

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)			
C 1 2 N 15/02	ZNA	A 6 1 K 31/711		2	G	0 4 5
A 6 1 K 31/711		39/395	D	4	B	0 2 4
38/00			N	4	B	0 6 4
39/395		45/00		4	B	0 6 5
		48/00		4	C	0 8 4
審査請求 未請求 請求項の数 17 O L (全 51数) 最終頁に続く						

(21)出願番号	特願2000 - 273778(P2000 - 273778)	(71)出願人	596175810 財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所 千葉県木更津市矢那1532 - 3
(22)出願日	平成12年9月8日(2000.9.8)	(71)出願人	000006725 三菱ウェルファーマ株式会社 大阪府大阪市中央区平野町2丁目6番9号
		(72)発明者	小原 収 千葉県木更津市矢那1532番3号 財団法人か ずさディー・エヌ・エー研究所内
		(74)代理人	100088904 弁理士 庄司 隆
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 新規な T S P 1 ドメイン含有ポリペプチド

(57)【要約】

【課題】 血管新生に関連する疾患などの解明、予防、治療及び診断を可能とする上で有用なものとなると期待される新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質を見いだすこと。

【解決手段】 ヒト脳由来の新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質をコードする c D N A を単離し、該 c D N A がコードする、トロンボスポンジンドメインを 8 回繰り返し保存している新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質を得た。また、該 c D N A、該タンパク質およびその由来物であるポリペプチドもしくはペプチド、該タンパク質に対する抗体、該タンパク質の有する作用の阻害剤・拮抗剤・賦活剤のスクリーニング方法、スクリーニングされた化合物などを提供し、これらを利用した医薬組成物及び診断方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 下記の群より選ばれる T S P 1 ドメイン含有ポリペプチド又は該ポリペプチドを有するタンパク質；

配列表の配列番号 1 又は 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、

前記 のポリペプチドを含有するポリペプチド、

前記 のポリペプチドと少なくとも約 50% のアミノ酸配列上の相同性を有しかつ T S P 1 ドメインの 8 回以上繰返しを有するポリペプチド、及び

前記 ~ のアミノ酸配列において 1 ないし数個のアミノ酸の欠失、置換、付加あるいは挿入といった変異を有し、かつ T S P 1 ドメインの 8 回以上繰返しを有するポリペプチド。

【請求項 2】 配列表の配列番号 1 又は 3 に記載のアミノ酸配列の一部を有する部分ペプチドであって、少なくとも約 8 個の連続するアミノ酸配列を有するペプチド。

【請求項 3】 請求項 1 又は 2 に記載のポリペプチド又はペプチドをコードするポリヌクレオチド又はその相補鎖。

【請求項 4】 配列表の配列番号 2 又は 4 に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチド又はその相補鎖。

【請求項 5】 請求項 3 又は 4 に記載のポリヌクレオチド又はその相補鎖とストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションするポリヌクレオチド。

【請求項 6】 配列表の配列番号 2 又は 4 に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチド又はその相補鎖の塩基配列の少なくとも約 15 個の連続する塩基配列からなるポリヌクレオチド。

【請求項 7】 請求項 3 から 6 に記載の何れか一つのポリヌクレオチド又はその相補鎖を含有する組換えベクター。

【請求項 8】 請求項 7 の組換えベクターで形質転換された形質転換体。

【請求項 9】 請求項 8 の形質転換体を培養する工程を含む、請求項 1 又は 2 に記載のポリペプチド、タンパク質又はペプチドの製造方法。

【請求項 10】 請求項 1 又は 2 に記載のポリペプチド、タンパク質又はペプチドを免疫学的に認識する抗体。

【請求項 11】 少なくとも T S P 1 ドメイン含有ポリペプチドを認識する、請求項 10 に記載の抗体。

【請求項 12】 請求項 1 に記載のポリペプチド又はタンパク質と相互作用してその活性を阻害もしくは促進する作用を有する化合物、及び / 又は請求項 3 ないし 5 に記載のポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害もしくは促進する作用を有する化合物のスクリーニング方法であって、請求項 1 又は 2 に記載のポリペプチド、タンパク質又はペプチド、請求項 3 ないし 6 に記載のポリヌクレオチド、請求項 7 に記載のベクター、請求項 8 * 50

* に記載の形質転換体、請求項 10 もしくは 11 に記載の抗体の内の少なくとも何れか一つを用いることを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項 13】 請求項 1 に記載のポリペプチド又はタンパク質と相互作用してその活性を阻害もしくは活性化する化合物、又は請求項 3 ないし 5 に記載のポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害もしくは促進する化合物のスクリーニング方法であって、化合物とポリペプチド又はタンパク質との間の相互作用を可能にする条件下で、ポリペプチド又はタンパク質とスクリーニングすべき化合物とを接触させて化合物の相互作用を評価し（かかる相互作用はポリペプチド又はタンパク質と化合物との相互作用に応答した検出可能シグナルを提供する第 2 の成分に関連したものである）、次いで、化合物とポリペプチド又はタンパク質との相互作用により生じるシグナルの存在又は不存在を検出することにより、化合物がポリペプチド又はタンパク質と相互作用して、その活性を活性化又は阻害するかどうかを決定することを含む方法。

【請求項 14】 請求項 12 又は 13 に記載の方法でスクリーニングされる化合物であって、請求項 1 又は 2 に記載の T S P 1 ドメイン含有タンパク質又はポリペプチドと相互作用してその活性を阻害又は促進する化合物又はその塩。

【請求項 15】 請求項 12 又は 13 に記載の方法でスクリーニングされる化合物であって、請求項 3 ないし 5 に記載のポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害もしくは促進する化合物又はその塩。

【請求項 16】 請求項 1 又は 2 に記載のポリペプチド、タンパク質、又はペプチド、請求項 3 ないし 6 に記載のポリヌクレオチド、請求項 7 に記載のベクター、請求項 8 に記載の形質転換体、請求項 10 もしくは 11 に記載の抗体、又は請求項 14 もしくは 15 に記載の化合物の内の少なくとも何れか一つを含有することを特徴とする医薬組成物。

【請求項 17】 個体における請求項 1 のポリペプチド又はタンパク質の発現又は活性に関連した疾病の診断方法であって、（a）該ポリペプチド又はタンパク質をコードしている核酸配列、及び / 又は（b）個体由来の試料中の該ポリペプチド又はタンパク質をマーカーとして分析することを含む方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、ヒト脳由来の新規なトロンプスポンジン（thrombospondin：以下 T S P と略す）ドメインを含有するポリペプチド又はタンパク質、及び該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関するものである。さらに詳しくは、新規 T S P 1 ドメイン含有ポリペプチドもしくはタンパク質のアミノ酸配列の全部もしくは一部を有するペプチド、該

ペプチド又はポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含有する組換えベクター、該組換えベクターで形質転換された形質転換体、該形質転換体を使ったペプチド又はポリペプチドの製造方法、該ペプチド又はポリペプチドに対する抗体、これらを利用した化合物のスクリーニング方法、該スクリーニングされた化合物、該ポリペプチドもしくは該ポリヌクレオチドに作用する活性阻害化合物又は活性賦活化合物、これらに關係する医薬組成物、及びこれらに關係する疾病診断方法に關する。

【0002】

【従来の技術】血管新生 (angiogenesis) は既存の血管から新しく毛細血管がつくられることを指し、胎児での血管叢の形成 (vasculogenesis) とは區別されている。生理的な血管新生は卵巣や子宮粘膜で性周期に応じて起こっており、胎盤の形成時にもみられる。また創傷治癒過程での肉芽組織や、心筋梗塞などで血管が閉塞して、その後に側副血行路がつくられるときにもみられる。これら生理的な血管新生はいずれも一時的であり、血管新生の目的 (組織への酸素、栄養の供給) が果たされると毛細血管の成長が停止する。それに対し、疾患に伴って毛細血管の成長が停止しない場合もある。

【0003】糖尿病性網膜症、未熟児網膜症では、病的に過度の血管新生が網膜で起こり失明に至る。尋常性乾癬では、真皮での異常な血管新生が表皮の増殖や脱落の原因となっている。また、慢性関節リウマチでは毛細血管が関節軟骨まで侵入して関節を破壊している。固形腫瘍にみられる血管新生は腫瘍を急速に増殖させ、また転移を引き起こし、腫瘍が宿主に引き起こす症状が悪化する原因となる。近年、種々の研究から腫瘍細胞が血管新生を誘起する物質を産生しているとの知見が得られている。

【0004】現在、血管新生が原因となる疾患 (いわゆる血管新生病) として固形悪性新生物、眼科的疾患 (増

殖性糖尿病性網膜症、未熟児網膜症、虹彩ルベオシス、鎌状赤血球網膜症、網膜中心静脈閉塞症、網膜静脈分枝閉塞症、網膜中心動脈閉塞症、老人性円板状黄斑変性症、その他虚血をきたす眼科疾患)、慢性関節リウマチ、血管腫、血管線維腫、尋常性乾癬、粥状動脈硬化巢外膜の異常毛細血管網などが挙げられる。また、逆に血管新生が不十分である血管新生不全症としては虚血性心疾患、下肢の閉塞性動脈硬化症での側副血行路形成不全や、創傷治癒過程での血管新生が不十分なことによる難治性皮膚潰瘍、難治性胃潰瘍、手術後の癒合不全などがある (Folkman J., et al., Science(1987)235:442-447、井藤英喜: 最新医学(1995)50(6):1121-1125)。

【0005】血管新生のプロセスは、血管新生刺激があるとその部分の組織を構成する細胞が血管新生因子を放出し、血管新生因子は近傍の毛細血管後静脈の血管内皮細胞に作用して、内皮細胞はプラスミノーゲンアクチベーター (PA)、コラゲナーゼなどのタンパク質分解酵素を分泌する。これらの酵素は基底膜を分解し血管壁に小さな穴が開き、この穴より1個の内皮細胞が外側へ出芽 (sprouting) する。続いて内皮細胞の遊走が始まり、同時に間質のマトリックスも分解される。遊走とともに内皮細胞は増殖し、次いで、管を形成するように分化し、内腔ができて管腔形成する。内皮細胞は基底膜構成成分を分泌し、管腔外側に基底膜をつくる。その上に周皮細胞が遊走し始め、新生血管の芽の先端が連なってループとなり、その中を血液が流れるようになり完成される。このような血管新生は単一の因子によって制御されているのではなく、多種の血管新生促進因子や血管新生抑制因子が複雑に絡み合っており成り立っているものと考えられる。これまで表1に示すように多くの血管新生促進因子や血管新生抑制因子が報告されている。

【0006】

【表1】

10

20

30

促進因子	抑制因子
bFGF、 aFGF	アンジオスタチン
VEGF/VPF	エンドスタチン
IL-8、 IL-4	トロンボスポンジン
PD-ECGF	IFN- α /IFN- β
HGF	TNF- α (高濃度)
アンジオジェニン	TGF- β
TGF- α /EGF/HB-EGF	トロンボモジュリン
PDGF	IL-1、 IL-12
インテグリン $\alpha v \beta 3$	IP-10、 GRO- β 、 P
アンジオポエチン-1	F-4
プレイオトロフィン	コンドロモジュリン
ミッドカイン	アンジオポエチン-2
組織因子	TIMP-1、 2
TNF- α (低濃度)	軟骨細胞由来抑制因子
	プロトロンビン (クリングル2)

(北台靖彦、: Molecular Medicine, Vol. 37, No. 3: 262-269, 2000)

【0007】なかでもトロンボスポンジン (thrombospondin; TSP) は血小板の凝集によって放出されるヘパリン結合性の糖タンパク質で、分子量140～150 kDaの同一鎖の三量体である。TSPは血小板のほか、血管内皮細胞、線維芽細胞、単球/マクロファージなど種々の細胞でも合成されている。TSPは血管内皮細胞の増殖や血管新生を抑制する。その作用機序は不明であるが、ヘパリン以外にもフィブロンectin、コラーゲンなどへの結合性を有することから塩基性線維芽細胞増殖因子 (basic fibroblast growth factor; bFGF) などの増殖因子の作用の修飾のほか細胞の接着性を変化させることによる可能性もある。一方、癌抑制遺伝子産物のp53は種々の遺伝子の発現を誘導するが、その遺伝子産物の1つがTSPであることが見出された (Dameron KM, et al., Science(1994)265:1582-1584)。

【0008】TSPには、TSP1、TSP2/CISP、TSP3、TSP4、TSP5/COMPの5種のファミリーが見出されている。そのうち、TSPのtype1 repeats を含む385-522アミノ酸領域がTSP1ドメイン含有領域 (TSP/type1) であることが確認されている (Tolsma SS, et al., J.Cell Biol.(1993)122:497-511)。また、最近、上記TSP/type1領域を用いた新規cDNAsの検索から、トロンボスポンジン (TSP/type1領域)、メタロプロテアーゼ及びデスインテグリンドメインを有し、血管新生抑制作用を有するMETH-1及びMETH-2を見出したことが報告されている (Vazquez F., et al., J.Biol.Chem.(1999)274:23349-23357)。

【0009】また、TSP1ドメインのCSVTCGMモチーフがCD36/LIMPII受容体などに結合することが知られている。CD36は動脈硬化の鍵を握るとされているスカベンジャー受容体と同様に酸化LDLを

取り込む受容体の一つとして知られており、血小板、単球等の重要な糖タンパク質である。血小板がコラーゲンへ接着する時の初期の段階で機能していると考えられており、さらに、マラリア感染赤血球が血管内皮細胞に接着する場合にもCD36に結合していることなどが報告されている (R.Crombie and R.Silverstein, J.Biol.Chem.(1998)273:4855-4863)。

【0010】さらに、TSP1ドメインのWSXWモチーフは細胞表面のheparan sulfate proteoglycanに結合することも知られており、生理学的機能として創傷治癒、止血、食作用、生体防御、分化、細胞骨格の構築等に関与していると考えられているインテグリン機能への関与も示唆されている (J.M.Sipes, et al., J.Biol.Chem.(1999)274:22755-22762)。

【0011】したがって、このTSP/type1領域の存在を指標として新規cDNAひいてはタンパク質を検索することは、TSP1ドメイン含有新規cDNAひいてはタンパク質の入手を容易にし、TSPの関与する生体機能の解明、とりわけ、血管新生のプロセス解明や血管新生に関連する疾患 (血管新生病又は血管新生不全症など) の解明、予防、治療及び診断を可能とする上で非常に有用なものとなると期待される。

【0012】

【発明が解決しようとする課題】本発明が解決しようとする課題のひとつは、上記のように多様な作用の原因物質となりうるTSP1ドメイン含有タンパク質に関する新規な物質を見だし、生体内におけるTSP1ドメイン含有タンパク質の制御を可能にすることである。より具体的には、本発明の課題は新規な特性をもつ新規TSP1ドメイン含有タンパク質を提供することであり、それに伴い有用性ある新規TSP1ドメイン含有タンパク質由来のペプチド又はポリペプチドを提供することである。また本発明の別の課題は、新規TSP1ドメイン含

有タンパク質由来のペプチド又はポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供し、遺伝子工学手法による、新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質の製造法を提供することである。さらに本発明の別の課題は、新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質、ペプチド又はポリペプチドに対する抗体を提供することである。その他の本発明の課題は、上記のものを利用して新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質の有する作用の阻害剤・拮抗剤・賦活剤のスクリーニングをおこなうことであり、スクリーニングされた化合物を提供することであり、またこれらを利用した医薬組成物及び診断方法を提供することである。

【0013】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、鋭意研究を重ねた結果、ヒト脳由来の新規な T S P 1 ドメイン含有タンパク質をコードする c D N A を単離し、全塩基配列を解析することに成功した。そして、この塩基配列をアミノ酸配列に翻訳したところ、トロンボスポンジドメイン (T S P 1 ドメイン: T S P / t y p e 1 r e p e a t s) を 8 回繰り返し保存していることを確認し、これらの c D N A にコードされるタンパク質が T S P 1 ドメインを含有する新規なタンパク質であることを確認した。本発明者等は、これらの知見に基づいて、さらに研究を重ねた結果、本発明を完成するに至った。

【0014】すなわち、本発明は、

1. 下記の群より選ばれる T S P 1 ドメイン含有ポリペプチド又は該ポリペプチドを有するタンパク質；

配列表の配列番号 1 又は 3 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、

前記 のポリペプチドを含有するポリペプチド、

前記 のポリペプチドと少なくとも約 70% のアミノ酸配列上の相同性を有しかつ T S P 1 ドメインの 8 回以上繰返しを有するポリペプチド、及び

前記 ~ のアミノ酸配列において 1 ないし数個のアミノ酸の欠失、置換、付加あるいは挿入といった変異を有し、かつ T S P 1 ドメインの 8 回以上繰返しを有するポリペプチド、

2. 配列表の配列番号 1 又は 3 に記載のアミノ酸配列の一部を有する部分ペプチドであって、少なくとも約 8 個の連続するアミノ酸配列を有するペプチド、

3. 前項 1 又は 2 に記載のポリペプチド又はペプチドをコードするポリヌクレオチド又はその相補鎖、

4. 配列表の配列番号 2 又は 4 に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチド又はその相補鎖、

5. 前項 3 又は 4 に記載のポリヌクレオチド又はその相補鎖とストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションするポリヌクレオチド、

6. 配列表の配列番号 2 又は 4 に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチド又はその相補的塩基配列の少なくとも約 15 個の連続する塩基配列で示されるポリヌクレオ

チド、

7. 前項 3 から 6 に記載の何れか一つのポリヌクレオチドを含有する組換えベクター、

8. 前項 7 の組換えベクターで形質転換された形質転換体、

9. 前項 8 の形質転換体を培養する工程を含む、前項 1 又は 2 に記載のポリペプチド、タンパク質又はペプチドの製造方法、

10. 前項 1 又は 2 に記載のポリペプチド、タンパク質又はペプチドを免疫学的に認識する抗体、

11. 少なくとも T S P 1 ドメイン含有ポリペプチドを認識する、前項 10 に記載の抗体、

12. 前項 1 に記載のポリペプチド又はタンパク質と相互作用してその活性を阻害もしくは促進する作用を有する化合物、及び / 又は前項 3 から 5 に記載のポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害もしくは促進する作用を有する化合物のスクリーニングする方法であって、前項 1 又は 2 に記載のポリペプチド、タンパク質又はペプチド、前項 3 ないし 6 に記載のポリヌクレオチド、前項 7 に記載のベクター、前項 8 に記載の形質転換体、前項 10 もしくは 11 に記載の抗体の内の少なくとも何れか一つを用いることを特徴とするスクリーニング方法。

13. 前項 1 に記載のポリペプチド又はタンパク質と相互作用してその活性を阻害もしくは活性化する化合物、又は前項 3 ないし 5 に記載のポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害もしくは促進する化合物のスクリーニング方法であって、化合物とポリペプチド又はタンパク質との間の相互作用を可能にする条件下で、ポリペプチド又はタンパク質とスクリーニングすべき化合物とを接触させて化合物の相互作用を評価し (かかる相互作用はポリペプチド又はタンパク質と化合物との相互作用に应答した検出可能シグナルを提供しうる第 2 の成分に関連したものである)、次いで、化合物とポリペプチド又はタンパク質との相互作用により生じるシグナルの存在又は不存在を検出することにより、化合物がポリペプチド又はタンパク質と相互作用して、その活性を活性化又は阻害するかどうかを決定することを含む方法。

14. 前項 12 又は 13 に記載の方法でスクリーニングされる化合物であって、前項 1 又は 2 に記載の T S P 1 ドメイン含有タンパク質又はポリペプチドと相互作用してその活性を阻害又は促進する化合物又はその塩。

15. 前項 12 又は 13 に記載の方法でスクリーニングされる化合物であって、前項 3 ないし 5 に記載のポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害もしくは促進する化合物又はその塩。

16. 前項 1 又は 2 に記載のポリペプチド、タンパク質、又はペプチド、前項 3 ないし 6 に記載のポリヌクレオチド、前項 7 に記載のベクター、前項 8 に記載の形質転換体、前項 10 もしくは 11 に記載の抗体、又は前項

14もしくは15に記載の化合物の内の少なくとも何れか一つを含有することを特徴とする医薬組成物。

17. 個体における前項1のポリペプチド又はタンパク質の発現又は活性に関連した疾病の診断方法であって、

(a) 該ポリペプチド又はタンパク質をコードしている核酸配列、及び/又は(b) 個体由来の試料中の該ポリペプチド又はタンパク質をマーカーとして分析することを含む方法。に関するものである。

【0015】

【発明の実施の形態】(新規TSP1ドメイン含有タンパク質) 本発明において提供される新規TSP1ドメイン含有タンパク質は、ヒト脳細胞中のmRNA由来のcDNAライブラリーから、発現配列タグ(EST)分析(Adams, M.D., et al., Science(1991)252:1651-1656; Adams, M.D. et al., Nature(1992)355:632-634; Adams, M.D., et al., Nature(1995)377 Supp:3-174)を用いて、TSP1ドメインをマーカーとして釣上げられたもので、新規なアミノ酸配列を有する物質としてそのcDNAが取得されたものである。そして、本発明から成る新規TSP1ドメイン含有タンパク質は、ヒトの脳、肺、胃、精巣、胎盤、副腎、脾、前立腺、白血球において、その存在が「ヒトRAPID-SCAN™ GENEEXPRESSION PANEL」法によって確認された。その主な機能は、血管新生の抑制能である。本発明からなる新規TSP1ドメイン含有タンパク質は、実施例3に示すように、公知ゲノム配列のAC004877(GenBank ID)との相同性はアミノ酸配列において約40%である。本発明においてTSP1ドメインは、実施例4の表7に示したようにアステリスクマークで示された保存されたトリプトファン、システインを有する60個程度のアミノ酸からなるドメインである(P.Bork, FEBS Lett(1993)327:125-130; JM.Higgins, et al., J. Immunol.(1995)155:5777-5785)。本発明の新規TSP1ドメイン含有タンパクには、このTSP1ドメインが少なくとも8ヶ所(8領域)存在する。

【0016】(タンパク質、ポリペプチド又はペプチド) 本発明の新規TSP1ドメイン含有タンパク質は、配列表の配列番号1又は3に表されるアミノ酸配列と同一、又は実質的に同一なアミノ酸配列を含有するタンパク質である。本発明のTSP1ドメイン含有タンパク質は、ヒトや哺乳動物のあらゆる細胞、又はそれらの細胞が存在するあらゆる組織に由来するタンパク質であってもよく、また合成タンパク質であってもよい。

【0017】配列表の配列番号1又は3で表されるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸としては、例えば、配列番号1又は3で表されるアミノ酸配列と約50%以上、好ましくは約70%以上、より好ましくは約80%以上、さらに好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列などが挙げられる。

【0018】本発明の配列番号1又は3で表されるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質としては、例えば、配列番号1又は3で表されるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有し、さらに、配列番号1又は3で表されるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有するタンパク質と実質的に同質の活性を有するタンパク質などが例示される。実質的に同質の活性として、血管新生抑制を示す方法であればいかなるものであってもよいが、例えば、in vivo法としては、ニワトリ胚の漿尿膜(chorioallantoic membrane)を用いるCAM法(Moses M.A., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA(1999)96:2645-2650)、ウサギやラットの目の角膜に少し切り目をつけて試料を入れ、そこに向かって近くの細静脈から伸びてくる新生血管を観察する角膜法(Gaudric A., et al., Ophthalmic Res.(1992)24:181-188)などを、in vitro法としては、培養血管内皮細胞を用いてボイデンチャンパーで遊走を、単層培養で細胞の増殖を観察し、管腔形成は三次元のコラーゲンゲルやマトリゲル(IV型コラーゲン、ラミニニン、ニドゲン/エンタクチン及びヘパラン硫酸よりなる再構成基底膜ゲル)で培養して観察する方法(Haas T.L., et al., J.Biol.Chem.(1998)273:3604-3610)などをそれぞれ挙げることができる。

【0019】アミノ酸配列の相同性を決定する技術は、自体公知であり、例えばアミノ酸配列を直接決定する方法、cDNAの塩基配列を決定後これにコードされるアミノ酸配列を推定する方法等が可能である。

【0020】本発明の新規なTSP1ドメイン含有ポリペプチドを含むタンパク質は「成熟」タンパクの形態であってもよく、あるいは融合タンパクのごとき大型のタンパクの一部であってもよい。分泌又はリーダー配列、プロ配列、複数のヒスチジン残基のごとき精製を促進する配列、又は組み換え生産を行っている間の安定性のためのさらなる配列を含むものであってもよい。

【0021】本発明のポリペプチド又はペプチドは、配列表の配列番号1又は3に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの部分配列を有するポリペプチド又はペプチドを包含し、これらは例えば試薬・標準物質・免疫原として利用できる。その最小単位としては8個以上のアミノ酸、好ましくは10個以上のアミノ酸、より好ましくは12個以上、さらに好ましくは15個以上の連続するアミノ酸で構成されるアミノ酸配列からなり、好ましくは免疫学的に同定しうるポリペプチド又はペプチドを本発明の対象とする。これらのペプチドは、試薬もしくは標準物質、又は後述するように新規TSP1ドメイン含有タンパク質に特異的な抗体を作製するための抗原として単独又はキャリア(例えば、キーホールリンペイトヘモシアニン又は卵白アルブミン)と結合して使用できるが、これらのように別種のタンパク質又は物質を結合したのも本発明の範囲に包含される。

【0022】部分配列は、「独立して存在するもの(free standing)」であるか、あるいはより大きなポリペプチド内に含まれていてもよく、その中で部分配列は一部分もしくはある領域を形成していてもよい。最も好ましくは、単一の連続した領域としてより大きなポリペプチドに含まれる。

【0023】さらに、このように特定されたポリペプチド又はペプチドを基にして、血管新生抑制能を指標とすることにより、1以上、例えば1~100個、好ましくは1~30個、より好ましくは1~20個、さらに好ましくは1~10個で特に好ましくは1ないし数個のアミノ酸の欠失・置換・付加あるいは挿入といった変異を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド又はペプチドも提供される。欠失・置換・付加あるいは挿入の手段は自体公知であり、例えば、部位特異的変異導入法、遺伝子相同組換え法、プライマー伸長法又はポリメラーゼ連鎖増幅法(PCR)を単独又は適宜組み合わせ、例えば、Molecular Cloning; A Laboratory Manual、第2版、Sambrookら編、コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク、1989年；[ラボマニュアル遺伝子工学]、村松正實編、丸善株式会社、1988年；[PCRテクノロジー、DNA増幅の原理と応用]、Ehrlich, H.E. 編、ストックトンプレス、1989年等の成書に記載の方法に準じて、あるいはそれらの方法を改変して実施することができ、例えばUllmerの技術(Science(1983)219:666)を利用することが出来る。

【0024】例えば、アミノ末端を含む一連の残基が欠失、又はカルボキシ末端を含む一連の残基が欠失、あるいは一方がアミノ末端でもう一方がカルボキシ末端を含む2種の一連の残基が欠失していること以外は新規なTSP1ドメイン含有タンパク質のアミノ酸配列を有する末端切断ポリペプチドを包含する。また、構造的又は機能的属性により特徴づけられる部分配列、例えばアルファヘリックス及びアルファヘリックス形成領域、ベータシート及びベータシート形成領域、ターン及びターン形成領域、コイル及びコイル形成領域、親水性領域、疎水性領域、アルファ両親媒性領域、ベータ両親媒性領域、可変領域、表面形成領域、基質結合領域、及び高抗原性指標領域を含む部分配列なども好ましい。また、生物学的に活性な領域も好ましく、類似の活性もしくは改善された活性のある、又は望ましくない活性を減じた部分配列等がある。動物、とりわけヒトにおいて抗原的又は免疫原的な部分配列もまた含まれる。

【0025】本発明のタンパク質、ポリペプチド及び部分配列ペプチドのアミノ酸配列は保存的アミノ酸置換により変化したものも含まれている。かかる典型的な置換は、Ala、Val、Leu及びIle間；Ser及びThr間；Asp及びGlu間；Asn及びGln間；ならびに塩基性残基Lys及びArg間；あるいは芳香

族残基Phe、Trp及びTyr間におけるものである。数個、5ないし10個、1ないし5個、又は1ないし2個のアミノ酸がいずれかの組み合わせで置換、欠失又は付加されているものが特に好ましい。

【0026】上記のような変異の導入において、当該タンパク質の基本的な性質(物性、活性、又は免疫学的活性等)を変化させないという観点からは、例えば、同族アミノ酸(極性アミノ酸、非極性アミノ酸、疎水性アミノ酸、親水性アミノ酸、陽性荷電アミノ酸、陰性荷電アミノ酸、芳香族アミノ酸等)の間での相互置換は容易に想定される。

【0027】なお、本発明の新規TSP1ドメイン含有タンパク質はペプチド結合又は修飾されたペプチド結合により互いに結合している2個又はそれ以上のアミノ酸を含む任意のペプチドを意味する。また、本明細書において、ペプチド、オリゴペプチド及びオリゴマーとも称する短鎖をポリペプチド、また、長鎖のものをタンパク質ということもある。

【0028】本発明の新規TSP1ドメイン含有タンパク質は、20種の遺伝子によりコードされたアミノ酸とは異なるアミノ酸を含有することもできる。「タンパク質」には、プロセッシング及びその他の翻訳後修飾のような天然のプロセッシングにより修飾されたものが含まれるが、当業者に周知の化学修飾技術によっても修飾される。このような修飾は基礎的な参考書及びさらに詳細な論文ならびに多数の研究文献にも詳しく記載されており、これらは当業者に周知である。

【0029】修飾は、ペプチド骨格、アミノ酸側鎖及びアミノ又はカルボキシル末端等のポリペプチドの任意の部位で行われうる。同一の型の修飾は該ポリペプチドの幾つかの部位で、同一又は異なる程度で存在し得る。また、タンパク質は多くの型の修飾をも含み得る。タンパク質は、ユビキチネーションの結果として分枝状であってもよく、分枝を伴う又は伴わない環状のものであってもよい。環状、分枝状及び分枝状かつ環状のタンパク質は翻訳後の天然プロセッシングにより生じるものであってもよく、あるいは合成法により製造されるものであってもよい。

【0030】修飾には、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチド又はヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質又は脂質誘導体の共有結合、ホスホチジルイノシトールの共有結合、交差架橋、環化、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、交差架橋共有結合形成、シスチン形成、ピログルタメート形成、ホルミル化、ガンマ-カルボキシル化、グリコシル化、GPIアンカー形成、水酸化、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク加水分解プロセッシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、グリコシル化、脂質結合、硫酸化、グルタミン酸残基のガンマ-カルボキシル化、水酸化及

びADP-リボシル化、セレノイル化、硫酸化、アルギニル化のようなトランスファーRNA媒介のタンパクへのアミノ酸の添加、ならびにユビキチネーションなどがある。

【0031】例えば、Proteins-Structure and Molecular Properties、第2版、T.E.Creighton、W.H.Freeman and Company、ニューヨーク、1993年及びPost-translational Covalent Modification of Proteins、B.C.Johnson編、アカデミックプレス、ニューヨーク、1983年のWorld, F., Posttranslational Protein Modifications : Perspective and Prospects、1~12頁; Seifter et al., Meth.Enzymol.(1990)182:626-646及びRattan et al., Protein Synthesis:Post-translational Modifications and Aging, Ann.N.Y.Acad.Sci.(1992)663:48-62参照。

【0032】さらに、本発明のポリペプチド等の検出もしくは精製を容易にするために、又は別の機能を付加するために、N末端側やC末端側に別のタンパク質、例えばアルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、IgG等の免疫グロブリンFc断片又はFLAG-tag等のペプチドを直接又はリンカーペプチド等を介して間接的に遺伝子工学的手法等を用いて付加することは当業者には容易であり、これらの別の物質を結合したポリペプチド等も本発明の範囲に包含される。なお、ヒト以外の動物種の相同遺伝子産物も当然本発明の範囲に包含される。

【0033】(新規TSP1ドメイン含有タンパク質及びその由来物の回収)ヒトやその他哺乳動物の細胞又は組織、及び培地からの新規TSP1ドメイン含有タンパク質及びその由来物からなるペプチド及びポリペプチドの回収は、血管新生抑制能を指標にして、分子篩、イオンカラムクロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー等を組合せるか、溶解度差にもとづく硫酸、アルコール等の分画手段によっても精製回収できる。つまり広く公知のタンパク質の精製方法、例えば、硫酸アンモニウム又はエタノール沈殿、酸抽出、陰イオン又は陽イオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、親和性クロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー及びレクチンクロマトグラフィー等を適宜組み合わせ使用することができる。また、当該タンパク質が単離及び/又は精製中に変性した場合、再び活性な立体配座にするために、タンパク再生のための周知の技法を用いることができる。

【0034】精製には好ましくは、アミノ酸配列の情報に基づき、該アミノ酸配列に対する抗体を作成し、ポリクローナル抗体又はモノクローナル抗体によって、特異的に吸着回収する方法を用いる。簡便には、ヘパリンを利用したアフィニティークロマトグラフィーが利用できる。

【0035】(ポリヌクレオチド)一つの態様において

て、本発明のポリヌクレオチド及びその相補鎖は、本発明のポリペプチド等、例えば配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド及び該ポリヌクレオチドに対する相補鎖を意味する。これらは例えば上記新規TSP1ドメイン含有タンパク質の製造に有用な遺伝子情報を提供するものであり、あるいは核酸に関する試薬・標準品としても利用できる。好ましいポリヌクレオチドの塩基配列は、配列表の配列番号2に示した。なお、ヒト個体による塩基配列の多型の存在が認められた。その内の一例では、配列表の配列番号3のアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードする配列表の配列番号4の塩基配列が挙げられる。

【0036】別の態様において本発明は、本発明のポリペプチド又はペプチドのアミノ酸配列、例えば配列表の配列番号1又は3のアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、好ましくは配列表の配列番号2又は4の塩基配列からなるポリヌクレオチド又はその相補鎖の対応する領域にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドを提供する。ハイブリダイゼーションの条件は、例えば、Molecular Cloning; A Laboratory Manual、第2版、Sambrookら編、コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク、1989年等に従うことができる。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は一般に知られたものであるが、その一例としては、50%ホルムアミド、5x SSC (150mM NaCl、15mM クエン酸三ナトリウム)、50mM リン酸ナトリウム (pH 7.6)、5x デンハーツ溶液、10%デキストラン硫酸、及び20マイクログラム/mlの変性剪断サケ・精子DNAを含む溶液中、42℃で一晩、次いで、約65℃において0.1x SSC中での洗浄といった条件であってもよい。

【0037】これらのポリヌクレオチドは目的のポリヌクレオチド、特に配列表の配列番号2又は4の塩基配列からなるポリヌクレオチド又はその相補鎖にハイブリダイズするものであれば必ずしも相補的配列でなくとも良い。例えば、配列表の配列番号2もしくは4の塩基配列又はその相補的配列に対する相同性において、少なくとも約40%、例えば、約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、さらに好ましくは約95%以上である。また本発明のポリヌクレオチドは、指定された塩基配列の領域に対応する連続する10個以上のヌクレオチド、好ましくは15個以上、より好ましくは20個以上の配列からなるポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド及び該相補鎖を包含する。

【0038】上記本発明のポリヌクレオチドは、本発明のポリペプチド等の製造において、新規TSP1ドメイン含有タンパク質をコードする核酸、例えば、その遺伝

子、もしくは mRNA の検出のためのプローブもしくはプライマー (primer) として、又は遺伝子発現を調節するためのアンチセンスオリゴヌクレオチド等として有用である。その意味で、本発明のポリヌクレオチド及びオリゴヌクレオチドは翻訳領域のみでなく、非翻訳領域に対応するものも包含する。例えば、アンチセンスによって新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質の発現を特異的に阻害するためには、新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質に固有な領域の塩基配列を用いることが想定される。一方、保存配列を用いることにより新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質を含む複数の T S P 1 ドメイン含有タンパク質の発現を同時に抑制することも可能と考えられる。ここで、新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質又は同様の活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの塩基配列の決定は、例えば公知のタンパク質発現系を利用して発現タンパク質の確認を行い、その生理活性特に血管新生抑制能を指標にして選別することにより行うことができる。無細胞タンパク質発現系を利用する場合は、例えば胚芽、家兎網状赤血球等由来のリボソーム系の技術を利用できる (Nature(1957)179:160-161)。

【0039】本発明のポリヌクレオチドは、一般的には、修飾されていない RNA もしくは DNA、又は修飾された RNA もしくは DNA であってもよい。「RNA もしくは DNA」は、安定性又はその他の理由により、修飾された骨格を有する DNA 又は RNA、ならびに修飾された骨格を有する DNA 又は RNA を包含する。

「修飾された」塩基は、例えば、トリチル化塩基及びイノシンのごとき通常でない塩基を包含する。種々の修飾が DNA 及び RNA について行われており、典型的に天然において見いだされるポリヌクレオチドの化学的、酵素的又は代謝的に修飾された形態、ならびにウイルス及び細胞に特徴的な DNA 及び RNA の化学的形態を包含する。また、「RNA もしくは DNA」は、しばしば「オリゴヌクレオチド」と称する短いポリヌクレオチドを包含する。

【0040】本発明のポリヌクレオチドは、対象の RNA、DNA によりコードされる塩基配列を有するアミノ酸配列を変化させるものであってもよく、対象配列によりコードされるポリペプチドにおけるアミノ酸の置換、付加、欠損、融合及び末端切断を招く場合があるが、本発明はこれらのものも包含する。これらの変化は 1 又はそれ以上の置換、付加、欠損が任意の組み合わせで起こることにより、アミノ酸配列が変化し得るものであり、これらの変化は、突然変異技術、直接的合成、及び当業者に既知のその他の組換え技術により製造できる。

【0041】本発明のポリヌクレオチドの塩基配列及びポリペプチドのアミノ酸配列の同一性は、本発明の RNA、DNA 又は本発明のタンパク質の同一性の尺度である。一般的には、最高の合致が得られるように配列を並

置する。同一性はそれ自体当該分野において認識された意味を有し、公表された方法を用いて算出できる。

【0042】例えば、Computational Molecular Biology, Lesk, A.M. 編、オックスフォード・ユニバーシティ・プレス、ニューヨーク、1988年; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W. 編、アカデミック・プレス、ニューヨーク、1993年; Computer Analysis of Sequence Data, パート I, Griffin, A.M. 及び Griffin, H.G. 編、ヒューマン・プレス、ニュージャージー、1994年; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., アカデミック・プレス、1987年; 及び Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. 及び Devereux, J. 編、エム・ストックトン・プレス、ニューヨーク、1991年)。二つの配列の同一性を測定する方法は多くあるが、用語「同一性」は当業者によく知られている (Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., アカデミック・プレス、1987年; Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. 及び Devereux, J. 編、エム・ストックトン・プレス、ニューヨーク、1991年; ならびに Carillo, H. and Lipman, D., SIAM J. Applied Math. (1988) 48:1073)。

【0043】配列間の同一性又は類似性を測定するために通常用いられる方法は Carillo, H. and Lipman, D., SIAM J. Applied Math. (1988) 48:1073 等に関連されているが、これらに限定するものではない。同一性及び類似性を決定する方法は、公に入手できるコンピュタープログラムに集成されている。二つの配列間の同一性及び類似性を測定する好ましいコンピュタープログラム法には、GCG プログラムパッケージ (Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research (1984) 12(1):387)、BLAST P、BLASTN、及び FASTA (Atschul, S.F. et al., J. Molec. Biol. (1990) 215:403) 等があるが、これらに限定するものではない。

【0044】(形質転換体) 本発明は、大腸菌、酵母、枯草菌、昆虫細胞、動物細胞等の自体公知の宿主を利用した遺伝子組換え技術によっても、又は本発明の DNA 由来の RNA を用いた無細胞系タンパク質合成法により、本発明からなる新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質及びその由来物からなるペプチド及びポリペプチドは提供可能である。本発明の具体例においては、昆虫細胞を利用したが、無論これに限定されるものではない (日本国特許第 2129487 号及び第 2644447 号: 組み替えバキュロウイルス発現ベクターの製法とポリペプチドの合成)。

【0045】形質転換は、自体公知の手段が応用され、例えばレプリコンとして、プラスミド、染色体、ウイルス等を利用して宿主の形質転換が行われる。より好ましい系としては、遺伝子の安定性を考慮するならば、染色体内へのインテグレート法であるが、簡便には核外遺伝子を利用した自律複製系の利用である。ベクターは、選

択した宿主の種類により選別され、発現目的の遺伝子配列と複製そして制御に関する情報を担持した遺伝子配列とを構成要素とする。組合せは原核細胞、真核細胞によって分別され、プロモーター、リボソーム結合部位、ターミネーター、シグナル配列、エンハンサー、マーカー配列、転写配列、非翻訳配列、スプライシング及びポリアデニル化シグナル、mRNAを安定化する配列のごとき非コーディング5'及び3'配列等を自体公知の方法によって組合せ利用できる。なお、マーカー配列は、pQEベクター（QIAGEN社）中に提供されるようなヘキサ-ヒスチジンペプチド（Gentz et al., Proc.Natl.Acad.Sci.,USA(1989)86:821-824に記載される）又はH A タグ（Wilson et al., Cell(1984)37:767）が好適に例示される。

【0046】DNAの宿主細胞への導入は、例えば、Davisら、Basic Methods in Molecular Biology、1986年；Molecular Cloning;A Laboratory Manual、第2版、Sambrookら編、コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク、1989年のとき多くの標準的な実験マニュアルに記載される方法により行うことができ、例えばリン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介トランスフェクション、トランスベクション、マイクロインジェクション、陽イオン脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、スクレイプ負荷（scrape loading）、バリスティック導入（ballistic introduction）及び感染等がある。

【0047】適当な宿主の代表的なものには、細菌細胞、例えば連鎖球菌属（streptococci）、ブドウ球菌属（staphylococci）、大腸菌（E.coli）、ストレプトミセス（Streptomyces）及び枯草菌（Bacillus subtilis）細胞；真菌細胞、例えば酵母細胞及びアスペルギルス属（Aspergillus）細胞；昆虫細胞、例えばドロソフィラS2（Drosophila S2）及びスポドプテラSf9（Spodoptera Sf9）細胞；動物細胞例えばCHO、COS、HeLa、C127、3T3、BHK、293及びボウズ（Bows）メラノーマ細胞；ならびに植物細胞等がある。

【0048】ベクターには、染色体、エピソーム及びウイルス由来のベクター、例えば細菌プラスミド由来、バクテリオファージ由来、トランスポゾン由来、酵母エピソーム由来、挿入エレメント由来、酵母染色体エレメント由来、例えばバキュロウイルス、パポウイルス、例えばSV40、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、仮性狂犬病ウイルス及びレトロウイルス等のウイルス由来のベクター、ならびにそれらを組み合わせたベクター、例えばプラスミド及びバクテリオファージの遺伝学的エレメント由来のベクター、例えばコスミド及びファージミド等がある。

【0049】発現系の構築物には発現を制御及び引き起こす調節領域を含有させることができる。通常、宿主中にDNAを保持、伸長又は発現するためには、タンパク質を発現するのに適した任意の系又はベクターを選択することが必要となる。これらは周知の技術により適当なDNA配列を発現系に挿入することができ、例えば、Molecular Cloning;A Laboratory Manual、第2版、Sambrookら編、コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク、1989年に記載されている。また、翻訳タンパクを、小胞体内腔、ペリプラスミックススペース又は細胞外環境へ分泌させるために、適当な分泌シグナルを発現するタンパク質に組み込むことができる。これらのシグナルはタンパク質に本来のものであってもよく、あるいは異種性のシグナルであってもよい。

【0050】形質転換体は、自体公知の各々の宿主の培養条件に最適な条件を選択して培養される。培養は、発現産生される新規TSP1ドメイン含有タンパク質及びその由来物からなるペプチド及びポリペプチドの生物活性をマーカーにしておこなってもよいが、培地中の形質転換体量を指標にして継代培養又はバッチ培養によって、生産してもよい。

【0051】新規なTSP1ドメイン含有タンパク質をスクリーニングアッセイのために発現させる場合、一般的には、細胞表面にタンパク質を生産させるのが好ましい。この場合、スクリーニングアッセイに使用する前に細胞を集めてもよい。また、新規なTSP1ドメイン含有タンパク質が培地中に分泌される場合、培地を回収し、タンパク質を回収し精製することができる。さらに、細胞内に生成される場合、まず細胞を溶解し、次いで、タンパク質を回収することによって目的のタンパク質を得ることができる。

【0052】新規なTSP1ドメイン含有タンパク質は周知のタンパク質の精製方法により、組換え細胞培養物から回収及び精製でき、その方法には例えば硫酸アンモニウム又はエタノール沈殿、酸抽出、陰イオン又は陽イオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、親和性クロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー及びレクチンクロマトグラフィー等がある。高速液体クロマトグラフィーを精製に用いるのが最も好ましい。タンパク質が単離及び／又は精製中に変性した場合、再び活性な立体配座にするために、タンパク質再生のための周知の技法を用いることができる。

【0053】（抗体）抗体は、本発明の新規TSP1ドメイン含有タンパク質及びその由来物からなるペプチド又はポリペプチドの抗原決定基を選別し、作製する。抗原は新規TSP1ドメイン含有タンパク質又はその断片でもよく、少なくとも8個、好ましくは少なくとも10個、より好ましくは少なくとも12個、さらに好ましく

は 15 個以上のアミノ酸で構成される。新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質に免疫特異的な抗体を作製するためには、新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質に固有な配列からなる領域を用いることが好ましい。このアミノ酸配列は、必ずしも配列表の配列番号 1 又は 3 と相同である必要はなく、タンパク質の立体構造上の外部への露出部位が好ましく、露出部位が不連続部位であれば、該露出部位について連続的なアミノ酸配列であることも有効である。抗体は、免疫学的に新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質及びその由来物からなるペプチド又はポリ

【0054】抗体を産生するためには、本発明の新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質、その由来物からなるペプチド又はポリペプチドを、アジュバントの存在又は非存在下で、単独又は担体に結合して、動物に対して体液性応答及び/又は細胞性応答等の免疫誘導をおこなうことによって行われる。担体は、それ自体が宿主に対して有害作用をおこさなければ、特に限定されず例えばセルロース、重合アミノ酸、アルブミン等が例示される。免疫される動物は、マウス、ラット、ウサギ、ヤギ、ウマ等が好適に用いられる。ポリクローナル抗体は、自体公知の血清からの抗体回収法によって取得される。好ましい手段としては、免疫アフィニティークロマトグラフィー法である。

【0055】モノクローナル抗体を生産するためには、上記の免疫手段が施された動物から抗体産生細胞（例えば、脾臓又はリンパ節由来）を回収し、自体公知の永続増殖性細胞（例えば、P3X63Ag8株等のミエローマ株）への形質転換手段を導入することによって行われる。例えば、ハイブリドーマをクローン化し、本発明の T S P 1 ドメイン含有タンパク質を特異的に認識する抗体を選別し、該ハイブリドーマの培養液から抗体を回収する。事例としては、ハイブリドーマ法（Kohler, G. and Milstein, C., Nature(1975)256:495-497）；トリオーマ法（Kozbor et al., Immunology Today(1983)4:72）；及び E B V - ハイブリドーマ法（Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., (1985):77-96）に記載されるような種々の技法がある。

【0056】一本鎖抗体の産生のために記載された技術（米国特許第 4946778 号）は、本発明のタンパク質に対する一本鎖抗体を産生するのに適用できる。また、トランスジェニックマウス、又は他の哺乳動物を包含する他の生物を用いて、哺乳動物における免疫学的反応を誘起する方法によりヒト化抗体を発現させてもよ

い。上記抗体を用いて、タンパク質を発現するクローンを単離又は同定してもよく、あるいはアフィニティークロマトグラフィーによりタンパク質を精製してもよい。

【0057】本発明の新規な T S P 1 ドメイン含有タンパク質に対する抗体を用いて、とりわけ、血管新生が不十分である血管新生不全症として虚血性心疾患、下肢の閉塞性動脈硬化症での側副血行路形成不全や、創傷治癒過程での血管新生が不十分なことによる難治性皮膚潰瘍、難治性胃潰瘍、手術後の癒合不全などを治療してもよい。

【0058】（同定・スクリーニング）かくして調製された新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質及びその由来物からなるペプチド又はポリペプチド、これらをコードするポリヌクレオチド及びその相補鎖、これらのアミノ酸配列及び塩基配列の情報に基づき形質転換させた細胞、又はこれらを用いるタンパク質合成系並びに新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質及びその由来物からなるペプチド又はポリペプチドを免疫学的に認識する抗体は、単独又は複数手段を組合せることによって、新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質及びその由来物からなるペプチド及びポリペプチドに対する活性阻害剤又は活性賦活剤の同定・スクリーニングに有効な手段を提供する。例えば、ペプチド又はポリペプチドの立体構造に基づくドラッグデザインによる拮抗剤の選別、タンパク質合成系を利用した遺伝子レベルでの発現調整剤の選別、抗体を利用した抗体認識物質の選別等を、自体公知の医薬品スクリーニングシステムを利用して実施可能である。

【0059】また、本発明の新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質及びその由来物からなるペプチド又はポリペプチドは、スクリーニング候補の化合物とこれらペプチド又はポリペプチドとの間の相互作用を可能にする条件を選別し、この相互作用の有無を検出することのできるシグナル及び/又はマーカーを使用する系を導入し、このシグナル及び/又はマーカーの存在・不存在を検出することにより、本発明の新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質及びその由来物からなるペプチド及びポリペプチドの活性を賦活又は阻害する化合物をスクリーニング可能である。

【0060】本発明のタンパク質を用いて、例えば細胞、無細胞調製物、化学ライブラリー及び天然産物混合物中において、小型分子基質及びリガンドの結合を評価してもよい。これらの基質及びリガンドは天然の基質及びリガンドであってもよく、あるいは構造又は機能を模倣したものであってもよい（Coligan et al., Current Protocols in Immunology(1991)1(2):Chapter5参照）。

【0061】新規な T S P 1 ドメイン含有タンパク質は哺乳動物宿主に広く存在し、多くの生物学的機能に関与しており、多くの疾患にもかかわっている。したがって、本発明の新規な T S P 1 ドメイン含有タンパク質

は、その活性を阻害又は促進する作用を有する化合物を見出すためのスクリーニングに用いることも有用である。

【0062】新規な T S P 1 ドメイン含有タンパク質の cDNA、タンパク及び該タンパクに対する抗体を用いて、細胞における新規な T S P 1 ドメイン含有タンパク質の mRNA 及びタンパクの産生に対する添加化合物の影響を調べるためのアッセイを行ってもよい。例えば、当該分野で知られた一般的方法により、モノクローナル及びポリクローナル抗体を用いて、新規な T S P 1 ドメイン含有タンパク質の分泌又は細胞結合レベルを測定するための酵素免疫固相法 (ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay) を構築してもよく、また、これを用いて新規な T S P 1 ドメイン含有タンパク質の産生を阻害又は促進する因子を適当に処理された細胞又は組織から見いだすこともできる。スクリーニングアッセイを行うための一般的方法は当該分野においてよく知られたものである。

【0063】(化合物、診断薬、医薬組成物) このようにしてスクリーニングされた化合物は、新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質及びその由来物からなるペプチド及びポリペプチドの系に関する活性阻害剤、活性拮抗剤、活性賦活剤の候補化合物として利用可能である。また、遺伝子レベルでの新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質及びその由来物の系に対する発現阻害剤、発現拮抗剤、発現賦活剤の候補化合物としても利用可能である。その効果は、T S P 1 ドメイン含有タンパク質に由来する各種症状の予防・治療を期待できる。

【0064】かくして選別された候補化合物は、生物学的有用性と毒性のバランスを考慮して選別することによって、医薬組成物として調製可能である。また本発明からなる新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質及びその由来物からなるペプチド又はポリペプチド、これらをコードするポリヌクレオチド及びその相補鎖、これらの塩基配列を含むベクター並びに、新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質及びその由来物からなるペプチド又はポリペプチドを免疫学的に認識する抗体は、それ自体が、診断マーカー、試薬等の疾病診断手段、又は新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質の活性阻害・拮抗・賦活等の機能を利用して治療薬等の医薬手段として使用しうる可能性がある。なお、製剤化にあたっては、自体公知のペプチド又はポリペプチド、タンパク質、ポリヌクレオチド、抗体等各対象に応じた製剤化手段を導入すればよい。

【0065】診断手段としては、本発明の新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質及びその由来物からなるペプチド又はポリペプチドの発現又は活性に関連して疾患の診断手段として有用であり、例えば当該ペプチドをコードしている核酸配列との相互作用・反応性を利用して、相応する核酸配列の存在量を決定すること、及び/又は当該ペプチドについて個体中の生体内分布を決定するこ

と、及び/又は当該ペプチドの存在、個体由来の試料中の存在量を決定することによって行われる。詳しくは、新規 T S P 1 ドメイン含有タンパク質を診断マーカーとして検定するのである。その測定法は、自体公知の抗原抗体反応系、酵素反応系、PCR 反応系等を利用すればよい。

【0066】診断用の核酸は、感染個体の細胞、例えば血液、尿、唾液、組織生検又は剖検材料から得てもよい。ゲノム DNA を検出に直接使用してもよく、あるいは分析前に PCR もしくはその他の増幅法を用いることにより酵素的に増幅してもよい。RNA 又は cDNA を同様に用いてもよい。正常遺伝子型との比較において、増幅生成物のサイズ変化により欠失及び挿入を検出することができる。増幅 DNA を標識した新規な T S P 1 ドメイン含有タンパク質をコードする DNA にハイブリダイゼーションさせることにより点突然変異を同定することができる。RNAアーゼ消化により、又は融解温度の差により、完全に対合した配列を誤対合二重らせんから区別することができる。DNA 配列の相違はまた、変性物質含有又は不含のゲル中の DNA フラグメントの電気泳動の移動度の変化を検出することにより、又は直接的な DNA 配列決定により検出できる (例えば、Meyers et al., Science(1985)230:1242 参照)。特異的な位置での配列の変化はまた、ヌクレアーゼ保護アッセイ、例えば RNAアーゼ及び S1 保護又は化学的切断法によっても明らかにすることができる (例えば、Cotton et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA(1985)85:4397-4401 参照)。また、新規な T S P 1 ドメイン含有タンパク質をコードする DNA 又はそのフラグメントを含むオリゴヌクレオチドプローブのアレイ (array) を構築して、例えば遺伝学的変異の効果的なスクリーニングを行うことができる。アレイ法はよく知られており、広い適用範囲を有し、遺伝子発現、遺伝学的連関、及び遺伝学的変異可能性を包含する分子遺伝学における種々の問題を調べるために用いられる (例えば、M. Chee et al., Science(1996)274:610 参照)。

【0067】診断アッセイは、本明細書記載の方法により新規な T S P 1 ドメイン含有タンパク質をコードする DNA の変異を検出することにより、血管新生が原因となる疾患 (いわゆる血管新生病) として固形悪性新生物、眼科的疾患 (増殖性糖尿病性網膜症、未熟児網膜症、虹彩ルベオシス、鎌状赤血球網膜症、網膜中心静脈閉塞症、網膜静脈分枝閉塞症、網膜中心動脈閉塞症、老人性円板状黄斑変性症、その他虚血をきたす眼科疾患)、慢性関節リウマチ、血管腫、血管線維腫、尋常性乾癬、粥状動脈硬化巣外膜の異常毛細血管網など、また、逆に血管新生が不十分である血管新生不全症として虚血性心疾患、下肢の閉塞性動脈硬化症での側副血行路形成不全や、創傷治癒過程での血管新生が不十分なことによる難治性皮膚潰瘍、難治性胃潰瘍、手術後の癒合不

全などの診断方法又はかかる疾病に対する感受性の診断方法を提供する。

【0068】さらに、対象由来の試料の異常に上昇又は低下した新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質又は新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質の mRNA レベルを調べることを特徴とする方法によって、特に、血管新生が原因となる疾患（いわゆる血管新生病）として固形悪性新生物、眼科的疾患（増殖性糖尿病性網膜症、未熟児網膜症、虹彩ルベオシス、鎌状赤血球網膜症、網膜中心静脈閉塞症、網膜静脈分枝閉塞症、網膜中心動脈閉塞症、老人性円板状黄斑変性症、その他虚血をきたす眼科疾患）、慢性関節リウマチ、血管腫、血管線維腫、尋常性乾癬、粥状動脈硬化巣外膜の異常毛細血管網など、また、逆に血管新生が不十分である血管新生不全症として虚血性心疾患、下肢の閉塞性動脈硬化症での側副血行路形成不全や、創傷治癒過程での血管新生が不十分なことによる難治性皮膚潰瘍、難治性胃潰瘍、手術後の癒合不全などを診断することができる。

【0069】新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質をコードする DNA の発現の増加又は低下を、ポリヌクレオチドの定量法として当該分野で周知の方法の任意の方法、例えば増幅、PCR、RT-PCR、RNA アーゼ保護、ノーザンブロッティング及びその他のハイブリダイゼーション法を用いて RNA レベルで測定することができる。宿主由来の試料中の新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質レベルを決定するために用いることができるアッセイ法は当業者に周知である。このようなアッセイ法には、ラジオイムノアッセイ、競争結合アッセイ、ウェスタンブロット分析及び ELISA アッセイ等がある。

【0070】本発明のポリヌクレオチドは染色体の同定（染色体アッセイ）にも価値がある。該配列は、個々のヒト・染色体上の特定の位置を標的とし、これにハイブリダイゼーションしうる。本発明による重要な配列の染色体へのマッピングは、それらの配列を遺伝子関連疾病と関連づける重要な第 1 工程である。配列を正確な染色体位置にマッピングしたならば、染色体上の配列の物理的位置を遺伝学的地図のデータと関連づけることができる。かかるデータは、例えば、V. McKusick, Mendelian Inheritance in Man (Johns Hopkins University Welch Medical Library からオンラインで利用できる) に見いだされる。次いで、連鎖（物理的に近接した遺伝子の同時遺伝）の分析により、同じ染色体領域にマッピングされた遺伝子と疾病との関係を同定する。罹病個体と未罹病個体との間の cDNA 又はゲノム配列の相違も調べることができる。罹病個体のいくつか又は全部において変異が観察されるが正常個体においては観察されない場合、その変異は疾病の原因である可能性がある。

【0071】本発明は、抗体及び／又は T 細胞を産生させるに十分な新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質又

はそのフラグメントを哺乳動物に接種して、哺乳動物における免疫学的反応を誘起する方法による治療、とりわけ、血管新生が不十分である血管新生不全症として虚血性心疾患、下肢の閉塞性動脈硬化症での側副血行路形成不全や、創傷治癒過程での血管新生が不十分なことによる難治性皮膚潰瘍、難治性胃潰瘍、手術後の癒合不全などから該動物を防御することにも使用できる。

【0072】本発明は、さらに、本発明の新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質をインビボで発現させるための核酸ベクターを送達して、かかる免疫学的応答を誘導し、該動物を疾患から保護する抗体を生じさせることに使用することもできる。

【0073】さらに、本発明は、哺乳動物宿主中に導入された場合、新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質に対する哺乳動物の免疫学的応答を誘導させる免疫学的ワクチン処方（組成物）にも使用することができる。該組成物は新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質又は新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質をコードする遺伝子を含んでなる。ワクチン処方、さらに適当な担体を含んでいてもよい。新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質は胃で分解される可能性があるため、好ましくは非経口投与する（皮下、筋肉内、静脈、皮内等への注射を包含）。非経口投与に適した処方、抗酸化剤、バッファー、制細菌剤及び処方をレシピエントの血液と等張にする溶質を含んでいてもよい水性又は非水性滅菌注射用溶液；ならびに懸濁剤又は増粘剤を含んでいてもよい水性又は非水性滅菌懸濁液を包含する。処方を 1 回量又は複数回量として容器に入れて提供してもよく、例えば、密封アンプル及びバイアルに入れて提供してもよく、また使用直前に滅菌液体担体の添加のみを必要とする凍結乾燥状態として保存してもよい。またワクチン処方、水中油系及び当該分野で知られた他の系のごとき処方の免疫原性を高めるためのアジュバント系を含んでいてもよい。用量は、個々のワクチンの活性に左右され、通常の実験により容易に決定することができる。

【0074】本発明は、TSP の関与する生体機能の解明、とりわけ、血管新生のプロセス解明や血管新生に関連する疾患（血管新生病又は血管新生不全症など）の解明、予防、治療及び診断を可能とする上で非常に有用なものとなると期待される。また、本発明は TSP の過剰又は不十分な量の血管新生抑制活性に関連した疾患、すなわち、血管新生が原因となる疾患（いわゆる血管新生病）として固形悪性新生物、眼科的疾患（増殖性糖尿病性網膜症、未熟児網膜症、虹彩ルベオシス、鎌状赤血球網膜症、網膜中心静脈閉塞症、網膜静脈分枝閉塞症、網膜中心動脈閉塞症、老人性円板状黄斑変性症、その他虚血をきたす眼科疾患）、慢性関節リウマチ、血管腫、血管線維腫、尋常性乾癬、粥状動脈硬化巣外膜の異常毛細血管網など、また、逆に血管新生が不十分である血管新生不全症として虚血性心疾患、下肢の閉塞性動

脈硬化症での側副血行路形成不全や、創傷治癒過程での血管新生が不十分なことによる難治性皮膚潰瘍、難治性胃潰瘍、手術後の癒合不全などの治療方法を提供する。

【0075】新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質及びその活性が過剰な場合、有効量の上記阻害剤化合物を医薬上許容される担体とともに対象に投与して、新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質の活性を阻害し、そのことにより異常な症状を改善することもできる。

【0076】さらに、発現ブロック法を用いて内在性の新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質をコードしている遺伝子の発現を阻害してもよい。細胞内で生成した、あるいは別個に投与されたアンチセンス配列を、かかる知られた方法に使用する（例えば、Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, Boca Raton, FL(1988)中、O'Concor, J. Neurochem(1991)56:560参照）。別法として、遺伝子とともに三重らせんを形成するオリゴヌクレオチドを用いてもよい（例えば、Lee et al., Nucleic Acids Res(1979)6:3073; Cooney et al., Science(1988)241:456; Dervan et al., Science(1991)251:1360参照）。これらのオリゴヌクレオチドはそれ自体投与することができ、あるいは関連オリゴマーをインビボで発現させることもできる。

【0077】新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質及びその活性の発現不足に関連する異常な症状の治療には、新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質を活性化する治療上有効量の化合物（促進剤）を医薬上許容される担体とともに投与し、そのことにより異常な症状を改善することを特徴とする。別法として、遺伝子治療を用いて、対象中の細胞による新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質の細胞内での生成を有効ならしめてもよい。例えば、上記のごとく本発明のポリヌクレオチドを処理加工して複製欠損レトロウイルスベクターに入れて発現するようにしてもよい。次いで、レトロウイルス発現構築物を単離し、本発明のタンパク質をコードしている RNA を含むレトロウイルスプラスミドベクターで形質導入したパッケージング細胞中に導入して、今度はパッケージング細胞が目的遺伝子を含む感染性ウイルス粒子を生成するようにしてもよい。インビボでの細胞の処理加工及びインビボでのタンパク質の発現のために、これらのプロデューサー細胞を対象に投与してもよい。遺伝子治療の概説としては、Human Molecular Genetics, T. Strachan and A.P. Read, BIOS Scientific Publishers Ltd(1986)中、第20章、Gene Therapy and other Molecular Genetic-based Therapeutic Approaches（及びその中の引用文献）参照。もう1つの方法は、適当な医薬担体と混合して治療量の新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質を投与することである。

【0078】本発明の新規な TSP1 ドメイン含有タンパク質又は化合物の処方及び投与形態は、適当な医薬担体と組み合わせて処方することが好ましい。かかる処方

は、治療上有効量のタンパク質又は化合物、及び医薬上許容される担体又は賦形剤を含む。かかる担体としては、セリリン、緩衝化セリリン、デキストロース、水、グリセロール、エタノール、及びそれらの混合物が挙げられるが、これらに限らない。処方投与経路に適したものとすべきであり、当業者によく知られている。さらに本発明は、上記本発明成分の1種又はそれ以上を充填した、1個又はそれ以上の容器を含んでなる医薬パック及びキットにも関する。

【0079】本発明のタンパク質及び化合物は単独で使用してもよく、あるいは治療に必要な他の化合物と一緒に使用してもよい。医薬組成物の全身投与の好ましい形態は、注射であり、とりわけ静脈注射である。皮下、筋肉内又は腹腔内のような他の注射経路を用いることもできる。全身投与のための別の手段は、胆汁酸塩又はフシジン酸又は他の界面活性剤のような浸透剤を用いる経粘膜又は経皮投与である。さらに、腸溶処方又はカプセル処方の方がよく処方されるならば、経口投与も可能である。これらのタンパク質又は化合物の投与は局所的なものであってもよく、膏薬、パスタ、ゲル等の形態であってもよい。

【0080】必要な用量範囲は、ペプチド、投与経路、処方の性質、対象の症状の性質、及び担当医師の判断による。しかしながら、適当な用量は対象の体重 1 kg あたり 0.1 ないし 100 µg の範囲である。しかしながら、種々の使用タンパク質及び化合物、種々の投与経路のさまざまな有効性を考慮すれば、必要な用量はさらに広範囲なものである。例えば、経口投与には静脈注射よりも多い用量が必要である。当該分野においてよく知られた最適化のための一般的な常套的実験を用いてこれらの用量の変更を行うことができる。

【0081】遺伝子治療において、治療に使用するタンパク質を対象中において生成させることもできる。例えば、タンパク質をコードしている DNA 又は RNA を用いて、例えばレトロウイルスプラスミドベクターを用いることによりエクスピボにおいて対象由来の細胞を処理加工し、次いで、細胞を対象に導入することもできる。

【0082】

【実施例】以下、本発明を実施例に基づき具体的に説明するが、本発明は下記の実施例に限定されない。

【実施例1】（ヒト脳由来 cDNA ライブラリーの構築と遺伝子の分取）市販ヒト胎児脳由来の polyA+RNA（クロンテック社：カタログ No. 6525-1）を出発原料として常法により cDNA ライブラリーを構築し、dbEST（database of Expressed Sequence Tags）分析により、cDNA 断片を単離、塩基配列を決定し、本発明の新規 TSP1 ドメイン含有タンパク質をコードする塩基配列を担持する DNA を得た。

【0083】具体的には、小原らの方法（DNA Research (1997)4:53）に従って調製したヒト脳由来の cDNA ラ

イブラリーから、約 50,000 個の組換え体をランダムに選択し、この内の約 30,000 個のクローンの cDNA について、その 5' 末端及び 3' 末端の塩基配列を決定した。約 1,100 個を主に in vitro の転写翻訳実験によって選択し、その cDNA 配列を小原らの方法 (同上) に従って決定した。全塩基配列の決定を行った cDNA クローンについて、コンピュータプログラムを用いた汎用解析方法によってタンパク質コード領域 (ORF) を予想し、この領域について Pfam HMM Search (HMMPFAM) によりドメイン検索を行い、TSP1 ドメイン (TSP1) を有する cDNA を同定した。

【0084】この様にして、本発明者は、8 個の TSP1 を担持する配列表の配列番号 1 に示された推定アミノ酸配列 (全アミノ酸数 961 個) からなる新規 TSP1 ドメイン含有タンパク質をコードする cDNA (FG06969) (配列表の配列番号 2) を得た。なお、配列は、UPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature* FG06969 から設計したプライマー

KY02-S01 : ACATGTGCTTGGGGCAGTCC
 KY02-S02 : GGGAGACTGCAGTGTTCG
 KY02-S03 : GAAGCTGTCTTCTCCCTGG
 KY02-S04 : TGCCCCAACATCCTTACTGC
 KY02-S05 : AACAACTGCTCATGCCAAGC
 KY02-S06 : TGACACCCAGACCCAGGCAGC
 KY02-S07 : AGGGCTGTCAAGGTCTTCTG
 KY02-S08 : TGGACTGTGCCAACCAGTGC
 KY02-S09 : TGGCATCTGCAGCCTGGTGC
 KY02-S10 : TGGATCTGAATGGCAGGAGG
 KY02-S11 : CAGCTGTCCCTCTTGTGATC
 KY02-S12 : CTTGTGTGCTGACAGCCTGG
 KY02-S13 : CTCGAGAAGCTGCACGGACC
 KY02-S14 : CAATGCCATGCCTTGTGAGG
 KY02-S15 : AGATACGGAGTGTGCAGTGC
 KY02-S16 : CCTTTGAGTTCCATGCCTGC
 KY02-S17 : CGGCTCTGTCTGGATCCTGC
 KY02-S18 : CAGCAGGGTCTAGGTTTAGC
 KY02-S19 : AACAACTGCTCATGCCAAGC
 KY02-S20 : CTTGAACTTCACCAAAGG
 KY02-S22 : AGACAAGGATACTTTCCTAC

クローニングベクター pBluescript II SK (+) から設計したプライマー

T7Primer : GTAATACGACTCACTATAGGGC
 T3Primer : AATTAACCTCACTAAAGGG

【0088】各クローンの cDNA を、クローニング用のベクター pBlueScript II SK (+) (Stratagene) に連結し、これを用いてコンピテント細胞 E.coli DH5α (東洋紡) を形質転換した。得られた形質転換体は、終濃度 50 μg/ml のアンピシリン (ナカライテスク社) を含む Terrific Broth 培地で終夜培養し、それぞれのプラスミドを CONCERT™ (High purity plasmid maxiprep system: Life Technologies 社) により抽出した。

【0089】抽出したプラスミドと前記プライマー及び BigDye Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reacti

*による略号或いは当該技術分野における慣用略号に基づくものであり、またアミノ酸に関し光学異性体が有り得る場合は、特に明示しない限り L 体を示すものとする。

【0085】

【実施例 2】 (各クローンの塩基配列の決定) 全塩基配列の決定を、クローン No. FG06969、及びその 5' 末端の配列から同一遺伝子由来であると考えられたクローン No. FG06883、FG06492、FG02529、FG01896 等について以下の操作でおこなった。

【0086】プライマーとして、FG06969 及びプラスミド pBlueScript II SK (+) の配列情報をもとに表 2 の塩基配列のオリゴヌクレオチドプライマーを作製した。

【0087】

【表 2】

KY02-S21 : TGATCCTTCTTAGGATCTTC
 KY02-A01 : GGGAGCACATTGTCCACTCC
 KY02-A02 : GAGCGGCTCTGGTCTCAGG
 KY02-A03 : CTCGCAGCCCTCAGAGAAGC
 KY02-A04 : GGGGACCCAGGAGGACCATGG
 KY02-A05 : CTCACAAGGCATGGGATTGC
 KY02-A06 : GAGTGCCCTGCAGGCACAGG
 KY02-A07 : TGTGTGGCACAGATCCCAGC
 KY02-A08 : CTCCTACTGGCATGAGTCAGG
 KY02-A09 : GCCCAAGGACTGGACACTCC
 KY02-A10 : ACTCCTGACAGTCAACGAGG
 KY02-A11 : AGCTCACTTCTACCTGGTCC
 KY02-A12 : GTATTTCCAGGAGGTCCAGG
 KY02-A13 : GCATGGTGAGCACACTGG
 KY02-A14 : GGAGGTCCAGGAACAGTTCC
 KY02-A15 : AGTGGCTCCAGGCACAGTGG
 KY02-A16 : CTGGTTTCCACCTCCACAGG
 KY02-A17 : AGGCAGAAGACCTTGACAGC
 KY02-A18 : GGTCCCTGCAGACACTGAAC
 KY02-A19 : CTCACACACACTCCTCTGG

on Kit (PE Biosystems 社) を用いて各プラスミドの塩基配列決定用サンプルを調製した。これを、キャピラリー電気泳動式塩基配列解析装置 ABI PRISM^{登録商標} 310 ジェネティックアナライザー (PE Biosystems 社) で解析し、得られた塩基配列データをシーケンスアッセンブリングソフト Sequencer 3.1 (Gene Codes 社) を用いて連結し、各プラスミドの全塩基配列を決定した。

【0090】各クローンの全塩基配列を決定の結果、FG06969 と FG06883 は完全に塩基配列が一致した。また、FG06492 と FG02529 も完全に塩基配列が一致した。FG01896 は、その cDNA

部分に関して全塩基配列が F G 0 6 4 9 2 及び F G 0 2 5 2 9 と完全に一致した。F G 0 6 9 6 9 と F G 0 1 8 9 6 は、5' 非翻訳領域に一箇所、アミノ酸コード領域に 2 箇所、3' 非翻訳領域に少なくとも 1 箇所のスプライシングの違いによって考えられる塩基配列の相違が存在した。

【0091】

【実施例 3】(F G 0 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の Genomic 遺伝子の同定) F G 0 6 9 6 9 のアミノ酸配列情報を用いた既知配列に対する解析プログラム (BLAST2. 0) により、F G 0 6 9 6 9 の Genomic DNA をコードすると推定される染色体断片の配列 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) を確認した。F G 0 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の cDNA 配列と A C 0 0 4 8 7 7 の Genomic DNA 配列を比較解析し (図 7 a ~ 図 7 v)、F G 0 6 9 6 9 遺伝子が A C 0 0 4 8 7 7 に含まれる染色体 DNA 断片の 6* (E-value が e^{-40} 以下のもの)

Hit (ID)	E-value	相同性 (%)	説明
AJ133488	0.0	69	mRNA for SCO-spondin (Bos taurus)
AF078930	5e-127	59	Reissner's fiber glycoprotein I (Bos taurus)
○AC004877	5e-123	40	PAC clone DJ0751H13 from 7q35-qter (Homo sapiens)
X97818	8e-42	30	mRNA for semaphorin G (M. musculus)
U52840	2e-41	28	semaphorin F homolog mRNA (Homo sapiens)
X97817	4e-41	28	mRNA for semaphorin F (M. musculus)

【0094】F G 0 6 9 6 9 のアミノ酸配列をクエリーとして、検索ツール Pfam HMM Search (HMMPFAM) を用いて分析を行った (Nucleic Acids Res. (1998) 26(1):320-322)。その結果、表 4 及び表 6 に示したとおり、T S P 1 ドメイン (t s p _ 1)、及び Trypsin Inhibitor-like cysteine rich domain (TIL) を有することが判明した。696 番目のアミノ酸から 774 番目のアミノ酸ま*

*7867bp からコードされていることが判明した。また、F G 0 1 8 9 6 遺伝子も全てこの断片中にコードされていることから、両者が Alternative Splicing によって生じたクローンであることも判明した。

【0092】

【実施例 4 - 1】(F G 0 6 9 6 9 の解析) F G 0 6 9 6 9 のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム (BLAST2.0) を用いて検索したところ、表 3 に示す配列と相同性を有することが明らかになった。このうち、A C 0 0 4 8 7 7 が F G 0 6 9 6 9 のゲノム配列であったが、A C 0 0 4 8 7 7 がコードする遺伝子の配列として GenBank に登録されているアミノ酸配列との相同性は 40% であった。

【0093】

【表 3】

*での領域についても他の TSP1 ドメインと同様に保存されたトリプトファン、システインを有することから、TSP1 ドメインであることが判明した。よって F G 0 6 9 6 9 の cDNA 配列は T S P 1 を 8 回繰返し保存していた。

【0095】

【表 4】(F G 0 6 9 6 9 の Pfam HMM Search (HMMPFAM) 検索結果)

Hit	Score	Expect	Q from	Q to	sequence
tsp_1	51.4	1.9e-11	481	528	TLWSSWSDCPVSCGGGNQYRTRACRAAPHHRSPCLG PDTQTRQQPC
tsp_1	45.7	1.1e-09	232	282	SRWSPWNCORSCGGQSLRSRSCSPPSKNGGAPCAG ERHQARLCNPMPC
tsp_1	32.8	8.2e-06	387	435	SHWSANSPCSHSCGPRGQSRFRSSTSGSWAPECREEQ SQSQPCQPSC
tsp_1	32.1	1.2e-05	174	225	TSWAPWPCSRSCGVGQRRRLRAYRPPGPGGHWCNPIL TAYQERRFCNLRAC
TIL	21.8	0.0075	286	341	CPAGMEVVTCANRCPRRCSDLQEGIVCQDDQVCQKGC CPKGSLEQDGGCVPIGHC
tsp_1	19.6	0.0038	787	850	SLWGPWSPQVPCSGGFRLRWREAEALCGGCREPWAQ DRKLQRRALPRLELRGPRHCIPGLC
tsp_1	16.4	0.009	108	155	GPWSSWSPCSRCTDPARPAWRSTRCLANCTMGDPL QERPCNLPSC
TIL	7.9	0.11	591	646	CTPPFEFHACGSPCAGICATHLSHQLCQDLPPCQPGCY CPKELLEQAGGCIPEEC
tsp_1	1.9	0.42	535	586	CSWGPWGPCSRSCGPLASRSGSCPCMLAKADPTCNST FLHLDTQGCYSGPC

【0096】なお、表中各用語の意味は以下の表 5 のとおりである。

【0097】

【表 5】

結果の見方：

Hit : 検索の結果推定されるドメインの名前。
 Score : この値が高ければ高いほど信頼度が高い。
 Expect : この値が0に近ければ近いほど信頼度が高い。
 Q from : 推定されるドメインの開始位置
 Q to : 推定されるドメインの終了位置
 sequence : 推定されたドメインの配列

【0098】FG06969のドメイン解析を表6に示す * 【0099】

した。表6において、下線部はTSP1ドメインを示す 【表6】

し、斜体はTILドメインを示す。

```

MSWTQARHFV QAVATARVHT GSC LAPWTTA SRPMVVSVP ARGARAPAPV
EGWAPVPAASVCSPPSPV VRAAVGPART SSNCPSDPC GAEGSTVEPV
TGLPGGW
TSP1 GPWSSWSPCS RSCTDPARPA WRSRTRLCLA NCTMGDPLQE RPCNLPSC
TELPCPGPG CGAGNCWS
TSP1 TSWAPWEPCS RSCGVGQQR LRAYRPPCPG GHWCPNLTAYQERRFCNL ACP
VPGGW
TSP1 SRWSPWSWCD RSCGGGQSLR SRSCSSPPSK NGGAPCAGER HQARLCNPMP C
EAG
TIL CPAGMEVVT ANCRPRRCD LQEGIVCQDD QVCQKGCRCP KGSLEQDGGC VPIGHC
DCTDAQGHSW APGSQHQDAC NNCSCQAGQL SCTAQPCPPP THCAW
TSP1 SHWSAWSPCS HSCGPRGQSS RFRSSTSGSW APECREEQSQ SQPCPQSC
PPLCLQGRS RTLGDSWLQ ECQRCSTPE GVICEDTECA VPEAW
TSP1 TLWSSWSDCP VSCGGGNQVR TRACRAAPH HRSPCLGPD TQTRQPC
PGLLEA
TSP1 CSWGPWGPCS RSCGPGLASR SGSCPCMAK ADPTCNSTFL HLDTCGQCYSG PC
PEDS
TIL CTPPEFHAC GSPCAGICAT HLSHQLCQDL PPCQPGCYCP KGLLEQAGGC IPPEEC
NCWHTSAAGA GMTLAPGDR LQCKECECR RGLHCTSQG CQGLLPL
TSP1 SEWSEWSPCG PCLPPSALAP ASRTALEEH LRDPTGLSPT LAPLLASEQH RHRLCLDPAT
GRPWTGAPHL C
TAPLSQQRL CPDPGACP DSCQW
TSP1 SLWGPWSPCQ VPCSGGFR LRWREAEALCGG GREPWQDR KLQRRALPRL ELRG
PRHCIHPGLC QPVPTQLCRP LGPRSVSAGT LPPRLPLSPW PAGPGWALCA DLLLPLWPPQ
CQCLLGAGPG PGGAAGLPKL HLCQVRPGVP TPGVSSPWAL VSLEQLLGPL WWGHYGATSD L

```

【0100】上記ドメイン解析で得られた結果からTSP1ドメインの比較を行い表7に結果を示した。表中*はドメイン間で共通のアミノ酸を示す。

【0101】

【表7】(TSP1ドメインの比較)

```

from to * * *
696 774 SEWSEWSPCGP-CLPPSALAPASRTALEEHLRDPTGLSPTLA---PLLASEQHRHRLCLDPATGRPWTGAPHL
108 155 GPWSSWSPCSRSCTDPARPA-WRSRTRLCLAN-----CTMGDPLQE-RPCN-----LPSC
174 225 TSWAPWEPCSRSCGV-GQQRRLRAYRPPCPGCHWC-----PNILTAYQERRFCN-----LRAC
232 282 SRWSPWSWCDRSCGG-GQSLRSRSCSSPPSKNGGA-----PCAGERHQA-RLCN-----PMPC
387 435 SHWSAWSPCSHSCGPRGQSSRFRSSTSGSWAP-----ECREEQSQS-QPCP-----QPSC
481 528 TLWSSWSDCPVSCGG-GNQVRTRACRAAPHHRSP-----PCLGPDQT-R-----QQPC
535 586 CSWGPWGPCSRSRSGP-GLASRSGSCPCMAKADPT-----CNSTFLHLDTCGQCY-----SGPC
787 850 SLWGPWSPCQVPCSG-GFRLRWREAEALCGGCREPWQDRKLQRRALPRLRGLRPHCIH-----PCLC

```

【0102】

【実施例4-2】(FG01896の解析)FG01896のアミノ酸配列を既知配列に対して解析プログラム (BLAST2.0)を用いて検索したところ、表8に示す配列と相同性を有することが明らかになった。このうち、AC004877がFG01896のゲノム配列であった

が、AC004877がコードする遺伝子の配列としてGenBankに登録されているアミノ酸配列との相同性は37%であった。

【0103】

【表8】

32

(E-valueが $e-40$ 以下のもの)。

Hit (ID)	E-Value	相同性 (%)	説明
AJ133488	0.0	69	SCD-spondin(Bos taurus)
AF078930	$e-131$	60	Reissner's fiber glycoprotein(Bos taurus)
AC004877	$e-113$	37	PAC clone DJ0751H13 from 7q35-qter(Homo sapiens)
X97818	$6e-44$	32	semaphorin G(M. musculus)
U52840	$2e-42$	29	semaphorin F homolog(Homo sapiens)
Z50004	$4e-42$	24	Caenorhabditis elegans cosmid T0705 C02B4.1
X97817	$8e-42$	30	semaphorin F (M. musculus)

【0104】FG01896のアミノ酸配列をクエリーとし、Pfam ver3に含まれる検索ツールPfam HMM Search (HMMPFAM)を用いて検索した。その結果、表9に示すように、FG01896はTSP1ドメイン(tsp_1)、およびTrypsin Inhibitor-like cysteine rich domain(TI*

*L)を有することが判明した。なお、表中各用語の意味は上記表5のとおりである。

【0105】

【表9】

Hit	Score	Expect	Q from	Q to	sequence
tsp_1	51.4	$1.9e-11$	430	477	TLWSSWSDCPVSCGGGNQVTRACRAAAPHHR SPPCLGPDQTQRQQPC
tsp_1	45.7	$1.1e-09$	232	282	SRWSPSWCDRSCGGGQSLRSRSCSSPPSKNG GAPCAGERHQARLCNPMPC
tsp_1	32.1	$1.2e-05$	174	225	TSWAPWEPCSRSCGVGQRRRLRAYRPPGPGGH WCPNILTAYQERRFCNLRAC
TIL	21.8	0.0075	286	341	CPAGMEVVTCANRCPRRCSDLQEGIVCQDDQV CQKGCRCPKGSLEQDGGCVPIGHC
tsp_1	19.6	0.0038	792	855	SLWGPWSPCQVPCSGGFLRWREAEALCGGGC REPWAQDRKLQRRALPRLELRGPRHCIPGLC
tsp_1	16.4	0.009	108	155	GPWSSWSPCSRCTDPARPAWRSRTRLCLANC TMGDPLQERPCNLPSC
tsp_1	14.6	0.014	387	423	SHWS AWSPCSHSCG PRGQQRFRS CTPEGVICED TEC
TIL	9.0	0.089	596	651	CTPPFEFHACGSPCAGICATHLSHQLCQDLPP CQPGCYCPKGLLEQAGGCIPPEEC
tsp_1	5.5	0.16	542	591	SSWSSWTRC SCRVLVQQRV RHQGPASRGA RAGAPCTRLD GHFRPCLISN C
tsp_1	1.9	0.42	484	535	CSWGPWGPCSRSCGPGLASRSGSCPLMAKAD PTCNSTFLHLDQTGGCYSGPC

【0106】FG01896のドメイン解析の結果を表10に示す。表10において、下線部はTSP1ドメインを示し、斜体はTILドメインを示す。

【0107】

【表10】

36

```

MSWTQARHFV QAVATARVHT GSCLAPWTTA SRPMVSVPG ARGARAPAPV
EGWAPVPAAS SVCSPPSV VRAAVGPART SSNCPSDCP GAEGSTVEPV
TGLPGGW
TSP1 GPW SSWSPCSRSC TDPARPAWRS RTRLCLANCT MGDPLQERPC NLPSC
TELPV CPGPGCGAGN CSW
TSP1 TSWAPWE PCSRSCGVGQ QRRRLAYRPP GPGGHWCNPI LTAYQERRFC NLRAC
PVPGG W
TSP1 SRWSPSWC DRSCGGGQSL RSRSCSSPPS KNGGAPCAGE RHQARLCNPM PC
EAG
TIL CPAGM EVVTCANRCP RRCSDLQEGI VCQDDQVCQK GCRCPKGSLE QDGGCVPIGH C
DCTDAQGHS WAPGSQHQA CNNCSCQAGQ LSCTAQPCPP PTHCAW
TSP1 SHWS AWSPCSHSCG PRGQSRFRS CTPEGVICED TEC
AVPEAW
TSP1 T LWSSWSDCPV SCGGGNQVRT RACRAAPHH RSPPCLGPD TQRQQPC
PGL LEA
TSP1 CSWGPWG PCSRSCGPG ASRSGSCPCL MAKADPTCNS TFLHLDTQGC YSGPC
PEECV W
TSP1 SSWSSWTRC SCRVLVQRY RHQGPASGA RAGAPCTRLD GHFRPCLISN C
SEDS
TIL CTPPF EFHACGSPCA GLCATHLSHQ LCQDLPPCQP GCYCPKGLLE QAGGCIPPEE C
NCWHTSAAG AGMTLAPGDR LQLGCKECC RRGELHCTSQ GCQGLLPLSE
TSP1 WSEWSPCGPC LPPSALAPAS RTALEEHWR DPTGLSPTLA PLLASEQHRH RLCLDPATGR
PWTGAPHL C
T APLSQRLCP DPGACPDSCQ W
TSP1 SLWGPWSPC QVPCSGGRL RWREAEALCG GGCREPWAQD RKLQRRALPR LELRGPRHCI HPGLC
QVPYT QLCRPLGPRS VSAGTLPPRL PLSPWPAGPG WALCADLLP
LWPPQCQCLL GAGPGPGGAA GLPKHLQCR VPGVPTPGVS SPWALVLEQ LLGPLWNGHY GATSDL

```

【0108】上記FG06969及びFG01896の解析結果から、FG06969とFG01896のアライメントをClustalW1.7(Felsenstein, J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. Distributed by the author. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.)を用いて行った。図8aおよび図8bに示すように、FG06969はTSP-1ドメインを8個、TILドメインを2個有しており、FG01896はTSP-1ドメインを9個、TILドメインを2個持っている。FG06969とFG01896とで配列*10

FG5S sense ; 5'-ACTGCACCTGTGTCAACGAG-3'
FG5A antisense ; 5'-GTCCGATGTGCTCCATAGT-3'

【0111】次に24種のヒト臓器のmRNAに由来するcDNAを4種の濃度で96ウェルプレート中に調製した「ヒトRAPID-SCAN™ GENE EXPRESSION PANEL」(OriGene Technologies, Inc., Rockville, Maryland, USA)を鋳型として、下記表12の酵素溶液(25μl/ウェル)

Volume (容量)	Reagent (試薬)	Final conc. (終濃度)
2.5 μl	10x EX Taq buffer	1x
2.0 μl	dNTP (各 2.5 mM)	0.2 mM
0.1 μl	100 μM sense primer	0.4 μM
0.1 μl	100 μM antisense primer	0.4 μM
20.2 μl	Distilled Water	
0.1 μl	EX Taq polymerase (5U/μl)	0.02U/μl
計25 μl		

【0113】酵素溶液を各ウェルに添加後、プレートプラスチックカバーシートで被い、15分間静置後、サーマルサイクラー (PCR Thermal Cycler MP:宝酒造)

*の一致するドメインはTSP-1ドメインで7個、TILドメインであり、互いに配列の異なるドメインはTSP-1ドメインで1個であった。

【0109】

【実施例5】(FG06969遺伝子の発現組織の解析) FG06969遺伝子の発現組織を解析するため、下記表11のPCRプライマーを合成した。

【0110】

【表11】

ル)を添加し、ミネラルオイルを適量(約25μl)重層した。なお、プライマーはFG5S/FG5Aの組合せで106bpのDNA断片が増幅される。

【0112】

【表12】

にセットし、[94で30秒、60で30秒、72で30秒]/40サイクルの運転プログラムでPCR反応させた。

【0114】PCR反応終了後、PCR産物10μLを2μLの10×泳動用緩衝液（宝酒造制限酵素に添付）と混合し、泳動装置Mupid（コスモバイオ：東京）にセットした3%アガロースゲル（SeaKem GTG agarose:FMC BioProducts, Rockland, ME, USA:1μg/mLのエチジウムブロマイドを含む）にアプライし、50Vの定電圧で約75分間泳動後、紫外線照射下で泳動像を観察した。なお、泳動用緩衝液にはトリス・ホウ酸緩衝液（宝酒造）を用いた。その結果は図1に示した。なおPCR産物は、RAPID-SCANプレート中1.0ngのcDNAを含む濃度系列にのみ観察され、それ以下の濃度系列では得られなかった。

【0115】図1に示すように、FG06969クローンに相当する遺伝子の発現は、脳、肺、胃、精巣、胎盤、副腎、脾、前立腺、白血球に多く、心臓、脾、肝、甲状腺、卵巣、皮膚、骨髄、骨格筋、唾液腺、小腸がこれに続き、腎、結腸、子宮では検出限界以下であった。よって、FG06969遺伝子は、その発現の組織特異性が低い遺伝子であると考えられた。また、本遺伝子の発現は、胎児の脳及び肝においても観察された。

【0116】

【実施例6】（FG06969及びFG01896の発現ベクターの作成）ヒトFG06969のC末端にMycHisタグ配列を融合発現する哺乳動物細胞用発現ベクターを以下の手順で作成した。

（1）ヒトFG06969の終始コドンを除く全アミノ酸コード領域（配列表の配列番号2の1399から4281塩基）の両端にアニーリングする下記表13のPCRプライマーペアを設計した。

【0117】

【表13】

N末端側プライマー：ATGAGCTGGACTCAGGCCAG
C末端側プライマー：CAAGTCCGATGTCGCTCCAT

【0118】N末端プライマーには4塩基のスペーサーと制限酵素Nhe I（宝酒造）の認識配列、C末端プライマーには4塩基のスペーサーと制限酵素Hind III（宝酒造）の認識配列を付加した下記表14のPCRプライマーペアを設計合成した。

【0119】

【表14】

NH02-S01：GAAAGCTAGCATGAGCTGGACTCAGGCCAG
HD02-A01：GAAAAAGCTTCAAGTCCGATGTCGCTCCAT

【0120】（2）NHTP-S01及びHOTP-A01をプライマー、ヒトFG06969を含むプラスミドを鋳型として、耐熱性DNAポリメラーゼKOD DNA Polymerase（東洋紡）にてPCRをおこなったところ、目的のヒト全長cDNAと考えられる約2.9KbpのDNAが主な増幅産物として得られた。PCRの条件はKOD DNA Polymerase添付プロトコルに従った。

【0121】（3）哺乳動物細胞発現用ベクターpcDNA

3.1(-)/MycHisA(Invitrogen社)及び増幅したヒト全長cDNAを、制限酵素Nhe IとHind IIIで消化した後、アガロースゲル電気泳動し、それぞれ目的のDNA断片を、QIA Quick Gel Extraction Kit (QIAGEN社)を用いて添付のプロトコルに従いゲル中から回収した。ゲル中から回収したヒト全長cDNA及びpcDNA3.1(-)/MycHisA断片は、Ready-To-Go T4DNA ligase（アマシャム・ファルマシア・バイオテク社）を用いて添付プロトコルに従い連結した。連結したプラスミドをDH5αコンピテント細胞（東洋紡）に導入し、大腸菌菌質転換体を得た。これを終濃度50μg/mLのアンプシリン（ナカライテスク社）を含むterrific Broth培地で培養し、複合体DNAを含むプラスミドをQIAprep^{登録商標} Spin Miniprep Kit (QIAGEN社)で抽出した。

【0122】（4）作成したプラスミドのシーケンス用に下記表15のプライマーを合成した。

【0123】

【表15】

pcDNA-S1：CACTGCTTACTGGCTTATCG
pcDNA-A1：ACTAGAAGGCACAGTCGAGG

【0124】上記のプライマーとFG06969の塩基配列決定に使用したプライマー（実施例2参照）及び「BigDye Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction Kit」（PE Biosystems社）を用いて、抽出したプラスミドの塩基配列決定用サンプルを調製した。調製したサンプルを、キャピラリー電気泳動式塩基配列解析装置ABI PRISM^{登録商標}310ジェネティックアナライザ（PE Biosystems社）で解析し、得られた塩基配列データをシーケンスアセンブリソフトSequencher3.1(Gene Codes社)を用いて連結することにより、全塩基配列を決定した。塩基配列を決定した2クローンのうち、1クローンが目的のFG06969とMycHisタグをC末端に融合したアミノ酸コード領域を有するプラスミドであり、そのクローンをpcDNA3.1(-)/FG06969/MycHisと命名した。

【0125】（5）FG01896についてもFG06969と同様にC末端にMycHisタグ配列を融合発現する哺乳動物細胞用発現ベクター：pcDNA3.1(-)/FG01896/MycHisを作製するため、pcDNA3.1(-)/FG06969/MycHisを基にして、FG01896とFG06969間で配列が異なる部分を制限酵素処理によって入れ換えた。すなわち、FG01896とFG06969間で配列が異なる部分の外側にそれぞれ1個所づつ認識部位を有する制限酵素Bpu1102 I（宝酒造）とBamH I（宝酒造）でFG01896を含むプラスミド及びpcDNA3.1(-)/FG06969/MycHisを消化した後、アガロースゲル電気泳動をおこない、ゲル中から約1.1kbpのFG01896 cDNA断片と約7.2kbpのpcDNA3.1(-)/FG06969/MycHis cDNA断片を、QIA QuickGel Extraction Kit (QIAGEN社)を用いて添付プロトコルに従い回収した。回収したFG01896

断片及びpcDNA3.1(-)/FG06969/MycHis断片は、Ready-To-Go T4 DNA ligase (アマシャム・ファルマシア・バイオテク社)を用いて添付プロトコルに従い連結した。連結したプラスミドをDH5αコンピテント細胞(東洋紡)に導入し、大腸菌形質転換体を得た。得られた大腸菌形質転換体は、終濃度50 µg/mLのアンピシリン(ナカライテスク社)を含むTerrific Broth培地で培養し、当該DNAを含むプラスミドをQIAprep^{登録商標} Spin 形質転換したMiniprep Kit (QIAGEN社)で抽出した。

【0126】(6)抽出したプラスミドは制限酵素処理及び塩基配列決定により、目的のpcDNA3.1(-)/FG01896/MycHisである事を確認した。すなわち、制限酵素Pvu I (宝酒造)、Bln I (宝酒造)及びAor51H I (宝酒造)で切断した後、アガロースゲル電気泳動をおこない、pcDNA3.1(-)/FG06969/MycHisであれば約2.8kbp及び約5.5kbpの2本であるDNAバンドが、pcDNA3.1(-)/FG01896/MycHisでは約2.8kbp、約2.4kbp及び約3.1kbpの3本となったことを確認した。

【0127】塩基配列決定についてはFG06969に使用したプライマー及び「BigDye Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction Kit」(PE Biosystems社)を用いて、pcDNA3.1(-)/FG01896/MycHisの塩基配列決定用サンプルを調製した。調製したサンプルを、キャピラリー電気泳動式塩基配列解析装置ABI PRISM^{登録商標}310ジェネティックアナライザ(PE Biosystems社)で解析し、得られた塩基配列データをシーケンスアセンブリソフトウェアSequencher3.1(Gene Codes社)を用いて連結することにより、作製したプラスミドが目的とするpcDNA3.1(-)/FG01896/MycHisであることを確認した。作製したpcDNA3.1(-)/FG06969/MycHis及びpcDNA3.1(-)/FG01896/MycHisを図示する(図2、3)。

【0128】

【実施例7】(昆虫細胞でのFG06969遺伝子発現)

【0129】1.組換えバキュロウイルスベクターの作製

FG06969遺伝子動物細胞発現用ベクター、pcDNA3.1(-)/FG06969/MycHisを制限酵素Nhe I (宝酒造製、Code.No. 1162A)及びAfl II (宝酒造製、Code.No. 1003A)で切断後、「DNA Blunting Kit」(宝酒造製Code.No. 6025)で切断末端を平滑化した。反応終了後のDNAサンプルをアガロースゲル電気泳動に供し、FG06969/MycHis断片である約3.0kbのDNA断片をアガロースゲルより分離精製した。次に市販のクローニング用ベクターであるpENTTM1A (GIBCO BRL社製、Code.No. 11813-011)を制限酵素Dra I (宝酒造製、Code.No. 1037A)及びEcoRV (宝酒造製、Code.No. 1042A)で切断後、セルフライゲーションを防止するためにアルカリフォスファターゼ(宝酒造製、Code.No. 2120A)を添加し、60で30分間反応させて、末端の脱リン酸化を行った。反応終了後、

アガロースゲル電気泳動により、ベクター断片である約2kbのDNAをゲルから分離、精製した。両DNA断片をモル比で約1:3(=ベクター:挿入断片)となるように混合し、「DNA Ligation Kit」(宝酒造製、Code.No. 6021)でライゲーション後、大腸菌コンピテントセルDH5α(宝酒造製、Code.No. 9057)を形質転換した。

【0130】形質転換した大腸菌を、カナマイシン(最終濃度;50 mg/l)を含むLBプレートに塗布し、37で一夜培養した。出現したコロニーを任意に数個選択し、約2mlのLB液体培地(50 mg/lカナマイシン)に接種後、37で一夜培養した菌体から、市販の「QIAprep Spin Miniprep Kit」(QIAGEN社製、Code.No. 27106)によりそれぞれのプラスミドDNAを抽出精製した。各プラスミドDNAを制限酵素Psh BIあるいはNhe I及びHind IIIで切断した消化パターンをアガロースゲル電気泳動により解析して目的のプラスミドを選択し、得られたプラスミドをpENTR1A/FG06969/MycHisとした。(図4)

【0131】次に、「Baculovirus Expression System」(GIBCO BRL社製、Code.No. 11827-001)を用いて試験管内組換え反応を行い、pENTR1A/FG06969/MycHisにサブクローニングされているFG06969/MycHis遺伝子をバキュロウイルス用トランスファープラスミドであるpDESTTM8にクローニングした。「Baculovirus Expression System」の添付プロトコルに従い、pDESTTM8とpENTR1A/FG06969/MycHisの試験管内組換え反応を行った後、大腸菌コンピテントセルDH5α(宝酒造製、Code.No.9057)を形質転換した。

【0132】形質転換した大腸菌を、アンピシリン(最終濃度;50 mg/l)を含むLBプレートに塗布し、37で一夜培養した。出現したコロニーを任意に数個選択し、0.1mlのLB液体培地(50 mg/lアンピシリン)に懸濁し、そのうちの1 µlを鋳型としてコロニーPCR反応を行った。プライマーはFG06969遺伝子内を増幅する2種類のプライマー(TP-S05、TP-A06;配列は前述)を用い、市販の増幅酵素KOD Dash(東洋紡社製、Code.No. KOD-101)によりPCR反応(98で3分間/1サイクル→[98で20秒、60で20秒、75で2.5分間]/35サイクル→75で10分間/1サイクル)を行い、アガロースゲル電気泳動により630 dpのDNA増幅バンドが検出されたクローンを選択した。さらに選択したクローンを約2 mlのLB液体培地(50 mg/lアンピシリン)に接種後、37で一夜培養した菌体から、市販の「QIAprep Spin Miniprep Kit」(QIAGEN社製、Code.No. 27106)によりそれぞれのプラスミドDNAを抽出精製し、前述のシーケンスプライマーを用いてFG06969遺伝子の塩基配列を確認した。得られた目的のトランスファープラスミドをpDEST8/FG06969/MycHisとした(図5)。

【0133】FG01896/MycHisについてもFG06969/MycHisと同様にバキュロウイルス用トランスファープラスミド:pDEST8/FG01896/MycHisを作製するため、pDEST8/FG

06969/MycHisを基にして、F G O 1 8 9 6 と F G O 6 9 6 9 間で配列が異なる部分を制限酵素処理によって入れ換えた。すなわち、F G O 1 8 9 6 と F G O 6 9 6 9 間で配列が異なる部分の外側にそれぞれ1箇所づつ認識部位を有する制限酵素Bpu1102 I (宝酒造)とBamH I (宝酒造)でF G O 1 8 9 6 を含むプラスミド及びpDEST8/FG06969/MycHisを消化した後、アガロースゲル電気泳動をおこない、ゲル中から約1.1kbpのF G O 1 8 9 6 cDN A断片と約6.6kbpのpDEST8/FG06969/MycHis cDNA断片を、QIA Quick Gel Extraction Kit (QIAGEN社)を用いて回収した。回収したF G O 1 8 9 6 断片及びpDEST8/FG06969/MycHis断片は、Ready-To-Go T4DNA ligase (アマシャム・ファルマシア・バイオテク社)を用いて連結した後、DH5αコンピテント細胞(東洋紡)に導入し、大腸菌形質転換体を得た。

【0134】得られた大腸菌形質転換体は、終濃度50 μg/mlのアンピシリン(ナカライテスク社)を含むTerrific Broth培地で培養し、プラスミドをQIAprep^{登録商標} SpinMiniprep Kit (QIAGEN社製)で抽出した。抽出したプラスミドは、制限酵素処理及び塩基配列決定により、目的のpDEST8/FG01896/MycHisかどうかを確かめた。すなわち、制限酵素Pvu I (宝酒造)、Bln I (宝酒造)及びAor51H I (宝酒造)で切断した後、アガロースゲル電気泳動をおこない、pDEST8/FG06969/MycHisであれば約1.4kbp及び約6.4kbpの2本であるDNAバンドが、pDEST8/FG01896/MycHisでは約1.4kbp、約1.7kbp及び約4.7kbpの3本となったことを確認した。

【0135】塩基配列決定については、F G O 6 9 6 9 に使用したプライマー及び「BigDyeTerminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction Kit」(PE Biosystems社)を用いて、pDEST8/FG01896/MycHisの塩基配列決定用サンプルを調製した。調製したサンプルを、キャピラリー電気泳動式塩基配列解析装置ABI PRISM^{登録商標}310 ジェネティックアナライザ(PE Biosystems社)で解析し、得られた塩基配列データをシーケンスアセンブリングソフトSequencher3.1 (Gene Codes社)を用いて連結することにより、作製したプラスミドが目的とするpDEST8/FG01896/MycHisであることを確認した。

【0136】前項で作製したトランスファープラスミド、pDEST8/FG06969/MycHis及びpDEST8/FG01896/MycHisとバキュロウイルスDNAとを組換えてFG06969/MycHis及びFG01896/MycHis遺伝子発現ウイルスを作製するため、Bacmidを組込んだ市販の大腸菌コンピテントセル「MAX EFFICIENCY DH108AC Competent Cells」(GIBCO BRL社製、Code.No. 10361-012)をpDEST8/FG06969/MycHis及びpDEST8/FG01896/MycHisでそれぞれ形質転換した。形質転換後の大腸菌を、LB培地(50 mg/l; カナマイシン、10 mg/l; テトラサイクリン、7 mg/l; ゲンタマイシン、100 mg/l; X-gal、40 mg/l; IPTG)に塗布し、37

ンを選択し、50 mlのLB液体培地(50 mg/l; カナマイシン、10 mg/l; テトラサイクリン、7 mg/l; ゲンタマイシン)で37 で一夜培養後、市販の「CONCERT High Purity Maxiprep System」(GIBCO BRL社製、Code.No. 11452-018)により組換えBacmid DNAを精製した。得られた組換えBacmid DNAを、Bacmid/FG06969/MycHis及びBacmid/FG01896/MycHisとしてそれぞれ2クローンを選択し(F G O 6 9 6 9 については、Clone No.8、Clone No.10、F G O 1 8 9 6 についてはClone No.1、Clone No.2)、昆虫細胞トランスフェクション用のDNAとした。

【0137】2. 組換えバキュロウイルスベクターによるFG06969/MycHisタンパクの発現

前項で取得したBacmid/FG06969/MycHis (Clone No.8及びClone No.10) DNAを市販の「CELLFECTIN Reagent」(GIBCO BRL社製、Code.No. 10362-010)を用いて昆虫細胞Sf9細胞にトランスフェクションした。トランスフェクションの方法は、「CELLFECTIN Reagent」に添付の標準プロトコールに従って行い、トランスフェクション後3日目に培養上清液を組換えウイルス液(約2 ml)として採取した。さらにウイルス液を増幅するため、50 ml容培養フラスコ(FLASK50、住友ベークライト社製、Code.No. MS-20050)に 3.0×10^6 数のSf9細胞を付着させ、培地を吸引除去したのち、前記のウイルス液0.5 mlを添加した。室温で1時間放置した後、5 mlの培地(Sf-900 II Serum-Free Medium、GIBCO BRL社製、Code.No. 10902-096)を添加し、28 で4日間培養した。培養終了後、上清液(約5 ml)を採取し、遠心分離(3000rpm、5分間、室温、KUBOTA5200)により細胞を除去した液を「組換えウイルス液」として4 に保存した。

【0138】作製した組換えバキュロウイルスによるFG06969/MycHisタンパクの発現を検討するため、以下の実験を行った。まず6 Well Tissue Culture Plate (φ35mm) (マルチプレート6F、住友ベークライト社製、Code.No. MS-80060)に、1 wellあたり 1.0×10^6 数のSf9細胞を付着させ、培地を吸引除去したのち、前記の「組換えウイルス液」0.3 mlを感染させた。室温で1時間放置した後、2 mlの培地(Sf900 II Serum-Free Medium、GIBCO BRL社製、Code.No. 10902-096)を添加し、28 で培養した。培養開始後、2日目、3日目にプレートを取り出し、CELL LIFTER (Costar社製、Code.No. 3008)を用いて付着した細胞をすべてかきとって遠心管に回収し(約2ml)、遠心分離(3000rpm、5分間、室温、KUBOTA5200)により細胞と培養上清液(約2ml)を分離した。沈殿した細胞は0.2mlのTE Buffer (10mM Tris-HCl、pH=8.0、1 mM EDTA)に再懸濁した。

【0139】次に、培養上清液及び細胞懸濁液中のFG06969/MycHisタンパクを検出するため、His-Tag抗体によるウエスタンブロッティング解析(western blotting analysis)を行った。前項で調製した培養上清液(Extracellular)及び細胞懸濁液(Intracellular)それぞれ

で一夜培養した。出現したコロニーから白色のクロー

0.1 ml に対し、等量 (0.1 ml) の SDS sample Buffer (Tris-SDS-BME Sample Loading Buffer、第一化学薬品社製、Code.No. ER33) を添加し、100 で 5 分間加熱した。各サンプル 0.2 ml のうち 10 μ l を SDS-ポリアクリルアミド電気泳動に供した。SDS-ポリアクリルアミド電気泳動は、市販の「マルチゲル 4/20」第一化学薬品社製、Code.No. 211010) を「カセット電気泳動槽「第一」DPE-120、Code.No. 130472」にセットし、泳動条件は添付の標準プロトコールに従って行った。泳動 Buffer は、宝酒造製「Tris-Glycine-SDS Powder、Code.No. T901」を用い分子量マーカーは、BIO-RAD 社製「Prestained SDS-PAGE Standards、Low Range (Code.No. 161-0305、Control ; 86580)、High Range (Code.No. 161-0309、Control ; 86878)」を用いた。

【0140】泳動終了後、「プロットング・システム」(TAITEC 社製、Code.No. TM-6) を用いて Electro Transfer により PVDF メンブレン (TEFCO 社製、Code.No. 03-056) にプロットングした。Electro Transfer は、宝酒造製「Tris-Glycine Powder、Code.No. T902」にメタノールを 20% 添加した溶液中で、150mA 定電流で 1.5 時間行った。プロットングした PVDF 膜は、Invitrogen 社*

*製の「Anti-His (C-term) Antibody、Code.No. R930-25」を用い、添付されていた標準プロトコールに従って抗体反応を行った。抗体にラベルされた Peroxidase の検出には、Amersham LIFE SCIENCE 社製「ECL+plus、Code.No. RPN2132」を用い、添付されていた標準プロトコールに従って行った。結果を図 6 の (a) 図及び (b) 図に示した。

【0141】図 6 に示したように、CBB 染色及び His-Tag 抗体反応いずれの結果においても、組換えウイルス感染後 2 日目から細胞画分に明瞭な約 120 kDa のバンドが検出されたことから、昆虫細胞発現系において FG06969/MycHis タンパクが発現していることが示された。

【0142】

【発明の効果】以上説明したように本発明は、新規 TSP1 ドメイン含有タンパク質を提供するものであり、この特性を利用した新規医薬組成物、診療手段の提供は、TSP1 ドメイン含有タンパク質関連の臨床・基礎の医用領域において大きな有用性を提供する。

【0143】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> WellFide Corporation
Kazusa DNA Research Institute

<120> A novel thrombospondin domain containing protein

<130> NP00-1103

<140>

<141>

<160> 4

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 961

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ser Trp Thr Gln Ala Arg His Phe Val
Gln Ala Val Ala Thr Ala

1

5

10

15

Arg Val His Thr Gly Ser Cys Leu Ala Pro
Trp Thr Thr Ala Ser Arg

20

25

30

Pro Met Val Val Ser Val Pro Gly Ala Arg
Gly Ala Arg Ala Pro Ala

35

40

45

Pro Val Glu Gly Trp Ala Pro Val Pro Ala
Ala Ala Ser Val Cys Ser

50

55

60

Trp Ser Pro Cys Ser Arg Ser Cys Thr Asp			
Pro Ala Arg Pro Ala Trp			
115	120	125	
Arg Ser Arg Thr Arg Leu Cys Leu Ala Asn			
Cys Thr Met Gly Asp Pro			
130	135	140	
Leu Gln Glu Arg Pro Cys Asn Leu Pro Ser			
Cys Thr Glu Leu Pro Val			
145	150	155	1
60			
Cys Pro Gly Pro Gly Cys Gly Ala Gly Asn			
Cys Ser Trp Thr Ser Trp			
165	170	175	
Ala Pro Trp Glu Pro Cys Ser Arg Ser Cys			
Gly Val Gly Gln Gln Arg			
180	185	190	
Arg Leu Arg Ala Tyr Arg Pro Pro Gly Pro			
Gly Gly His Trp Cys Pro			
195	200	205	
Asn Ile Leu Thr Ala Tyr Gln Glu Arg Arg			
Phe Cys Asn Leu Arg Ala			
210	215	220	
Cys Pro Val Pro Gly Gly Trp Ser Arg Trp			
Ser Pro Trp Ser Trp Cys			
225	230	235	2
40			
Asp Arg Ser Cys Gly Gly Gly Gln Ser Leu			
Arg Ser Arg Ser Cys Ser			
245	250	255	
Ser Pro Pro Ser Lys Asn Gly Gly Ala Pro			
Cys Ala Gly Glu Arg His			
260	265	270	
Gln Ala Arg Leu Cys Asn Pro Met Pro Cys			
Glu Ala Gly Cys Pro Ala			
275	280	285	
Gly Met Glu Val Val Thr Cys Ala Asn Arg			
Cys Pro Arg Arg Cys Ser			
290	295	300	
Asp Leu Gln Glu Gly Ile Val Cys Gln Asp			
Asp Gln Val Cys Gln Lys			
305	310	315	3
20			
Gly Cys Arg Cys Pro Lys Gly Ser Leu Glu			

Ser Pro Pro Cys Leu Gly Pro Asp Thr Gln			
Thr Arg Gln Gln Pro Cys			
515	520	525	
Pro Gly Leu Leu Glu Ala Cys Ser Trp Gly			
Pro Trp Gly Pro Cys Ser			
530	535	540	
Arg Ser Cys Gly Pro Gly Leu Ala Ser Arg			
Ser Gly Ser Cys Pro Cys			
545	550	555	5
60			
Leu Met Ala Lys Ala Asp Pro Thr Cys Asn			
Ser Thr Phe Leu His Leu			
565	570	575	
Asp Thr Gln Gly Cys Tyr Ser Gly Pro Cys			
Pro Glu Asp Ser Cys Thr			
580	585	590	
Pro Pro Phe Glu Phe His Ala Cys Gly Ser			
Pro Cys Ala Gly Ile Cys			
595	600	605	
Ala Thr His Leu Ser His Gln Leu Cys Gln			
Asp Leu Pro Pro Cys Gln			
610	615	620	
Pro Gly Cys Tyr Cys Pro Lys Gly Leu Leu			
Glu Gln Ala Gly Gly Cys			
625	630	635	6
40			
Ile Pro Pro Glu Glu Cys Asn Cys Trp His			
Thr Ser Ala Ala Gly Ala			
645	650	655	
Gly Met Thr Leu Ala Pro Gly Asp Arg Leu			
Gln Leu Gly Cys Lys Glu			
660	665	670	
Cys Glu Cys Arg Arg Gly Glu Leu His Cys			
Thr Ser Gln Gly Cys Gln			
675	680	685	
Gly Leu Leu Pro Leu Ser Glu Trp Ser Glu			
Trp Ser Pro Cys Gly Pro			
690	695	700	
Cys Leu Pro Pro Ser Ala Leu Ala Pro Ala			
Ser Arg Thr Ala Leu Glu			
705	710	715	7
20			
Glu His Trp Leu Arg Asp Pro Thr Gly Leu			

Gly Ala Ala Gly Leu Pro Lys Leu His Leu
Cys Gln Arg Val Pro Gly

915

920

925

Val Pro Thr Pro Gly Val Ser Ser Pro Trp
Ala Leu Val Ser Leu Glu

930

935

940

Gln Leu Leu Gly Pro Leu Trp Trp Gly His
Tyr Gly Ala Thr Ser Asp

945

950

955

9

60

Leu

<210> 2

<211> 5420

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1399)..(4284)

<400> 2

ctgccattga aggggccgag tatagcccct gtgg
ccctcc gtgccctcgc tcctgtgatg 60
acctagtga ctgcgtgtgg cgctgccagc ctgg
ctgcta ctgcccacca ggccaggtac 120
tgagttccaa cggggccatc tgcgtgcagc cggg
tactg cagctgcctg gacctgctga 180
ccgggcagcg gcaccatccg ggtgctcggc tggc
aaggcc tgacggctgc aaccactgca 240
cctgcctgga ggggaggctg aactgcacag acct
gccctg ccagtgccc ggaggctggt 300
gcccgtggtc ggagtggaca atgtgtccc agcc
ctgcag gggccagacc aggagccgct 360
ccagggcctg tgcctgcccc actcctcagc acgg
tggtgc cccgtgcaact ggagaggctg 420

gggaggcagg ggcccagcat cagagggagg cctg
ccccag ctacgccacg tgcccagtgg 480
acggagcctg gggcccatgg gggccatggt ctcc
ctgcga catgtgcttg gggcagtccc 540
accggagccg ggcgtgcagc cgcccccca cccc
tgaggg agggaggccc tgcctggga 600
gccacacgca gattcgcct tgccaggaaa attc
caccca gtgcacagac tgcgggggtg 660
gccagagtct gcatccctgt gggcagccct gccc
ccgtc ctgccaggac ctgtcccctg 720
ggagcgtgtg ccagccaggc tctgtgggt gcc
gcccac ttgtgggtgc cccctgggcc 780
agctctccca ggacgggctg tgcgtgcccc cagc
ccactg ccgctgccag taccagcctg 840
gagccatggg gatccctgag aaccagagcc gctc
agcagg gtctaggttt agctcctggg 900
agagcctgga acccgagag gtggtcactg ggcc

45	50	55	
gcc agt gtg tgc tca cca tgc cca ccc tca			
gtg gtc agg gct gcc gtg 1623			
Ala Ser Val Cys Ser Pro Cys Pro Pro Ser			
Val Val Arg Ala Ala Val			
60	65	70	75
ggc ccc gcc agg acc tcg agt aac tgc ccc			
agc cca gac tgc cct ggg 1671			
Gly Pro Ala Arg Thr Ser Ser Asn Cys Pro			
Ser Pro Asp Cys Pro Gly			
80	85		90
gct gaa ggg tcc acg gtg gag cca gta aca			
ggc ctt cca ggt ggc tgg 1719			
Ala Glu Gly Ser Thr Val Glu Pro Val Thr			
Gly Leu Pro Gly Gly Trp			
95	100		105
ggc cca tgg tcc tcc tgg tcc ccc tgc tcc			
aga agc tgc acg gac ccc 1767			
Gly Pro Trp Ser Ser Trp Ser Pro Cys Ser			
Arg Ser Cys Thr Asp Pro			
110	115		120
gct cgc cct gca tgg cgc agc cgc acc cgc			
ctc tgc ctg gct aac tgc 1815			
Ala Arg Pro Ala Trp Arg Ser Arg Thr Arg			
Leu Cys Leu Ala Asn Cys			
125	130		135
acc atg ggg gac cca tta cag gag cgc ccc			
tgc aac ctg ccc tca tgc 1863			
Thr Met Gly Asp Pro Leu Gln Glu Arg Pro			
Cys Asn Leu Pro Ser Cys			
140	145	150	1
55			
aca gag ctg ccc gtg tgc cct ggc cct ggc			
tgt ggg gct ggg aac tgt 1911			
Thr Glu Leu Pro Val Cys Pro Gly Pro Gly			
Cys Gly Ala Gly Asn Cys			
160	165		170
tcc tgg acc tcc tgg gcc ccg tgg gaa cct			
tgc tcc cgc agc tgc gga 1959			
Ser Trp Thr Ser Trp Ala Pro Trp Glu Pro			
Cys Ser Arg Ser Cys Gly			
175	180		185
gtg ggc cag cag cgc cgc ctg cgg gca tac			
cgt ccc cct ggg ccc ggc 2007			
Val Gly Gln Gln Arg Arg Leu Arg Ala Tyr			
Arg Pro Pro Gly Pro Gly			
190	195		200

Gln Val Cys Gln Lys Gly Cys Arg Cys Pro
Lys Gly Ser Leu Glu Gln

320

325

330

gat ggt ggc tgc gtg cca att ggg cac tgt
gac tgc acc gat gcc cag 2439
Asp Gly Gly Cys Val Pro Ile Gly His Cys
Asp Cys Thr Asp Ala Gln

335

340

345

ggc cac agc tgg gcc ccg ggg agc cag cac
cag gat gcc tgc aac aac 2487
Gly His Ser Trp Ala Pro Gly Ser Gln His
Gln Asp Ala Cys Asn Asn

350

355

360

tgc tca tgc caa gct ggg cag ctc tcc tgc
acg gct cag ccc tgc ccg 2535
Cys Ser Cys Gln Ala Gly Gln Leu Ser Cys
Thr Ala Gln Pro Cys Pro

365

370

375

cct ccc acc cac tgt gcc tgg agc cac tgg
tcg gcc tgg agt ccc tgc 2583
Pro Pro Thr His Cys Ala Trp Ser His Trp
Ser Ala Trp Ser Pro Cys

380

385

390

3

95

agc cac tca tgc ggg ccc aga ggg cag cag
agc cgc ttc cgg tcc tcc 2631
Ser His Ser Cys Gly Pro Arg Gly Gln Gln
Ser Arg Phe Arg Ser Ser

400

405

410

acg tcg ggc tcg tgg gcc cca gag tgt cgg
gag gag cag tcc cag agc 2679
Thr Ser Gly Ser Trp Ala Pro Glu Cys Arg
Glu Glu Gln Ser Gln Ser

415

420

425

cag ccc tgc cct cag ccc tcg tgc cca ccc
ctg tgc ctg cag ggc act 2727
Gln Pro Cys Pro Gln Pro Ser Cys Pro Pro
Leu Cys Leu Gln Gly Thr

430

435

440

cgc tcc cgc acc ctg ggg gac agc tgg ctg
cag ggg gag tgc cag cgg 2775
Arg Ser Arg Thr Leu Gly Asp Ser Trp Leu
Gln Gly Glu Cys Gln Arg

445

450

455

575	580	585	
gag gac agc tgc acg cct ccc ttt gag ttc			
cat gcc tgc ggc tcc ccc 3207			
Glu Asp Ser Cys Thr Pro Pro Phe Glu Phe			
His Ala Cys Gly Ser Pro			
590	595	600	
tgt gct ggg atc tgt gcc aca cac ctg agc			
cat cag ctc tgc cag gac 3255			
Cys Ala Gly Ile Cys Ala Thr His Leu Ser			
His Gln Leu Cys Gln Asp			
605	610	615	
ctg cca ccc tgc cag ccg ggc tgc tac tgc			
ccc aag ggg ctg ctg gag 3303			
Leu Pro Pro Cys Gln Pro Gly Cys Tyr Cys			
Pro Lys Gly Leu Leu Glu			
620	625	630	6
35			
cag gct ggg ggc tgc att ccc cca gag gag			
tgt aac tgc tgg cat acc 3351			
Gln Ala Gly Gly Cys Ile Pro Pro Glu Glu			
Cys Asn Cys Trp His Thr			
640	645	650	
tca gca gca gga gcc ggg atg acc ctg gcc			
cct ggg gac cgc ctg cag 3399			
Ser Ala Ala Gly Ala Gly Met Thr Leu Ala			
Pro Gly Asp Arg Leu Gln			
655	660	665	
ctg ggc tgt aag gag tgt gaa tgc cgg cgt			
ggg gag ctg cac tgc acc 3447			
Leu Gly Cys Lys Glu Cys Glu Cys Arg Arg			
Gly Glu Leu His Cys Thr			
670	675	680	
agc cag ggc tgt caa ggt ctt ctg cct ctg			
agt gag tgg tcc gag tgg 3495			
Ser Gln Gly Cys Gln Gly Leu Leu Pro Leu			
Ser Glu Trp Ser Glu Trp			
685	690	695	
tcg ccc tgt ggg ccc tgc ctg ccg ccc agc			
gcc ctg gcc cct gcc tcc 3543			
Ser Pro Cys Gly Pro Cys Leu Pro Pro Ser			
Ala Leu Ala Pro Ala Ser			
700	705	710	7
15			
agg act gcc cta gag gag cac tgg ctc cga			
gac cca act ggc ctc tcc 3591			
Arg Thr Ala Leu Glu Glu His Trp Leu Arg			

tgt att cac cct gga ctg tgc caa cca gtg
 ccc aca cag ctg tgc cga 3975
 Cys Ile His Pro Gly Leu Cys Gln Pro Val
 Pro Thr Gln Leu Cys Arg

845

850

855

cct ctg gga ccg cgt tca gtg tct gca ggg
 acc ctg ccg ccc agg ctg 4023
 Pro Leu Gly Pro Arg Ser Val Ser Ala Gly
 Thr Leu Pro Pro Arg Leu

860

865

870

8

75

ccg ctg tcc ccc tgg cca gct ggt cca gga
 tgg gcg ctg tgt gcc gat 4071
 Pro Leu Ser Pro Trp Pro Ala Gly Pro Gly
 Trp Ala Leu Cys Ala Asp

880

885

890

ctc ctc ttg ccg ctg tgg cct ccc cag tgc
 caa tgc ctc ttg gga gct 4119
 Leu Leu Leu Pro Leu Trp Pro Pro Gln Cys
 Gln Cys Leu Leu Gly Ala

895

900

905

ggc ccc ggc cca ggc ggt gca gct gga ctg
 cca aaa ctg cac ctg tgt 4167
 Gly Pro Gly Pro Gly Gly Ala Ala Gly Leu
 Pro Lys Leu His Leu Cys

910

915

920

caa cga gtc cct ggt gtg ccc aca cca gga
 gtg tcc agt cct tgg gcc 4215
 Gln Arg Val Pro Gly Val Pro Thr Pro Gly
 Val Ser Ser Pro Trp Ala

925

930

935

ttg gtc agc ctg gag cag ttg ctc ggc ccc
 ctg tgg tgg ggg cac tat 4263
 Leu Val Ser Leu Glu Gln Leu Leu Gly Pro
 Leu Trp Trp Gly His Tyr

940

945

950

9

55

gga gcg aca tcg gac ttg tga ggggggtcct
 ggggtggcac catgccaggc 4314
 Gly Ala Thr Ser Asp Leu

960

ccaggacaca gagcaacggc aggagtgtaa cctg
 cagccc tgccctgagt gccccctgg 4374
 ccaggtgctt agtgcctgtg ccacctcatg cccg
 tgccctc tgctggcatc tgcagcctgg 4434
 tgccatctgt gtgcaggagc cctgccagcc tggc

Met Ser Trp Thr Gln Ala Arg His Phe Val			
Gln Ala Val Ala Thr Ala			
1	5	10	15
Arg Val His Thr Gly Ser Cys Leu Ala Pro			
Trp Thr Thr Ala Ser Arg			
	20	25	30
Pro Met Val Val Ser Val Pro Gly Ala Arg			
Gly Ala Arg Ala Pro Ala			
	35	40	45
Pro Val Glu Gly Trp Ala Pro Val Pro Ala			
Ala Ala Ser Val Cys Ser			
	50	55	60
Pro Cys Pro Pro Ser Val Val Arg Ala Ala			
Val Gly Pro Ala Arg Thr			
65	70	75	80
Ser Ser Asn Cys Pro Ser Pro Asp Cys Pro			
Gly Ala Glu Gly Ser Thr			
	85	90	95
Val Glu Pro Val Thr Gly Leu Pro Gly Gly			
Trp Gly Pro Trp Ser Ser			
	100	105	110
Trp Ser Pro Cys Ser Arg Ser Cys Thr Asp			
Pro Ala Arg Pro Ala Trp			
	115	120	125
Arg Ser Arg Thr Arg Leu Cys Leu Ala Asn			
Cys Thr Met Gly Asp Pro			
	130	135	140
Leu Gln Glu Arg Pro Cys Asn Leu Pro Ser			
Cys Thr Glu Leu Pro Val			
145	150	155	1
60			
Cys Pro Gly Pro Gly Cys Gly Ala Gly Asn			
Cys Ser Trp Thr Ser Trp			
	165	170	175
Ala Pro Trp Glu Pro Cys Ser Arg Ser Cys			
Gly Val Gly Gln Gln Arg			
	180	185	190
Arg Leu Arg Ala Tyr Arg Pro Pro Gly Pro			
Gly Gly His Trp Cys Pro			
	195	200	205
Asn Ile Leu Thr Ala Tyr Gln Glu Arg Arg			

Pro Arg Gly Gln Gln Ser Arg Phe Arg Ser			
Cys Thr Pro Glu Gly Val			
405	410	415	
Ile Cys Glu Asp Thr Glu Cys Ala Val Pro			
Glu Ala Trp Thr Leu Trp			
420	425	430	
Ser Ser Trp Ser Asp Cys Pro Val Ser Cys			
Gly Gly Gly Asn Gln Val			
435	440	445	
Arg Thr Arg Ala Cys Arg Ala Ala Ala Pro			
His His Arg Ser Pro Pro			
450	455	460	
Cys Leu Gly Pro Asp Thr Gln Thr Arg Gln			
Gln Pro Cys Pro Gly Leu			
465	470	475	4
80			
Leu Glu Ala Cys Ser Trp Gly Pro Trp Gly			
Pro Cys Ser Arg Ser Cys			
485	490	495	
Gly Pro Gly Leu Ala Ser Arg Ser Gly Ser			
Cys Pro Cys Leu Met Ala			
500	505	510	
Lys Ala Asp Pro Thr Cys Asn Ser Thr Phe			
Leu His Leu Asp Thr Gln			
515	520	525	
Gly Cys Tyr Ser Gly Pro Cys Pro Glu Glu			
Cys Val Trp Ser Ser Trp			
530	535	540	
Ser Ser Trp Thr Arg Cys Ser Cys Arg Val			
Leu Val Gln Gln Arg Tyr			
545	550	555	5
60			
Arg His Gln Gly Pro Ala Ser Arg Gly Ala			
Arg Ala Gly Ala Pro Cys			
565	570	575	
Thr Arg Leu Asp Gly His Phe Arg Pro Cys			
Leu Ile Ser Asn Cys Ser			
580	585	590	
Glu Asp Ser Cys Thr Pro Pro Phe Glu Phe			
His Ala Cys Gly Ser Pro			
595	600	605	
Cys Ala Gly Leu Cys Ala Thr His Leu Ser			

Gln Val Pro Cys Ser Gly Gly Phe Arg Leu
Arg Trp Arg Glu Ala Glu

805 810 815

Ala Leu Cys Gly Gly Gly Cys Arg Glu Pro
Trp Ala Gln Asp Arg Lys

820 825 830

Leu Gln Arg Arg Ala Leu Pro Arg Leu Glu
Leu Arg Gly Pro Arg His

835 840 845

Cys Ile His Pro Gly Leu Cys Gln Pro Val
Pro Thr Gln Leu Cys Arg

850 855 860

Pro Leu Gly Pro Arg Ser Val Ser Ala Gly
Thr Leu Pro Pro Arg Leu

865 870 875 880

Pro Leu Ser Pro Trp Pro Ala Gly Pro Gly
Trp Ala Leu Cys Ala Asp

885 890 895

Leu Leu Leu Pro Leu Trp Pro Pro Gln Cys
Gln Cys Leu Leu Gly Ala

900 905 910

Gly Pro Gly Pro Gly Gly Ala Ala Gly Leu
Pro Lys Leu His Leu Cys

915 920 925

Gln Arg Val Pro Gly Val Pro Thr Pro Gly
Val Ser Ser Pro Trp Ala

930 935 940

Leu Val Ser Leu Glu Gln Leu Leu Gly Pro
Leu Trp Trp Gly His Tyr

945 950 955 960

Gly Ala Thr Ser Asp Leu

965

<210> 4

<211> 5939

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1297)..(4197)

<400> 4

gccagggtact gagttccaac ggggccatct gcgt
gcagcc gggtcactgc agctgcctgg 60

cgggggccct ggttccccgg gatggggaac acct
 gccacc tctggacttg cctgtcctct 1200
 gttcctgact ggagtgcct tgtgtgctga cagc
 ctggct gctgcaggag ctgggagcca 1260
 ccataggtga ccctggtcag cccctcgggc ctgg
 ag atg agc tgg act cag gcc 1314

Met Ser Trp Thr G

In Ala

1

5

aga cac ttc gta caa gct gtg gca act gct
 cgt gtg cac acg gga agc 1362
 Arg His Phe Val Gln Ala Val Ala Thr Ala
 Arg Val His Thr Gly Ser

10

15

20

tgt ctt gct ccc tgg acg act gct tcg agg
 ccg atg gtg gtt tcg gtc 1410
 Cys Leu Ala Pro Trp Thr Thr Ala Ser Arg
 Pro Met Val Val Ser Val

25

30

35

cct gga gcc cgt ggg gcc cgt gct ccc gct
 cct gtg gag ggc tgg gca 1458
 Pro Gly Ala Arg Gly Ala Arg Ala Pro Ala
 Pro Val Glu Gly Trp Ala

40

45

50

ccc gta ccc gca gcc gcc agt gtg tgc tca
 cca tgc cca ccc tca gtg 1506
 Pro Val Pro Ala Ala Ala Ser Val Cys Ser
 Pro Cys Pro Pro Ser Val

55

60

65

70

gtc agg gct gcc gtg ggc ccc gcc agg acc
 tcg agt aac tgc ccc agc 1554
 Val Arg Ala Ala Val Gly Pro Ala Arg Thr
 Ser Ser Asn Cys Pro Ser

75

80

85

cca gac tgc cct ggg gct gaa ggg tcc acg
 gtg gag cca gta aca ggc 1602
 Pro Asp Cys Pro Gly Ala Glu Gly Ser Thr
 Val Glu Pro Val Thr Gly

90

95

100

ctt cca ggt ggc tgg ggc cca tgg tcc tcc
 tgg tcc ccc tgc tcc aga 1650
 Leu Pro Gly Gly Trp Gly Pro Trp Ser Ser
 Trp Ser Pro Cys Ser Arg

105

110

115

agc tgc acg gac ccc gct cgc cct gca tgg
 cgc agc cgc acc cgc ctc 1698
 Ser Cys Thr Asp Pro Ala Arg Pro Ala Trp
 Arg Ser Arg Thr Arg Leu

Trp Ser Arg Trp Ser Pro Trp Ser Trp Cys
Asp Arg Ser Cys Gly Gly

235

240

245

ggc caa tcc ctg aga agc cgc agc tgc tca
agc ccc cca tcc aag aac 2082
Gly Gln Ser Leu Arg Ser Arg Ser Cys Ser
Ser Pro Pro Ser Lys Asn

250

255

260

ggg gga gcc ccc tgt gct ggg gag cgg cac
cag gcc cgc ctc tgc aat 2130
Gly Gly Ala Pro Cys Ala Gly Glu Arg His
Gln Ala Arg Leu Cys Asn

265

270

275

ccc atg cct tgt gag gcc ggc tgc cca gca
ggc atg gag gtg gtc acc 2178
Pro Met Pro Cys Glu Ala Gly Cys Pro Ala
Gly Met Glu Val Val Thr

280

285

290

tgt gcc aac cgc tgc ccc cgc cgc tgc tca
gac ctc cag gag gga att 2226
Cys Ala Asn Arg Cys Pro Arg Arg Cys Ser
Asp Leu Gln Glu Gly Ile

295

300

305

3

10

gtg tgt cag gac gac cag gtc tgc cag aag
ggc tgc cgc tgc cca aag 2274
Val Cys Gln Asp Asp Gln Val Cys Gln Lys
Gly Cys Arg Cys Pro Lys

315

320

325

ggg tcc ctg gag cag gat ggt ggc tgc gtg
cca att ggg cac tgt gac 2322
Gly Ser Leu Glu Gln Asp Gly Gly Cys Val
Pro Ile Gly His Cys Asp

330

335

340

tgc acc gat gcc cag ggc cac agc tgg gcc
ccg ggg agc cag cac cag 2370
Cys Thr Asp Ala Gln Gly His Ser Trp Ala
Pro Gly Ser Gln His Gln

345

350

355

gat gcc tgc aac aac tgc tca tgc caa gct
ggg cag ctc tcc tgc acg 2418
Asp Ala Cys Asn Asn Cys Ser Cys Gln Ala
Gly Gln Leu Ser Cys Thr

360

365

370

gct cag ccc tgc ccg cct ccc acc cac tgt

490	495	500	
cgc tct ggg tcc tgc ccc tgc ctg atg gcc			
aag gcc gac ccc acc tgc 2850			
Arg Ser Gly Ser Cys Pro Cys Leu Met Ala			
Lys Ala Asp Pro Thr Cys			
505	510	515	
aac agc acc ttc ctc cac ctg gac acc cag			
ggc tgc tac tca ggg ccc 2898			
Asn Ser Thr Phe Leu His Leu Asp Thr Gln			
Gly Cys Tyr Ser Gly Pro			
520	525	530	
tgc cca gag gag tgt gtg tgg agc agc tgg			
agc agc tgg acg cgc tgc 2946			
Cys Pro Glu Glu Cys Val Trp Ser Ser Trp			
Ser Ser Trp Thr Arg Cys			
535	540	545	5
50			
tct tgc cgg gtg ctg gtg cag cag cgc tac			
cga cac cag ggc ccg gcg 2994			
Ser Cys Arg Val Leu Val Gln Gln Arg Tyr			
Arg His Gln Gly Pro Ala			
555	560	565	
tcc cga ggg gcc agg gca ggc gcc ccc tgc			
acg cgg ctg gat ggc cac 3042			
Ser Arg Gly Ala Arg Ala Gly Ala Pro Cys			
Thr Arg Leu Asp Gly His			
570	575	580	
ttc cgg cct tgc ctt atc agc aac tgc tct			
gag gac agc tgc acg cct 3090			
Phe Arg Pro Cys Leu Ile Ser Asn Cys Ser			
Glu Asp Ser Cys Thr Pro			
585	590	595	
ccc ttt gag ttc cat gcc tgc ggc tcc ccc			
tgt gct ggg ctc tgt gcc 3138			
Pro Phe Glu Phe His Ala Cys Gly Ser Pro			
Cys Ala Gly Leu Cys Ala			
600	605	610	
aca cac ctg agc cat cag ctc tgc cag gac			
ctg cca ccc tgc cag ccg 3186			
Thr His Leu Ser His Gln Leu Cys Gln Asp			
Leu Pro Pro Cys Gln Pro			
615	620	625	6
30			
ggc tgc tac tgc ccc aag ggg ctg ctg gag			
cag gct ggg ggc tgc att 3234			

ggg agg ccc tgg act gga gcc cct cac ctc
 tgc acc gca ccc ctc agc 3618
 Gly Arg Pro Trp Thr Gly Ala Pro His Leu
 Cys Thr Ala Pro Leu Ser
 760 765 770

cag cag cgc ctc tgc cct gac cct gga gcc
 tgc cct gac tca tgc cag 3666
 Gln Gln Arg Leu Cys Pro Asp Pro Gly Ala
 Cys Pro Asp Ser Cys Gln
 775 780 785 7
 90

tgg agt ctg tgg ggg cca tgg agc ccc tgc
 cag gtg ccc tgc agt ggg 3714
 Trp Ser Leu Trp Gly Pro Trp Ser Pro Cys
 Gln Val Pro Cys Ser Gly
 795 800 805

ggg ttc agg cta cgc tgg aga gag gca gag
 gcc ctc tgt gga gga ggc 3762
 Gly Phe Arg Leu Arg Trp Arg Glu Ala Glu
 Ala Leu Cys Gly Gly Gly
 810 815 820

tgc cgg gag cca tgg gct caa gac aga aag
 ctg caa cgg agg gcc ctg 3810
 Cys Arg Glu Pro Trp Ala Gln Asp Arg Lys
 Leu Gln Arg Arg Ala Leu
 825 830 835

ccc agg tta gag ctg cga ggc cca aga cac
 tgt att cac cct gga ctg 3858
 Pro Arg Leu Glu Leu Arg Gly Pro Arg His
 Cys Ile His Pro Gly Leu
 840 845 850

tgc caa cca gtg ccc aca cag ctg tgc cga
 cct ctg gga ccg cgt tca 3906
 Cys Gln Pro Val Pro Thr Gln Leu Cys Arg
 Pro Leu Gly Pro Arg Ser
 855 860 865 8
 70

gtg tct gca ggg acc ctg ccg ccc agg ctg
 ccg ctg tcc ccc tgg cca 3954
 Val Ser Ala Gly Thr Leu Pro Pro Arg Leu
 Pro Leu Ser Pro Trp Pro
 875 880 885

gct ggt cca gga tgg gcg ctg tgt gcc gat
 ctc ctc ttg ccg ctg tgg 4002
 Ala Gly Pro Gly Trp Ala Leu Cys Ala Asp
 Leu Leu Leu Pro Leu Trp
 890 895 900

gaacgccaca aagacccaga gtaactgcag ttca
gctcga gcctcgggct gcgtgtgccca 4727
gcccgggcac ttccgcagcc aggcaggccc ctgc
gtcccc gaagaccact gcgagtgtg 4787
gcaccttggg cgtccccacc tgcctggatc tga
tggcag gaggcctgtg agagctgcct 4847
ctgcctcagt gggaggcctg tctgcaccca gcac
tgctcc ccactcacct gtgctcaggg 4907
cgaggagatg gtgctggagc caggagctg ctgt
ccctct tgccgcaggg aggtccgga 4967
ggagcagtcg ccctcctgcc agtcctcac ggag
cttcga aacttacca aaggacctg 5027
ttacctggac caggtagaag tgagctactg cagt
gggtac tgcccatcca gcacccatgt 5087
catgccagag aggtcttctg tggccccaca ccat
tccag agtgtgcccg ctgtgccctt 5147
caaggcaatg agccaggagc ccagcaaaga aagg
catgga ggagctaagc tagcctctga 5207
catcagaacc catcacacgg tgcatgagag catg
agagct ctgccggaat gcactttcta 5267
cagagaggat caccgcacac atttctgca agct
gtccga gctaggctgg ctctgagtct 5327

46

- 【図面の簡単な説明】
【図 1】 F G 0 6 9 6 9 / yncD3.1 (GenBank ID: F06969) の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 2】 作製した pCDNA3.1 (+) (GenBank ID: F06969) の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 3】 作製した pCDNA3.1 (+) (GenBank ID: F06969) の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 4】 プラスミド pCDNA3.1 (+) (GenBank ID: F06969) の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 5】 トランスジェニックマウス (GenBank ID: F06969) の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 6】 F G 0 6 9 6 9 / yncD3.1 (GenBank ID: F06969) の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 7 a】 F G 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 7 b】 F G 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 7 c】 F G 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 7 d】 F G 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 7 e】 F G 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 7 f】 F G 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 7 g】 F G 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 7 h】 F G 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 7 i】 F G 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 7 j】 F G 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 7 k】 F G 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 7 l】 F G 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 7 m】 F G 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。
【図 7 n】 F G 6 9 6 9 及び F G 0 1 8 9 6 の cDNA 配列を公知 A C 0 0 4 8 7 7 (GenBank ID) の Genomic DNA 配列と比較解析した結果を示す図である。

A配列を公知AC004877 (GenBank ID) のGenomic DNA配列と比較解析した結果を示す図である。

【図7o】 FG6969及びFG01896のcDNA配列を公知AC004877 (GenBank ID) のGenomic DNA配列と比較解析した結果を示す図である。

【図7p】 FG6969及びFG01896のcDNA配列を公知AC004877 (GenBank ID) のGenomic DNA配列と比較解析した結果を示す図である。

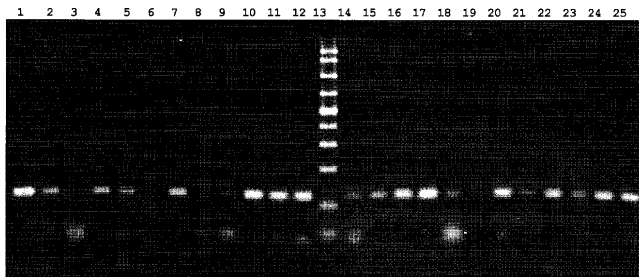
【図7q】 FG6969及びFG01896のcDNA配列を公知AC004877 (GenBank ID) のGenomic DNA配列と比較解析した結果を示す図である。

【図7r】 FG6969及びFG01896のcDNA配列を公知AC004877 (GenBank ID) のGenomic DNA配列と比較解析した結果を示す図である。

【図7s】 FG6969及びFG01896のcDNA配列を公知AC004877 (GenBank ID) のGenomic DNA配列と比較解析した結果を示す図である。

【図7t】 FG6969及びFG01896のcDNA*

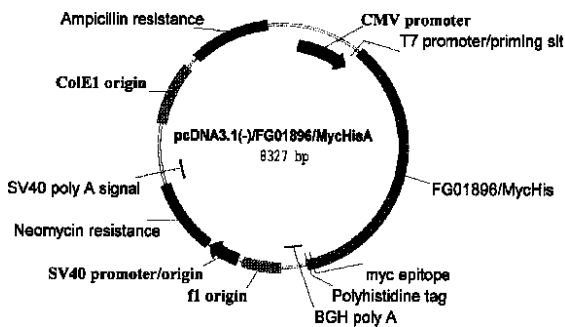
【図1】



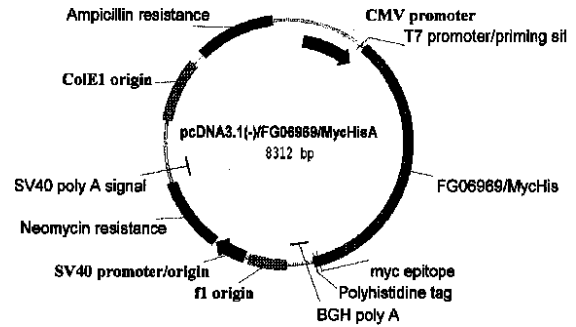
1:脳、2:心臓、3:腎、4:脾、5:肝、6:結腸、7:肺、8:小腸、9:骨格筋、10:胃、11:精巣、12:胎盤、13:サイズマーカー*、14:唾液腺、15:甲状腺、16:副腎、17:脾、18:卵巣、19:子宮、20:前立腺、21:皮膚、22:白血球、23:骨髓、24:胎児脳、25:胎児肝

(*上から 2000, 1500, 1000, 700, 525, 500, 400, 300, 200, 100, 50bp)

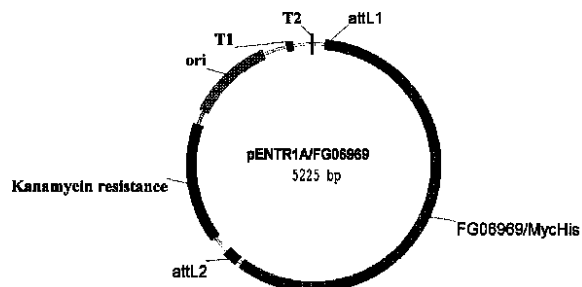
【図3】



【図2】



【図4】



【図7f】

5101 5130
AC004877 5' UTR (5101) GTGACCTGGTCAGCCCTCGGGCCTGGAG ATG
FG01896 5' UTR (1267) GTGACCTGGTCAGCCCTCGGGCCTGGAG ATG
FG06969 5' UTR (1369) GTGACCTGGTCAGCCCTCGGGCCTGGAG ATG

*A配列を公知AC004877 (GenBank ID) のGenomic DNA配列と比較解析した結果を示す図である。

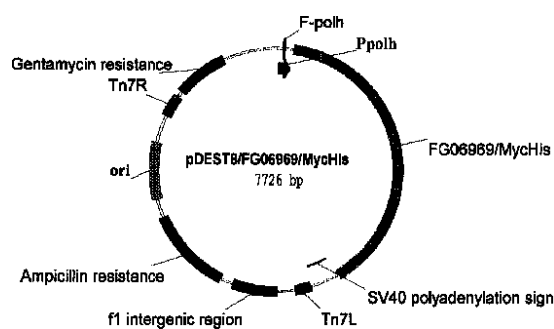
【図7u】 FG6969及びFG01896のcDNA配列を公知AC004877 (GenBank ID) のGenomic DNA配列と比較解析した結果を示す図である。

【図7v】 FG6969及びFG01896のcDNA配列を公知AC004877 (GenBank ID) のGenomic DNA配列と比較解析した結果を示す図である。

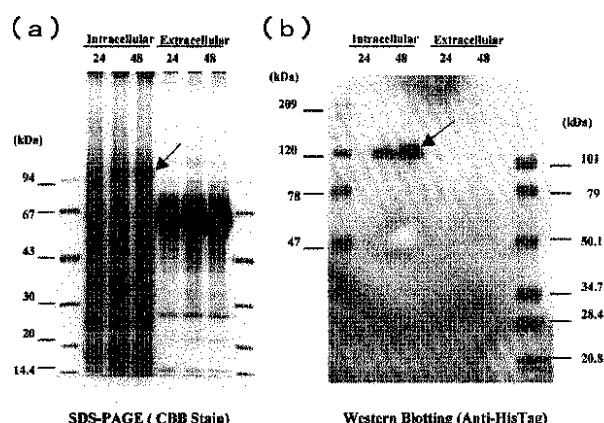
【図8a】 FG06969とFG01896のアライメント図である。図中、「*」は互いのアミノ酸が一致することを示し、「:」は互いのアミノ酸が一致していないことを示す。また、「#」はアサインされたドメインの範囲を示す。

【図8b】 FG06969とFG01896のアライメント図である。図中、「*」は互いのアミノ酸が一致することを示し、「:」は互いのアミノ酸が一致していないことを示す。また、「#」はアサインされたドメインの範囲を示す。

【図 5】



【図 6】



【図 7 a】

<5'-noncoding region>

		1		50
AC004877 5' UTR	(1)	CTGCCATTGAAGGGGCCGAGTATAGCCCTGTGGCCCTCCGTGCCCTCGC		
FG06969 5' UTR	(1)	CTGCCATTGAAGGGGCCGAGTATAGCCCTGTGGCCCTCCGTGCCCTCGC		
		51		100
AC004877 5' UTR	(51)	TCCTGTGATGACCTAGTGSTGAGTCCAGCTCCCTGGCACTGCCACCTG		
FG06969 5' UTR	(51)	TCCTGTGATGACCTAGTG		
		-----Intron 1-----		
		1051		1100
AC004877 5' UTR	(1051)	CCCCAGCACTGCGTGTGGCGCTGCCAGCCTGGCTGCTACTGCCACCAAG		
FG06969 5' UTR	(69)	CACTGCGTGTGGCGCTGCCAGCCTGGCTGCTACTGCCACCAAG		
		1101		1150
AC004877 5' UTR	(1101)	GCCAGGTACTGAGTTCACACGGGCCATCTGCGTGACGCCGGTCACTGC		
FG01896 5' UTR	(1)	GCCAGGTACTGAGTTCACACGGGCCATCTGCGTGACGCCGGTCACTGC		
FG06969 5' UTR	(112)	GCCAGGTACTGAGTTCACACGGGCCATCTGCGTGACGCCGGTCACTGC		
		1151		1200
AC004877 5' UTR	(1151)	AGCTGCTGGACCTGCTGACCGGGCAGCGGCACCATCCGGTGCTCGGCT		
FG01896 5' UTR	(51)	AGCTGCTGGACCTGCTGACCGGGCAGCGGCACCATCCGGTGCTCGGCT		
FG06969 5' UTR	(162)	AGCTGCTGGACCTGCTGACCGGGCAGCGGCACCATCCGGTGCTCGGCT		
		1201		1250
AC004877 5' UTR	(1201)	GGCAAGGCCTGACGGCTGCAACCACTGGTAAGGGGCCCTCGCCGTGGTG		
FG01896 5' UTR	(101)	GGCAAGGCCTGACGGCTGCAACCACTG		
FG06969 5' UTR	(212)	GGCAAGGCCTGACGGCTGCAACCACTG		
		-----Intron 2-----		
		1751		1800
AC004877 5' UTR	(1751)	CCCCTGCCAGCACCTGCTGGAGGGAGGCTGAAGTGCACAGACCTGCC		
FG01896 5' UTR	(128)	CACCTGCTGGAGGGAGGCTGAAGTGCACAGACCTGCC		
FG06969 5' UTR	(239)	CACCTGCTGGAGGGAGGCTGAAGTGCACAGACCTGCC		
		1801		1850
AC004877 5' UTR	(1801)	CTGCCAGGTATGTGCTAGCTTGAGGGAGGTGAGGAGGGGCCCTGGG		
FG01896 5' UTR	(167)	CTGCCAG		
FG06969 5' UTR	(278)	CTGCCAG		
		-----Intron 3-----		

【図 7 b】

		1851		1900
AC004877 5' UTR	(1851)	ACCGGGCAAGGGACGGGTGCACCCCACTGCCACCACTTCTCTTGTAGT		
FG01896 5' UTR	(175)			T
FG06969 5' UTR	(286)			T
		1901		1950
AC004877 5' UTR	(1901)	GCCCGGAGGCTGGTGGCCGTGGTGGAGTGGACAATGTGCTCCAGCCCT		
FG01896 5' UTR	(176)	GCCCGGAGGCTGGTGGCCGTGGTGGAGTGGACAATGTGCTCCAGCCCT		
FG06969 5' UTR	(287)	GCCCGGAGGCTGGTGGCCGTGGTGGAGTGGACAATGTGCTCCAGCCCT		
		1951		2000
AC004877 5' UTR	(1951)	GCAGGGGCCAGACAGGAGCGCTCCAGGGCCTGTGCTGCCCACTCCT		
FG01896 5' UTR	(226)	GCAGGGGCCAGACAGGAGCGCTCCAGGGCCTGTGCTGCCCACTCCT		
FG06969 5' UTR	(337)	GCAGGGGCCAGACAGGAGCGCTCCAGGGCCTGTGCTGCCCACTCCT		
		2001		2050
AC004877 5' UTR	(2001)	CAGCACGGTGGTGGCCGTGCACTGGAGGCTGGGGAGGAGGGGCCCA		
FG01896 5' UTR	(276)	CAGCACGGTGGTGGCCGTGCACTGGAGGCTGGGGAGGAGGGGCCCA		
FG06969 5' UTR	(387)	CAGCACGGTGGTGGCCGTGCACTGGAGGCTGGGGAGGAGGGGCCCA		
		2051		2100
AC004877 5' UTR	(2051)	GCATCAGAGGAGGCTGCCCACTACGCCAGTGGCAAGTGTAAATGC		
FG01896 5' UTR	(326)	GCATCAGAGGAGGCTGCCCACTACGCCAGTGGCAAGTGTAAATGC		
FG06969 5' UTR	(437)	GCATCAGAGGAGGCTGCCCACTACGCCAGTGGCAAGTGTAAATGC		
		-----Intron 4-----		
		2151		2200
AC004877 5' UTR	(2151)	CCCCGTAACTGGGGCTCCTAATGCGGATGATCTGCTTCTTCCGCCACA		
		2201		2250
AC004877 5' UTR	(2201)	GTGGACGGAGCTGGGGCCATGGGGCCATGGTCTCCCTGCCACATGTG		
FG01896 5' UTR	(367)	TGGACGGAGCTGGGGCCATGGGGCCATGGTCTCCCTGCCACATGTG		
FG06969 5' UTR	(478)	TGGACGGAGCTGGGGCCATGGGGCCATGGTCTCCCTGCCACATGTG		
		2251		2300
AC004877 5' UTR	(2251)	CTTGGGGCAGTCCACCGGAGCGGGCTGCAGCGGGCCCCACCCCTG		
FG01896 5' UTR	(416)	CTTGGGGCAGTCCACCGGAGCGGGCTGCAGCGGGCCCCACCCCTG		
FG06969 5' UTR	(527)	CTTGGGGCAGTCCACCGGAGCGGGCTGCAGCGGGCCCCACCCCTG		
		2301		2350
AC004877 5' UTR	(2301)	AGGAGGGAGGCGCTGCCCTGGGAACACACGAGTGGCCCTTGGCAG		
FG01896 5' UTR	(466)	AGGAGGGAGGCGCTGCCCTGGGAACACACGAGTGGCCCTTGGCAG		
FG06969 5' UTR	(577)	AGGAGGGAGGCGCTGCCCTGGGAACACACGAGTGGCCCTTGGCAG		

【図 7 c】

		2351	2400
AC004877	5' UTR (2351)	GAAAAATCCACCCAGTGCACAGTCTCAGTGAGGTCTGAGAGGGC	
FG01896	5' UTR (516)	GAAAAATCCACCCAGTGCACAG	
FG06969	5' UTR (627)	GAAAAATCCACCCAGTGCACAG	
-----Intron 5-----			
		2601	2650
AC004877	5' UTR (2601)	AGACTGCGGGGGTGGCCAGAGTCTGCATCCCTGTGGCAGCCCTGCCCCC	
FG01896	5' UTR (538)	ACTGCGGGGGTGGCCAGAGTCTGCATCCCTGTGGCAGCCCTGCCCCC	
FG06969	5' UTR (649)	ACTGCGGGGGTGGCCAGAGTCTGCATCCCTGTGGCAGCCCTGCCCCC	
-----Intron 6-----			
		2651	2700
AC004877	5' UTR (2651)	GCTCCTGCCAGGACCTGTCCCTGGGAGTGTGTGCCAGCCAGGCTCTGTG	
FG01896	5' UTR (586)	GCTCCTGCCAGGACCTGTCCCTGGGAGTGTGTGCCAGCCAGGCTCTGTG	
FG06969	5' UTR (697)	GCTCCTGCCAGGACCTGTCCCTGGGAGTGTGTGCCAGCCAGGCTCTGTG	
-----Intron 7-----			
		2701	2750
AC004877	5' UTR (2701)	GGCTGCCAGCCCACTTGTGGGTGCCCTTGGGCCAGCTCTCCAGGACGG	
FG01896	5' UTR (636)	GGCTGCCAGCCCACTTGTGGGTGCCCTTGGGCCAGCTCTCCAGGACGG	
FG06969	5' UTR (747)	GGCTGCCAGCCCACTTGTGGGTGCCCTTGGGCCAGCTCTCCAGGACGG	
-----Intron 8-----			
		2751	2800
AC004877	5' UTR (2751)	GCTGTGCGTGCCCCCAGCCCACTGCCGCTGCCAGTACCAGCCTGGAGCCA	
FG01896	5' UTR (686)	GCTGTGCGTGCCCCCAGCCCACTGCCGCTGCCAGTACCAGCCTGGAGCCA	
FG06969	5' UTR (797)	GCTGTGCGTGCCCCCAGCCCACTGCCGCTGCCAGTACCAGCCTGGAGCCA	
-----Intron 9-----			
		2801	2850
AC004877	5' UTR (2801)	TGCGTGAGTGCCCTCCCTCTCCCCAGCCCCCAGCACTGCAGTGCCACCT	
FG01896	5' UTR (736)	TGG	
FG06969	5' UTR (847)	TGG	
-----Intron 10-----			
		3101	3150
AC004877	5' UTR (3101)	CTCCTGTGCCCTCAGGGATCCCTGAGAACCAGAGCCGCTCAGCAGGGTC	
FG01896	5' UTR (739)	GGATCCCTGAGAACCAGAGCCGCTCAGCAGGGTC	
FG06969	5' UTR (850)	GGATCCCTGAGAACCAGAGCCGCTCAGCAGGGTC	
-----Intron 11-----			
		3151	3200
AC004877	5' UTR (3151)	TAGGTTTAGCTCTCTGGGAGAGCCTGGAACCCGGAGAGGTGGTCACTGGGC	
FG01896	5' UTR (773)	TAGGTTTAGCTCTCTGGGAGAGCCTGGAACCCGGAGAGGTGGTCACTGGGC	
FG06969	5' UTR (884)	TAGGTTTAGCTCTCTGGGAGAGCCTGGAACCCGGAGAGGTGGTCACTGGGC	

【図 7 v】

		6551	6600
AC004877 3' UTR	(6551)	ACCCGCTCCCTCTCGCCCAGGAGCCATACCTGCAGAGCCAGTGTGACTGCG	
FG06969 3' UTR	(901)	GAGCCATACCTGCAGAGCCAGTGTGACTGCG	
		6601	6650
AC004877 3' UTR	(6601)	TGCAGCTACCGTCTAGACCCGGAGAGCCCTGTGCGGATCTGAACCTGCG	
FG06969 3' UTR	(931)	TGCAGCTACCGTCTAGACCCGGAGAGCCCTGTGCGGATCTGAACCTGCG	
		6651	6700
AC004877 3' UTR	(6651)	CTGTCTGGGTGGCCACACAGAGCCCGTGGTGTGCCGTGTCACACAGCT	
FG06969 3' UTR	(981)	CTGTCTGGGTGGCCACACAGAGCCCGTGGTGTGCCGTGTCACACAGCT	
		6701	6750
AC004877 3' UTR	(6701)	GCCAGTGCAGCTCCTGCCAGGTGGTCTGGCAGGAGGGGACGGGGCA	
FG06969 3' UTR	(1031)	GCCAGTGCAGCTCCTGCCAGG	
		-----Intron 39-----	
		7601	7650
AC004877 3' UTR	(7601)	GTCCCCTGGGAGGTGACTTCTCAAAGCGCTAACAGGCTCCGCTGGGTGAG	
FG06969 3' UTR	(1052)	GAGGTGACTTCTCAAAGCGCTAACAGGCTCCGCTGGGTGAG	
		7651	7700
AC004877 3' UTR	(7651)	TCCACAGCTGTCCCTCTTGATCATGGGACTCAGCAGCACTGACCAGCT	
FG06969 3' UTR	(1093)	TCCACAGCTGTCCCTCTTGATC	

【図 7 d】

		3201		3250
AC004877	5' UTR (3201)	CATGTGACAAC <u>TG</u> TAA <u>G</u> CCAAGAGAAGTGGGGCGGGAGGCGCATAGA		
FG01896	5' UTR (823)	CATGTGACAAC <u>TG</u>		
FG06969	5' UTR (934)	CATGTGACAAC <u>TG</u>		
		-----Intron 7-----		
		3301		3350
AC004877	5' UTR (3301)	CCCTCCTTTGTCCCAGCACCTGTGTGGCAGGCATTCTGCAATGCCAGGA		
FG01896	5' UTR (836)	CACCTGTGTGGCAGGCATTCTGCAATGCCAGGA		
FG06969	5' UTR (947)	CACCTGTGTGGCAGGCATTCTGCAATGCCAGGA		
		3351		3400
AC004877	5' UTR (3351)	GGTGCCTGACTGCCCCGACCCCTGGGGTGTGGAGCTCTTGGGGCCCTTGGG		
FG01896	5' UTR (869)	GGTGCCTGACTGCCCGACCCCTGGGGTGTGGAGCTCTTGGGGCCCTTGGG		
FG06969	5' UTR (980)	GGTGCCTGACTGCCCGACCCCTGGGGTGTGGAGCTCTTGGGGCCCTTGGG		
		3401		3450
AC004877	5' UTR (3401)	AAGACTGCAGTGTTCGTGTGGGGCGGGGAGCAGCTGCGCTCCCGGCC		
FG01896	5' UTR (919)	AAGACTGCAGTGTTCGTGTGGGGCGGGGAGCAGCTGCGCTCCCGGCC		
FG06969	5' UTR (1030)	AAGACTGCAGTGTTCGTGTGGGGCGGGGAGCAGCTGCGCTCCCGGCC		
		3451		3500
AC004877	5' UTR (3451)	TGTGCTCGTCTCCCTGCCAGGGCTGCCCGCCAGAGCCGACATGCAG		
FG01896	5' UTR (969)	TGTGCTCGTCTCCCTGCCAGGGCTGCCCGCCAGAGCCGACATGCAG		
FG06969	5' UTR (1080)	TGTGCTCGTCTCCCTGCCAGGGCTGCCCGCCAGAGCCGACATGCAG		
		3501		3550
AC004877	5' UTR (3501)	CACACAGGTCTGCAGAGGTGAGCGCCAGCCCGGGCTAACCCCACTCTGA		
FG01896	5' UTR (1019)	CACACAGGTCTGCAGAG		
FG06969	5' UTR (1130)	CACACAGGTCTGCAGAG		
		-----Intron 8-----		
		3751		3800
AC004877	5' UTR (3751)	TCAGTGAGGGCCGGGGCCGAGCAGGTGCTGATGTGGCTGCTGCCTCAGAA		
FG06969	5' UTR (1147)			
		3801		3850
AC004877	5' UTR (3801)	GGCAGGCTGCCCGGCTGGCCGCTGTACCGTGAATGCCAGCCCGGCCAGG		
FG06969	5' UTR (1148)	GGCAGGCTGCCCGGCTGGCCGCTGTACCGTGAATGCCAGCCCGGCCAGG		
		3851		3900
AC004877	5' UTR (3851)	GATGCCCTTCTCTGCGCCACGTCACGACAGGTGGGCTGCTTCTCT		
FG06969	5' UTR (1198)	GATGCCCTTCTCTGCGCCACGTCACGACAGGTGGGCTGCTTCTCT		

【図 7 e】

3901 3950
AC004877 5' UTR (3901) GAGGGCTGGGAGGAGGCTGCCACTGCCCGAGGGACCTTCAGCACCG
FG06969 5' UTR (1248) GAGGGCTGGGAGGAGGCTGCCACTGCCCGAGGGACCTTCAGCACCG

3951 4000
AC004877 5' UTR (3951) CCTGGCCTGTGTGCAGGTGAGAACCTGCCACCCACAGCCCTCCCTGCC
FG06969 5' UTR (1298) CCTGGCCTGTGTGCAG

-----Intron 9-----

4001 4050
AC004877 5' UTR (4001) CTCCTCTGGCCTGTCCCTCTGTCTGTCTGTCACTTTTGACACCTGT
FG01896 5' UTR (1036) ACCCTGT

4051 4100
AC004877 5' UTR (4051) CATCCCTGGGAGGCCCCAAGCAGCACACAGGCTGGTGGGCGAGCCGA
FG01896 5' UTR (1043) CATCCCTGGGAGGCCCCAAGCAGCACACAGGCTGGTGGGCGAGCCGA

4101 4150
AC004877 5' UTR (4101) GGCCTCTGCTGACAGCGTCAGGGGAGGAGTTAGACGCGCTCCCG
FG01896 5' UTR (1093) GGCCTCTGCTGACAGCGTCAGGGGAGGAGTTAGACGCGCTCCCG

4151 4200
AC004877 5' UTR (4151) GGGTCCCTGGTTCCCGGATGGGAAACACTGCCACCTCTGGAATTGCC
FG01896 5' UTR (1143) GGGTCCCTGGTTCCCGGATGGGAAACACTGCCACCTCTGGAATTGCC

4201 4250
AC004877 5' UTR (4201) TGTCTCTGTCTCTGACTGGTACATGTCCAGCCCTGCTGGAGCTCACAC
FG01896 5' UTR (1193) TGTCTCTGTCTCTGACTG

-----Intron 10-----

5001 5050
AC004877 5' UTR (5001) GCTGGCCTGTGCTGTGATGCTGCCCTCTGCCCCACTCTCCAGGAGTG
FG01896 5' UTR (1212) GAGTG
FG06969 5' UTR (1314) GAGTG

5051 5100
AC004877 5' UTR (5051) CCCTTGTGTGCTGACAGCCTGGCTGCTGAGGAGCTGGGAGCCACCATAG
FG01896 5' UTR (1217) CCCTTGTGTGCTGACAGCCTGGCTGCTGAGGAGCTGGGAGCCACCATAG
FG06969 5' UTR (1319) CCCTTGTGTGCTGACAGCCTGGCTGCTGAGGAGCTGGGAGCCACCATAG

【図 7 g】

<Coding region>

1 50
AC004877 Coding (1) ATGAGCTGGACTCAGGCCAGACACTTCGTACAAGCTGTGCCAACTGGTGA
FG01896 Coding (1) ATGAGCTGGACTCAGGCCAGACACTTCGTACAAGCTGTGCCAACTG
FG06969 Coding (1) ATGAGCTGGACTCAGGCCAGACACTTCGTACAAGCTGTGCCAACTG

-----Intron 11-----

151 200
AC004877 Coding (151) CTACCTCTGGCCCCACCTGGGCTGGGCTAACCTGGCTCTTCCCCAGCT
FG01896 Coding (47) CT
FG06969 Coding (47) CT

201 250
AC004877 Coding (201) CGTGTGCACACGGGAAGCTGTCTGTCCCTGGACACTGCTTCGAGGCC
FG01896 Coding (49) CGTGTGCACACGGGAAGCTGTCTGTCCCTGGACACTGCTTCGAGGCC
FG06969 Coding (49) CGTGTGCACACGGGAAGCTGTCTGTCCCTGGACACTGCTTCGAGGCC

251 300
AC004877 Coding (251) GATGGTGGTTTCGGTCCCTGGAGCCCGTGGGCCCCGCTCCCGCTCCTG
FG01896 Coding (99) GATGGTGGTTTCGGTCCCTGGAGCCCGTGGGCCCCGCTCCCGCTCCTG
FG06969 Coding (99) GATGGTGGTTTCGGTCCCTGGAGCCCGTGGGCCCCGCTCCCGCTCCTG

301 350
AC004877 Coding (301) TGGAGGGCTGGGACCCGTACCCGACGCCGAGTGTGTGCTCACCATGC
FG01896 Coding (149) TGGAGGGCTGGGACCCGTACCCGACGCCGAGTGTGTGCTCACCATGC
FG06969 Coding (149) TGGAGGGCTGGGACCCGTACCCGACGCCGAGTGTGTGCTCACCATGC

351 400
AC004877 Coding (351) CCACCTCAGTGGTCAAGGCTGCCGTGGGCCCCGAGGACCTCGAGTAA
FG01896 Coding (199) CCACCTCAGTGGTCAAGGCTGCCGTGGGCCCCGAGGACCTCGAGTAA
FG06969 Coding (199) CCACCTCAGTGGTCAAGGCTGCCGTGGGCCCCGAGGACCTCGAGTAA

401 450
AC004877 Coding (401) CTGCCCCAGCCAGACTGCCCTGGTAAAGGACAGGCAAGGTGGTGCCA
FG01896 Coding (249) CTGCCCCAGCCAGACTGCCCTGGTAAAGGACAGGCAAGGTGGTGCCA
FG06969 Coding (249) CTGCCCCAGCCAGACTGCCCTGGTAAAGGACAGGCAAGGTGGTGCCA

-----Intron 12-----

【図 8 b】

TSP1 (FG01896) ####
FG06969 -----DSCTPP 594
FG01896 VWSSWSSWTRCORSVLVQQRVYHQGPASRGARAGAPCTRLDGHFRPLI SINCSEDSTTP 599

TIL #####
FG06969 FEFHACGSPCAGI CATHLSHQLQDLPPOPGCYCPKGLLEAGGCI PPEECNWHTSAA 654
FG01896 FEFHACGSPCAGLCATHLSHQLQDLPPOPGCYCPKGLLEAGGCI PPEECNWHTSAA 659

FG06969 GAGMTLAPQDRLQLGCKECCRRGELHCTSGGCGQLLPLSEWSEWSPCGPOLPPSALAPA 714
FG01896 GAGMTLAPQDRLQLGCKECCRRGELHCTSGGCGQLLPLSEWSEWSPCGPOLPPSALAPA 719

TSP1 #####
FG06969 SRTALEEHMLRDPTGLSPTLAPLLASEQHRHRLCLDPATGRPWTGAPHLCTAPLSQORLC 774
FG01896 SRTALEEHMLRDPTGLSPTLAPLLASEQHRHRLCLDPATGRPWTGAPHLCTAPLSQORLC 779

TSP1
FG06969 PDPGACPDSCQSWLWGPWSPGQVPCSGGFLRWREAEALCGGGCREPWAQDRKLQRRALP 834
FG01896 PDPGACPDSCQSWLWGPWSPGQVPCSGGFLRWREAEALCGGGCREPWAQDRKLQRRALP 839

FG06969 RLELRGRPHCI HPGLCQPVPTQLCRPLGPRSVSAGTLPPRLPLSPWPAGPGWALCADLLL 894
FG01896 RLELRGRPHCI HPGLCQPVPTQLCRPLGPRSVSAGTLPPRLPLSPWPAGPGWALCADLLL 899

FG06969 PLWPPQCCQLL GAGPGPGGAAGLPKLHLQORVPGVPTPGVSSPWALVSLEQLLGPLWWGH 954
FG01896 PLWPPQCCQLL GAGPGPGGAAGLPKLHLQORVPGVPTPGVSSPWALVSLEQLLGPLWWGH 959

FG06969 YGATSDL 961
FG01896 YGATSDL 966

【 7 h 】

		751	800
AC004877	Coding	(751) ACAGGGGCTGAAGGTCACGGTGGAGCCAGTAACAGGCCTTCCAGTAG	
FG01896	Coding	(272) GGGCTGAAGGTCACGGTGGAGCCAGTAACAGGCCTTCCAG	
FG06969	Coding	(272) GGGCTGAAGGTCACGGTGGAGCCAGTAACAGGCCTTCCAG	
-----Intron 13-----			
		901	950
AC004877	Coding	(901) AAACCTCAGGGCCGACTCAGCACAAGGACCCCTCCCAATCCCTCCCCAG	
		951	1000
AC004877	Coding	(951) GTGGCTGGGGCCCATGGTCTCTGGTCCCTGCTCCAGAGCTGCACG	
FG01896	Coding	(314) GTGGCTGGGGCCCATGGTCTCTGGTCCCTGCTCCAGAGCTGCACG	
FG06969	Coding	(314) GTGGCTGGGGCCCATGGTCTCTGGTCCCTGCTCCAGAGCTGCACG	
		1001	1050
AC004877	Coding	(1001) GACCCCGCTCGCCCTGCATGGCGCAGCCGACCCGCCCTCTGCTGGCTAA	
FG01896	Coding	(364) GACCCCGCTCGCCCTGCATGGCGCAGCCGACCCGCCCTCTGCTGGCTAA	
FG06969	Coding	(364) GACCCCGCTCGCCCTGCATGGCGCAGCCGACCCGCCCTCTGCTGGCTAA	
		1051	1100
AC004877	Coding	(1051) CTGCACCATGGGGACCCATTACAGGAGCGCCCTGCAACCTGCCCTCAT	
FG01896	Coding	(414) CTGCACCATGGGGACCCATTACAGGAGCGCCCTGCAACCTGCCCTCAT	
FG06969	Coding	(414) CTGCACCATGGGGACCCATTACAGGAGCGCCCTGCAACCTGCCCTCAT	
		1101	1150
AC004877	Coding	(1101) GCACAGGTGTGCCTTCCAGCCTCAACTTCTGATCCAGCCACCACCTCA	
FG01896	Coding	(464) GCACAG	
FG06969	Coding	(464) GCACAG	
-----Intron 14-----			
		1601	1650
AC004877	Coding	(1601) ACAGAGCTGCCCGTGTGCCCTGGCCCTGGCTGTGGGCTGGGAAGTGTTC	
FG01896	Coding	(470) AGCTGCCCGTGTGCCCTGGCCCTGGCTGTGGGCTGGGAAGTGTTC	
FG06969	Coding	(470) AGCTGCCCGTGTGCCCTGGCCCTGGCTGTGGGCTGGGAAGTGTTC	
		1651	1700
AC004877	Coding	(1651) CTGGACCTCCTGGGCCCCGTGGGAACCTTGCTCCCGCAGCTGCGGAGTGG	
FG01896	Coding	(516) CTGGACCTCCTGGGCCCCGTGGGAACCTTGCTCCCGCAGCTGCGGAGTGG	
FG06969	Coding	(516) CTGGACCTCCTGGGCCCCGTGGGAACCTTGCTCCCGCAGCTGCGGAGTGG	

【 7 i 】

		1701	1750
AC004877	Coding	(1701) GCCAGCAGCGCCGCTGCGGGCATACCGTCCCCCTGGGCCCGGGGCAC	
FG01896	Coding	(566) GCCAGCAGCGCCGCTGCGGGCATACCGTCCCCCTGGGCCCGGGGCAC	
FG06969	Coding	(566) GCCAGCAGCGCCGCTGCGGGCATACCGTCCCCCTGGGCCCGGGGCAC	
		1751	1800
AC004877	Coding	(1751) TGGTGCCCCAACATCCTTACTGCCTACCAAGAGCGCGCTTCTGCAACCT	
FG01896	Coding	(616) TGGTGCCCCAACATCCTTACTGCCTACCAAGAGCGCGCTTCTGCAACCT	
FG06969	Coding	(616) TGGTGCCCCAACATCCTTACTGCCTACCAAGAGCGCGCTTCTGCAACCT	
		1801	1850
AC004877	Coding	(1801) GCGAGCCTGCCAGGTGAGGCGGTGGGGGAGACGAGGCATGCCCCAGG	
FG01896	Coding	(666) GCGAGCCTGCCAG	
FG06969	Coding	(666) GCGAGCCTGCCAG	
-----Intron 15-----			
		2001	2050
AC004877	Coding	(2001) TTCTCTTTCCACAGTCCCCGGGGCTGGTCACGCTGGAGTCCCTGGTCC	
FG01896	Coding	(680) TGGCCGGGGCTGGTCACGCTGGAGTCCCTGGTCC	
FG06969	Coding	(680) TGGCCGGGGCTGGTCACGCTGGAGTCCCTGGTCC	
		2051	2100
AC004877	Coding	(2051) TGGTGTGACCGCAGCTGTGGGGAGGCCAATCCCTGAGAAGCCGAGCTG	
FG01896	Coding	(715) TGGTGTGACCGCAGCTGTGGGGAGGCCAATCCCTGAGAAGCCGAGCTG	
FG06969	Coding	(715) TGGTGTGACCGCAGCTGTGGGGAGGCCAATCCCTGAGAAGCCGAGCTG	
		2101	2150
AC004877	Coding	(2101) CTCAGCCCCCATCCAAGAACGGGGAGCCCCCTGTGCTGGGAGCGGC	
FG01896	Coding	(765) CTCAGCCCCCATCCAAGAACGGGGAGCCCCCTGTGCTGGGAGCGGC	
FG06969	Coding	(765) CTCAGCCCCCATCCAAGAACGGGGAGCCCCCTGTGCTGGGAGCGGC	
		2151	2200
AC004877	Coding	(2151) ACCAGGCCGCTCTGCAATCCCATGCCTTGTGGTATGGCAATGGTGACA	
FG01896	Coding	(815) ACCAGGCCGCTCTGCAATCCCATGCCTTGTG	
FG06969	Coding	(815) ACCAGGCCGCTCTGCAATCCCATGCCTTGTG	
-----Intron 16-----			
		2901	2950
AC004877	Coding	(2901) GTTTCTGAGCCCTGGGCCCTCTGACTCTGGGCCCTCCATCTGCTCAGAG	
FG01896	Coding	(848) AG	
FG06969	Coding	(848) AG	

【図 7 j】

2951 3000

AC004877 Coding (2951) GCCGGCTGCCAGCAGGCATGGAGGTGGTCACTGTGCCAACCGCTGCC
 FG01896 Coding (850) GCCGGCTGCCAGCAGGCATGGAGGTGGTCACTGTGCCAACCGCTGCC
 FG06969 Coding (850) GCCGGCTGCCAGCAGGCATGGAGGTGGTCACTGTGCCAACCGCTGCC

3001 3050

AC004877 Coding (3001) CCGCGCTGCTCAGACCTCCAGAGGGAATTGTGTGCAGGACGACAGG
 FG01896 Coding (900) CCGCGCTGCTCAGACCTCCAGAGGGAATTGTGTGCAGGACGACAGG
 FG06969 Coding (900) CCGCGCTGCTCAGACCTCCAGAGGGAATTGTGTGCAGGACGACAGG

3051 3100

AC004877 Coding (3051) TCTGCCAGAGGGCTGCCGTGCCAAAGGGTAGGTGCTGCCCTATCCTT
 FG01896 Coding (950) TCTGCCAGAGGGCTGCCGTGCCAAAGG
 FG06969 Coding (950) TCTGCCAGAGGGCTGCCGTGCCAAAGG

-----Intron 17-----

3151 3200

AC004877 Coding (3151) CAAGCTCCAGCCCTTGCCCCACAGGGTCCCTGGAGCAGGATGGTGGCTGC
 FG01896 Coding (981) GGTCCTGGAGCAGGATGGTGGCTGC
 FG06969 Coding (981) GGTCCTGGAGCAGGATGGTGGCTGC

3201 3250

AC004877 Coding (3201) GTGCCAATTGGGCACTGTGACTGCACCGATGCCAGGGGCCACAGCTGGGC
 FG01896 Coding (1006) GTGCCAATTGGGCACTGTGACTGCACCGATGCCAGGGGCCACAGCTGGGC
 FG06969 Coding (1006) GTGCCAATTGGGCACTGTGACTGCACCGATGCCAGGGGCCACAGCTGGGC

3251 3300

AC004877 Coding (3251) CCCGGGAGCCAGCACCAGGATGCCTGCAACAACTGCTCATGCCAAGCTG
 FG01896 Coding (1056) CCCGGGAGCCAGCACCAGGATGCCTGCAACAACTGCTCATGCCAAGCTG
 FG06969 Coding (1056) CCCGGGAGCCAGCACCAGGATGCCTGCAACAACTGCTCATGCCAAGCTG

3301 3350

AC004877 Coding (3301) GGCAGCTCTCCTGCACGGCTCAGCCCTGCCCGCTCCACCCACTGTGCC
 FG01896 Coding (1106) GGCAGCTCTCCTGCACGGCTCAGCCCTGCCCGCTCCACCCACTGTGCC
 FG06969 Coding (1106) GGCAGCTCTCCTGCACGGCTCAGCCCTGCCCGCTCCACCCACTGTGCC

3351 3400

AC004877 Coding (3351) TGGAGCCACTGGTCGGCTGGAGTCCCTGCAGCCACTATCGGGGCCAG
 FG01896 Coding (1156) TGGAGCCACTGGTCGGCTGGAGTCCCTGCAGCCACTATCGGGGCCAG
 FG06969 Coding (1156) TGGAGCCACTGGTCGGCTGGAGTCCCTGCAGCCACTATCGGGGCCAG

【図 7 k】

3401 3450

AC004877 Coding (3401) AGGGCAGCAGAGCCGCTTCCGGTACGGGGCTGGCAGGGCTAGATGTCCT
 FG01896 Coding (1206) AGGGCAGCAGAGCCGCTTCCG
 FG06969 Coding (1206) AGGGCAGCAGAGCCGCTTCCG

-----Intron 18-----

3651 3700

AC004877 Coding (3651) CGGGCTGAGCTATCTCTCACCTCCTCTGCCCTGGCCCCACCCAGGTCTCT
 FG06969 Coding (1227) GTCCT

3701 3750

AC004877 Coding (3701) CCACGTCGGGCTCGTGGGCCACAGAGTGTGGGAGGAGCAGTCCAGAGC
 FG06969 Coding (1232) CCACGTCGGGCTCGTGGGCCACAGAGTGTGGGAGGAGCAGTCCAGAGC

3751 3800

AC004877 Coding (3751) CAGCCCTGCCCTCAGCCCTCGTCCACCCCTGTGCCTGCAGGCACTCG
 FG06969 Coding (1282) CAGCCCTGCCCTCAGCCCTCGTCCACCCCTGTGCCTGCAGGCACTCG

3801 3850

AC004877 Coding (3801) CTCGCCACCCCTGGGGGACAGCTGGCTGCAGGGGAGTGCCAGCGGTGT
 FG06969 Coding (1332) CTCGCCACCCCTGGGGGACAGCTGGCTGCAGGGGAGTGCCAGCGGTGT

-----Intron 19-----

3901 3950

AC004877 Coding (3901) CCTGAGTCCCGCTCTTTCCAGCTCTCTGCACCCCGAGGGTGTGATCTG
 FG01896 Coding (1227) CTCCTGCACCCCGAGGGTGTGATCTG
 FG06969 Coding (1380) CTCCTGCACCCCGAGGGTGTGATCTG

3951 4000

AC004877 Coding (3951) CGAAGATACGGAGTGTGCAGGTCTGGGCTGCCTCCGATCCCGCCTCAG
 FG01896 Coding (1254) CGAAGATACGGAGTGTGCAG
 FG06969 Coding (1407) CGAAGATACGGAGTGTGCAG

-----Intron 20-----

4151 4200

AC004877 Coding (4151) CCTCCACAGTGCCTGAGGCTTGGACGCTGTGGTCTCCTGGTCCGACTG
 FG01896 Coding (1274) TGCCTGAGGCTTGGACGCTGTGGTCTCCTGGTCCGACTG
 FG06969 Coding (1427) TGCCTGAGGCTTGGACGCTGTGGTCTCCTGGTCCGACTG

【図 7 l】

4201 4250
AC004877 Coding (4201) CCCTGTCTCCTGTGGAGGTGGAACACAGGTCCGAACCCGGGCTGCAGGG
FG01896 Coding (1314) CCCTGTCTCCTGTGGAGGTGGAACACAGGTCCGAACCCGGGCTGCAGGG
FG06969 Coding (1467) CCCTGTCTCCTGTGGAGGTGGAACACAGGTCCGAACCCGGGCTGCAGGG

4251 4300
AC004877 Coding (4251) CCGCAGCCCCCTCACCACAGGAGCCACCCTGCCTGGGCCCTGACACCCAG
FG01896 Coding (1364) CCGCAGCCCCCTCACCACAGGAGCCACCCTGCCTGGGCCCTGACACCCAG
FG06969 Coding (1517) CCGCAGCCCCCTCACCACAGGAGCCACCCTGCCTGGGCCCTGACACCCAG

4301 4350
AC004877 Coding (4301) ACCAGGCAGCAGCCTTGCCAGGGCTGCTGGAGGCTGCTCCTGGGGCCC
FG01896 Coding (1414) ACCAGGCAGCAGCCTTGCCAGGGCTGCTGGAGGCTGCTCCTGGGGCCC
FG06969 Coding (1567) ACCAGGCAGCAGCCTTGCCAGGGCTGCTGGAGGCTGCTCCTGGGGCCC

4351 4400
AC004877 Coding (4351) GTGGGGCCCTGTTCCGCAGCTGCGGCCCGGGCTGGCTCTCGCTCTG
FG01896 Coding (1464) GTGGGGCCCTGTTCCGCAGCTGCGGCCCGGGCTGGCTCTCGCTCTG
FG06969 Coding (1617) GTGGGGCCCTGTTCCGCAGCTGCGGCCCGGGCTGGCTCTCGCTCTG

4401 4450
AC004877 Coding (4401) GGTCTGCCCTGCCTGATGCCAAGGCCGACCCACCTGCAACAGCACC
FG01896 Coding (1514) GGTCTGCCCTGCCTGATGCCAAGGCCGACCCACCTGCAACAGCACC
FG06969 Coding (1667) GGTCTGCCCTGCCTGATGCCAAGGCCGACCCACCTGCAACAGCACC

4451 4500
AC004877 Coding (4451) TTCCTCCACCTGGACACCCAGGGCTGCTACTCAGGGCCCTGCCAGGTGA
FG01896 Coding (1564) TTCCTCCACCTGGACACCCAGGGCTGCTACTCAGGGCCCTGCCAG
FG06969 Coding (1717) TTCCTCCACCTGGACACCCAGGGCTGCTACTCAGGGCCCTGCCAG

-----Intron 21-----

4801 4850
AC004877 Coding (4801) CGGTCCCTAGAGGAGTGTGTGTGGAGCAGCTGGAGCAGCTGGACGCGCTG
FG01896 Coding (1610) AGGAGTGTGTGTGGAGCAGCTGGAGCAGCTGGACGCGCTG

4851 4900
AC004877 Coding (4851) CTCTTGGCGGGTGTGGTGCAGCAGCGCTACCGACACAGGGCCCGGCGT
FG01896 Coding (1650) CTCTTGGCGGGTGTGGTGCAGCAGCGCTACCGACACAGGGCCCGGCGT

4901 4950
AC004877 Coding (4901) CCCGAGGGGCCAGGGCAGGCGCCCTGCACGCGGCTGGATGGCACTTC
FG01896 Coding (1700) CCCGAGGGGCCAGGGCAGGCGCCCTGCACGCGGCTGGATGGCACTTC

【図 7 m】

4951 5000
AC004877 Coding (4951) CGGCCTTGCTTATCAGCAACTGCTCTGGTGAGGCTCCAGCAGCAAGTTA
FG01896 Coding (1750) CGGCCTTGCTTATCAGCAACTGCTCTG

-----Intron 22-----

5601 5650
AC004877 Coding (5601) TGTCTCTGGGCTGTTCCTCCCAAGCCTGCCTCTCCCATCTCCCCCAG

5651 5700
AC004877 Coding (5651) AGGACAGCTGCACGCTCCCTTTGAGTTCCATGCCTGCGGCTCCCCCTGT
FG01896 Coding (1778) AGGACAGCTGCACGCTCCCTTTGAGTTCCATGCCTGCGGCTCCCCCTGT
FG06969 Coding (1763) AGGACAGCTGCACGCTCCCTTTGAGTTCCATGCCTGCGGCTCCCCCTGT

5701 5750
AC004877 Coding (5701) GCTGGGCTCTGTGCCACACCTGAGCCATCAGCTCTGCCAGGACCTGCC
FG01896 Coding (1828) GCTGGGCTCTGTGCCACACCTGAGCCATCAGCTCTGCCAGGACCTGCC
FG06969 Coding (1813) GCTGGGATCTGTGCCACACCTGAGCCATCAGCTCTGCCAGGACCTGCC

5751 5800
AC004877 Coding (5751) ACCCTGCCAGCCGGGCTGCTACTGCCCAAGGTGAGAGCTGGGAGCTGGA
FG01896 Coding (1878) ACCCTGCCAGCCGGGCTGCTACTGCCCAAG
FG06969 Coding (1863) ACCCTGCCAGCCGGGCTGCTACTGCCCAAG

-----Intron 23-----

6001 6050
AC004877 Coding (6001) CCCCATCTCTCCTTCCACCCAGGGGCTGCTGGAGCAGGCTGGGGCTGCA
FG01896 Coding (1909) GGGCTGCTGGAGCAGGCTGGGGCTGCA
FG06969 Coding (1894) GGGCTGCTGGAGCAGGCTGGGGCTGCA

6051 6100
AC004877 Coding (6051) TTCCCCCAGAGGAGTGTAACTGCTGGCATACCTCAGCAGCAGGAGCCGGG
FG01896 Coding (1937) TTCCCCCAGAGGAGTGTAACTGCTGGCATACCTCAGCAGCAGGAGCCGGG
FG06969 Coding (1922) TTCCCCCAGAGGAGTGTAACTGCTGGCATACCTCAGCAGCAGGAGCCGGG

6101 6150
AC004877 Coding (6101) ATGACCCCTGGCCCTGGGGACCGCTGCAGCTGGGCTGTAAGGAGTG
FG01896 Coding (1987) ATGACCCCTGGCCCTGGGGACCGCTGCAGCTGGGCTGTAAGGAGTG
FG06969 Coding (1972) ATGACCCCTGGCCCTGGGGACCGCTGCAGCTGGGCTGTAAGGAGTG

-----Intron 24-----

【 図 7 n 】

6351 6400
AC004877 Coding (6351) TCCCTTAGCTACCTGACTACCCCTCCACAGTGAATGCCGGCTGGG
FG01896 Coding (2034) TGAATGCCGGCTGGG
FG06969 Coding (2019) TGAATGCCGGCTGGG

6401 6450
AC004877 Coding (6401) GAGCTGCACTGCACAGCCAGGGCTGTCAAGTAACCTGACCTATGGAG
FG01896 Coding (2050) GAGCTGCACTGCACAGCCAGGGCTGTCAAG
FG06969 Coding (2035) GAGCTGCACTGCACAGCCAGGGCTGTCAAG

-----Intron 25-----

6651 6700
AC004877 Coding (6651) GGGGTGGTCACTGGGAAGGCCACCCACACCTGTCTTCCAGTCTTCTG
FG01896 Coding (2081) GTCTTCTG
FG06969 Coding (2066) GTCTTCTG

6701 6750
AC004877 Coding (6701) CCTCTGAGTGAGTGTCCGAGTGTGCGCCCTGTGGGCCCTGCCTGCCGCC
FG01896 Coding (2089) CCTCTGAGTGAGTGTCCGAGTGTGCGCCCTGTGGGCCCTGCCTGCCGCC
FG06969 Coding (2074) CCTCTGAGTGAGTGTCCGAGTGTGCGCCCTGTGGGCCCTGCCTGCCGCC

6751 6800
AC004877 Coding (6751) CAGCGCCCTGGCCCTGCCTCCAGGACTGCCCTAGAGGAGCACTGGCTCC
FG01896 Coding (2139) CAGCGCCCTGGCCCTGCCTCCAGGACTGCCCTAGAGGAGCACTGGCTCC
FG06969 Coding (2124) CAGCGCCCTGGCCCTGCCTCCAGGACTGCCCTAGAGGAGCACTGGCTCC

6801 6850
AC004877 Coding (6801) GAGACCCAACCTGGCCTCTCCCCACCTTGGCCCCGCTGCTGGCTTCAGAG
FG01896 Coding (2189) GAGACCCAACCTGGCCTCTCCCCACCTTGGCCCCGCTGCTGGCTTCAGAG
FG06969 Coding (2174) GAGACCCAACCTGGCCTCTCCCCACCTTGGCCCCGCTGCTGGCTTCAGAG

6851 6900
AC004877 Coding (6851) CAGCACCGCCACCGGCTCTGTCTGGATCCTGCGACAGGAGGCCCTGGAC
FG01896 Coding (2239) CAGCACCGCCACCGGCTCTGTCTGGATCCTGCGACAGGAGGCCCTGGAC
FG06969 Coding (2224) CAGCACCGCCACCGGCTCTGTCTGGATCCTGCGACAGGAGGCCCTGGAC

6901 6950
AC004877 Coding (6901) TGGAGCCCTCACCTCTGCACCGCACCCCTCAGCCAGCAGCGCCTCTGCC
FG01896 Coding (2289) TGGAGCCCTCACCTCTGCACCGCACCCCTCAGCCAGCAGCGCCTCTGCC
FG06969 Coding (2274) TGGAGCCCTCACCTCTGCACCGCACCCCTCAGCCAGCAGCGCCTCTGCC

【 図 7 o 】

6951 7000
AC004877 Coding (6951) CTGACCCCTGGAGCCTGCCCTGTAATGGGAGAGGCAGAGCCAGGGGAC
FG01896 Coding (2339) CTGACCCCTGGAGCCTGCCCTG
FG06969 Coding (2324) CTGACCCCTGGAGCCTGCCCTG

-----Intron 26-----

7251 7300
AC004877 Coding (7251) ATACCTTCCCACTCATGCCAGTGGAGTCTGTGGGGCCATGGAGCCC
FG01896 Coding (2360) ACTCATGCCAGTGGAGTCTGTGGGGCCATGGAGCCC
FG06969 Coding (2345) ACTCATGCCAGTGGAGTCTGTGGGGCCATGGAGCCC

7301 7350
AC004877 Coding (7301) CTGCCAGGTGCCCTGCAGTGGGGGTTACGGCTACGCTGGAGAGAGGCAG
FG01896 Coding (2397) CTGCCAGGTGCCCTGCAGTGGGGGTTACGGCTACGCTGGAGAGAGGCAG
FG06969 Coding (2382) CTGCCAGGTGCCCTGCAGTGGGGGTTACGGCTACGCTGGAGAGAGGCAG

7351 7400
AC004877 Coding (7351) AGGCCCTCTGTGGAGGAGGCTGCCGGAGCCATGGGCTCAAGACAGAAAG
FG01896 Coding (2447) AGGCCCTCTGTGGAGGAGGCTGCCGGAGCCATGGGCTCAAGACAGAAAG
FG06969 Coding (2432) AGGCCCTCTGTGGAGGAGGCTGCCGGAGCCATGGGCTCAAGACAGAAAG

7401 7450
AC004877 Coding (7401) CTGCAACGGAGGGCCCTGCCAGTAACCTCCATCCCCGATCCAGAGGAG
FG01896 Coding (2497) CTGCAACGGAGGGCCCTGCCAG
FG06969 Coding (2482) CTGCAACGGAGGGCCCTGCCAG

-----Intron 27-----

7551 7600
AC004877 Coding (7551) GACTCCTATCATCTGGTCGTACAGTTAGAGCTGCCAGGCCCAAGACACTG
FG01896 Coding (2520) GTTAGAGCTGCCAGGCCCAAGACACTG
FG06969 Coding (2505) GTTAGAGCTGCCAGGCCCAAGACACTG

7601 7650
AC004877 Coding (7601) TATTACCCCTGGACTGTGCCAACCAGTGCCACACAGCTGTGCCACCTC
FG01896 Coding (2547) TATTACCCCTGGACTGTGCCAACCAGTGCCACACAGCTGTGCCACCTC
FG06969 Coding (2532) TATTACCCCTGGACTGTGCCAACCAGTGCCACACAGCTGTGCCACCTC

7651 7700
AC004877 Coding (7651) TGGGACCGGCTTCACTGTCTGCAGGACCCCTGCCGCCAGGTAGCCAGCA
FG01896 Coding (2597) TGGGACCGGCTTCACTGTCTGCAGGACCCCTGCCGCCAG
FG06969 Coding (2582) TGGGACCGGCTTCACTGTCTGCAGGACCCCTGCCGCCAG

-----Intron 28-----

【図 7 p】

		8051	8100
AC004877	Coding	(8051)	CCTGCCCGAGCACCAATCTTGTTCCGCCTCTTACCCACACCCCTAGGC
FG01896	Coding	(2637)	GC
FG06969	Coding	(2622)	GC
		8101	8150
AC004877	Coding	(8101)	TGCCCGCTGTCCCGCTGGCCAGCTGGTCCAGGATGGGCGCTGTGTGCCGAT
FG01896	Coding	(2639)	TGCCCGCTGTCCCGCTGGCCAGCTGGTCCAGGATGGGCGCTGTGTGCCGAT
FG06969	Coding	(2624)	TGCCCGCTGTCCCGCTGGCCAGCTGGTCCAGGATGGGCGCTGTGTGCCGAT
		8151	8200
AC004877	Coding	(8151)	CTCCTCTTGGCGCTGTGGCCTCCCACTGCCAATGCCTCTTGGGAGCTGG
FG01896	Coding	(2689)	CTCCTCTTGGCGCTGTGGCCTCCCACTGCCAATGCCTCTTGGGAGCTGG
FG06969	Coding	(2674)	CTCCTCTTGGCGCTGTGGCCTCCCACTGCCAATGCCTCTTGGGAGCTGG
		8201	8250
AC004877	Coding	(8201)	CCCCGGCCAGGCGGTGCAGCTGGACTGCCAACTGGTAGTGGCTGCAGC
FG01896	Coding	(2739)	CCCCGGCCAGGCGGTGCAGCTGGACTGCCAACTG
FG06969	Coding	(2724)	CCCCGGCCAGGCGGTGCAGCTGGACTGCCAACTG
		-----Intron 29-----	
		8351	8400
AC004877	Coding	(8351)	TTTGTGCTTACCCCTGTCCACAGCACCTGTGTCAACGAGTCCCTGGTGTG
FG01896	Coding	(2776)	CACCTGTGTCAACGAGTCCCTGGTGTG
FG06969	Coding	(2761)	CACCTGTGTCAACGAGTCCCTGGTGTG
		8401	8450
AC004877	Coding	(8401)	CCCACACAGGAGTGTCCAGTCCCTTGGGCTTGGTCAGCCTGGAGCAGTT
FG01896	Coding	(2803)	CCCACACAGGAGTGTCCAGTCCCTTGGGCTTGGTCAGCCTGGAGCAGTT
FG06969	Coding	(2788)	CCCACACAGGAGTGTCCAGTCCCTTGGGCTTGGTCAGCCTGGAGCAGTT
		8451	8499
AC004877	Coding	(8451)	GCTCGGCCCTCTGTGGTGGGGCACTATGGAGCGACATCGGACTTGTGA
FG01896	Coding	(2853)	GCTCGGCCCTCTGTGGTGGGGCACTATGGAGCGACATCGGACTTGTGA
FG06969	Coding	(2838)	GCTCGGCCCTCTGTGGTGGGGCACTATGGAGCGACATCGGACTTGTGA

【図 7 q】

<3'-noncoding region>

		1	50
AC004877	3' UTR	(1)	TGAGGGGGTCTGGGTGGCACCATGCCAGGCCAGGACACAGAGCAAC
FG01896	3' UTR	(1)	TGAGGGGGTCTGGGTGGCACCATGCCAGGCCAGGACACAGAGCAAC
FG06969	3' UTR	(1)	TGAGGGGGTCTGGGTGGCACCATGCCAGGCCAGGACACAGAGCAAC
		51	100
AC004877	3' UTR	(51)	GGCAGGAGTGTAACTGCAGCCCTGCCCTGGTAACTGCCCTGGGCGCAG
FG01896	3' UTR	(48)	GGCAGGAGTGTAACTGCAGCCCTGCCCTG
FG06969	3' UTR	(48)	GGCAGGAGTGTAACTGCAGCCCTGCCCTG
		-----Intron 30-----	
		251	300
AC004877	3' UTR	(251)	AGAGTGGCCCCCTGGCCAGGTGCTTAGTGCTGTGCCACCTCATGCCCGT
FG01896	3' UTR	(78)	AGTGGCCCCCTGGCCAGGTGCTTAGTGCTGTGCCACCTCATGCCCGT
FG06969	3' UTR	(78)	AGTGGCCCCCTGGCCAGGTGCTTAGTGCTGTGCCACCTCATGCCCGT
		301	350
AC004877	3' UTR	(301)	GCCTCTGCTGGCATCTGCAGCCTGGTGCCATCTGTGTGCAGGAGCCCTGC
FG01896	3' UTR	(126)	GCCTCTGCTGGCATCTGCAGCCTGGTGCCATCTGTGTGCAGGAGCCCTGC
FG06969	3' UTR	(126)	GCCTCTGCTGGCATCTGCAGCCTGGTGCCATCTGTGTGCAGGAGCCCTGC
		351	400
AC004877	3' UTR	(351)	CAGCCTGGCTGTGGCTGCCCTGGAGGGCAGTGGGTACGGGGTCTGTGT
FG01896	3' UTR	(176)	CAGCCTGGCTGTGGCTGCCCTGGAGGGCAG
FG06969	3' UTR	(176)	CAGCCTGGCTGTGGCTGCCCTGGAGGGCAG
		-----Intron 31-----	
		451	500
AC004877	3' UTR	(451)	TCTGAGTGTCACTGAGCCTGCCCTGCTGCAGCTGCTGCACAATGGCAGCT
FG01896	3' UTR	(206)	CTGCTGCACAATGGCAGCT
FG06969	3' UTR	(206)	CTGCTGCACAATGGCAGCT
		501	550
AC004877	3' UTR	(501)	GTGTGCCTCCCACTGCCTGCCCTGCACCCAGCATTCTGTCCCTGGGGC
FG01896	3' UTR	(225)	GTGTGCCTCCCACTGCCTGCCCTGCACCCAGCATTCTGTCCCTGGGGC
FG06969	3' UTR	(225)	GTGTGCCTCCCACTGCCTGCCCTGCACCCAGCATTCTGTCCCTGGGGC

【 図 7 r 】

	551	600
AC004877 3' UTR	(551) CTCACCTGACCTGGAAGAGCAGGCCAGGAGCTGCCCCAGGGACTGT	
FG01896 3' UTR	(275) CTCACCTGACCTGGAAGAGCAGGCCAGGAGCTGCCCCAGGGACTGT	
FG06969 3' UTR	(275) CTCACCTGACCTGGAAGAGCAGGCCAGGAGCTGCCCCAGGGACTGT	
	601	650
AC004877 3' UTR	(601) GCTCACCCGGAAGTGCACCCGCTGGTGAGGGCCTGGCCCTGGGTGGGA	
FG01896 3' UTR	(325) GCTCACCCGGAAGTGCACCCGCTG	
FG06969 3' UTR	(325) GCTCACCCGGAAGTGCACCCGCTG	
	-----Intron 32-----	
	701	750
AC004877 3' UTR	(701) CTTCTGTCTTCTCAGTGTCTGCCACGGTGGAGCCTTCAGCTGCTCCCTCG	
FG01896 3' UTR	(349) TGTCTGCCACGGTGGAGCCTTCAGCTGCTCCCTCG	
FG06969 3' UTR	(349) TGTCTGCCACGGTGGAGCCTTCAGCTGCTCCCTCG	
	751	800
AC004877 3' UTR	(751) TTGACTGTCAAGGTGAGATGTGGCTGTCCATGCCCTGCTGCACCTCAAA	
FG01896 3' UTR	(384) TTGACTGTCAAG	
FG06969 3' UTR	(384) TTGACTGTCAAG	
	-----Intron 33-----	
	1551	1600
AC004877 3' UTR	(1551) TTGGATGGTCTTCCCTGGCAGAGTGGCCCTGGGAAACGTGGCAGCAGG	
FG01896 3' UTR	(396) AGTGGCCCTGGGAAACGTGGCAGCAGG	
FG06969 3' UTR	(396) AGTGGCCCTGGGAAACGTGGCAGCAGG	
	1601	1650
AC004877 3' UTR	(1601) TGGCCCCGGGGAGCTGGGGCTCTGGAGCAGACGTGCCCTGGAGATGAAC	
FG01896 3' UTR	(425) TGGCCCCGGGGAGCTGGGGCTCTGGAGCAGACGTGCCCTGGAGATGAAC	
FG06969 3' UTR	(425) TGGCCCCGGGGAGCTGGGGCTCTGGAGCAGACGTGCCCTGGAGATGAAC	
	1651	1700
AC004877 3' UTR	(1651) GCCACAAAGACCCAGAGTAAGTGCAGTTCAGCTCGAGCCTCGGGCTGCGT	
FG01896 3' UTR	(475) GCCACAAAGACCCAGAGTAAGTGCAGTTCAGCTCGAGCCTCGGGCTGCGT	
FG06969 3' UTR	(475) GCCACAAAGACCCAGAGTAAGTGCAGTTCAGCTCGAGCCTCGGGCTGCGT	
	1701	1750
AC004877 3' UTR	(1701) GTGCCAGCCCGGGCACTTCGGCAGCCAGGCAGGCCCTGCGTCCCGAAG	
FG01896 3' UTR	(525) GTGCCAGCCCGGGCACTTCGGCAGCCAGGCAGGCCCTGCGTCCCGAAG	
FG06969 3' UTR	(525) GTGCCAGCCCGGGCACTTCGGCAGCCAGGCAGGCCCTGCGTCCCGAAG	

【 図 7 s 】

	1751	1800
AC004877 3' UTR	(1751) ACCACTGCGAGTGCTGGCACCCTGGGCGTCCCCACCTGGTGAGACACCGA	
FG01896 3' UTR	(575) ACCACTGCGAGTGCTGGCACCCTGGGCGTCCCCACCTG	
FG06969 3' UTR	(575) ACCACTGCGAGTGCTGGCACCCTGGGCGTCCCCACCTG	
	-----Intron 34-----	
	2401	2450
AC004877 3' UTR	(2401) TGGGAGAGACCAAGAGGAGGCTCTCCCTACTCTCCCGAGCCTGGATCTG	
FG01896 3' UTR	(613) CCTGGATCTG	
FG06969 3' UTR	(613) CCTGGATCTG	
	2451	2500
AC004877 3' UTR	(2451) AATGGCAGGAGGCTGTGAGAGTGCCTCTGCCTCAGTGGGAGGCTGTC	
FG01896 3' UTR	(623) AATGGCAGGAGGCTGTGAGAGTGCCTCTGCCTCAGTGGGAGGCTGTC	
FG06969 3' UTR	(623) AATGGCAGGAGGCTGTGAGAGTGCCTCTGCCTCAGTGGGAGGCTGTC	
	2501	2550
AC004877 3' UTR	(2501) TGCACCCAGCACTGCTCCCACTCACCTGTGCTCAGGTACGCCCTGCATC	
FG01896 3' UTR	(673) TGCACCCAGCACTGCTCCCACTCACCTGTGCTCAG	
FG06969 3' UTR	(673) TGCACCCAGCACTGCTCCCACTCACCTGTGCTCAG	
	-----Intron 35-----	
	2701	2750
AC004877 3' UTR	(2701) AGGTGTCAAGACCACCTTGGGACTCTCTCCCTGCGAGGCGGAGAGATG	
FG01896 3' UTR	(709) GCGGAGCAGATG	
FG06969 3' UTR	(709) GCGGAGGAGATG	
	2751	2800
AC004877 3' UTR	(2751) GTGCTGGAGCCAGGGAGCTGCTGCCCTCTTGGCGAGGAGGCTCCGG	
FG01896 3' UTR	(721) GTGCTGGAGCCAGGGAGCTGCTGCCCTCTTGGCGAGGAGGCTCCGG	
FG06969 3' UTR	(721) GTGCTGGAGCCAGGGAGCTGCTGCCCTCTTGGCGAGGAGGCTCCGG	
	2801	2850
AC004877 3' UTR	(2801) TATGGAGGAACTGGGTGCATTGTGGGTGCCTCTCCCTGGTCTAGACC	
	-----Intron 36-----	
	4901	4950
AC004877 3' UTR	(4901) ACCCCACCTCCTGCCACTCAATGCCCTCCCAACAGAGGAGCAGTCCGC	
FG01896 3' UTR	(770) AGGAGCAGTCCGC	
FG06969 3' UTR	(770) AGGAGCAGTCCGC	

【图 7 u】

AC004877 3' UTR	(5601)	CAAGGGGCTCTGTGCCACCCTGACTCCCTCAGCCTGATGAGCTGTAAAC	5601
FG01896 3' UTR	(1201)	CAAGGGGCTCTGTGCCACCCTGACTCCCTCAGCCTGATGAGCTGTAAAC	
AC004877 3' UTR	(5651)	CTGAGCTGCCTCTGCCAGGGTCTCTCTCCAGCTTCACTCACACTACTC	5700
FG01896 3' UTR	(1251)	CTGAGCTGCCTCTGCCAGGGTCTCTCTCCAGCTTCACTCACACTACTC	
AC004877 3' UTR	(5701)	CTGCCTGCCCTTAGGCCACCTCCAGCACTCTGCGGCCATCCCTTCTGC	5750
FG01896 3' UTR	(1301)	CTGCCTGCCCTTAGGCCACCTCCAGCACTCTGCGGCCATCCCTTCTGC	
AC004877 3' UTR	(5751)	TTGAGCCTACTCTGGTTTACCTCATCTGGAAGACAAGGATACTTTCTCTAC	5800
FG01896 3' UTR	(1351)	TTGAGCCTACTCTGGTTTACCTCATCTGGAAGACAAGGATACTTTCTCTAC	
AC004877 3' UTR	(5801)	CTGGTCCCCAAGACACAGCCCTCAACCTCGGCCGCTCTACGGCTCCC	5850
FG01896 3' UTR	(1401)	CTGGTCCCCAAGACACAGCCCTCAACCTCGGCCGCTCTACGGCTCCC	
AC004877 3' UTR	(5851)	CCAGGCGCGCCTTGACCTCTGAAATACTTTCCAAATCACTTTCGGA	5900
FG01896 3' UTR	(1451)	CCAGGCGCGCCTTGACCTCTGAAATACTTTCCAAATCACTTTCGGA	
AC004877 3' UTR	(5901)	ATTTTATTTTTCACACTTTTGAATTTTTAAAAATAGAGTGAGAAAAGAGA	5950
FG01896 3' UTR	(1501)	ATTTTATTTTTCACACTTTTGAATTTTTAAAAATAGAGTGAGAAAAGAGA	
AC004877 3' UTR	(5951)	GAAAGTAATTAAGAGATGCTTTTTTTTTTTTCTGAGGAAAGAAATGTAT	6000
FG01896 3' UTR	(1551)	GAAAGTAATTAAGAGATGCTTTTTTTTTTTTCTGAGGAAAGAAATGTAT	
AC004877 3' UTR	(6001)	AGTGGGATACAAATTTGAGGGGAAATTTTTTCGCTGAAAAACCTCTTCGAG	6050
FG01896 3' UTR	(1601)	AGTGGGATACAAATTTGAGGGGAAATTTTTTCGCTGAAAAACCTCTTCGAG	
AC004877 3' UTR	(6051)	TTTTTGAACCTGGCATTGTATGAATGACTACCCATTTAAAGTAAAAAT	6100
FG01896 3' UTR	(1651)	TTTTTGAACCTGGCATTGTATGAATGACTACCCATTTAAAGTAAAAAT	
AC004877 3' UTR	(6101)	ATAATAGAATTATACATAAAATTAATGATGCTTTATAGGACTCTGAT	6150
FG01896 3' UTR	(1701)	ATAATAGAATTATACATAAAATTAATGATGCTTTATAGGACTCTGAT	

-----Intron 38-----

【図 8 a】

```

FG06969 MSWTQARHFVQAVATARVHTGSCLAPWTTASRPMVVSVPGARARAPV 50
FG01896 MSWTQARHFVQAVATARVHTGSCLAPWTTASRPMVVSVPGARARAPV 50
*****
#####
FG06969 EGWAPVPAASVSCPPSVVRAAVGPARTSSNCPSPDCPGAEGSTVEPVTGLPGGWGPW 110
FG01896 EGWAPVPAASVSCPPSVVRAAVGPARTSSNCPSPDCPGAEGSTVEPVTGLPGGWGPW 110
*****
##### TSP1 #####
FG06969 SSWSPCSRSDTPARPAWRSRTRLCLANCTMGDPLQERPCNLPSCTELPVCPCGPGCAGN 170
FG01896 SSWSPCSRSDTPARPAWRSRTRLCLANCTMGDPLQERPCNLPSCTELPVCPCGPGCAGN 170
*****
##### TSP1 #####
FG06969 CSWTSWAPWEPCSRSCGVQQRRLRAYRPPGPGHWCNPI LTAYQERRFCNLACPVPGG 230
FG01896 CSWTSWAPWEPCSRSCGVQQRRLRAYRPPGPGHWCNPI LTAYQERRFCNLACPVPGG 230
*****
##### TSP1 #####
FG06969 WSRWSPWSWCDRSCGGGSLRSRSCSSPPSKNGGAPCAGERHQARLGNMPCAGCPAGM 290
FG01896 WSRWSPWSWCDRSCGGGSLRSRSCSSPPSKNGGAPCAGERHQARLGNMPCAGCPAGM 290
*****
##### TIL #####
FG06969 EVVTCANRCPRRCSDLQEGIVCQDDQVCQKGCRCPKGSLEQDGGCVPI GHCDCTDAQGHS 350
FG01896 EVVTCANRCPRRCSDLQEGIVCQDDQVCQKGCRCPKGSLEQDGGCVPI GHCDCTDAQGHS 350
*****
##### TSP1 (FG06969) #####
##### TSP1 (FG01896) #####
FG06969 WAPGSQHGDACNNCSQAGQLSCTAQPCPPPTHCAWSHWSAWSPCSHSGPRGQGSFRFS 410
FG01896 WAPGSQHGDACNNCSQAGQLSCTAQPCPPPTHCAWSHWSAWSPCSHSGPRGQGSFRF- 409
*****
#####
FG06969 STSGSWAPECREEQSGSQPCPQPSOPPLCLQGTSRTRLGDSWMLQGEQRCSCCTPEGVICE 470
FG01896 -----SCTPEGVICE 419
*****
##### TSP1 #####
FG06969 DTECAVPEAWTLWSSWSDCPVSCGGGNQVTRACRAAAPHHRSPCLGPDQTQTRQQPCPG 530
FG01896 DTECAVPEAWTLWSSWSDCPVSCGGGNQVTRACRAAAPHHRSPCLGPDQTQTRQQPCPG 479
*****
##### TSP1 #####
FG06969 LLEACSWGPWGPCSRSCGPGLASRSGSCPCLMAKADPTCNSTFLHLDTGQCYSGPCPE-- 588
FG01896 LLEACSWGPWGPCSRSCGPGLASRSGSCPCLMAKADPTCNSTFLHLDTGQCYSGPCPEEC 539
*****

```

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト ⁸ (参考)
A 6 1 K 45/00		A 6 1 P 9/00	4 C 0 8 5
			48/00
			9/08
A 6 1 P 9/00			9/10
			17/00
			9/10
			19/02
			27/02
			29/00
			35/00
	1 0 1		43/00
			1 0 5
		C 0 7 K 14/52	
C 0 7 K 14/52			
	1 0 5		
		C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/15			
			1/19
			1/21
		C 1 2 P 21/02	K
		G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 P 21/02			
			33/50
G 0 1 N 33/15			T
			Z
			D

33/50	C 1 2 P	21/08	
	C 1 2 N	15/00	Z N A D
33/53	A 6 1 K	37/02	
// C 1 2 P	C 1 2 N	5/00	A
(72)発明者 長瀬 隆弘	(72)発明者 片山 謙一		
千葉県木更津市矢那1532番3号 財団法人	大阪府枚方市招提大谷二丁目25番1号 ウ		
かずさディー・エヌ・エー研究所内	エルファイド株式会社創薬研究所内		
(72)発明者 野村 信夫	F ターム(参考) 2G045 AA25 AA40 BB20 CB01 CB26		
千葉県木更津市矢那1532番3号 財団法人	DA36 FB02 FB03 FB07		
かずさディー・エヌ・エー研究所内	4B024 AA01 AA11 BA21 BA44 CA04		
(72)発明者 矢野 和宏	DA02 DA06 EA02 EA04 GA05		
大阪府枚方市招提大谷二丁目25番1号 ウ	GA11 HA14 HA15		
エルファイド株式会社創薬研究所内	4B064 AG02 AG26 AG27 CA02 CA10		
(72)発明者 村上 弘次	CA19 CA20 CC24 DA01 DA13		
大阪府枚方市招提大谷二丁目25番1号 ウ	4B065 AA26X AA92X AA93Y AB01		
エルファイド株式会社創薬研究所内	AB05 BA02		
(72)発明者 橋本 英美	4C084 AA02 AA07 AA13 AA17 BA01		
大阪府枚方市招提大谷二丁目25番1号 ウ	BA08 BA22 BA23 MA01 NA14		
エルファイド株式会社創薬研究所内	ZA332 ZA362 ZA392 ZA402		
(72)発明者 鹿島 亜季子	ZA892 ZA962 ZB152 ZB212		
大阪府枚方市招提大谷二丁目25番1号 ウ	ZB262 ZC752		
エルファイド株式会社創薬研究所内	4C085 AA13 AA14 CC21 DD33 DD86		
(72)発明者 神ざき 康治	FF24 GG01		
大阪府枚方市招提大谷二丁目25番1号 ウ	4C086 AA01 AA03 EA16 MA01 MA04		
エルファイド株式会社創薬研究所内	NA14 ZA33 ZA36 ZA39 ZA40		
(72)発明者 井上 佳久	ZA89 ZA96 ZB15 ZB21 ZB26		
大阪府枚方市招提大谷二丁目25番1号 ウ	ZC75		
エルファイド株式会社創薬研究所内	4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10		
(72)発明者 中島 政英	CA45 DA01 DA76 EA24 EA50		
大阪府枚方市招提大谷二丁目25番1号 ウ	FA72 FA74		
エルファイド株式会社創薬研究所内			

专利名称(译)	一种新的含TSP1结构域的多肽		
公开(公告)号	JP2002085059A	公开(公告)日	2002-03-26
申请号	JP2000273778	申请日	2000-09-08
[标]申请(专利权)人(译)	上总DNA KENKYUSHO		
申请(专利权)人(译)	上总DNA研究所 三菱制药株式会社		
[标]发明人	小原收 長瀬隆弘 野村信夫 矢野和宏 村上弘次 橋本英美 鹿島亜季子 神ざき康治 井上佳久 中島政英 片山謙一		
发明人	小原 收 長瀬 隆弘 野村 信夫 矢野 和宏 村上 弘次 橋本 英美 鹿島 亜季子 神ざき 康治 井上 佳久 中島 政英 片山 謙一		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/711 A61K38/00 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P9/00 A61P9/08 A61P9/10 A61P17/00 A61P19/02 A61P27/02 A61P29/00 A61P35/00 A61P43/00 C07K14/52 C07K16/24 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/02 C12P21/02 C12P21/08 G01N33/15 G01N33/53		
FI分类号	A61K31/711 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K45/00 A61K48/00 A61P9/00 A61P9/08 A61P9/10 A61P17/00 A61P19/02 A61P27/02 A61P29/00.101 A61P35/00 A61P43/00.105 C07K14/52 C07K16/24 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.K G01N33/15.Z G01N33/50.T G01N33/50.Z G01N33/53.D C12P21/08 C12N15/00.ZNA.D A61K37/02 C12N5/00.A A61K38/00 A61K38/16 C12N15/00.D C12N15/00.DZN.A C12N5/00.101 C12N5/20		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/BB20 2G045/CB01 2G045/CB26 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB07 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA21 4B024/BA44 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/EA02 4B024/EA04 4B024/GA05 4B024/GA11 4B024/HA14 4B024/HA15 4B064/AG02 4B064/AG26 4B064/AG27 4B064/CA02 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA26X 4B065/AA92X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AB05 4B065/BA02 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA22 4C084/BA23 4C084/MA01 4C084/NA14 4C084/ZA332 4C084/ZA362 4C084/ZA392 4C084/ZA402 4C084/ZA892 4C084/ZA962 4C084/ZB152 4C084/ZB212 4C084/ZB262 4C084/ZC752 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/CC21 4C085/DD33 4C085/DD86 4C085/FF24 4C085/GG01 4C086/AA01 4C086/AA03 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZA33 4C086/ZA36 4C086/ZA39 4C086/ZA40 4C086/ZA89 4C086/ZA96 4C086/ZB15 4C086/ZB21 4C086/ZB26 4C086/ZC75		

4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA45 4H045/DA01 4H045/DA76 4H045/EA24 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74

代理人(译) 庄司隆

外部链接 [Espacenet](#)

摘要(译)

解决的问题：寻找一种新型的含TSP1结构域的蛋白，该蛋白有望用于阐明，预防，治疗和诊断与血管生成有关的疾病。 解决方案：分离出编码源自人脑的含有TSP1结构域的新型蛋白质的cDNA，并获得了由该cDNA编码且具有血小板反应蛋白结构域保守八倍的含TSP1结构域的新型蛋白质。 还提供了cDNA，蛋白质和作为其衍生物的多肽或肽，针对蛋白质的抗体，筛选蛋白质作用的抑制剂/拮抗剂/激活剂的方法，筛选的化合物等。 提供了一种药物组合物和使用它们的诊断方法。

ミノ酸から774番目のアミノ酸まで (検索結果)					
Hit	Score	Expect	Q from	Q to	sequence
tsp_1	51.4	1.9e-11	481	528	TLWSWSDCPYSCGGNQVTRACRAAAHHRSPPCLG PDTQTRQQPC
tsp_1	45.7	1.1e-09	232	282	SNWSPWPCDRSCGGQSLRSRSCSSPSSKNGGAPCAG ERHQRLLCNPMPC
tsp_1	32.8	8.2e-06	387	435	SHWSANSPCSHSCGPRCQSSFRSSTSGSNAPECREEQ SQSQPCPQSPC
tsp_1	32.1	1.2e-05	174	225	TSWAPNEPCSRSCGVGQRRRLRAYRPPPGDHWCPIIL TAYQERKFCNLRAC
TIL	21.8	0.0075	286	341	CPAGMEVVTANRCPRRCSDLQEGIVCQDDQVCQKGR CPKGSLEQGGCVPIGHC
tsp_1	19.6	0.0038	787	850	SLWGPWSPCQVPCSGGFLRWAEALCGGCREPWAQ DRKLQRALPRLRLRGNHCHHPGLC
tsp_1	16.4	0.009	108	155	QWSSWSPCSRSCDTPARPAWRSRRLCLANCTNGDPL QERPCNLPSC
TIL	7.9	0.11	591	646	GTPPFEFHACGSPGAGICATHLSHQLCQDLPPCQPCY CPKGLLEQAGCCIPEEC
tsp_1	1.9	0.42	535	585	CSWGPWPCSRSCGPLASRSGSCPCMLAKADPTCNST FLHLDTGQCYSGPC