII)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

专利名称(译)	生物代谢的改变		
公开(公告)号	JP4375960B2	公开(公告)日	2009-12-02
申请号	JP2002545160	申请日	2001-11-23
[标]申请(专利权)人(译)	德根的Vero毛皮股份公司进入维克Rungu扫描比奥低GI“外壳文件夹格哈德环		
申请(专利权)人(译)	Deverogen股份公司进入毛皮维克Rungu扫描比奥低GI“切斯Forushungu		
当前申请(专利权)人(译)	Deverogen股份公司进入毛皮维克Rungu扫描比奥低GI“切斯Forushungu		
[标]发明人	アルントシュトイヤーナーゲル ギュンタープレナー コルトドールマン トーマスチオゼック ローラントヴェーア ベッティナールドルフ ドロテアルドルフ		
发明人	アルント シュトイヤーナーゲル ギュンター プレナー コルト ドールマン トーマス チオゼック ローラント ヴェーア ベッティナー ルドルフ ドロテア ルドルフ		
IPC分类号	C12N15/09 A61K31/7088 A61K38/00 A61K39/395 A61K48/00 A61P1/18 A61P3/04 A61P3/06 A61P25/00 C07K14/435 C07K14/47 C07K16/18 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N5/06 A01K67/027 A01K67/033 C12P21/02 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/566 A61K35/66 A61K35/76 A61K39/00 A61K45/00 B01J20/281 C07K14/46 C07K14/705 C12N15/12 C12N15/62 G01N30/08 G01N30/88		
CPC分类号	A01K67/0275 A01K67/0339 A01K2217/05 A01K2227/105 A01K2227/706 A01K2267/03 A61P1/18 A61P3/04 A61P3/06 A61P25/00 C07K14/43581 C07K14/461 C07K14/705 C07K2319/00 C07K2319/43 C12N2830/008		
FI分类号	C12N15/00.ZNAA A61K31/7088 A61K37/02 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K48/00 A61P1/18 A61P3/04 A61P3/06 A61P25/00 C07K14/435 C07K14/47 C07K16/18 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.A C12N5/00.B C12N5/00.E A01K67/027 A01K67/033.501 C12P21/02.C C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/566		
代理人(译)	矢野俊夫		
优先权	2000125693 2000-11-23 EP		
其他公开文献	JP2004514435A5 JP2004514435A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及编码有助于膜的稳定性和/或细胞器功能的多肽的核酸分子，其中所述核酸分子 (a) 在本文定义的条件与编码所公开的氨基酸序列的核酸分子的互补链杂交 在这里; (b) 在本文定义的条件与本文所述核酸分子的互补链杂交 ; (c) 相对于 (a) 的核酸分子是简并的 ; (d) 编码包含至少一个氨基酸序列的多肽，该多肽是有助于膜稳定性的一部分，该氨基酸序列包含至少一个，优选至少两个，更优选至少三个，更优选至少四个，更优选至少五个，最优选六个氨基酸序列 细胞器的功能和/或功能并包括

推定的跨膜区；(e) 编码与代表上述多肽的氨基酸序列至少85%，优选至少90%，更优选至少95%，更优选至少98%且最高达99.6%相同的多肽；(g) 编码至少为35%，优选至少为50%，更优选为至少60%，更优选为至少70%，更优选为至少80%，更优选为至少99%，最优选为至少与本文公开的氨基酸序列具有95%，最优选至少99%的同一性；(h) 通过突变不同于(a)至(g)的核酸分子，并且其中所述突变导致编码的多肽的改变，缺失，重复或过早终止；(i) 具有本文公开的序列。